

**UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC**

T H E S E

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II

Discipline : Génie des Procédés

Ecole Doctorale : Sciences des Procédés-Sciences des Aliments

Présentée et soutenue publiquement

par

Clémence COETSIER

Le 18 mai 2009

**APPROCHE INTEGREE DE LA GESTION ENVIRONNEMENTALE
DES PRODUITS PHARMACEUTIQUES DANS DES REJETS DE
STATIONS D'EPURATION URBAINES ET LEUR MILIEU
RECEPTEUR : OCCURRENCE, IMPACT ET TRAITEMENTS
TERTIAIRES D'ELIMINATION**

JURY

Mme Claude CASELLAS, Professeur à l'Université de Montpellier I
M. Richard GREENWOOD, Professeur à l'Université de Portsmouth
M. Serge CHIRON, Maître de Conférence à l'Université d'Aix-Marseille I
M. Jean-Philippe DELGENES, Directeur de Recherche à l'INRA de Narbonne
Mme Evelyne TOURAUD, Maître de Recherche, HDR, à l'Ecole des Mines d'Alès

M. Liming LIN, Chargé de Recherche à l'Ecole des Mines d'Alès

Présidente
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Directrice de
thèse
Examineur

Thèse préparée au Laboratoire Génie de l'Environnement Industriel de l'Ecole des Mines d'Alès

**UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC**

T H E S E

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II

Discipline : Génie des Procédés

Ecole Doctorale : Sciences des Procédés-Sciences des Aliments

Présentée et soutenue publiquement

par

Clémence COETSIER

Le 18 mai 2009

**APPROCHE INTEGREE DE LA GESTION ENVIRONNEMENTALE
DES PRODUITS PHARMACEUTIQUES DANS DES REJETS DE
STATIONS D'EPURATION URBAINES ET LEUR MILIEU
RECEPTEUR : OCCURRENCE, IMPACT ET TRAITEMENTS
TERTIAIRES D'ELIMINATION**

JURY

Mme Claude CASELLAS, Professeur à l'Université de Montpellier I	Présidente
M. Richard GREENWOOD, Professeur à l'Université de Portsmouth	Rapporteur
M. Serge CHIRON, Maître de Conférence à l'Université d'Aix-Marseille I	Rapporteur
M. Jean-Philippe DELGENES, Directeur de Recherche à l'INRA de Narbonne	Examineur
Mme Evelyne TOURAUD, Maître de Recherche, HDR, à l'Ecole des Mines d'Alès	Directrice de thèse
M. Liming LIN, Chargé de Recherche à l'Ecole des Mines d'Alès	Examineur

Thèse préparée au Laboratoire Génie de l'Environnement Industriel de l'Ecole des Mines d'Alès

*" Si un contemplatif se jette à l'eau, il n'essaiera pas de nager,
il essaiera d'abord de comprendre l'eau. Et il se noiera. "*

Henri Michaux

*" Attendre d'en savoir assez pour agir en toute lumière,
c'est se condamner à l'inaction. "*

Jean Rostand

Extrait de : Inquiétudes d'un biologiste

REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse a été réalisé au Laboratoire Génie de l'Environnement Industriel et des Risques Industriels et Naturels (LGEI) de l'Ecole des Mines d'Alès (EMA), dirigé par Monsieur le Professeur Lopez-Ferber. Je le remercie vivement de m'avoir accueillie au sein du LGEI, et aussi pour ses précieux conseils et sa tempérance.

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur le Professeur Greenwood, de l'Université de Portsmouth et à Monsieur Chiron, Maître de Conférence à l'Université d'Aix-Marseille I, pour avoir bien voulu juger ce travail.

Je remercie également Madame le Professeur Casellas, de l'Université de Montpellier I et Monsieur Delgenès, Directeur de Recherche à l'INRA de Narbonne, d'avoir accepté de participer au jury de thèse. Qu'ils soient assurés de ma sincère reconnaissance.

Je suis reconnaissante envers Madame Evelyne Touraud, Directrice de thèse et Monsieur Liming Lin, avec qui j'ai mené ce projet de thèse avec enthousiasme. Je les remercie pour leur encadrement précieux, leur rigueur et leur disponibilité.

Je remercie Monsieur Benoît Roig, Coordinateur du projet européen KNAPPE, avec qui j'ai pu avoir des échanges instructifs et fructueux sur la thématique des PPs dans l'environnement.

Je remercie les gestionnaires et responsables des STEP's qui nous ont donné l'accès aux installations :

- Madame Alvado, Monsieur Boone (Degrémont), Monsieur Pagelgrechi de la Communauté d'Agglomération de Nice Côte d'Azur (CANCA),
- Monsieur Frédéric Blanc (Veolia) et Monsieur Guilhem Cayroll de la Communauté d'Agglomération du Grand Alès,
- Monsieur Aribaud et Monsieur Roger (Lyonnaise des Eaux),
- Monsieur Eric Blin et Monsieur Pelicano (Lyonnaise des Eaux)
- Monsieur Richard et Madame Denozi (SAUR).

Je remercie vivement Anne Togola, pour m'avoir lancée sur les pas de l'analyse LC-MS/MS. Je remercie les équipes du CMGD de l'Ecole des Mines d'Alès qui ont contribué à la caractérisation du matériel adsorbant. Je remercie les stagiaires, Sarah, Natalia et Christophe, et élèves-ingénieurs qui ont participé aux expériences réalisées au cours de ces travaux de thèse.

Mes remerciements s'adressent également à l'ensemble du personnel du laboratoire, tous les chercheurs, tous les techniciens et toutes les secrétaires, pour leur aide, leurs conseils, les enseignements et compétences qu'ils m'ont apportés. Plus particulièrement, je remercie Sylvie Spinelli et Catherine Gonzalez.

Je n'oublierai jamais, Virginie, Marie, Jun et Sandra, présentes pour mes premiers pas à l'EMA et tous les autres camarades, que je remercie pour leur bonne humeur et tous les bons moments que nous avons partagés au cours de ces 3 ans!

Un grand merci à Wladimir pour son amour, son soutien, sa patience et son optimisme.

Enfin, mes profonds remerciements à toute ma famille pour tout le soutien qu'elle m'apporte !

RESUME

Les produits pharmaceutiques (PPs), largement consommés par la population et continuellement rejetés dans l'environnement via les stations d'épuration des eaux usées (STEP) constituent une source de contamination du milieu aquatique. L'évaluation du risque environnemental de ces composés implique la quantification précise de leurs concentrations et l'estimation de leur toxicité vis-à-vis des espèces exposées. Notre étude portant sur une douzaine de composés pharmaceutiques représentatifs a été réalisée dans le Sud Est de la France.

Après la mise au point d'une méthode de détection par LC-MS/MS, une campagne d'échantillonnage ciblée sur 7 stations d'épuration urbaines et les eaux naturelles dans lesquelles leurs effluents se déversent (rivières gardoises et lagune) a été effectuée afin d'évaluer le niveau de contamination par les PPs. La toxicité des PPs a été évaluée à l'aide de tests de bioluminescence et d'inhibition de croissance (Microtox, ToxScreen et Protoxkit). En parallèle, des expériences ont été effectuées afin d'évaluer le potentiel de la photolyse UV et de l'adsorption sur charbon actif pour éliminer ces composés.

La campagne de mesure met en évidence la présence de PPs dans les effluents de STEP de la région Sud-Est à des concentrations comprises entre 10 et 1000 ng.L⁻¹ et atteignant quelques centaines de ng.L⁻¹ dans le milieu récepteur situé en aval. La comparaison des niveaux d'exposition aux valeurs de toxicité obtenues expérimentalement et complétées des données de la littérature suggère que seuls 3 composés pharmaceutiques (propranolol, ibuprofène et diclofénac) sont susceptibles d'induire un risque faible à l'échelle locale (rivières gardoises). Le traitement complémentaire des effluents de STEP par photolyse UV et adsorption sur charbon actif s'avère être efficace pour éliminer la majorité des 12 composés étudiés et peuvent être envisagé pour limiter la présence et l'impact des produits pharmaceutiques dans l'environnement.

Mots Clés : produits pharmaceutiques, occurrence, effluent de step, eau de surface, risque environnemental, traitement tertiaire

ABSTRACT

Pharmaceutical products (PPs), widely consumed by population and discharged in the environment through wastewater treatment process (WTP), are sources of aquatic ecosystems contamination. Environmental risk assessment for these substances involves the accurate quantification of their concentrations and the evaluation of their toxicity for exposed species. Our study dealing with a dozen of representative pharmaceutical compounds was conducted in Southeast France.

A LC-MS/MS detection method was developed and a sampling campaign was carried out on 7 urban WTP and the natural waters where they discharge (rivers of the Gard and pond) in order to assess PPs contamination level. Toxicity of PPs was estimated using bioluminescent and growth inhibition tests (Microtox, ToxScreen and Protoxkit). Experiments were conducted to evaluate UV photolysis and activated carbon adsorption capacities for the removal of these compounds.

Measurements for samples collected highlight the occurrence of PPs in WTP effluent of Southeast region at concentrations ranging from 10 to 1000 ng.L⁻¹ and reaching hundreds of ng.L⁻¹ in the downstream surface waters. Comparison between the level of exposure and experimental toxicity values completed by literature data suggests that only 3 compounds (propranolol, ibuprofen and diclofénac) may induce a low risk at a local scale (rivers of Gard). Complementary treatments of the STP effluents by UV photolysis and activated carbon adsorption prove to be efficient to remove most of the 12 studied PPs and should be considered to reduce the presence and the impact of pharmaceutical products in the environment.

Keywords: pharmaceuticals, occurrence, STP effluent, surface water, environmental risk, tertiary treatment

GLOSSAIRE

ACE	Acébutolol
ACN	Acétonitrile
AFSSAPS	Agence française de sécurité sanitaire des produits de sante
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AMO	Amoxicilline
APCI	Ionisation chimique a pression atmosphérique, en anglais atmospheric pressure chemical ionisation
API	Ionisation a pression atmosphérique
BCF	Facteur de bioconcentration chez le poisson
CA	Charbon actif
CAR	Carbamazépine
CE ₅₀ /CI ₅₀	Concentration provoquant 50 % d'effet/inhibition
CID	Dissociation induite par collision
CIP	Ciprofloxacine
CHCl ₃	Chloroforme
CNAM/CPAM	Caisse nationale d'assurance maladie/ caisse primaire d'assurance maladie
COT	Carbone organique total
DCM	Dichlorométhane
DCP	3,5-dichlorophénol
DDJ	Dose définie journalière, en anglais DDD, define daily dose.
DIC	Diclofénac
DREES	Direction de la recherche des études de l'évaluation et des statistiques
DSE	Direction des statistiques et des études
ECOSAR	En anglais, Ecological Structure Activity Relationships
EDCs	Perturbateurs endocriniens en anglais endocrin disrupter compounds
EMEA	European agency for the evaluation of medicinal products
ES	Eau de surface
ESAC	European surveillance of antimicrobial consumption : réseau destiné à assurer le suivi de l'utilisation des antibiotiques
ESI+ et ESI –	Mode d'ionisation par electrospray positive et négative
FEN	Fénofibrate
GC	Chromatographie gazeuse
HAS	Haute autorité de sante
HPLC–MS/MS	Chromatographie liquide haute performance couplée a la spectrométrie de masse en tandem
HFBA	Acide heptafluorobutyrique
HHCB	Hexahydro-hexamethylcyclopenta-benzopyrane (musc)
HTA	Hypertension artérielle
IBU	Ibuprofène
IEC	Inhibiteur de l'enzyme de conversion (antihypertenseur)
ICA	Inhibiteurs calciques (antihypertenseur)
IFO	Ifosfamide
IMAO	Inhibiteurs de la monoamine oxydase
IPP	Inhibiteur de la pompe a proton employé pour le traitement des ulcères
ISRS	Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine
IT	Pièges d'ions ou trappes d'ion, en anglais ion trap
K _{ow}	Coefficient de partage octanol-eau

LOEC	Plus faible concentration observée provoquant un effet, en anglais lowest observed effect concentration
LOR	Lorazépam
LQ(I)	Limite de quantification (instrumentale)
LD(I)	Limite de détection (instrumentale)
LLE	Extraction liquide-liquide ; en anglais liquid liquid extraction
LPME	Micro-extraction en phase liquide, en anglais liquid phase micro-extraction
MEC	Concentration environnementale mesurée, en anglais measured environmental concentration
MEEC	Concentration maximale estimée dans le milieu récepteur en anglais : maximum expected environmental concentration
MeOH	Méthanol
MIC	Concentration minimale d'inhibition, en anglais minimum inhibitory concentration
MISPE	Extraction sur phase solide moléculairement imprimée, en anglais molecularly imprinted solid-phase extraction
MRM	Mode de transitions sélectionnées, en anglais multiple reaction monitoring
MSRE	Modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes
Na ₂ EDTA	Disodium éthylène diamine tétra-acétate
NOEC	Concentration pour laquelle aucun effet n'est observé, en anglais no observed effect concentration
NOR	Norfloxacine
PAC	Charbon actif en poudre
PBT	Persistance, bioaccumulation, toxicité
PEC	Concentration environnementale prédite, en anglais predicted environmental concentration
PNEC	Concentration prédite sans effet, en anglais predicted no effect concentration
PPs	Produits pharmaceutiques
PRA	Pravastatine
PRO	Propranolol
QqQ	Triple-quadripôle
Q-ToF	Quadripôle temps de vol, en anglais quadrupole-time of flight
Q-LIT	Quadripôle à trappe d'ions linéaire en anglais linear ion trap
QSAR	Relation quantitative structure à activité, en anglais quantitative structure-activity relationship
RP	Phase inverse, en anglais reverse phase
SPE	Extraction en phase solide en anglais solid phase extraction
SPME	Micro-extraction en phase solide, en anglais solid phase micro-extraction
STEP	Station d'épuration des eaux usées
T _{1/2}	Temps de demi-vie
TAM	Tamoxifène
TBACl	Tetrabutylammonium chloride
TFA	Acide trifluoroacétique
TOA ou AOP	Techniques d'oxydation avancées
UPLC	Chromatographie liquide ultra haute performance

Sommaire

REMERCIEMENTS	i
RESUME	iii
ABSTRACT.....	iv
GLOSSAIRE	v
Sommaire.....	vii
Liste des figures.....	ix
Liste des tableaux.....	xii
Liste des annexes.....	xiv
INTRODUCTION GENERALE	1
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	5
<i>I.1 Les substances pharmaceutiques dans l'environnement.....</i>	<i>5</i>
I.1.1 Usage et Consommation des produits pharmaceutiques (France et Europe).....	5
I.1.2 Présence de PPs dans les différents compartiments aqueux.....	25
I.1.3 Analyse des produits pharmaceutiques par LC-MS/MS	39
<i>I.2 Evaluation du risque environnemental des produits pharmaceutiques</i>	<i>54</i>
I.2.1 Aspect réglementaire.....	54
I.2.2 Classification environnementale	58
<i>I.3 Elimination des produits pharmaceutiques par photolyse UV et adsorption sur charbon actif.....</i>	<i>60</i>
I.3.1 Photolyse UV	60
I.3.2 Adsorption sur charbon actif.....	63
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	71
<i>II.1 Sélection des composés pharmaceutiques.....</i>	<i>71</i>
II.1.1 Critères de sélection	71
II.1.2 Les molécules sélectionnées et leurs caractéristiques	72
<i>II.2 Sites étudiés et échantillonnage</i>	<i>77</i>
II.2.1 Sites étudiés.....	77
II.2.2 Prélèvements	79
<i>II.3 Caractérisation physico-chimique</i>	<i>79</i>
<i>II.4 Démarche analytique.....</i>	<i>80</i>
II.4.1 Choix des standards et réactifs	80
II.4.2 Protocole d'extraction	81
II.4.3 Chromatographie liquide et spectrométrie de masse.....	82
II.4.4 Caractérisation de la méthode analytique.....	83
<i>II.5 Estimation de la toxicité.....</i>	<i>85</i>
II.5.1 Test Microtox.....	85
II.5.2 Test ToxScreen.....	87
II.5.3 Test Protoxkit.....	87
<i>II.6 Essais de traitement</i>	<i>89</i>
II.6.1 Photolyse UV	89
II.6.2 Adsorption sur charbon actif.....	91

III.	ANALYSE DES PPs DANS L'ENVIRONNEMENT.....	95
<i>III.1</i>	<i>Développement de la méthode analytique.....</i>	<i>95</i>
III.1.1	Extraction en phase solide	95
III.1.2	Analyse LC-MS/MS	98
III.1.3	Performances de la méthode analytique	100
<i>III.2</i>	<i>Occurrence des PPs dans le Sud Est de la France</i>	<i>101</i>
III.2.1	Occurrence des PPs dans les effluents de STEP.....	101
III.2.2	Impact du rejet des STEP sur le milieu naturel	119
<i>III.3</i>	<i>Estimation du risque environnemental.....</i>	<i>128</i>
III.3.1	Estimation de l'exposition	128
III.3.2	Estimation de l'effet	130
III.3.3	Estimation du risque	133
IV.	ELIMINATION DES PPs PAR PHOTOLYSE ET ADSORPTION SUR CHARBON ACTIF	135
<i>IV.1</i>	<i>Elimination des PPs par photolyse UV.....</i>	<i>135</i>
IV.1.1	Caractéristique spectrales des composés	136
IV.1.2	Photolyse des PPs dans l'eau.....	138
IV.1.3	Photolyse des PPs dans des effluents de STEP.....	140
<i>IV.2</i>	<i>Adsorption sur charbon actif.....</i>	<i>147</i>
IV.2.1	Adsorption des PPs en solution dans l'eau	146
IV.2.2	Adsorption des PPs en solution dans un effluent de STEP.....	150
<i>IV.3</i>	<i>Application à un effluent réel.....</i>	<i>157</i>
	CONCLUSION GENERALE	161
	BIBLIOGRAPHIE.....	167
	ANNEXES	191
	PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	243

Liste des figures

Figure 1 Sources des PPs dans le milieu aquatique.....	1
Figure 2 Approche intégrée.....	3
Figure I-1 Répartition des analgésiques non narcotiques antipyrétiques en France en 2007 (en millions de boîtes).....	7
Figure I-2 Répartition des molécules au sein des AINS en France en 2007 (millions de boîtes remboursées) (MEDICAM, 2007).....	8
Figure I-3 Répartition des différentes classes d'antihypertenseurs en nombre de boîtes remboursées en France en 2007 calculé d'après les données de la CNAMTS (MEDICAM, 2007).....	9
Figure I-4 Répartition des différentes molécules de diurétiques (à gauche) et des sartans (à droite) en nombre de boîtes, en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007).....	10
Figure I-5 Répartition des association d'antihypertenseurs en nombre de boîtes, en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007).....	10
Figure I-6 Répartition des différentes molécules au sein des β -bloquants, en termes de nombre de boîtes et répartition selon le poids pour les molécules citées, en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007).....	11
Figure I-7 Répartition des différentes molécules de tranquillisants de la famille des benzodiazépines, en termes de nombre de boîtes et répartition selon le poids pour les molécules citées, en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007).....	12
Figure I-8 Répartition des molécules dans la classe des antiépileptiques , en termes de nombre de boîtes en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007).....	13
Figure I-9 Répartition de la consommation des molécules de statines (en pourcentage d'unités standards) (CNAM, 2007).....	14
Figure I-10 Répartition des molécules au sein des régulateurs de lipides fibrates, en termes de nombre de boîtes en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007).....	14
Figure I-11 Répartition des principales classes d'antibiotiques en termes de nombre de boîtes en France en 2007 calculé d'après les données (MEDICAM, 2007).....	17
Figure I-12 Consommation de quinolones en Europe en 2003 (Pologne en 2002) (Ferech <i>et al.</i> , 2006).....	18
Figure I-13 Répartition des quinolones par molécules (en pourcentage de kg et nombre de boîtes) en France en 2007 calculé d'après les données (MEDICAM, 2007).....	18
Figure I-14 Répartition des molécules d'IPPs consommées en Europe (en pourcentage d'unités standards) (CNAM, 2007).....	19
Figure I-15 Répartition de consommation d'IPP par molécule (en nombre de boîtes) en France en 2007 calculé d'après les données (MEDICAM, 2007).....	19
Figure I-16 Répartition des antinéoplasiques et des cytostatiques à thérapies endocrines par classe (en nombre de boîtes) en France en 2007 calculé d'après les données (MEDICAM, 2007).	21
Figure I-17 Nombres de boîtes d'antibiotiques prescrites par patients entre janvier et août 2004 (DSE, 2004a).....	22

Figure I-18 Nombres de boîtes de tranquillisants prescrites par patients entre janvier et août 2004 (DSE, 2004a).....	23
Figure I-19 Nombres de boîtes de statines prescrites par patients entre janvier et août 2004	23
Figure I-20 Disparité géographique de la consommation d'IPP en France (moyenne annuelle de boîtes pour 100 habitants) (CNAM, 2006a).....	24
Figure I-21 Les produits pharmaceutiques dans les compartiments aquatiques	26
Figure I-22 Inventaire des produits pharmaceutiques recherchés par classe thérapeutique	26
Figure I-23 Etapes générales de l'extraction par SPE (adaptées de (Mutavdzic Pavlovic <i>et al.</i> , 2007))	41
Figure I-24 Analyse en plusieurs étapes dans le système de détection de masse QqQ (schéma adapté de Li & Assmann, 2000).....	49
Figure I-25 Schéma récapitulatif de la procédure EMEA (Besse & Garric, 2007) adapté de (Bound & Voulvoulis, 2004).....	56
Figure I-26 Schéma récapitulatif de la procédure FDA (Besse & Garric, 2007) adapté de (FDA, 1998)....	57
Figure I-27 Photolyse directe et indirecte dans le milieu aquatique naturel, adaptée de Arnold & McNeill (2007)	61
Figure I-28 Photolyse directe et réactions possibles de la molécule excitée (PX)* (Burrows <i>et al.</i> , 2002) ..	62
Figure I-29 Photolyse après photosensibilisation de l'espèce sensibilisante (Sens) (Burrows <i>et al.</i> , 2002)..	62
Figure II-1 Structure moléculaire des PPs sélectionnés (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)	75
Figure II-2 Montage du réacteur/lampe UV et photographie de la lampe grille Pen-Ray®	90
Figure II-3 Spectre de la lampe grille Pen-Ray® (bande à 185 non visible, données constructeur).	90
Figure II-4 Distribution de la taille des particules (μm)	92
Figure III-1 Rendements d'extraction de différents PPs en solution aqueuse avec intervalles de confiance	97
Figure III-2 Concentrations moyennes, médianes et maximales des PPs des groupes 1 et 2.....	104
Figure III-3 Concentrations moyennes été/hiver dans les effluents de la STEP d'Alès (\perp concentrations min et max).....	105
Figure III-4 Concentrations moyennes des PPs (ng L^{-1}) dans les effluents	107
Figure III-5 Flux de famille de PPs (g J^{-1}) en sortie de STEP (a : avec Nice ; b : même figure sans Nice à une autre échelle).....	108
Figure III-6 Flux en sortie de STEP : répartition par famille de composés.....	109
Figure III-7 Profil des concentrations des PPs du groupe 1 dans les effluents des STEP étudiées (— concentrations médiane, concentrations min et max)	110
Figure III-8 Profil des concentrations des PPs du groupe 2 dans les effluents de STEP étudiés (— concentrations médiane, concentrations min et max)	111
Figure III-9 A-MEC des PPs étudiés dans les effluents de 7 STEP du Sud-Est de la France (▲ concentrations médiane, concentrations min et max)	116
Figure III-10 Flux de médicaments dans le Gardon d'Alès (été, printemps/hiver).....	122
Figure III-11 Flux de médicaments dans le Vistre en amont et en aval de Nîmes.....	124
Figure III-12 A-MEC des PPs étudiés dans les milieux récepteurs des STEP du Sud-Est de la France (▲ concentrations médiane, concentrations min et max)	126

Figure IV-1 Spectres d'absorption UV/visible des PPs dans l'eau milliQ (15 à 75 mg L ⁻¹). Les flèches indiquent les longueurs d'onde d'émission de la lampe.	136
Figure IV-2 Elimination de 12 produits pharmaceutiques en solution dans l'eau par photolyse UV (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné).....	139
Figure IV-3 Effet de matrice sur la photolyse de l'acébutolol, la carbamazépine, le lorazépam, l'ibuprofène et l'ifosfamide (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; Cx/Ny contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)	142
Figure IV-4 Effet de matrice sur la photolyse de l'amoxicilline et de la pravastatine (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; Cx/Ny contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents).....	143
Figure IV-5 Effet de matrice sur la photolyse de la norfloxacine, du propranolol, du diclofénac, du tamoxifène et du fénofibrate (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; Cx/Ny contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)	144
Figure IV-6 Cinétique d'adsorption sur charbon actif de 12 molécules pharmaceutiques (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t 0 à 60 min).....	148
Figure IV-7 Cinétique d'adsorption sur charbon actif de 12 molécules pharmaceutiques (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t 0 à 10 min).....	149
Figure IV-8 Effet de la matrice sur l'adsorption de l'amoxicilline, l'ifosfamide et l'ibuprofène (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; Cx/Ny contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents).....	151
Figure IV-9 Effet de matrice sur l'adsorption de la norfloxacine, la pravastatine, la carbamazépine, le lorazépam et le diclofénac (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; Cx/Ny contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)	152
Figure IV-10 Effet de la matrice sur l'adsorption de l'acébutolol et du propranolol (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; Cx/Ny contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents).....	153
Figure IV-11 Effet de la matrice sur l'adsorption du tamoxifène et du fénofibrate (C ₀ : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; Cx/Ny contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents).....	154
Figure IV-12 Relation entre le pourcentage d'élimination des PPs et leur log K _{ow} dans l'eau	155
Figure IV-13 Relation entre le pourcentage d'élimination des PPs et leur log K _{ow} dans l'effluent	155
Figure IV-14 Concentration en produits pharmaceutiques dans l'effluent avant (n=3) et après irradiation UV (n=2)	158
Figure IV-15 Concentration en produits pharmaceutiques dans l'échantillon d'effluent de contrôle et dans les échantillons traités par adsorption sur charbon actif.	159

Liste des tableaux

Tableau I-1 Consommation en PPs pour 5 pays d'Europe et rang de la France (Total, (DREES, 2006a)) et pour les principales classes thérapeutiques en 2006 (Le Pen <i>et al.</i> , 2007; Sabban & Courtois, 2007)..	6
Tableau I-2 Répartition des traitements de l'HTA en France (Samson <i>et al.</i> , 2007).....	9
Tableau I-3 Classification des principaux psychotropes	11
Tableau I-4 Répartition de la prescription de psychotropes en France en 2000 (DSE, 2004b).....	12
Tableau I-5 Consommation d'antibiotiques dans quelques pays d'Europe (ESAC).....	16
Tableau I-6 Classification des agents anticancéreux.....	20
Tableau I-7 Distribution des médicaments à prescription facultative hors système de remboursement (DREES, 2001).	25
Tableau I-8 Présence de PPs dans les eaux de surface (fleuves, rivières, estuaires), les eaux souterraines et le milieu marin en France	27
Tableau I-9 Les phases adsorbantes pour l'extraction des PPs	44
Tableau I-10 Méthodes LC-/MS-MS pour l'analyse multi résidus de PPs dans les matrices environnementales aqueuses.....	52
Tableau I-11 Adsorption de PPs sur charbon actif dans les matrices aqueuses	67
Tableau II-1 PPs sélectionnés.....	73
Tableau II-2 Caractéristiques physico-chimiques des PPs sélectionnés	76
Tableau II-3 Caractéristiques des stations d'épuration étudiées	78
Tableau II-4 Gradient de solvant.....	82
Tableau II-5 Contrôle de rétention dans le réacteur.....	91
Tableau II-6 Caractéristiques du charbon actif.....	92
Tableau II-7 Rétention des composés en solution sur le filtre dans les matrices eau et effluents	93
Tableau III-1 Rendement d'extraction (%) des PPs et du standard interne CBZ-d10 dans différentes matrices aqueuses	98
Tableau III-2 Conditions d'analyse LC-MS/MS	99
Tableau III-3 Limites de détection et de quantification instrumentales (LDI et LQI, respectivement) et dans les différentes matrices (LD et LQ, respectivement)	100
Tableau III-4 Concentration des PPs étudiés (ng L ⁻¹) dans l'effluent de STEP d'Alès	103
Tableau III-5 Flux de substances pharmaceutiques (g J ⁻¹) dans les STEP étudiées	108
Tableau III-6 Concentrations de PPs (ng L ⁻¹) dans quelques effluents de STEP françaises	112
Tableau III-7 Données de consommation, F _{Excreta} et F _{Step} pour les PPs étudiés	118
Tableau III-8 Valeurs de A-MEC, C max, C moy et de PEC _{Eff} (ng L ⁻¹) pour les composés étudiés.	119
Tableau III-9 Concentration en produits pharmaceutiques (ng L ⁻¹) dans le Gardon et concentration moyenne dans les effluents de la STEP d'Alès (MEC _{Eff}).....	121
Tableau III-10 Facteur de dilution (STEP Alès/Gardon)	122
Tableau III-11 Concentration en PPs (ng L ⁻¹) en 3 points de la rivière Vistre et concentration moyenne dans les effluents de la STEP de Nîmes-Ouest (MEC _{Eff})	123

Tableau III-12 Concentration en PPs dans la rivière Salindrenque et concentration moyenne dans les effluents de la STEP de Lasalle (MEC_{Eff})	124
Tableau III-13 Concentration des PPs étudiés ($ng L^{-1}$) en sortie de lagune et concentration moyenne dans les effluents de la STEP du Grau du Roi (MEC_{Eff})	125
Tableau III-14 A-MEC ($ng L^{-1}$) dans les eaux de surfaces en France.....	127
Tableau III-15 Valeurs de PEC_{ES} pour les PPs étudiés	129
Tableau III-16 Critères de choix et valeurs des facteurs de sûreté (TGD, 2003).....	131
Tableau III-17 Valeurs de toxicité aiguës et chroniques court-terme expérimentales ($CI_{50} mg L^{-1}$)	131
Tableau III-18 Données de toxicité choisies et calcul de $PNEC_{lit}$ et $PNEC_{exp}$ (à partir des données de la littérature et des données expérimentales, respectivement) pour les PPs étudiés	132
Tableau III-19 Quotient de risque calculé selon la méthodologie EMEA	133
Tableau III-20 Quotient de risque toxique dans un scénario de pire cas (LOEC : Lowest Observed Effect Concentration ; C_{max} : concentrations max)	134
Tableau IV-1 Coefficients d'extinction ϵ ($M^{-1} cm^{-1}$) à 254 nm.....	137
Tableau IV-2 Constante de vitesse (k), temps de demi-vie ($T_{1/2}$) et pourcentage d'élimination des produits pharmaceutiques par photolyse UV dans l'eau et dans l'effluent.....	145
Tableau IV-3 Classification des PPs selon leur difficulté à être éliminés dans l'effluent par photolyse UV (taux d'élimination à 20 sec d'irradiation avec lampe Hg basse pression $260 mJ cm^{-2}$).....	147
Tableau IV-4 Constante de vitesse (k), temps de demi-vie ($T_{1/2}$) et pourcentage d'élimination par adsorption des produits pharmaceutiques en solution dans l'eau et dans l'effluent à $T = 10$ et 60 min	156
Tableau IV-5 Pourcentage d'élimination des PPs dans un effluent réel par photolyse UV et adsorption sur charbon actif	159

Liste des annexes

Annexe 1 Détection de produits pharmaceutiques dans les compartiments aquatiques en France.....	191
Annexe 2 Sites de prélèvement.....	200
Annexe 3 Modélisation de la courbe concentration-effet par la régression de Weibull.....	205
Annexe 4 Chromatogrammes HPLC-MS/MS des PPs étudiés	206
Annexe 5 Spectres de masse ESI-MS/MS des PPs étudiés.....	207
Annexe 6 Gamme de linéarité HPLC-MS/MS des PPs étudiés	209
Annexe 7 Concentration des PPs étudiés dans les effluents de STEP (ng L ⁻¹).....	211
Annexe 8 Courbes concentration-effet des PPs : Microtox, ToxScreen et Protoxkit.....	213
Annexe 9 Données de toxicité reportées dans la littérature.....	216
Annexe 10 Caractéristiques physico-chimiques des échantillons étudiés.....	223
Annexe 11 Caractéristiques physico-chimiques des effluents utilisés lors des essais de traitement	226
Annexe 12 Courbes ln C/C ₀ Traitement par photolyse et adsorption sur charbon actif	227
Annexe 13 Tests non paramétriques et tableaux d'analyses statistiques pour la comparaison des concentrations en PPs dans les différentes STEP.....	230

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les produits pharmaceutiques (PPs) constituent un nouveau sujet de préoccupation dans le domaine de l'eau. En effet, grâce à l'amélioration des techniques analytiques, les études menées au cours des dix dernières années ont montré la présence de ces micropolluants dans les milieux aquatiques, y compris, dans certains cas, dans les eaux de boisson. Conçues pour être biologiquement actives, ces molécules peuvent interagir avec des cibles biologiques spécifiques ce qui suscite des interrogations sur les risques écologiques et sanitaires liés à leur présence dans l'environnement.

Les médicaments sont consommés en très grande quantité et constituent en Europe 1,94 % en moyenne du Produit Intérieur Brut. La France est connue pour faire partie du peloton de tête. Après ingestion, les principes actifs des médicaments sont partiellement métabolisés dans les organismes. Les résidus ainsi que les métabolites sont rejetés dans l'environnement par différentes voies de transfert décrites dans la Figure 1.

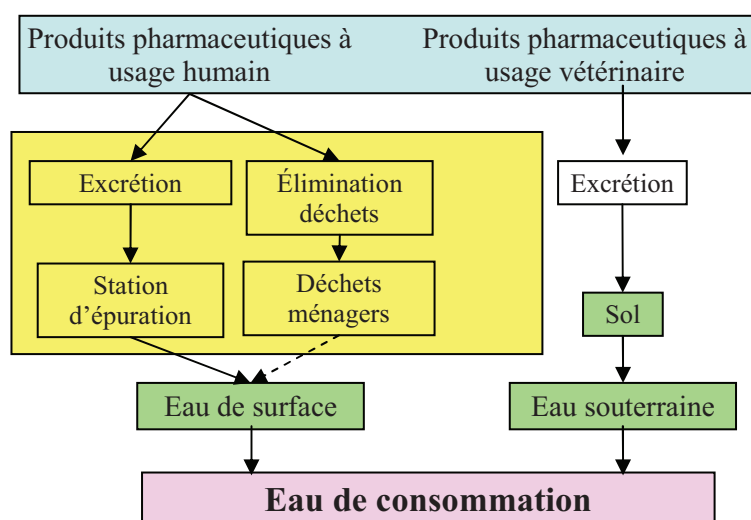


Figure 1 Sources des PPs dans le milieu aquatique

Pour les PPs à usage humain, la principale source de contamination est constituée par les stations d'épuration urbaine où la dégradation est très inégale. Les concentrations résiduelles mesurées dans les eaux de surface varient généralement de quelques ng L^{-1} à quelques centaines de ng L^{-1} . Les résidus de PPs trouvés dans les eaux souterraines et l'eau potable ne

sont pas sans susciter d'inquiétude auprès du public et des autorités. En effet, le rejet en continu dans le milieu aquatique via les stations d'épuration confère aux PPs un caractère de pseudo - persistance. Au delà de la menace potentielle sur les organismes aquatiques causée par l'accumulation de ces substances, il est probable que la population européenne n'acceptera jamais la présence de médicaments dans l'eau potable. Cependant, les composés pharmaceutiques ne sont encore assujettis à aucune réglementation d'un point de vue environnemental.

La Directive Européenne Cadre sur l'Eau (Directive, 2000/60/EC) donne priorité à la protection de l'environnement et la préservation des ressources en eau en demandant d'atteindre d'ici 2015 un bon état chimique et écologique de toutes les eaux. Aujourd'hui, les produits pharmaceutiques ne sont pas mentionnés dans la liste des 33 substances prioritaires (Directive, 2455/2001/EC) et ne sont pas pris en compte dans les normes de qualité de polluants spécifiques. Lors du dernier processus de révision de la liste prioritaire, les trois composés pharmaceutiques proposés (carbamazépine, diclofénac et iopamidol) n'ont pas été retenus. Les PPs sont néanmoins considérés comme des polluants émergents, leur présence dans et leur impact sur l'environnement étant révélés et recherchés : la Directive Cadre évoque alors le principe de précaution. De même, aucun produit pharmaceutique n'est listé dans la Directive relative à l'eau potable (Directive, 98/83/EC). Cependant, les perturbateurs endocriniens, classe thérapeutique particulière, sont pris en compte depuis 2003 du fait du manque de sensibilité des méthodes de détection et des données fiables existantes quant à leur risque vis-à-vis de la santé humaine (European Endocrine Strategy). La nouvelle Directive relative aux eaux souterraines (Directive, 2006/118/EC) n'inclue pas de PPs dans sa liste de polluants. Il est à noter que dans le cas des pesticides, le principe de précaution a conduit à une valeur maximale admissible de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ dans l'eau potable bien que l'impact réel sur la santé humaine n'est jamais été démontré.

Les produits pharmaceutiques sont également exemptés de la Directive REACH (Directive, 1907/2006), arguant du fait qu'ils sont déjà contrôlés dans le cadre de directives portant sur leur usage pour l'homme (Directive, 2001/83/EC) et les animaux (Directive, 2001/82/EC). La Directive 65/65/EEC sur les produits pharmaceutiques à usage humain exige que la qualité, la sécurité et l'efficacité d'une nouvelle molécule soient démontrées par la compagnie pharmaceutique pour obtenir l'autorisation de mise sur le marché. Dans ce cadre, l'étude de risque est centrée sur la sécurité du patient et ne concerne que très peu l'environnement. La

prise en compte du risque environnemental des médicaments à usage vétérinaire et humain est établie avec les Directives européennes 90/676/EEC et 93/39/EEC respectivement, remplacées en 2004 par les Directives 2004/27/EC et 2004/28/EC. Pour les médicaments à usage humain, l'évaluation du risque environnemental doit accompagner l'autorisation de mise sur le marché et fournir des données en termes d'exposition et d'écotoxicité. Le document guide de l'EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) est recommandé : il fixe une concentration seuil de $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ dans le milieu aquatique avant d'engager une évaluation du risque environnemental (EMA, 2006).

L'estimation du risque environnemental nécessite d'intégrer des données d'occurrence et de danger, données souvent fragmentaires pour la grande majorité des composés pharmaceutiques. Dans nos travaux, nous avons tenté une première estimation de risque, à l'échelle régionale, pour une douzaine de composés pharmaceutiques. L'approche mise en œuvre intègre une étape de détection et une étape d'évaluation de la toxicité des composés ciblés afin d'estimer leur niveau de risque éco-toxicologique (Figure 2). L'adaptation d'un traitement tertiaire a ensuite été envisagée et testée dans un objectif de réduction du risque potentiel et de préservation de la qualité des ressources en eau.

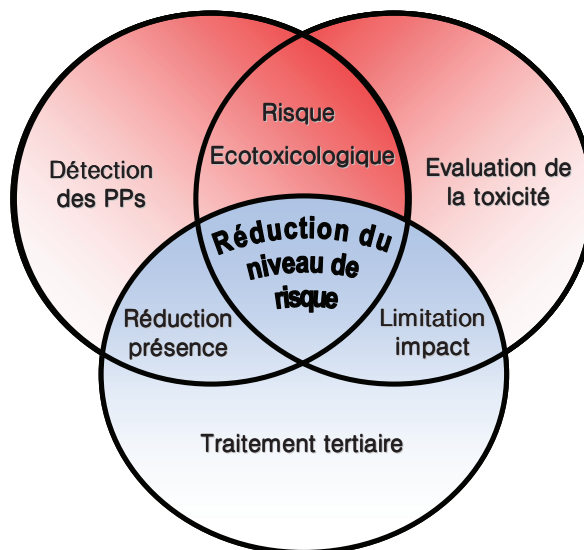


Figure 2 Approche intégrée

Nous avons ciblé 7 stations d'épuration urbaine du Sud Est de la France et recherché 12 molécules pharmaceutiques dans leurs effluents durant une période variant de 3 à 6 mois. L'impact de ces effluents sur le milieu récepteur a été estimé en termes d'effet toxique. La démarche de l'EMA a alors été utilisée pour l'estimation du risque potentiel des composés pharmaceutiques détectés dans les eaux naturelles. Enfin, l'irradiation par les rayonnements

UV et l'adsorption sur charbon actif ont été testés pour tenter de limiter l'occurrence et l'impact dans l'environnement des PPs présents.

Dans une première partie bibliographique, la présence des composés pharmaceutiques dans l'environnement en relation avec les données de consommation ainsi que la démarche d'évaluation du risque environnemental lié à ces molécules sont traitées. Parallèlement, une revue des derniers avancements en termes d'analyse des produits pharmaceutiques par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem est réalisée. Enfin, quelques expériences de photolyse UV et d'adsorption sur charbon actif réalisés sur plusieurs molécules pharmaceutiques sont présentées.

La deuxième partie est consacrée au cadre expérimental de ces travaux. Elle présente les molécules pharmaceutiques étudiées et leurs caractéristiques physico-chimiques, les sites échantillonnés et leurs spécificités, la démarche analytique adoptée, les tests de toxicité mis en œuvre (Microtox, ToxScreen et Protoxkit) et le matériel utilisé dans les essais de traitement par photolyse UV et adsorption sur charbon actif.

La troisième partie de ce travail décrit tout d'abord la méthode d'analyse multi résidus mise au point pour la détection des molécules pharmaceutiques sélectionnées dans les matrices environnementales étudiées. La présence des PPs étudiés dans les effluents de STEP et les milieux récepteurs afférents est ensuite examinée au regard de la consommation de médicaments et des procédés de traitement des eaux usées existants sur les sites échantillonnés. Enfin, l'estimation du risque environnemental pour les molécules présentes dans le milieu naturel a été menée.

La dernière partie de ce mémoire est dédiée aux essais de traitement par photolyse UV et d'adsorption sur charbon actif des molécules étudiées afin d'estimer la potentialité de ces deux procédés pour éliminer les résidus de médicaments dans le milieu naturel. Les essais ont été menés dans l'eau pure et dans un effluent de STEP afin de caractériser l'impact de la matrice environnementale sur l'efficacité du procédé testé.

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Les substances pharmaceutiques dans l'environnement

Un nombre élevé de molécules pharmaceutiques sont consommées en Europe et plus particulièrement en France et sont susceptibles de contaminer les eaux environnementales (eaux de surface, eaux souterraines,...). Leur présence dans les effluents et dans les milieux aquatiques a été détectée dès les années 80. C'est ainsi que depuis une dizaine d'années, les recherches sur le comportement et les impacts sur l'environnement et la santé humaine de ces molécules se sont multipliées.

1.1.1 Usage et Consommation des produits pharmaceutiques (France et Europe)

Ce sont les pays industrialisés qui sont les plus gros consommateurs de produits pharmaceutiques : l'Europe, l'Amérique du Nord et le Japon représentent environ 80% du marché mondial pour moins de 15 % de la population. Dans ces pays, la consommation est estimée entre 50 et 150 g personne⁻¹ an⁻¹ alors que la consommation mondiale moyenne est de 15 g personne⁻¹ an⁻¹.

Les médicaments représentent plus de 4000 molécules, réparties sur près de 10000 spécialités pharmaceutiques commercialisées. Les plus vendus, en chiffre d'affaire, sont ceux concernant l'appareil cardiovasculaire et le système nerveux central puis l'appareil digestif, les maladies respiratoires et enfin les anti-infectieux (IMS Health, 2008). En termes de chiffre d'affaires, la France est le 4^{ème} consommateur mondial de médicaments après les Etats-Unis, le Japon et l'Allemagne en 2006 (données LEEM les entreprises du médicament, 2008).

En France (MEDICAM, 2007) et en Europe, 8 classes thérapeutiques sont prédominantes. Elles représentent, à elles seules, 30 à 33 % du volume global de consommation de médicaments en France et cela sans prendre en compte les quantités de certains médicaments délivrés sans ordonnance (CNAM, 2007). Le Tableau I-1 regroupe les données de consommation pour 5 pays européens (Allemagne, Espagne, Italie, Royaume Uni et France),

données exprimées en nombre d'unité standard par habitant et par an. (Le Pen *et al.*, 2007) ont particulièrement étudié les différences de consommation entre ces pays et montrent que les rapports de consommation d'un pays à l'autre diffèrent selon l'unité choisie. Une évaluation de la consommation en unités (c.-à-d. nombre de boîtes) conduit à une surestimation de la consommation française par rapport aux autres pays européens, les conditionnements étant différents entre pays. L'unité standard permet de tenir compte du nombre de comprimés par boîte (plus élevés en Allemagne et Royaume-Uni (DREES, 2006a)). L'origine des données peut également être un facteur limitant pour une analyse comparative : en France, seuls les médicaments remboursés par le régime général de santé sont pris en compte.

Tableau I-1 Consommation en PPs pour 5 pays d'Europe et rang de la France (Total, (DREES, 2006a)) et pour les principales classes thérapeutiques en 2006 (Le Pen *et al.*, 2007; Sabban & Courtois, 2007)

Classe	Nb d'unités standards*/hab/an					Rang de la France	
	Allemagne	Espagne	Italie	Royaume-Uni	France		
Analgésiques non narcotiques antipyrétiques	50	76	23	117	146	1	
Produits de l'hypertension artérielle (dont IEC et sartans)/ β -bloquants seuls	144 (51) / 39	82 (36) / 12	108 (49) / 17	118 (34) / 24	110 (39) / 23	3	
Psychotropes	Antidépresseurs	17	21	14	28	29	1
	Tranquillisants	5	36	22	6	40	1
	Antiépileptiques	11	15	10	17	13	3
Antiasthmatiques	56	70	18	175	78	2	
Hypocholestérolémiantes (dont statines)	21 (15)	23 (20)	18 (14)	32 (29)	42 (25)	1 (2)	
Antidiabétiques oraux	25	30	28	28	36	1	
Antibiotiques oraux	8	18	14	19	22	1	
IPP antiulcéreux	12	29	16	19	22	2	
Quantité d'unité standard vendue aux officines par habitants 2004 Total	1049	1023	746	1136	1535	1	

*L'unité standard correspond à la plus petite dose commune d'une spécialité tous dosages confondus (ex : 1 comprimé, 1 ampoule, 1 cuillère-mesure...).

Le Tableau I-1 montre que la France occupe une place prépondérante dans la consommation médicamenteuse européenne et que pour 5 des 8 classes répertoriées les consommations françaises sont supérieures à celles de nos voisins européens. En Italie, pays le moins consommateur et où le prix des médicaments est particulièrement élevé, les ventes de médicaments sont deux fois moins élevées qu'en France (DREES, 2006a).

Les disparités de consommation en Europe et les particularités françaises ont été plus particulièrement étudiées pour certaines des principales classes thérapeutiques (DREES 2006; CNAM 2007; Le Pen, Lemasson et al. 2007; SabbanetCourtois 2007).

Les analgésiques non narcotiques antipyrétiques et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent la classe pharmaceutique la plus consommée en Europe. Les analgésiques sont la classe de médicaments la plus prescrite en France qui se retrouve en tête des consommations avec 146 unités standards $\text{hab}^{-1} \text{an}^{-1}$ en 2006 soit 2 fois plus qu'en Espagne, 3 fois plus qu'en Allemagne et 7 fois plus qu'en Italie (Tableau I-1). La consommation française ne cesse de croître (380 millions de boîtes remboursées en 2007 contre 358 millions en 2006). Toutefois pour ces composés, seuls les médicaments remboursables par les différents systèmes de santé ont été pris en compte et il est plus difficile de se faire une idée de la consommation réelle du fait d'une part importante de médicaments en vente libre.

Les analgésiques non narcotiques antipyrétiques les plus consommés sont le paracétamol (61 %), le dextropropoxyfène (18 %), l'acide acétylsalicylique (7 %) et l'ibuprofène (6 %) (Figure I-1).

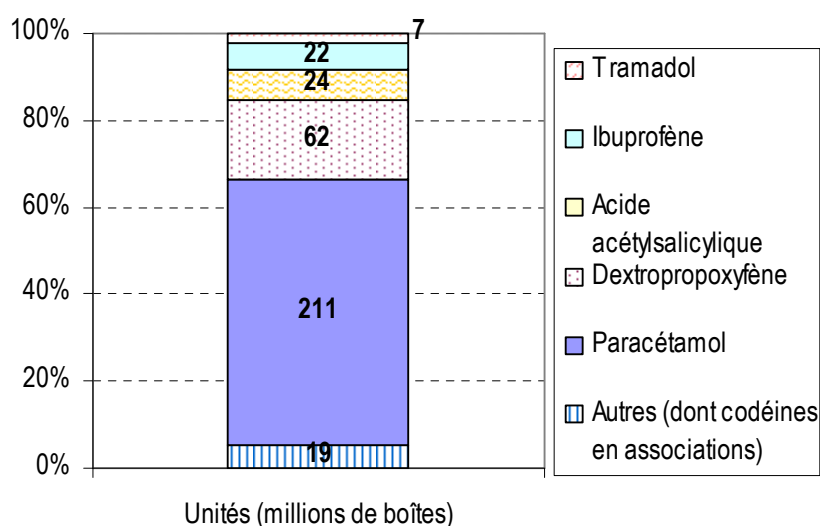


Figure I-1 Répartition des analgésiques non narcotiques antipyrétiques en France en 2007 (en millions de boîtes)

Les français sont de très grands consommateurs de paracétamol ($47 \text{ g hab}^{-1} \text{an}^{-1}$) en comparaison des anglais ($16 \text{ g hab}^{-1} \text{an}^{-1}$), des allemands ($4,5 \text{ g hab}^{-1} \text{an}^{-1}$) et des espagnols ($3,6 \text{ g hab}^{-1} \text{an}^{-1}$) selon l'étude réalisée au cours du projet KNAPPE (Sadezky *et al.*, 2008).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens les plus consommés sont le diclofénac (26 %), suivi du kétoprofène (20 %) et du piroxicam (9 %) (Figure I-2)

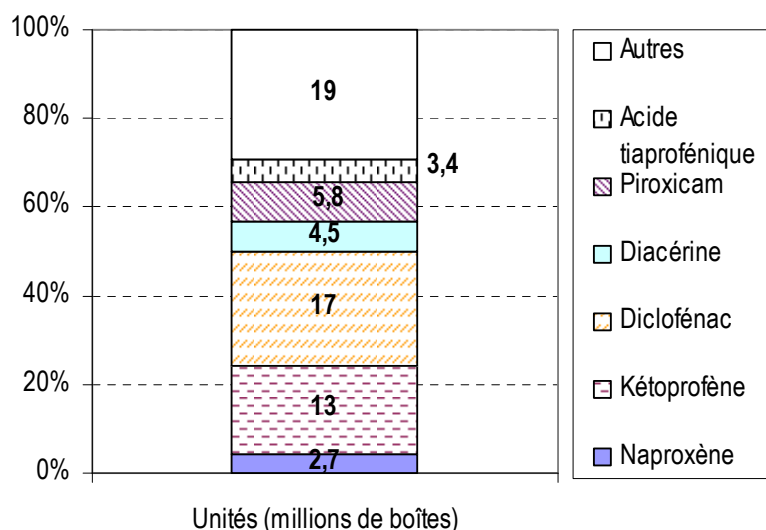


Figure I-2 Répartition des molécules au sein des AINS en France en 2007 (millions de boîtes remboursées) (MEDICAM, 2007)

La consommation de diclofénac est la plus élevée en Allemagne ($0,88 \text{ g hab}^{-1} \text{ an}^{-1}$), suivi du Royaume Uni ($0,54 \text{ g hab}^{-1} \text{ an}^{-1}$), de la France ($0,17 \text{ g hab}^{-1} \text{ an}^{-1}$) et l'Espagne ($0,06 \text{ g hab}^{-1} \text{ an}^{-1}$) et au (Sadezky *et al.*, 2008).

Les antihypertenseurs, deuxième classe pharmaceutique la plus consommée en Europe, regroupent 5 principaux types de médicaments :

- les diurétiques,
- les β -bloquants,
- les inhibiteurs calciques (ICA),
- les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC),
- les produits actifs sur le système rénine-angiotensine (sartans ou ARA II),

En France, les patients atteints d'hypertension artérielle sont traités principalement par diurétiques (55 %), suivis des β -bloquants (39 %) et des sartans (37 %) (Tableau I-2). La somme est supérieure à 100 % car certains patients sont traités par 2 voire 3 des classes thérapeutiques préconisées (35 % et 17 % des patients traités respectivement).

La France se situe au 3^{ème} rang de la consommation européenne de sartans et de β -bloquants, derrière l'Allemagne et le Royaume-Uni.

Tableau I-2 Répartition des traitements de l'HTA en France (Samson *et al.*, 2007)

Traitements de l'HTA	Taux de patients traités par classes thérapeutiques prescrites 2006
Antagoniste de l'angiotensine II (ARAII) ou sartans	37 %
IEC	29 %
Diurétiques total	55 %
β-bloquants	39 %
Inhibiteurs calciques	29 %
Autres antihypertenseurs	9 %

En Angleterre et en Belgique, des directives spécifiques recommandent l'emploi de diurétiques en premier choix et non des sartans, plus coûteux. (Sabban & Courtois, 2007).

La répartition des différentes classes d'antihypertenseurs en France en 2007, représentée dans la Figure I-3 en millions de boîtes remboursées, montre une prédominance des β-bloquants suivis des diurétiques.

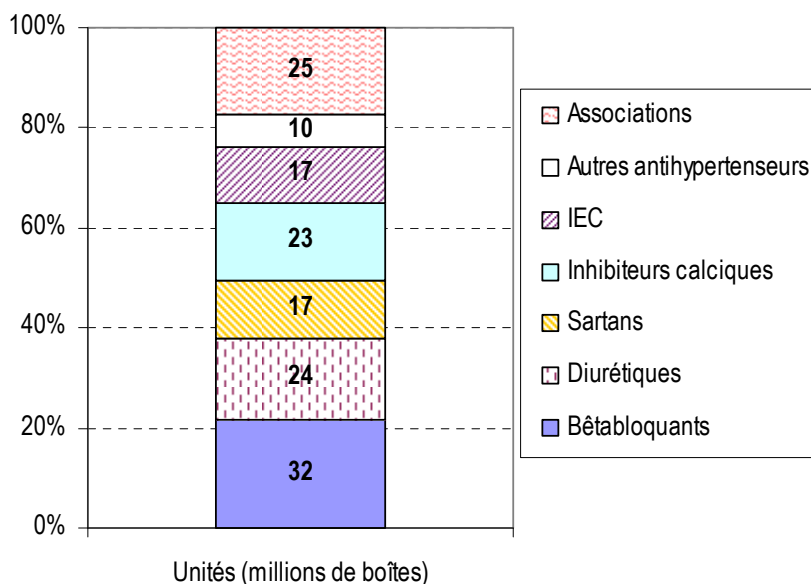


Figure I-3 Répartition des différentes classes d'antihypertenseurs en nombre de boîtes remboursées en France en 2007 calculé d'après les données de la CNAMTS (MEDICAM, 2007)

Parmi les diurétiques, le furosémide est prédominant (48 %) suivi de la spironolactone (14 %) comme le montre la Figure I-4 (à gauche). Au sein des sartans, la consommation est répartie de manière égale entre le valsartan, l'irbesartan et le candesartan qui représentent à eux trois 68 % du nombre des boîtes de sartans remboursées (MEDICAM, 2007).

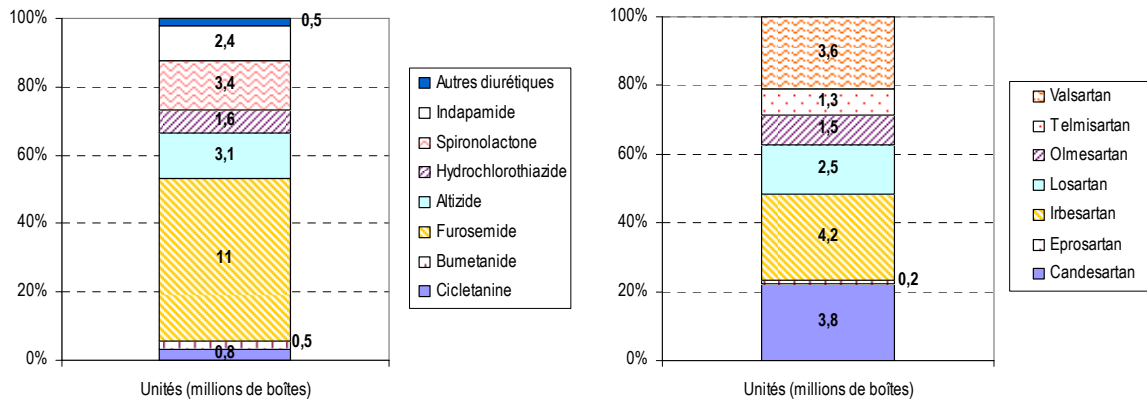


Figure I-4 Répartition des différentes molécules de diurétiques (à gauche) et des sartans (à droite) en nombre de boîtes, en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007)

Les associations de 2 à 3 antihypertenseurs sont également fréquentes (Figure I-5), l'association antagonistes de l'angiotensine II (Sartans) et diurétiques étant la plus répandue (Samson *et al.*, 2007).

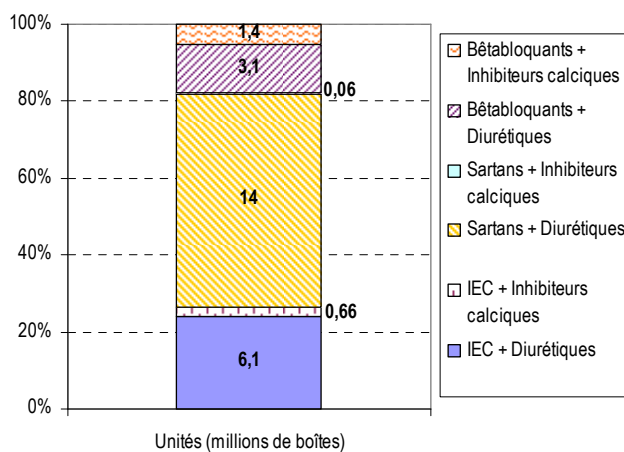


Figure I-5 Répartition des associations d'antihypertenseurs en nombre de boîtes, en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007)

Au sein des β -bloquants, une vingtaine de molécules sont disponibles en France. Les 6 plus consommées en nombre de boîtes sont le bisoprolol, l'aténolol, l'acébutolol, le propranolol, le sotalol et le céliprolol et représentent plus de 80 % de la consommation totale (Figure I-6). Pour chacune de ces molécules les dosages diffèrent et conduisent à une répartition en poids différent (MEDICAM, 2007).

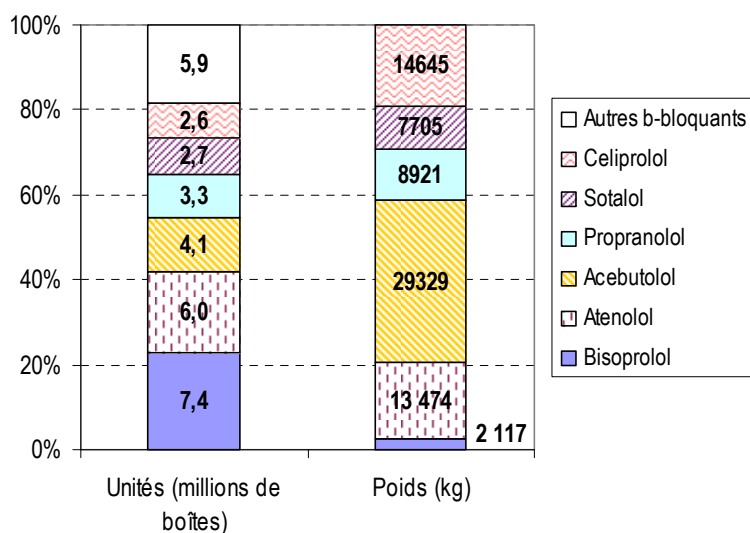


Figure I-6 Répartition des différentes molécules au sein des β -bloquants, en termes de nombre de boîtes et répartition selon le poids pour les molécules citées, en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007)

La France se situe depuis de nombreuses années au premier rang de la consommation de **psychotropes**. C'est la deuxième classe thérapeutique la plus consommée après les analgésiques. Les psychotropes regroupent plusieurs types de traitements, selon la classification ATC (Anatomique, Thérapeutique et Chimique) (Tableau I-3) :

- les psycholeptiques (anxiolytiques ou tranquillisants, hypnotiques et sédatifs),
- Les psychoanaleptiques (antidépresseurs et psychostimulants)
- Les psychodysleptiques (substances hallucinogènes sans visée thérapeutique)
- Les thymorégulateurs (antiépileptiques et les sels de lithium)

Tableau I-3 Classification des principaux psychotropes

Classe	Cible thérapeutique	Ex. de noms commerciaux (principe actif)
Hypnotiques (sommifères)	Inhibiteurs de l'éveil et de la vigilance	Imovane® (zopiclone), Stilnox® (zolpidem).
Anxiolytiques (tranquillisants mineurs)	Réduction des états anxieux par l'induction d'une sédation	Temesta® (lorazepam), Lexomil® (bromazépan), Valium® (diazépan), Seresta® (oxazépan)
Neuroleptiques (tranquillisants majeurs)	Réduction des symptômes psychotiques	Nozinan® (levomepromazine), Tercian® (cyamemazine), Haldol® (halopéridol), Dogmatil® (sulpiride)
Antidépresseurs	Traitement des épisodes dépressifs	Les antidépresseurs tricycliques : Tofranil® (imipramine), Athymil® (miansérine), Laroxyl® (amitryptiline)
		Les inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO)
		Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) Déroxat® (paroxétine) et Prozac® (fluoxétine)
Psychostimulants	Stimulation de la vigilance et des activités mentales	Caféine et méthylphénidate

L'écart entre la France et les autres pays est surtout marqué pour les anxiolytiques-hypnotiques, et dans une moindre mesure pour les antidépresseurs (Tableau I-4) (DSE, 2004a). La co-prescription « anxiolytique - antidépresseur » est la plus courante des co-prescriptions de psychotropes (Briot, 2006).

Tableau I-4 Répartition de la prescription de psychotropes en France en 2000 (DSE, 2004b)

Catégories	% de la population française ayant bénéficié d'une prescription au moins une fois dans l'année (2000)
Hypnotiques	8,8 %
Anxiolytiques	17 %
Neuroleptiques	2,7 %
Antidépresseurs	9,7 %

Les benzodiazépines représentent une part importante de la consommation d'*anxiolytiques*. Le lorazépam, l'alprazolam, le bromazépam et l'oxazépam représentent plus de 60 % des boîtes de tranquillisants vendus en France en 2007 (MEDICAM, 2007) (Figure I-7). Le lorazépam est beaucoup plus consommé en Allemagne (1,0 g hab⁻¹ an⁻¹) qu'en France (0,01 g hab⁻¹ an⁻¹) (Sadezky *et al.*, 2008).

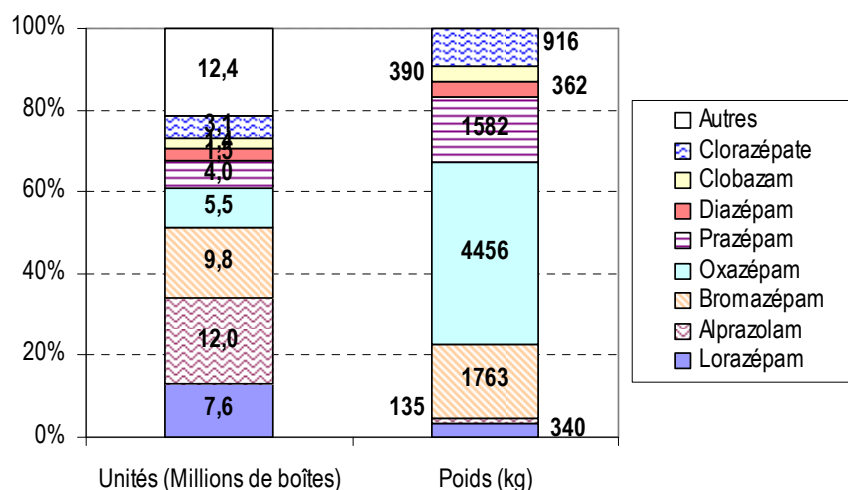


Figure I-7 Répartition des différentes molécules de tranquillisants de la famille des benzodiazépines, en termes de nombre de boîtes et répartition selon le poids pour les molécules citées, en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007)

La France se situe en 3^{ème} position de la consommation des *antiépileptiques* en Europe, derrière le Royaume-Uni et l'Espagne (Tableau I-1). La consommation globale française est estimée à 19 millions de boîtes en 2007 (MEDICAM, 2007). Les antiépileptiques les plus consommés sont l'acide valproïque le clonazépam et la carbamazépine (Figure I-8).

La consommation d'acide valproïque est de 1,9 g hab⁻¹ an⁻¹ en France contre 0,72 et 0,50 g hab⁻¹ an⁻¹, en Allemagne et au Royaume Uni, respectivement. A l'inverse, la carbamazépine est plus consommée en Allemagne (1,0 g hab⁻¹ an⁻¹) et au Royaume Uni (0,77 g hab⁻¹ an⁻¹) qu'en France (0,61 g hab⁻¹ an⁻¹) (Sadezky *et al.*, 2008).

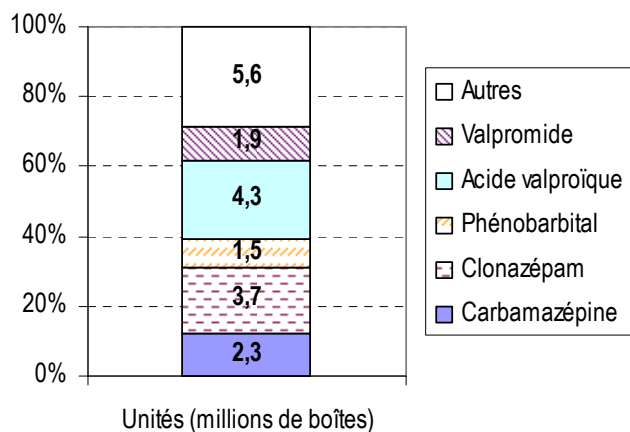


Figure I-8 Répartition des molécules dans la classe des antiépileptiques , en termes de nombre de boîtes en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007)

Concernant la consommation **des antiasthmatiques**, la France se place en deuxième position derrière le Royaume-Uni. La molécule dominante est le salbutamol (ex : Ventoline®) qui représente presque 20 % des antiasthmatiques.

La France est au premier rang de la consommation de **régulateurs de lipides** qui regroupent les statines et les fibrates. En réaction avec la progression constante de la prévalence des maladies cardiovasculaires, l'utilisation *des statines* progresse (doublement des volumes de prescription entre 2001 et 2008) au détriment des fibrates qui ne représente plus que 22 % (nombre de boîtes de la consommation de régulateurs de lipides en 2007 (CNAM, 2008)). En France, l'atorvastatine est la statine la plus consommée suivie de la pravastatine et de la simvastatine qui représentent à elles deux 50 % de la consommation globale de statines en 2006 et 2007. La répartition des statines est différente dans les autres pays européens (Figure I-9).

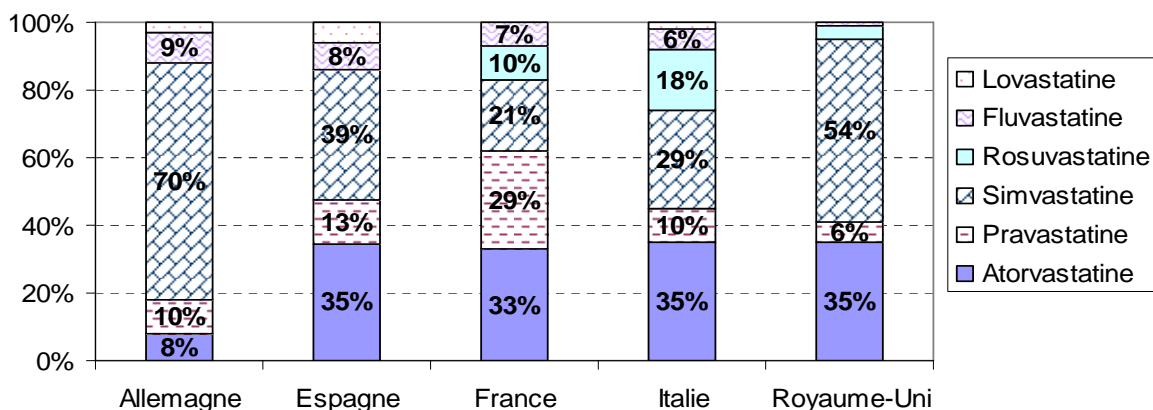


Figure I-9 Répartition de la consommation des molécules de statines (en pourcentage d'unités standards) (CNAM, 2007)

Des particularités de consommation sont également mises en évidence pour *les fibrates* (Figure I-10). Le clofibrate (retiré de la vente depuis 2001 en France) et l'étofibrate (largement consommé en Allemagne) sont remplacés en France par le fénofibrate (> 80 %), le ciprofibrate (10 %), le bézafibrate (7,5 %) et le gemfibrozil (1,5 %). (MEDICAM, 2007))

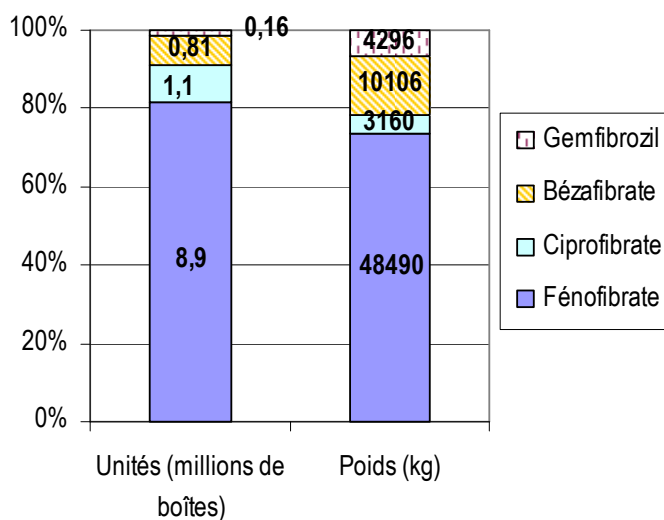


Figure I-10 Répartition des molécules au sein des régulateurs de lipides fibrates, en termes de nombre de boîtes en France en 2007, estimée d'après les données (MEDICAM, 2007)

La consommation de fénofibrate en France est de $1,4 \text{ g hab}^{-1} \text{ an}^{-1}$ en France contre $0,17$ et $0,05 \text{ g hab}^{-1} \text{ an}^{-1}$, en Allemagne et au Royaume Uni, respectivement (Sadezky *et al.*, 2008).

Les antidiabétiques occupent la 4^{ème} place dans la consommation médicamenteuse française (Le Pen *et al.*, 2007). Avec une consommation de 36 unités standards hab⁻¹ an⁻¹ (Tableau I-1), la France est la première consommatrice en Europe (37 millions de boîtes remboursées en 2007). Trois molécules représentent plus de 80 % de la consommation française: la metformine (56 %), le gliclazide (17 %) et le glimépiride (8 %).

La consommation de metformine est de 12 g hab⁻¹ an⁻¹ en France contre 6,3 et 5,9 g hab⁻¹ an⁻¹, en Allemagne et au Royaume Uni, respectivement (Sadezky *et al.*, 2008).

La France est le pays le plus consommateur d'**antibiotiques** en Europe suivi de près par le Royaume Uni et l'Espagne (Tableau I-1). Les antibiotiques se subdivisent en plusieurs familles et sous groupes selon la nature et la spécificité du spectre d'action. Dans le Tableau I-5 sont reportées les données de consommation (en dose définie journalière, DDJ) pour les classes principales (en gras) et leurs sous groupes dans quelques pays en Europe (données de l'année 2005, sauf Italie : données de 2003). Depuis la mise en évidence d'une résistance bactérienne aux antibiotiques (Kummerer, 2004; Lévi, 2006), la consommation de ces médicaments est surveillée pour 34 pays d'Europe et limitrophes par l'« European Surveillance of Antimicrobial Consumption » (ESAC) et une base de donnée (http://www.esac.ua.ac.be/esac_service/applet/eidb.html) reporte les données de consommation d'antibiotiques entre 1998 et 2005 (Goossens *et al.*, 2005).

Les consommations de l'Allemagne et de la Hollande (pays les moins consommateurs) sont 2,5 à 3 fois plus faibles qu'en France. Il semblerait que les pays du Nord et de l'Est de l'Europe consomment moins d'antibiotiques que ceux du Sud de l'Europe. Une consommation plus prononcée en hiver est observée pour les antibiotiques employés dans le cas d'infections respiratoires, et ceci pour l'ensemble des 21 pays avec un rapport hiver/été moyen de 1,33 et légèrement plus faible pour 7 pays du Nord de l'Europe (1,20). En France, ce rapport est particulièrement marqué et la consommation augmente de plus de 33 % en moyenne durant les mois d'hiver (Pepin & Ricordeau, 2006). Par contre, de faibles variations saisonnières sont observées pour les quinolones qui sont surtout employées pour les infections urinaires à l'exception de certaines fluoroquinolones de 3^{ème} génération employées pour les infections respiratoires (Ferech *et al.*, 2006).

Tableau I-5 Consommation d'antibiotiques dans quelques pays d'Europe (ESAC)

Consommation en DDJ pour 1000 hab j ⁻¹	France 2005*	Espagne 2005	Italie 2003	Allemagne 2005	Royaume-Uni 2005	Hollande 2005	Pologne 2005
Tétracyclines	3,4	0,6	0,49	2,56	3,34	2,41	2,91
β lactamines pénicillines Total	14,44	11,73	12,31	4,38	7,15	4,09	7,58
Pénicillines résistantes aux β-lactamases	0,46	0,2	0,02	0,02	0,91	0,29	0,01
Pénicillines sensibles aux β-lactamases	0,15	0,08	0,01	1,1	0,66	0,44	0,3
Combinaison de pénicillines	6,09	7,53	5,76	0,23	1,01	1,5	0,62
Pénicillines à large spectre	7,74	3,92	6,52	3,03	4,57	1,86	6,65
β lactamines céphalosporines Total	3,22	1,73	3,34	1,46	0,79	0,05	1,72
1 ^{ère} génération	0,22	0,02	0,17	0,12	0,61	0,01	0,26
2 ^{ème} génération	1,28	1,27	1,23	0,93	0,17	0,03	1,46
3 ^{ème} génération	1,72	0,44	1,94	0,41	0,01	0,01	0
Sulfonamides et triméthoprime	0,47	0,3	0,03	0,94	1,07	0,63	0,58
Macrolides et apparentés Total	4,54	2,32	4,99	2,62	2,29	1,5	3,61
Lincosamides	0,04	0,06	0,08	0,27	0,02	0,08	0,54
Macrolides	3,66	2,26	4,91	2,35	2,27	1,42	3,07
Streptogramines	0,84	0	0	0	0	0	0
Aminoglycosides	0,06	0,01	0,05	0,04	< 0,01	0,02	0,05
Quinolones Total	2,18	2,26	3,01	1,36	0,52	0,86	1,14
Fluoroquinolones	2,06	2,18	2,71	1,36	0,52	0,84	1,14
Autres quinolones	0,12	0,08	0,3	0	0	0,02	0
Autres antibactériens	0,61	0,25	0,64	0,34	0,28	0,95	2
Total	29	19	25	14	15	11	20

* En France, antibiotiques remboursés par le régime général d' Assurance Maladie, en ville.

Les classes d'antibiotiques telles que les pénicillines, les céphalosporines et les macrolides sont indiquées dans le traitement des infections respiratoires. *Les pénicillines* représentent la famille d'antibiotiques la plus consommée (38 %) et pour laquelle la France se retrouve en tête des consommations d'antibiotiques (Figure I-11). L'amoxicilline en est la molécule phare (90 %). La consommation d'amoxicilline est de 6,5 g hab⁻¹ an⁻¹ en France contre 1,2 et 1,5 g hab⁻¹ an⁻¹, en Allemagne et au Royaume Uni, respectivement (Sadezky *et al.*, 2008).

Viennent ensuite *les céphalosporines* qui représentent 24 % de la consommation d'antibiotiques. Elles sont divisées en 3 générations selon leur spectre d'action. Les niveaux de consommation de céphalosporines de 3^{ème} génération sont particulièrement élevés pour la France (53 % en 2005) et l'Italie (Pepin & Ricordeau, 2006) et ne cessent de croître. Il est à noter que la prescription de ces molécules récentes en France est liée à l'apparition de résistance aux antibiotiques.

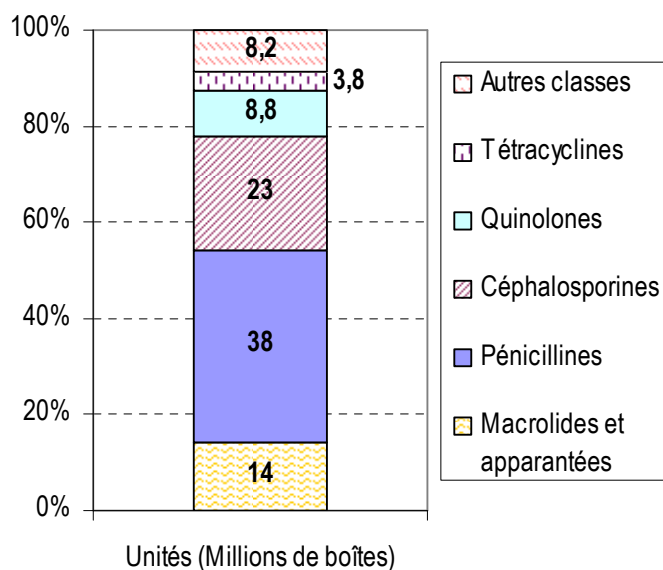


Figure I-11 Répartition des principales classes d'antibiotiques en termes de nombre de boîtes en France en 2007 calculé d'après les données (MEDICAM, 2007)

Les macrolides et molécules apparentées se placent en deuxième position en terme de DDJ (données 2005) et représentent 14 % de la consommation d'antibiotiques en nombre de boîtes en France en 2007 (Figure I-11). Deux molécules, la spiramycine et la clarithromycine représentent plus de 60 % des macrolides consommées.

Dans le cas des *tétracyclines* également, la consommation est concentrée principalement sur 3 molécules, doxycycline (56 %), minocycline (21 %) et lymecycline (17 %). La France est en tête des consommations en Europe pour cette classe avec 3,4 DDJ pour 1000 hab j^{-1} (Tableau I-1) mais elle représente moins de 4 % de la consommation globale d'antibiotiques en France en 2007.

Les quinolones arrivent en 4^{ème} position des antibiotiques les plus consommées en France en terme de DDJ avec près de 9 millions de boîtes remboursées en 2007 (Figure I-11). Elles sont classées en 3 groupes, selon leur structure chimique et leur activité microbienne (Ferech *et al.*, 2006) :

- 1^{ère} génération qui regroupe les dites « autres quinolones » (ex : fluméquine et acide pipémidique) et la norfloxacin,
- 2^{ème} (ofloxacin, ciprofloxacine, levofloxacine, ...) et 3^{ème} génération (moxifloxacine) qui sont uniquement des fluoroquinolones.

Ces antibiotiques sont généralement employés pour le traitement des infections urinaires (principalement la norfloxacine) et moins pour les infections des voies respiratoires ou intestinales. La France est en 3^{ème} position pour la consommation de quinolones en Europe, derrière l'Italie et l'Espagne et présente une consommation naissante de quinolones de 3^{ème} génération moins prononcée que pour ces deux autres pays européens (Figure I-12).

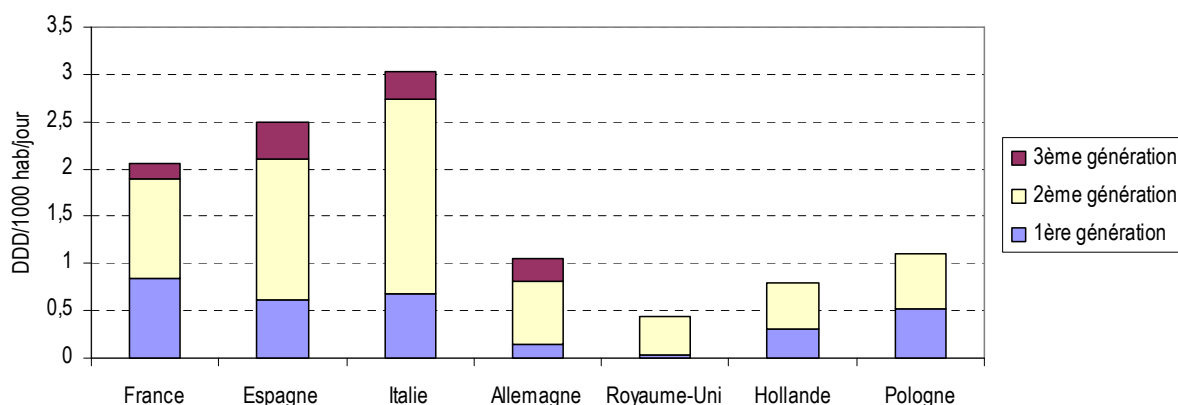


Figure I-12 Consommation de quinolones en Europe en 2003 (Pologne en 2002) (Ferech *et al.*, 2006)

La consommation de quinolones est répartie sur plusieurs molécules (Figure I-13), dont les principales sont la norfloxacine (35 % en poids et 26 % en nombre de boîtes), la ciprofloxacine (34 % en poids) et l'ofloxacine (12 % en poids). La moxifloxacine est la seule quinolone de 3^{ème} génération en 2007. Elle représente 6 % de la consommation de quinolones, aussi bien en poids qu'en nombre de boîtes.

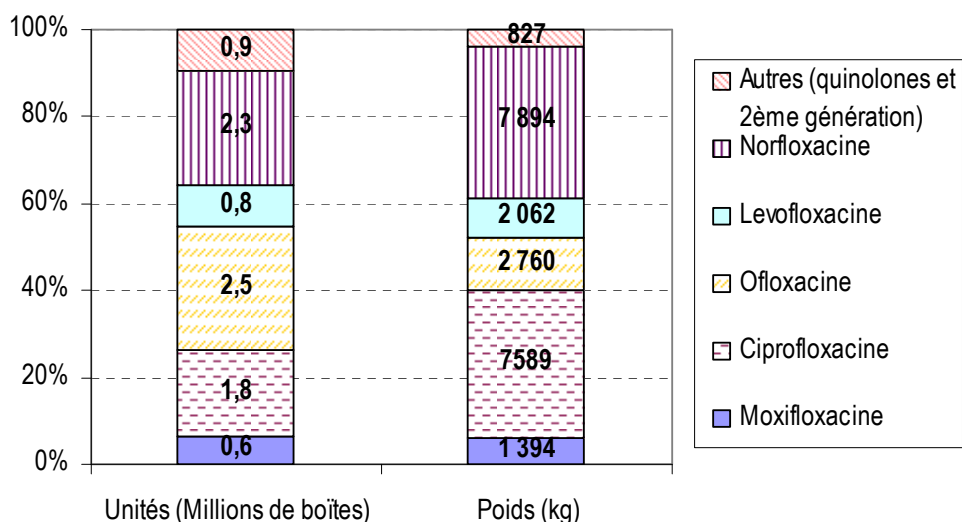


Figure I-13 Répartition des quinolones par molécules (en pourcentage de kg et nombre de boîtes) en France en 2007 calculé d'après les données (MEDICAM, 2007)

Les sulfonamides ne représentent qu'une faible part de la consommation globale d'antibiotiques en France (< 2 %, 1,5 millions de boîtes en France en 2007). La consommation de sulfaméthoxazole est prédominante et elle est toujours associée à la prise de triméthoprime.

Les antiulcéreux (IPP) sont très largement consommés en France (38,7 millions de boîtes remboursées en 2007 (MEDICAM, 2007)) qui se place au 2^{ème} rang derrière l'Espagne avec 22 unités standards hab⁻¹ an⁻¹ (Tableau I-1). Comme le montre la Figure I-14, la consommation européenne d'IPP est en forte proportion tournée vers le lansoprazole et l'oméprazole.

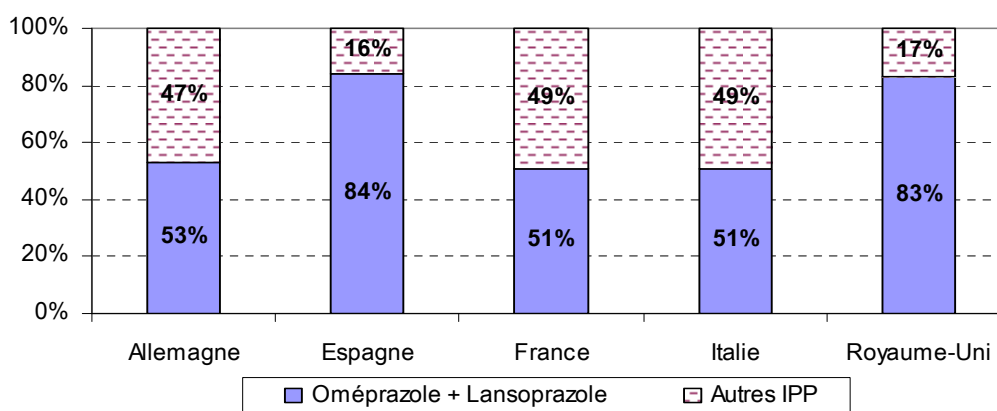


Figure I-14 Répartition des molécules d'IPP consommées en Europe (en pourcentage d'unités standards) (CNAM, 2007)

En France, comme le montre la Figure I-15, l'oméprazole est la molécule la plus consommée (33 %) suivi du pantoprazole et de l'esoméprazole, l'isomère S de l'oméprazole (à 20 % chacun).

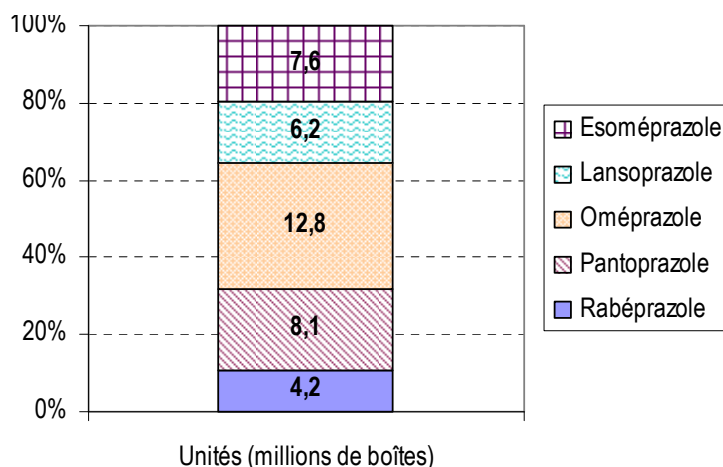


Figure I-15 Répartition de consommation d'IPP par molécule (en nombre de boîtes) en France en 2007 calculé d'après les données (MEDICAM, 2007)

Une autre classe de médicaments est employée pour traiter les troubles de l'acidité liés à l'ulcère, comme la cimétidine et la ranitidine. Ils font partie de la classe des antihistaminiques qui n'est pas traitée ici.

Les anticancéreux regroupent des substances actives contre les cellules tumorales. La classification des anticancéreux, basée sur la structure chimique des molécules et leur mécanisme d'action, distingue 4 grands groupes répertoriés dans le Tableau I-6.

Ils ne sont pas pris en compte dans l'étude comparative au niveau européen sur la consommation médicamenteuse de Sabban & Courtois (2007) du fait de leur distribution en milieu hospitalier susceptible d'introduire un biais dans les comparaisons internationales.

Tableau I-6 Classification des agents anticancéreux

Groupes	Classes	Ex. de molécules (principe actif)
Les antinéoplasiques	Agents alkylants (Dérivés de la N-bis chloréthylamine les nitroso-urées Alkyl sulfonates et autres)	Chlorambucil, Pipobroman, Cyclophosphamide, Ifosfamide (hôpital uniquement), Melphalan
	Alcaloïdes de La Pervenche, autres produits végétaux et épipodophylotoxines (altération fuseau mitotique)	Etoposide, Vinblastine, Vincristine, Vinorelbine
	Antimétabolites	Capécitabine, Cytarabine, Fluorouracile, Mercaptopurine, Methotrexate
	Antibiotiques	Bleomycine, Idarubicine, Mitomycine c, Doxorubicine (2007)
	Autres	Procarbazine, Hydroxycarbamide, Estramustine, Asparaginase, Dérivés du platine
Les cytostatiques à thérapie endocrine (dérivés hormonaux et les agents anti-hormonaux)	Analogues du facteur de libération des gonadotrophines (LH-RH)	Triptoréline
	Antiandrogènes	Bicalutamide, cyproterone
	Antioestrogènes	Tamoxifène
	Inhibiteurs de l'aromatase	Anastrozole
	Oestrogènes et progestatifs	Diéthylstilbestrol, mégestrol
	Autres modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes (MSRE)	Raloxifène
Les anticorps monoclonaux	Inhibiteur des récepteurs de tyrosine kinase	Mabthéra® (rituximab)
Inhibiteurs de signaux cellulaires	Anti-tyrosine-kinases	Dasatinib, Erlotinib, Imatinib, Sorafenib, Sunitinib,

Auparavant strictement réservée au milieu hospitalier, leur distribution s'est élargie aux soins de ville, facilitée par le développement de la chimiothérapie orale pour les cytostatiques. En ce qui concerne les anticancéreux remboursés par le régime général (Figure I-16), ils représentent une consommation en ambulatoire estimée à 6,2 millions de boîtes en 2007

(MEDICAM, 2007). La part de cytostatiques à thérapie endocrine est la plus importante (74 % des unités remboursées), notamment les inhibiteurs de l'aromatase cytostatiques (anastrozole) et les anti-estrogènes cytostatiques (tamoxifène) et autres modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes (MSRE). Parmi les antinéoplasiques, la classe des antimétabolites est la plus représentée (52 % des unités d'antineoplasiques). L'emploi des antibiotiques en chimiothérapie est faible mais d'autres antibiotiques comme les nitrofuranes, les nitroimidazoles, les fluoroquinolones et les quinolones sont en cours de développement.

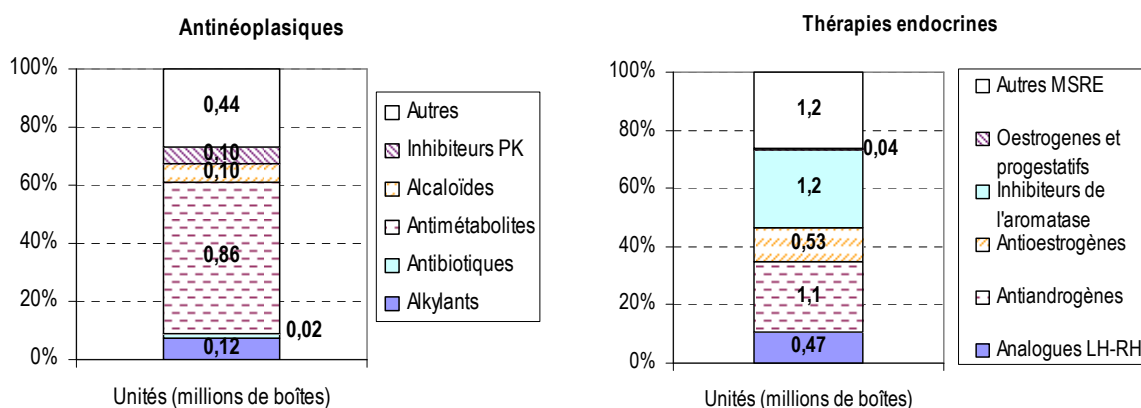


Figure I-16 Répartition des antinéoplasiques et des cytostatiques à thérapies endocrines par classe (en nombre de boîtes) en France en 2007 calculé d'après les données (MEDICAM, 2007).

La consommation médicamenteuse en France croit chaque année en relation avec plusieurs facteurs, notamment l'augmentation de nombreuses grandes pathologies et les facteurs démographiques tels que l'augmentation et le vieillissement de la population. Le volume de médicaments (nombre de boîtes vendues) a quasiment doublé entre 2000 et 2007. Toutefois chaque classe thérapeutique ne subit pas la même évolution, principalement en raison des actions de maîtrise médicalisée. Par exemple, entre 2000 et 2007, la consommation d'antineoplasiques a augmenté de 12 %, celle des analgésiques de 6 %, celles d'antiulcéreux et d'antidiabétiques de 5 %. Par contre, durant la même période, la consommation de psycholeptiques a diminué de 1 %. (DREES, 2008).

Consommation et disparités régionales en France

Dans le cadre de la maîtrise médicalisée des médicaments surconsommés, la Direction des Statistiques et des Etudes (DSE) de la Caisse Nationale de l'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés (CNAMTS) s'est attachée à évaluer la disparité géographique des

prescriptions d'antibiotiques, d'anxiolytiques/hypnotiques et de statines (DSE, 2004a). Cette étude met à jour des différences régionales en fonction de la densité médicale (généralistes et spécialistes), de l'âge de la population et de la proportion de patients atteints par une affection de longue durée.

Les prescriptions d'antibiotiques se répartissent entre 0,4 et 0,9 unités par habitant selon les régions (Figure I-17). La région Nord-Pas de Calais, Le Limousin et le nord de la région Aquitaine sont les plus gros consommateurs. Le Gard, l'Hérault et les Alpes Maritimes se situent dans la moyenne nationale de consommation.

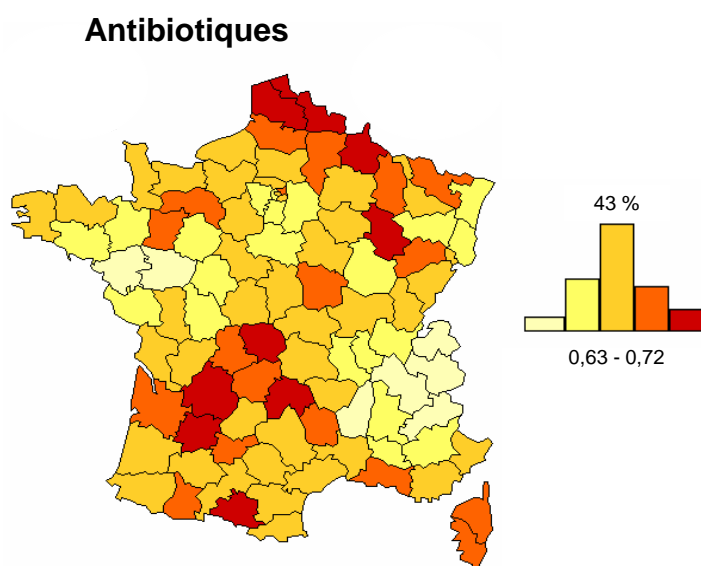


Figure I-17 Nombres de boîtes d'antibiotiques prescrites par patients entre janvier et août 2004 (DSE, 2004a)

Dans le cas des tranquillisants, des variations régionales plus marquées sont observées avec une disparité globale comprise entre 0,3 et 0,8 unités prescrites par habitant. (Figure I-18). L'âge est le facteur sociodémographique qui paraît le plus fortement associé à l'usage d'anxiolytiques-hypnotiques, et à l'usage prolongé en particulier (Briot, 2006). Les régions Centre, Limousin, Auvergne, Bourgogne, Bretagne et Nord-Pas de Calais sont consommatrices. Le Sud Est de la France et en particulier Le Gard, l'Hérault et les Alpes Maritimes se situent dans la moyenne nationale de consommation.

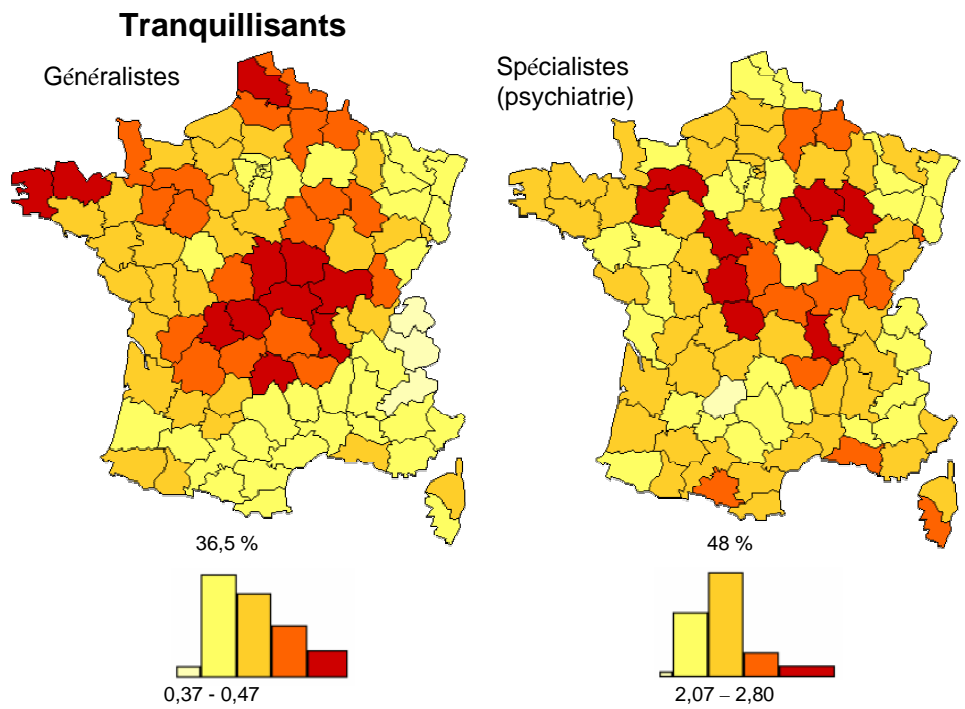


Figure I-18 Nombres de boîtes de tranquillisants prescrites par patients entre janvier et août 2004 (DSE, 2004a)

La Figure I-19 montre les prescriptions de statines (0,2 à 0,4 boîtes par patients), la moitié Nord-Ouest de la France étant la plus consommatrice. Le Sud-Est est plutôt en dessous de la moyenne nationale.

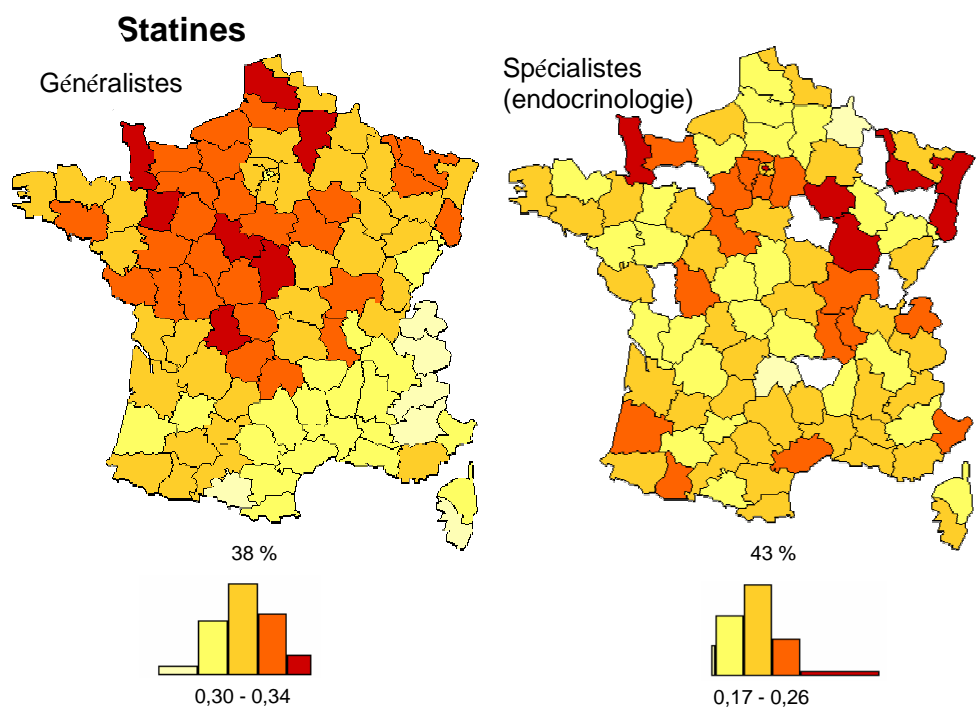


Figure I-19 Nombres de boîtes de statines prescrites par patients entre janvier et août 2004 (DSE, 2004a)

La répartition géographique des antiulcéreux a été étudiée en 2006 (CNAM, 2006a) et présente d'importantes disparités (Figure I-20). La moyenne nationale se situe autour de 69 boîtes pour 100 individus. Les plus fortes consommations se situent dans les régions Nord-Pas de Calais, Picardie, Centre, Limousin, Aquitaine et Provence-Alpes-Côte d'Azur. Le Gard, l'Hérault et les Alpes Maritimes font partie des départements consommateurs.

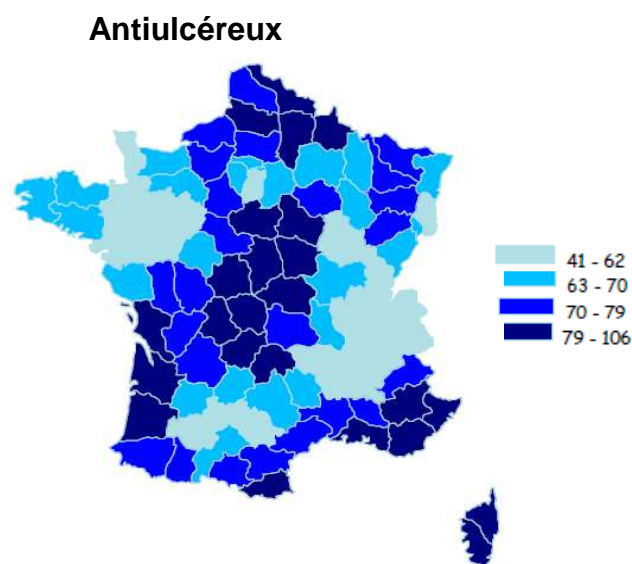


Figure I-20 Disparité géographique de la consommation d'IPP en France (moyenne annuelle de boîtes pour 100 habitants) (CNAM, 2006a)

Les incertitudes liées aux médicaments non prescrits

La plupart des données de consommation reportées dans la littérature ne tiennent pas compte des médicaments non prescrits. Cette part peut être relativement importante selon les pays. En France, sur l'ensemble des produits commercialisés, plus de la moitié sont des médicaments à prescription facultative (DREES, 2001). Parmi eux, seulement 1/3 en moyenne des médicaments sont achetés sans ordonnance ce qui représente près de 10 % de la consommation pharmaceutique totale (données 1999, (DREES, 2001)). En France, la part relative de l'automédication est faible, de même qu'au Portugal, en Italie, Autriche, Norvège, Suède et aux Pays-Bas, par rapport à d'autres pays comme la Belgique l'Allemagne, le Royaume-Uni et l'Irlande (plus de 20 %), la moyenne européenne se situant à 12,5 %.

Les médicaments à prescription facultative se concentrent sur quelques classes thérapeutiques, les 15 premières classes représentant 50 % du marché sont répertoriées dans le Tableau I-7.

Tableau I-7 Distribution des médicaments à prescription facultative hors système de remboursement (DREES, 2001).

Principales classes thérapeutiques à prescription facultatives	Ex. de produits	Rapport médicaments non prescrits/Total des médicaments à prescription facultative (en chiffre d'affaire)
Analgésiques non narcotique antipyrétiques	Dolipran, Efferalgan	35 %
Décongestionant anti-inflammatoire du pharynx	Eludril, Lisopaine	58 %
Antiseptiques et désinfectants	Héxomédine, Bétadine	49 %
Autres toniques	Sargénor, Guronsan	87 %
Antiacides seuls	Maalox, Rennie	40 %
Rhinologie voie générale	Actifed, Humex	66 %
Cicatrisants	Biafine, Homéoplasmine	61 %
Produits broncho-pulmonaires sans anti-inflammatoires	Oscillococcinum, Fervex	87 %
Antitussifs en association	Néocodion, Toplexil	42 %
Baumes révulsifs antirhumatismaux	Synthol, Voltarène	54 %
Produits antitabacs	Nicopatch, Niquitin	87 %
Laxatifs drastiques	Tamarine, Fuca	84 %
Vitamines avec minéraux	Berroca, Supradine	87 %
Traitement des conjonctivites non spécifiques	Dacriosérum, Opicron	42 %
Préparations buccales fluorées	Fluocaril, Homéodent	71 %

La plupart de ces médicaments délivrés sans ordonnance est employée principalement pour le traitement des symptômes douloureux et fébriles ainsi que pour les affections respiratoires (DREES, 2006b). L'incertitude sur les données de consommation sera plus prononcée pour ces classes thérapeutiques (appartenant principalement aux AINS).

1.1.2 Présence de PPs dans les différents compartiments aqueux

Depuis plusieurs années, la présence de produits pharmaceutiques a été recherchée dans différentes matrices aqueuses telles que les influents et effluents de station d'épuration, les eaux de surface, les eaux souterraines, les eaux marines et les eaux de consommation. Une revue de la littérature jusqu'en septembre 2007 (58600 données) sur la présence de produits pharmaceutiques dans les milieux aquatiques a été réalisée dans le cadre du projet KNAPPE (Sadezky *et al.*, 2008; Schlüsener *et al.*, 2008). Les données proviennent à plus de 50 % de l'Allemagne suivie par le Canada (12 %) et la France (6 %).

Elles montrent que 75 % des mesures reportées sont relatives aux effluents de station d'épuration et aux eaux superficielles (Figure I-21).

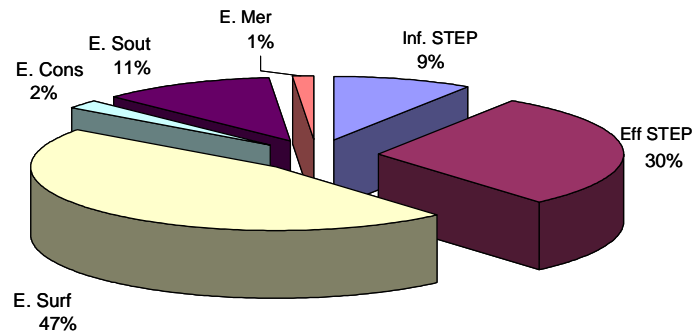


Figure I-21 Les produits pharmaceutiques dans les compartiments aquatiques

181 substances pharmaceutiques ont été recherchées, au premier rang desquelles les antibiotiques, suivis des anti-inflammatoires et des β -bloquants. La Figure I-22 présente la distribution par classe thérapeutique.

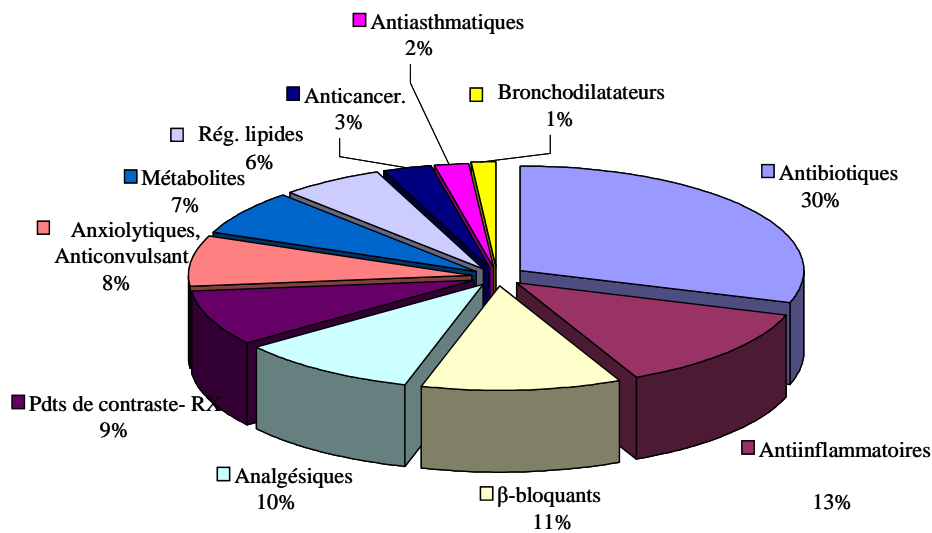


Figure I-22 Inventaire des produits pharmaceutiques recherchés par classe thérapeutique

Les dix composés les plus retrouvés sont le diclofénac, la carbamazépine, l'acide clofibrique, l'ibuprofène, le bézafibrate, le sulfaméthoxazole, le triméthoprime, la phénazone, le kétoprofène et la roxithromycine. La contamination environnementale par les produits pharmaceutiques est donc une réalité en Europe et dans le monde entier. La situation française est plus particulièrement développée dans le paragraphe suivant.

I.1.2.1 Détection de PPs dans l'environnement aquatique en France

Les principales classes de médicaments et les molécules identifiées dans les environnements aquatiques en France ont été rassemblées à partir des publications scientifiques et sont regroupées dans le Tableau I-8. Les données de concentrations sont présentées en Annexe 1.

Tableau I-8 Présence de PPs dans les eaux de surface (fleuves, rivières, estuaires), les eaux souterraines et le milieu marin en France

Anti-inflammatoires (AINS) et analgésiques		
Antiinflammatoires non stéroïdiens	Diclofénac Ibuprofène	Kétoprofène Naproxène
Analgésiques	Paracétamol Acide acétylsalicylique	
Diurétiques		
	Furosémide	
β-bloquants		
	Aténolol Céliprolol Métoprolol	Propranolol Sotalol
Psychotropes		
Antiépileptiques	Carbamazépine	
Tranquillisants	Alprazolam Bromazépan Diazépan	Lorazépan Oxazépan
Hypnotiques	Zolpidem	
Antidépresseurs	Amitryptiline	
Psychostimulants	Caféine	
Antiasthmatiques et bronchodilatateurs		
	Clenbutérol	
Régulateurs de lipides		
Fibrates	Acide clofibrrique Acide fénofibrrique Bézafibrate	Fénofibrate Gemfibrozil
Antibiotiques		
Tétracyclines	Oxytétracycline	
Pénicillines	Amoxicilline	Dicloxacilline
Sulfonamides et triméthoprime	Sulfaméthoxazole Triméthoprime	Sulfadimidine (sulfaméthazine)
Macrolides	Azithromycine Clarithromycine Clindamycine Erythromycine	Roxithromycine Spiramycine Tylosine
Fluoroquinolones et autres quinolones	Ciprofloxacine Fluméquine	Norfloxacine Ofloxacine
Agents de contraste		
	Acide amidotrizoïque Acide ioxaglique Acide ioxithalamique Diatrizoate	Iohexol Iopamidol Iomeprol Iopromide

Analgésiques et anti-inflammatoires non stéroïdiens

Parmi les analgésiques et anti-inflammatoires recherchés dans les eaux de surface en France, *le paracétamol et le diclofénac* s'avèrent être les résidus médicamenteux les plus fréquemment retrouvés.

Le paracétamol a été détecté dans les fleuves, rivières et affluents étudiés dans le Bassin Seine-Normandie (Branchereau *et al.*, 2006; Togola, 2006), le Bassin de l'Hérault (Rabiet *et al.*, 2006) et le Bassin Loire-Bretagne (Togola, 2006; Togola *et al.*, 2008), à des concentrations de l'ordre de la centaine de ng L^{-1} . Les concentrations les plus élevées ont été enregistrées dans la Marne (jusqu'à 470 ng L^{-1}) (Branchereau *et al.*, 2006) et les affluents de la Seine (maximum de 350 ng L^{-1}) en Haute Normandie (Togola, 2006). Ces concentrations élevées de paracétamol sont à mettre en relation avec une forte densité de population et une forte consommation française de ce médicament. Il n'a cependant pas été détecté dans la Meuse (Togola, 2006), ni dans l'Hérault (Rabiet *et al.*, 2006).

La contamination de l'ensemble du Bassin Loire-Bretagne conduit à la présence du paracétamol dans les estuaires de la Loire et du bassin breton (Togola *et al.*, 2008), en particulier l'estuaire du Gouët qui présente la plus forte concentration (200 ng L^{-1}) pour le plus faible débit. Il est retrouvé dans les nappes phréatiques du même bassin à des concentrations de l'ordre de quelques dizaine de ng L^{-1} (Togola *et al.*, 2008).

De la même manière la contamination des eaux de surface par les rejets de STEP s conduit à la contamination des eaux souterraines du Bassin de l'Hérault avec des concentrations pouvant atteindre 210 ng L^{-1} (Rabiet *et al.*, 2006).

Le paracétamol a également été détecté dans la Mer Méditerranée au niveau de la Calanque de Cortiou située à 300-500 m du rejet de la STEP de Marseille qui n'est pas équipée d'un système de traitement biologique des eaux usées. Les niveaux de concentrations en PPs y sont particulièrement élevés et, des concentrations de paracétamol, pouvant atteindre $250 \mu\text{g L}^{-1}$ y ont été détectées (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008).

Le paracétamol est l'un des médicaments les plus consommés en France. Comme beaucoup d'analgésiques et d'AINS, il est en général bien éliminé dans les stations d'épuration.

Le *diclofénac*, moins consommé en France que le paracétamol et peu éliminé dans les stations d'épuration, est retrouvé quasi-systématiquement dans toutes les eaux de surface analysées. Sa présence a été reportée au moins une fois dans les cours d'eau étudiés entre quelques dizaines de ng L^{-1} , dans le Bassin de l'Hérault (Rabiet *et al.*, 2006) et la Meuse (Togola, 2006), et la centaine de ng L^{-1} , dans le Bassin Breton (Togola *et al.*, 2008) et les fleuves et

rivières du Bassin Seine-Haute Normandie (Branchereau *et al.*, 2006; Paffoni *et al.*, 2006; Togola, 2006) et ce plus particulièrement à proximité des rejets de STEP (Janex-Habibi *et al.*, 2002). Le diclofénac est souvent détecté à de fortes concentrations du fait de sa moins bonne élimination par rapport aux autres composés de la même classe thérapeutique (Paffoni *et al.*, 2006). De ce fait, les estuaires (jusqu'à la centaine de ng L⁻¹ dans l'estuaire du Gouët (Togola *et al.*, 2008) et 400 ng L⁻¹ dans l'estuaire de la Seine (Togola & Budzinski, 2007)), les eaux souterraines (quelques ng L⁻¹) (Rabiet *et al.*, 2006) ou encore les eaux marines (1 µg L⁻¹ en Méditerranée) (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008) sont contaminés par ce composé.

L'acide acétylsalicylique et *l'ibuprofène* sont détectés de manière plus ponctuelle. *L'acide acétylsalicylique* n'a pas été retrouvé dans les grands cours d'eau comme la Marne et l'Oise ou encore la Seine, au niveau de Paris (Branchereau *et al.*, 2006) mais a été détecté dans la Meuse (30 ng L⁻¹) (Togola, 2006). Il est présent dans des affluents de la Seine (300 ng L⁻¹ dans l'Andelle), dans les rivières du Bassin Loire-Bretagne (Togola & Budzinski, 2007) (Togola *et al.*, 2008). Il a également été retrouvé dans les estuaires de la Seine, de la Loire, de la Gironde et de l'Adour à des concentrations maximales variant de la dizaine à la centaine de ng L⁻¹ et dans la Calanque de Cortiou (8 µg L⁻¹) (Budzinski et Togola, 2006). Ce composé a également été détecté dans les eaux souterraines (quelques ng L⁻¹ voire dizaines de ng L⁻¹) (Rabiet *et al.*, 2006; Togola *et al.*, 2008)

Par contre, *l'ibuprofène* est rarement détecté dans les grands cours d'eau à l'exception de la Seine, 120 ng L⁻¹ à proximité d'un rejet de STEP (Janex-Habibi *et al.*, 2002) et de la Meuse (40 ng L⁻¹) (Togola, 2006). La contamination de la Seine par l'ibuprofène se poursuit jusque dans l'estuaire (600 ng L⁻¹) (Togola & Budzinski, 2007) (Togola, 2006). Des concentrations, plus faibles, de l'ordre de la dizaine de ng L⁻¹ sont généralement reportées dans les rivières de Haute Normandie, du Bassin Loire Bretagne et des affluents de l'Hérault (Rabiet *et al.*, 2006) avec une concentration maximale (80 ng L⁻¹) pour la Jalle d'Eysines, affluent de la Garonne (Togola, 2006; Togola *et al.*, 2008). Cependant, des pics de concentrations supérieurs à 3 µg L⁻¹ (max 5,6 µg L⁻¹) ont été reportés en hiver, dans L'Arc, petit affluent du Rhône (0 à 0,3 m³ s⁻¹), probablement liés à une consommation accrue de ce composé durant la période hivernale (Comoretto & Chiron, 2005).

L'ibuprofène est retrouvé à l'état de traces dans les eaux souterraines du Bassin de l'Hérault (Rabiet *et al.*, 2006). La baie de Cortiou en Méditerranée semble moins impactée par ce composé que par les autres analgésiques et anti-inflammatoires. Les concentrations reportées y atteignent toutefois le µg L⁻¹ (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008).

Le *naproxène* et le *kétoprofène* sont détectés à des concentrations en général plus faibles que le *diclofénac* dans les eaux de surface (quelques ng L^{-1} à quelques dizaines de ng L^{-1}) (Branchereau *et al.*, 2006; Paffoni *et al.*, 2006) et dans les eaux souterraines (Rabiet *et al.*, 2006). Ils présentent une meilleure élimination pour une consommation équivalente, voire supérieure (Besse *et al.*, 2008). Cependant, le *naproxène* est retrouvé dans l'estuaire de la Seine (200 ng L^{-1}) et celui du Gouët en Bretagne (Togola *et al.*, 2008; Togola & Budzinski, 2007). La concentration de ces deux composés est de l'ordre de plusieurs $\mu\text{g L}^{-1}$ dans la Calanque de Cortiou en Méditerranée (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008).

Diurétiques et β -bloquants

Seuls le *furosémide* (diurétique) et quelques β -bloquants (*aténolol*, *propranolol*, *sotalol*, *métoprolol*) ont été recherchés dans la Seine et le Bassin Loire Bretagne. Ils n'ont pas été recherchés dans les eaux souterraines. Le *furosémide* a été détecté dans les rivières et affluents du Bassin Loire-Bretagne et plus particulièrement dans l'estuaire du Gouët à des concentrations pouvant atteindre la centaine de ng L^{-1} (Togola *et al.*, 2008).

Les β -bloquants sont détectés dans la plupart des cas en aval et à proximité des rejets de STEP (Janex-Habibi *et al.*, 2002; Paffoni *et al.*, 2006) à des concentrations de l'ordre de la centaine de ng L^{-1} . Le *céliprolol* fait exception et a été détecté en différents points de la Seine avec une concentration croissante au fur et à mesure de l'apport de rejets de STEP dans le fleuve pour atteindre un maximum de 350 ng L^{-1} en aval de Paris (aval de STEP d'Achères) (Janex-Habibi *et al.*, 2002). Cette tendance est observée aussi pour le *propranolol* et l'*aténolol* dont les concentrations reportées en amont de Paris (Paffoni *et al.*, 2006) sont plus faibles que celles reportées en aval par (Janex-Habibi *et al.*, 2002).

Le *propranolol* a été plus particulièrement étudié et a été détecté au moins une fois dans les cours d'eau où il a été recherché (sauf la Marne). Il est le seul β -bloquant détecté dans l'Oise (30 ng L^{-1}) (Branchereau *et al.*, 2006). Cependant, il est dégradé dans le cours d'eau et n'est donc détecté à de fortes concentrations qu'en aval et à proximité du rejet de STEP (Paffoni *et al.*, 2006). L'*aténolol* et le *sotalol*, quant à eux, ont été détectés en amont et en aval du rejet de STEP (quelques dizaines de ng L^{-1}) et semblent plus persistants (Paffoni *et al.*, 2006). La présence du *propranolol*, du *métoprolol* et de l'*aténolol*, est également reportée dans le Bassin

Loire-Bretagne et les concentrations détectées dans les estuaires peuvent atteindre jusqu'à 200 ng L⁻¹ dans l'estuaire du Gouët (Togola *et al.*, 2008).

Les concentrations en β -bloquants peuvent être mises en relation avec les tendances de consommation. Le céliprolol, détecté aux concentrations les plus élevées est aussi un des plus consommés, suivi de l'aténolol et du propranolol. Le bisoprolol et pindolol non pas été détectés dans la Seine au cours de l'étude de (Paffoni *et al.*, 2006). Cependant, leur présence ainsi que celle d'autres β -bloquants comme l'acébutolol (le plus consommé), ou encore l'oxprénolol n'est pas à exclure dans les autres cours d'eau français et est fortement supposée du fait de leur détection à des concentrations relativement élevées (jusqu'à plusieurs centaines de ng L⁻¹) dans les effluents de STEP en France (Andreozzi *et al.*, 2003; Miège *et al.*, 2006).

Psychotropes

Dans la classe des psychotropes, les molécules recherchées appartiennent principalement au sous groupe des antidépresseurs (benzodiazépines), antiépileptiques (carbamazépine) et psychostimulants (caféine).

La *carbamazépine*, un des produits pharmaceutiques les plus étudiés, a été détectée systématiquement dans les cours d'eau étudiés à l'exception de l'Hérault. Les concentrations maximales reportées sont de plusieurs $\mu\text{g L}^{-1}$ dans l'Arc en aval de rejets de STEP (1,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ en été, 6,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ en hiver) (Comoretto & Chiron, 2005; Feitosa-Felizzola & Chiron, 2009) Elle a également été détectée dans les fleuves et rivières de la région Ile de France (Branchereau *et al.*, 2006; Bruchet *et al.*, 2005; Paffoni *et al.*, 2006; Togola, 2006) à des concentrations variant de quelques dizaines à la centaine de ng L⁻¹ avec des concentrations maximales pour la Seine en aval de la STEP d'Achères (Janex-Habibi *et al.*, 2002). La concentration de ce composé ne diminue pas le long de la Seine et atteint la centaine de ng L⁻¹ dans l'estuaire (Togola & Budzinski, 2007). Les concentrations en carbamazépine sont du même ordre de grandeur dans le Bassin Loire-Bretagne. Les estuaires de la Loire et du Gouët sont impactés par la carbamazépine, respectivement 230 ng L⁻¹ (Budzinski & Togola, 2006) et 500 à 1000 ng L⁻¹ (Togola *et al.*, 2008). Les concentrations retrouvées dans le bassin de l'Hérault sont les moins élevées (quelques dizaines de ng L⁻¹) (Rabiet *et al.*, 2006). La carbamazépine a été détectée à des concentrations maximales de 23 et 43 ng L⁻¹ dans les nappes phréatiques du bassin Loire Bretagne et du Bassin de l'Hérault respectivement (Rabiet *et al.*, 2006; Togola *et al.*, 2008). Enfin, des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g L}^{-1}$ ont été

retrouvées dans la Calanque de Cortiou (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008).

La carbamazépine est connue pour être récalcitrante à toute biodégradation (Clara *et al.*, 2004; Janex-Habibi *et al.*, 2004; Snyder *et al.*, 2003a). Son élimination dans les STEP s est inférieure à 20 % quels que soient les traitements primaires et/ou secondaires mis en œuvre. La molécule est également stable dans les eaux de rivière (Andreozzi *et al.*, 2003; Nakada *et al.*, 2008). L'ensemble de ces éléments explique la présence ubiquitaire de ce composé dans les environnements aquatiques.

La *caféine*, utilisée comme psychostimulant et comme marqueur anthropogénique, est presque systématiquement détectée dans les eaux de surface étudiées, malgré un taux d'abattement significatif (> 85 %) dans les STEP s (Joss *et al.*, 2005). Les concentrations de caféine atteignent la centaine de ng L⁻¹ dans la Meuse (200 ng L⁻¹) et dans les affluents de la Seine en Haute Normandie (Togola, 2006). Dans le bassin de l'Hérault, elle est détectée dans La Lergue et La Thongue (10 - 110 ng L⁻¹), les concentrations les plus élevées étant reportées juste en aval du rejet de STEP (Rabiet *et al.*, 2006). Les concentrations mesurées dans les estuaires du Bassin Loire-Bretagne sont de l'ordre de quelques dizaines de ng L⁻¹ et de 860 ng L⁻¹ dans celui de la Seine (Budzinski & Togola, 2006). Elle est également retrouvée en plus faible concentration et de manière plus ponctuelle dans les eaux souterraines (20 ng L⁻¹ au maximum). Enfin, comme pour les analgésiques, sa concentration est particulièrement élevée (8 µg L⁻¹) dans la Calanque de Cortiou, (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008).

Les benzodiazépines ont été plus particulièrement recherchées dans le Bassin Loire Bretagne (Togola *et al.*, 2008). L'*oxazépan* a été systématiquement détecté à des concentrations généralement de l'ordre de la centaine de ng L⁻¹. Les concentrations les plus élevées sont reportées à 2,2 µg L⁻¹ dans l'estuaire du Gouët. Cet estuaire est le plus contaminé parmi ceux étudiés dans le Bassin Loire-Bretagne et d'autres benzodiazépines, comme *le lorazépan* et *le bromazépan*, y sont détectés (30 et 400 ng L⁻¹, respectivement), alors qu'elles sont retrouvées à des concentrations de quelques dizaines de ng L⁻¹ dans les autres compartiments aqueux. Les teneurs en benzodiazépines semblent être en corrélation avec les tendances de consommation. En effet, le *diazépan*, qui est le moins consommé, a seulement été détecté dans la Meuse en dessous de la dizaine de ng L⁻¹ (Togola, 2006) et dans la Calanque de Cortiou (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008). Par contre, *le bromazépan*,

une des benzodiazépines la plus consommée, est retrouvé aux concentrations les plus élevées (160 ng L⁻¹) dans les eaux souterraines du Bassin Loire – Bretagne (Togola *et al.*, 2008). Le *nordiazépam* a été détecté en dessous de la dizaine de ng L⁻¹ dans le Bassin de l’Hérault (Rabiet *et al.*, 2006).

Antiasthmatiques et bronchodilatateurs

Le salbutamol et la terbutaline, recherchés dans le Bassin de l’Hérault (Rabiet *et al.*, 2006) et dans la Seine (Paffoni *et al.*, 2006), n’ont pas été détectés. Toutefois, le clenbutérol (d’usage vétérinaire principalement) a été trouvé à l’état de traces dans la Meuse (Togola, 2006).

Régulateurs de lipides

La plupart des fibrates consommés en France sont retrouvés dans les eaux de surface mais n’ont pas été détectés dans les eaux souterraines du Bassin de l’Hérault (Rabiet *et al.*, 2006), ni dans celles du Bassin Loire-Bretagne (Togola *et al.*, 2008).

Le bézafibrate, le fénofibrate et son principal métabolite, l’*acide fénofibrique*, fibrates les plus consommés, sont retrouvés aux plus fortes concentrations (plusieurs centaines de ng L⁻¹) en aval et à proximité des rejets de STEPs (Branchereau *et al.*, 2006; Comoretto & Chiron, 2005; Paffoni *et al.*, 2006). *Le bézafibrate*, en particulier, a été détecté à des concentrations maximales de 430 ng L⁻¹ dans la Seine (Janex-Habibi *et al.*, 2002) et de 780 ng L⁻¹ dans l’Arc, en période d’été (Comoretto & Chiron, 2005). Dans le bassin Loire-Bretagne, les concentrations sont plutôt de l’ordre de quelques dizaines de ng L⁻¹ dans les rivières comme dans les estuaires (Togola *et al.*, 2008). *Le fénofibrate* est le plus souvent retrouvé sous la forme d’acide fénofibrique, dont la présence relative dans les eaux est souvent plus importante (Paffoni *et al.*, 2006; Togola *et al.*, 2008). Dans le bassin Loire-Bretagne, les concentrations cumulées pour ce régulateur de lipide et son métabolite sont en dessous de la centaine de ng L⁻¹ (Togola *et al.*, 2008), avec un pic dans la Vienne proche de 200 ng L⁻¹. *Le fénofibrate* est retrouvé à des concentrations élevées dans les cours d’eau de la région Ile de France avec des maximums de 210 ng L⁻¹ dans l’Oise et 180 ng L⁻¹ dans la Seine (Branchereau *et al.*, 2006). En parallèle, (Paffoni *et al.*, 2006) reportent des concentrations en *acide fénofibrique* de l’ordre de la centaine de ng L⁻¹. *Le gemfibrozil* a été détecté à un niveau de concentration plus faible mais également de manière assez régulière en aval de rejets de STEPs. Les concentrations reportées sont de l’ordre de la dizaine de ng L⁻¹ dans le Bassin

Loire Bretagne, le Bassin de l'Hérault et dans les affluents de la Seine en Haute Normandie (Togola, 2006). Les concentrations sont similaires dans la Seine en amont de Paris (Paffoni *et al.*, 2006) mais atteignent la centaine de ng L⁻¹ en aval, après le rejet de STEP d'Achères (Janex-Habibi *et al.*, 2002) et au niveau de l'estuaire (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2007)

Parmi les statines, seule *la simvastatine* a été recherchée dans les eaux de captage de la Seine mais n'a pas été retrouvée (Paffoni *et al.*, 2006).

Antibiotiques

La présence d'antibiotiques, d'origine humaine et animale, a largement été étudiée dans les compartiments aqueux français et fait l'objet d'une attention particulière dans le cadre du programme PIREN-Seine (Eurin *et al.*, 2005; Eurin *et al.*, 2006) de part le potentiel risque de résistance aux antibiotiques associé à l'utilisation de ces eaux comme ressources en eau potable (Lévi, 2006). Après la mise en évidence du rejet d'antibiotiques dans les effluents urbains (Tamtam *et al.*, 2006; Ternes *et al.*, 2005b) de nombreuses études ont été menées sur les cours d'eau, en France (Branchereau *et al.*, 2006; Feitosa-Felizzola & Chiron, 2009; Paffoni *et al.*, 2006; Tamtam *et al.*, 2007; Tamtam *et al.*, 2008). Parmi le grand nombre de molécules recherchées (35) seulement la moitié a été détectée de manière plutôt ponctuelle : une tétracycline, des pénicillines à larges spectres et des quinolones, des sulfonamides (triméthoprime inclus) et des macrolides. Par contre aucune pénicilline à spectres moyen ou étroit et aucune céphalosporine (seule la vancomycine, 3ème génération, a été recherchée) n'ont été retrouvées (Paffoni *et al.*, 2006).

Tétracyclines

Seule *l'oxytétracycline* qui n'est cependant pas la tétracycline la plus consommée, a été détectée dans l'Oise (74 ng L⁻¹) (Branchereau *et al.*, 2006) et dans l'Arc (680 ng L⁻¹) en été. La chlortétracycline, la tétracycline et la doxycycline (parmi les plus consommées) ont été recherchées dans les eaux de captage de la Seine mais n'ont pas été retrouvées (Paffoni *et al.*, 2006).

Pénicillines

Seules deux pénicillines à spectre large, *l'amoxicilline* et *la dicloxacilline*, ont été détectées ponctuellement à des concentrations de l'ordre de la dizaine de ng L⁻¹ (Paffoni *et al.*, 2006). Il

n'est pas étonnant de retrouver de l'amoxicilline dans les eaux de surface, cette molécule étant l'antibiotique le plus consommé en France. De plus, son taux d'élimination dans les STEP est relativement faible (29 %) (Paffoni *et al.*, 2006) et elle n'est pas considérée comme un composé facilement biodégradable (Alexy *et al.*, 2004a; Alexy *et al.*, 2004b). Cependant elle est assez sensible à l'hydrolyse et à la photolyse, ce qui la rend instable dans les milieux aquatiques (Andreozzi *et al.*, 2004). La dicloxacilline est plutôt un antibiotique à usage vétérinaire.

Sulfonamides et triméthoprime

Le sulfaméthoxazole fait partie des antibiotiques les plus recherchés dans les compartiments aquatiques en France avec le triméthoprime auquel il est systématiquement associé. Ces deux antibiotiques ont été retrouvés en différents points de la Seine à des concentrations pouvant atteindre 200 ng L⁻¹ pour le sulfaméthoxazole et quelques dizaines de ng L⁻¹ pour le triméthoprime (Bruchet *et al.*, 2005; Paffoni *et al.*, 2006) en particulier après le rejet de la STEP d'Achères (Tamtam *et al.*, 2007). La contamination de la Seine s'étend dans la zone de l'estuaire en Haute Normandie où le sulfaméthoxazole atteint des concentrations maximales de 540 ng L⁻¹ (Tamtam *et al.*, 2008). Le sulfaméthoxazole est le seul antibiotique qui ait été détecté dans la Marne (Branchereau *et al.*, 2006; Tamtam *et al.*, 2007). La présence du sulfaméthoxazole et du triméthoprime est plus ponctuelle dans le Bassin Loire-Bretagne (Togola *et al.*, 2008) avec des concentrations maximales atteignant 200 ng L⁻¹ de sulfaméthoxazole dans l'estuaire du Gouët (Vilaine). Ils n'ont par contre pas été détectés dans l'Arc. La sulfadimidine (ou sulfaméthazine), principalement employée en médecine vétérinaire, a également été détectée à l'état de traces dans la Seine (Paffoni *et al.*, 2006). Le sulfaméthoxazole est reconnu comme étant persistant (Sadezky *et al.*, 2008).

Macrolides

La clarithromycine, un des macrolides les plus consommés, a été détectée dans presque tous les échantillons prélevés dans l'Arc en hiver (Feitosa-Felizzola & Chiron, 2009). Les concentrations maximales peuvent atteindre 2 µg L⁻¹, alors que cette molécule n'est pas détectée en été, ce qui s'explique par une consommation plus élevée de ces médicaments pendant cette période. Dans la Seine, les concentrations mesurées sont moindres (dizaines de ng L⁻¹) avec un maximum de 75 ng L⁻¹ (Bruchet *et al.*, 2005; Paffoni *et al.*, 2006). La roxithomycine se retrouve à quelques dizaines de ng L⁻¹ dans la Seine (Bruchet *et al.*, 2005; Paffoni *et al.*, 2006) et atteint les 240 ng L⁻¹ dans la Marne (Branchereau *et al.*, 2006).

L'érythromycine est présente dans la Seine et la Marne aux mêmes teneurs avec un maximum à 200 ng L⁻¹ en aval du rejet de STEP d'Achères (Janex-Habibi *et al.*, 2002). *L'azithromycine*, *la clindamycine* et *la spiramycine* ont été retrouvées dans la Seine en très faible quantité (< 10 ng L⁻¹) (Paffoni *et al.*, 2006). La tylosine, principalement à usage vétérinaire, n'a été détecté que dans la Marne à une concentration maximale de 30 ng L⁻¹ (Branchereau *et al.*, 2006). La plupart des macrolides et en particulier l'érythromycine et la clarithromycine sont reconnus pour être persistants dans l'environnement (Paffoni *et al.*, 2006).

Fluoroquinolones et autres quinolones

Les trois fluoroquinolones les plus consommées, à savoir la ciprofloxacine, la norfloxacine et l'ofloxacine, ont été détectées dans les eaux de surface (Tamtam *et al.*, 2008). La norfloxacine comme la ciprofloxacine sont généralement bien éliminées dans les STEPs, principalement par adsorption aux boues (Belden *et al.*, 2007), leur biodégradation étant considérée faible (Alexy *et al.*, 2004a; Kummerer *et al.*, 2000). Une fois dans le milieu naturel, les fluoroquinolones vont être sensibles aux processus de photodégradation, adsorption et biodégradation (Cardoza *et al.*, 2005; Turiel *et al.*, 2005).

Les concentrations de *norfloxacine* sont en général de l'ordre de quelques dizaines de ng L⁻¹ dans la Marne et dans la Seine, atteignant 150 ng L⁻¹ après la STEP d'Achères où cette molécule avait été préalablement détectée à des concentrations de plusieurs µg L⁻¹ dans les effluents (Tamtam *et al.*, 2007; Tamtam *et al.*, 2008). Une atténuation des teneurs est observée le long du cours d'eau (50 % en 8 kms) (Tamtam *et al.*, 2007) qui peut être imputée non seulement à la dilution par l'Oise mais également à des mécanismes d'adsorption et de photodégradation auxquels les fluoroquinolones sont sensibles (Golet *et al.*, 2002). Cependant, l'apport de rejets de STEP dans la Seine au niveau de son estuaire (Haute Normandie) conduit à des pics de concentrations avec un maximum reporté à 160 ng L⁻¹ (Tamtam *et al.*, 2008). *La ciprofloxacine* (usage humain et vétérinaire) est détectée de manière ponctuelle et les concentrations reportées dans la Seine et dans la Marne sont de quelques dizaines de ng L⁻¹ (Branchereau *et al.*, 2006; Paffoni *et al.*, 2006; Tamtam *et al.*, 2007) et quelques ng L⁻¹ dans les affluents de la Blaise (Eurin *et al.*, 2005). Lorsqu'elle est détectée dans l'Arc, sa concentration atteint plusieurs µg L⁻¹ (Feitosa-Felizzola & Chiron, 2009). *L'ofloxacine* a été détectée de manière ponctuelle en différents points de la Seine à des concentrations variant de quelques ng L⁻¹ à quelques dizaines de ng L⁻¹ (Paffoni *et al.*, 2006; Tamtam *et al.*, 2007). La plus haute concentration (55 ng L⁻¹) a été reportée dans l'estuaire (Tamtam *et al.*, 2008).

La fluméquine a également été détectée en différents points de l'estuaire de la Seine à des concentrations variant entre 1 et 40 ng L⁻¹ (Tamtam *et al.*, 2008). Elle a également été détectée à un maximum de 10 ng L⁻¹ dans le bassin versant de la Blaise (Eurin *et al.*, 2005).

Antiulcéreux

Leur présence n'a pas été recherchée en France. Quelques études montrent l'absence d'oméprazole dans les rivières Po et Lambro en Italie (Calamari *et al.*, 2003) mais n'exclut pas la présence de ce composé dans des cours d'eau de moindre importance.

Anticancéreux

Les médicaments anticancéreux n'ont pas été détectés dans les eaux de surface en France, probablement du fait d'une consommation bien moindre (centaines de kilogrammes) comparée à celle des autres composés étudiés (1 à 100 tonnes).

L'ifosfamide et le cyclophosphamide ont été recherchés dans la Seine mais n'ont jamais été détectés (< 50 ng L⁻¹) (Paffoni *et al.*, 2006). Ils ont été détectés de manière ponctuelle dans les effluents de STEP en Allemagne (Kummerer *et al.*, 1997; Steger-Hartmann *et al.*, 1997) et jusque dans les eaux de surface en Suisse (Buerge *et al.*, 2006). Le tamoxifène a également été détecté dans certains prélèvements effectués dans les rivières et les estuaires au Royaume-Uni (Thomas et Hilton, 2004). Le méthotrexate a été recherché au cours de l'étude réalisée par Aherne *et al.*, et a été trouvé au dessus des limites de détection dans des effluents hospitaliers (Aherne *et al.*, 1985). Les antinéoplasiques font l'objet d'émissions ponctuelles et ont été retrouvés uniquement dans les effluents hospitaliers du fait de leur distribution exclusive en système hospitalier (Haguenoer *et al.*, 2008). Depuis, la tendance de prescription tend vers l'administration orale ambulatoire (traitement à domicile) et augmente ainsi le nombre de source potentielle de contamination des eaux par ces PP (Mompelat *et al.*, 2009). Ils ont été détectés dans les effluents de centres hospitalo-universitaires à des concentrations moyennes de l'ordre de 100 à 150 ng L⁻¹ avec des pointes de 4 500 et 3 000 ng L⁻¹ respectivement pour le cyclophosphamide et l'ifosfamide (Haguenoer *et al.*, 2008).

Produits de contraste

De nombreux produits de contraste iodés ont été recherchés dans la Seine au point de captage pour la potabilisation en amont et aval de la STEP de Valenton (Bruchet *et al.*, 2005; Paffoni *et al.*, 2006) et en amont et aval des rejets de STEPs de Colombes et d'Achères (Bruchet *et al.*, 2005; Janex-Habibi *et al.*, 2002). Parmi eux, le *iopamidol*, le *iomeprol* et l'*acide ioxithalamique*, qui font partie des médicaments de diagnostic les plus utilisés, sont retrouvés à des concentrations de plusieurs centaines de ng L^{-1} . Concernant l'*acide amidotrizoïque*, l'*iohexol*, et le *diatrizoate*, les teneurs mesurées sont de l'ordre de la centaine de ng L^{-1} et de l'ordre de la dizaine de ng L^{-1} pour l'*iopromide* et l'*acide ioxaglique*.

Les agents de contraste résistent à la biodégradation dans les STEPs (Sadezky *et al.*, 2008; Ternes *et al.*, 2005b) et persistent dans les eaux après potabilisation (Paffoni *et al.*, 2006).

En conclusion de cette revue bibliographique, la présence de traces de produits pharmaceutiques est largement établie en France (comme à l'échelle mondiale) en particulier dans les eaux superficielles et souterraines, les estuaires et les eaux marines. Selon les substances pharmaceutiques et les différentes catégories d'eau, les concentrations retrouvées varient dans une gamme allant de quelques ng L^{-1} et dizaines de ng L^{-1} dans les eaux superficielles, de la centaine de ng L^{-1} voire quelques $\mu\text{g L}^{-1}$ dans les estuaires et les eaux marines :

- Cette contamination des fleuves et des rivières est directement liée aux rejets de STEPs urbaines dans le milieu naturel. La plupart des composés pharmaceutiques recherchés dans les eaux de surface au cours des études réalisées en France ont été détectés. Ils correspondent aux médicaments les plus consommés et/ou les moins bien éliminés dans les stations d'épuration des eaux usées (< 50 %),
- Les cours d'eau de bas débit (en particulier en période d'étiage) semblent être les plus impactés. Ils mettent en évidence la particularité des milieux récepteurs à caractère intermittent qui, pendant la période sèche, vont être principalement alimentés par les effluents de STEPs (Tournoud *et al.*, 2008; Tournoud *et al.*, 2004),
- L'étude de la contamination de la Seine, de l'amont de Paris (Paffoni *et al.*, 2006) jusqu'à l'estuaire en Haute Normandie (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2007) et de ses affluents est intéressante. Elle montre l'atténuation de la contamination issue du rejet d'une des plus grande STEPs d'Europe (Achères) le long du fleuve mais aussi la contribution des affluents successifs qui peut conduire à une

accumulation de certains produits pharmaceutiques dont les concentrations sont parfois très importantes au niveau de l'estuaire (Togola & Budzinski, 2007).

- Les composés retrouvés dans les eaux souterraines font partie des médicaments les plus consommés en France : analgésiques et anti-inflammatoires (AINS), benzodiazépines et carbamazépine. La présence de certains PPs (bromazépan par exemple) au-delà de la centaine de ng L^{-1} laisse supposer que la contamination des nappes phréatiques peut être sous estimée.
- La contamination des eaux marines par les substances pharmaceutiques n'a pas fait l'objet de beaucoup d'études jusqu'à présent. Or, l'impact de la STEP de Marseille dans la Calanque de Cortiou est particulièrement marqué (Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008) puisque les concentrations les plus élevées se chiffrent en $\mu\text{g L}^{-1}$ (analgésiques, AINS, antidépresseurs) à 300–500 m du point de rejet de STEP.

Enfin, ces résidus de composés pharmaceutiques s'ajoutent aux autres substances non médicamenteuses liées aux activités humaines, également présentes dans l'environnement telles que les produits phytosanitaires, détergents, hydrocarbures, métaux...

1.1.3 Analyse des produits pharmaceutiques par LC-MS/MS

Issues de l'industrie et du domaine médical, les premières méthodes développées pour l'analyse des produits pharmaceutiques (détermination de la pureté lors de la fabrication et suivis thérapeutiques dans les matrices biologiques, respectivement) ont pu être adaptées à l'analyse de matrices environnementales. L'application de techniques analytiques de pointe pour la détection dans des matrices de plus en plus complexes et le dosage de traces de composés a permis de déterminer de plus en plus précisément la présence de PPs dans l'environnement. (Kot-Wasik *et al.*, 2007), en dressant la liste des événements notables dans l'histoire de la détection des PPs dans l'environnement, montrent comment l'évolution des techniques a permis la détection de PPs de plus en plus nombreux à des niveaux de concentrations de plus en plus faibles dans les matrices de plus en plus complexes. Quatre événements sont particulièrement notables :

- Premières détections de PPs dans l'environnement : l'acide salicylique par GC-MS (Hignite & Azarnoff, 1977) ; stéroïdes et méthotrexate (anticancéreux) par immuno-essais (Aherne *et al.*, 1985),

- Détermination de PPs dans l'eau potable (2001-2002) : des limites de détection inférieures au ng L^{-1} sont atteintes (Heberer, 2002),
- Analyses multi-résidus (2002) (Jorgensen & Halling-Sorensen, 2000),
- Détermination de PPs dans les matrices solides (2005) initiée par l'étude de Beausse (2004).

L'augmentation de la sensibilité des méthodes analytiques (Barcelo *et al.*, 2005) a permis la détection des PPs dans les différents compartiments aquatiques, les eaux de surface, les eaux souterraines et nappes phréatiques, des estuaires jusqu'à la mer, et même dans l'eau potable. Les méthodes employées pour l'analyse d'échantillons aqueux sont largement décrites dans la littérature (Barcelo *et al.*, 2005; Buchberger, 2007; Diaz-Cruz & Barcelo, 2006; Hao *et al.*, 2007; Hernando *et al.*, 2007; Richardson, 2008).

Généralement, après un prétraitement de l'échantillon, l'extraction des composés sur phase solide ou liquide va permettre de purifier et concentrer les composés cibles. Ces derniers sont ensuite séparés par des méthodes chromatographiques ou électrophorétiques couplées à un système de détection, le plus souvent la spectrométrie de masse (simple ou en tandem).

Dans le cas de monitoring de la contamination du milieu aquatique par les PPs, ce sont les méthodes multi-résidus qui sont le plus utilisées : celles faisant appel plus spécifiquement à la SPE et à la LC-MS/MS, qui sont le plus largement répandues, seront discutées ici.

I.1.3.1 Extraction et concentration

L'analyse de traces de composés dans les matrices aqueuses complexes, nécessite une étape d'extraction de l'échantillon qui vise à la purification (élimination des interférences potentielles) et la concentration des composés cibles.

Depuis une dizaine d'années, l'extraction liquide-liquide (LLE) a été progressivement remplacée par les techniques d'extraction liquide-solide à l'aide de cartouches (Hirsch *et al.*, 1998; Ternes *et al.*, 1998) ou de disques (Golet *et al.*, 2001). L'extraction sur phase solide (SPE) apparaît comme la principale méthode pour l'extraction des PPs dans les matrices environnementales aqueuses aux côtés de quelques alternatives dérivées de celle-ci et de l'extraction liquide-liquide (Fatta *et al.*, 2007; Mutavdzic Pavlovic *et al.*, 2007; Namiesnik *et al.*, 2005; Poole, 2003) ou encore la lyophilisation (Hirsch *et al.*, 1998; Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2007).

L'extraction en phase solide (SPE) permet d'extraire les composés cibles présents dans les matrices liquides par adsorption de ceux-ci sur une phase. Elle se réalise en plusieurs étapes présentées dans la Figure I-23.

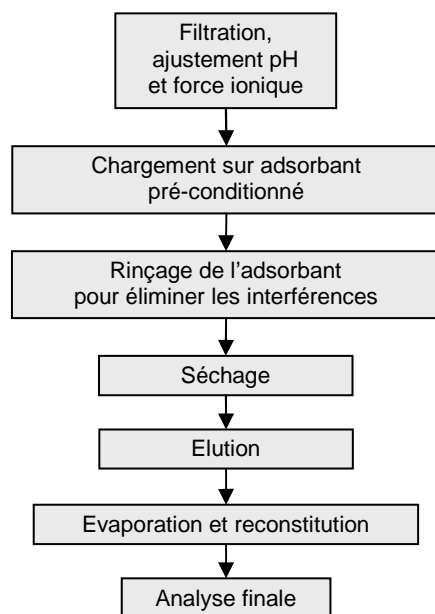


Figure I-23 Etapes générales de l'extraction par SPE (adaptées de (Mutavdzic Pavlovic *et al.*, 2007))

Filtration, ajustement du pH et de la force ionique

Les échantillons sont généralement filtrés dès leur arrivée au laboratoire pour éliminer les matières en suspension. Une acidification à pH 2 (H_2SO_4 ou HCl) pour limiter la biodégradation, ou encore, l'ajout de Na_2SO_3 (chélation des substances humiques) sont effectués pour faciliter leur conservation (Feitosa-Felizzola *et al.*, 2007; Vanderford *et al.*, 2003a). La force ionique et le pH de l'échantillon sont ajustés juste avant extraction pour favoriser la rétention des composés cibles. L'ajout de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$) ou de NaCl est reporté pour augmenter la salinité des échantillons et favoriser l'extraction des composés hydrophobes (Marchese *et al.*, 2003; McClure & Wong, 2007; Zhang & Zhou, 2007). L'ajout de Na_2EDTA est quasiment systématique pour l'extraction des antibiotiques (tétracyclines, sulfonamides, macrolides) afin d'éviter leur chélation aux ions métalliques et protéines présents dans la matrice (Batt & Aga, 2005; Calamari *et al.*, 2003; Castiglioni *et al.*, 2005; Hirsch *et al.*, 1999; Hirsch *et al.*, 1998; Kolpin *et al.*, 2002; Lindsey *et al.*, 2001; Miao *et al.*, 2004; Sacher *et al.*, 2001; Segura *et al.*, 2007).

Les PPs polaires sont plus facilement retenus sur les phases inverses sous leur forme neutre, les composés non polaires étant quant à eux peu sensibles au pH. Le choix du pH s'effectue par rapport au caractère acido-basique des PPs étudiés :

- un pH acide (pH 2 ou 3) est préconisé pour les composés acides, comme les AINS (Barcelo *et al.*, 2005; Farre *et al.*, 2007; Farre *et al.*, 2001; Gentili, 2007; Hao *et al.*, 2006; Lajeunesse & Gagnon, 2007; Togola & Budzinski, 2007) ou encore certains antibiotiques (tétracyclines) (Batt & Aga, 2005; Yang *et al.*, 2005).
- un pH neutre ou basique est préconisé pour les composés basiques, comme les β -bloquants (Hernando *et al.*, 2004; Ternes *et al.*, 1998; Vieno *et al.*, 2006) et pour les PPs instables à pH acide, comme les IPP (oméprazole) ou encore les pénicillines β -lactames (amoxicilline) (Benito-Pena *et al.*, 2006; Calamari *et al.*, 2003; Van De Steene *et al.*, 2006).

Certains composés amphotères comme beaucoup d'antibiotiques, notamment les fluoroquinolones, seront retenus aussi bien à pH acide que basique (Reverte *et al.*, 2003; Vieno *et al.*, 2006).

Charge de l'échantillon sur l'adsorbant

Les cartouches d'extraction sont pré-conditionnées, généralement à l'aide du solvant d'élution et d'une phase aqueuse ajustée au pH de la matrice à extraire. Après le conditionnement de la cartouche d'extraction, l'échantillon est passé sur l'adsorbant afin de retenir les composés. Le volume d'échantillon dépend du type de matrice (un volume plus petit sera chargé pour les matrices plus complexes) et de la capacité d'adsorption de la phase solide. Il doit permettre une concentration suffisante des PPs tout en permettant une extraction quantitative. Les volumes extraits sont généralement compris entre 100 et 1000 mL selon les matrices.

Rinçage et séchage

Une étape de rinçage avec une solution aqueuse, sans ou avec solvant (jusqu'à 20-40 %), est effectuée pour éliminer les constituants polaires de la matrices faiblement retenus sur la phase (Ollers *et al.*, 2001). L'élution préalable des interférents réduit le bruit de fond analytique résultant en des limites de détection plus faibles (Togola & Budzinski, 2007). Elle est suivie du séchage de la phase, sous flux d'air ou d'azote afin d'éliminer toutes traces d'eau.

Elution

Les composés retenus par l'adsorbant sont récupérés par élution à l'aide d'un solvant possédant une affinité avec les composés suffisamment élevée pour les entraîner. Les solvants employés pour l'extraction des PPs sont très nombreux, les plus couramment utilisés étant le méthanol, l'acétate d'éthyle, et l'acétone (Barcelo *et al.*, 2005). L'emploi de mélange de solvants, méthanol/acétate d'éthyle (Zuccato *et al.*, 2000), ou acétate d'éthyle/acétone (Ollers *et al.*, 2001; Togola & Budzinski, 2008) (moins toxiques et plus faciles à évaporer que le méthanol), mais encore le changement du pH en cours d'élution par l'ajout de 2 % de NH₄OH (Golet *et al.*, 2001; Gros *et al.*, 2006) sont autant d'optimisations (principalement augmentation du pouvoir d'élution) qui vont affiner la sensibilité et la spécificité de l'analyse.

Evaporation et reconstitution de l'extrait

L'évaporation du solvant et la reconstitution de l'échantillon dans un volume réduit vont constituer la dernière étape permettant la concentration des molécules cibles à un niveau détectable (de quelques ng L⁻¹ à plusieurs µg L⁻¹) pour l'analyse finale. Le facteur de concentration de l'ensemble du processus de SPE est généralement compris entre 100 et 1000 et réduit la limite de quantification (LQ) des PPs dans le milieu aquatique au ng L⁻¹.

La miniaturisation, l'automatisation et le développement d'adsorbants appropriés ont facilité et généralisé l'usage de la SPE à l'ensemble du panel des molécules pharmaceutiques.

Les phases adsorbantes SPE pour l'analyse des composés pharmaceutiques

Le choix de la phase adsorbante dépend de la matrice à traiter et du type des composés à extraire. La grande diversité des caractéristiques chimiques des PPs (acides, basiques ou neutres et polaire ou apolaires) a conduit à l'évaluation et à l'utilisation de nombreuses phases hydrophiles, lipophiles ou mixtes, dont les plus courantes sont reportées dans le Tableau I-9.

Les premières phases de silice greffées C18 étaient peu sélectives, rendant leur utilisation difficile pour le traitement de grand volume de matrices aqueuses complexes. Elles sont le plus souvent employées pour l'extraction des PPs neutres et basiques (Calamari *et al.*, 2003; Sacher *et al.*, 2001; Ternes *et al.*, 2001; Ternes *et al.*, 1998) et certains PPs acides comme les régulateurs de lipides (fibrates) et les AINS (Ahrer *et al.*, 2001; Hernando *et al.*, 2006; Hernando *et al.*, 2004; Miao *et al.*, 2002; Verenitch *et al.*, 2006). Elles sont moins efficaces pour les PPs très polaires (amoxicilline et acide salicylique) (Bones *et al.*, 2006b). Les

cartouches polymériques ont des capacités d'adsorption plus élevées pour les composés polaires (interactions $\pi - \pi$) que les phases C18 et sont stables sur une large gamme de pH. Elles ont permis le développement de méthodes SPE plus spécifiques à l'analyse de PPs qui présentent de grandes différences de polarité (Barcelo *et al.*, 2005).

Tableau I-9 Les phases adsorbantes pour l'extraction des PPs

Phases Type	Molécules retenues	Réf
Phases inverses		
C18/C8 Silice apolaire greffée chaîne carbonée	<u>PPs basiques et neutres</u> : psychotropes, antiépileptique, antiasthmatique, analgésiques (phénazone), IPP anticancéreux, antibiotiques (fluoroquinolones, pénicillines), antihypertenseur (β -bloquants, inhibiteur calcique), antidiabétiques <u>PPs acides</u> : régulateurs de lipides (fibrates), analgésiques et AINS	(Ahreer <i>et al.</i> , 2001; Calamari <i>et al.</i> , 2003; Hernando <i>et al.</i> , 2006; Hernando <i>et al.</i> , 2004; Kuster <i>et al.</i> , 2008; Miao <i>et al.</i> , 2002; Ternes <i>et al.</i> , 2001; Ternes <i>et al.</i> , 1998; Togola & Budzinski, 2007; Verenitch <i>et al.</i> , 2006)
Phase inverse polymériques		
Lichrolut EN copolymère polystyrène/divinylbenzène non fonctionnalisé	<u>PPs acides basiques et neutres</u> : produits de contraste iodés, analgésiques et AINS, régulateur de lipide (fibrate), antiépileptique, antibiotiques (Tétracyclines, Pénicillines, Macrolides, Sulfonamides et Triméthoprime), diurétiques et antinéoplasiques	(Calamari <i>et al.</i> , 2003; Castiglioni <i>et al.</i> , 2005; Comoretto & Chiron, 2005; Farre <i>et al.</i> , 2001; Hirsch <i>et al.</i> , 1999; Hirsch <i>et al.</i> , 1998; Sacher <i>et al.</i> , 2001)
Isolute ENV+ seul ou mixte ENV+/C2 Résine apolaire polystyrène divinylbenzène hydroxylée	<u>PPs très polaires acides, basiques et neutres</u> : antibiotiques, β -bloquants, analgésiques (phénazone)	(Andreozzi <i>et al.</i> , 2003; Lindberg <i>et al.</i> , 2004; Quintana & Reemtsma, 2004; Sacher <i>et al.</i> , 2001)
Copolymères hydrophiles lipophiles		
Oasis HLB Hydrophilic-lipophilic balance, copolymère polystyrène-divinylbenzène-N-vinylpyrrolidone	<u>PPs acides basiques et neutres</u> : antibiotiques (pénicillines, tétracyclines, macrolides, quinolones, sulfonamides et triméthoprime), psychotropes (psychostimulants, antiépileptiques, antidépresseurs ISRS, tranquillisants), cardiovasculaires, antihypertenseurs (β -bloquants), antidiabétiques, antiasthmatiques et bronchodilatateurs, régulateurs de lipides (statines et fibrates), agents de contraste, analgésiques et AINS, antiacides et antiulcéreux, anticoagulants, antihistaminiques, anticancéreux (MSRE)	(Batt & Aga, 2005; Cha <i>et al.</i> , 2006; Chen <i>et al.</i> , 2008; Gros <i>et al.</i> , 2006; Hao <i>et al.</i> , 2006; Lindsey <i>et al.</i> , 2001; MacLeod <i>et al.</i> , 2007; Marchese <i>et al.</i> , 2003; Martinez Bueno <i>et al.</i> , 2007; Miao & Metcalfe, 2003; Ollers <i>et al.</i> , 2001; Pedrouzo <i>et al.</i> , 2007; Quintana & Reemtsma, 2004; Santos <i>et al.</i> , 2005; Schultz & Furlong, 2008; Senta <i>et al.</i> , 2008; Vanderford <i>et al.</i> , 2003b; Vieno <i>et al.</i> , 2006; Weigel <i>et al.</i> , 2004; Zhang & Zhou, 2007; Zhao & Metcalfe, 2008)
Strata-X polymère styrene-divinylbenzène N-vinylpyrrolidone	<u>PPs acides basiques et neutres</u> : antibiotiques (sulfonamides et triméthoprime), antifongiques et antiparasitaires, antihypertenseur (β -bloquants), analgésiques et AINS, anticoagulants, psychotropes (antiépileptiques, antipsychotiques, hypnotiques, antidépresseurs et tranquillisants), régulateurs de lipides (statines et fibrates), antinéoplasiques	(Ashton <i>et al.</i> , 2004; Bones <i>et al.</i> , 2006a; Hilton & Thomas, 2003; Kosjek <i>et al.</i> , 2005; Lacey <i>et al.</i> , 2008; Lajeunesse & Gagnon, 2007; Matamoros & Bayona, 2006; Matamoros <i>et al.</i> , 2005; Nebot <i>et al.</i> , 2007; Roberts & Thomas, 2006; Stafiej <i>et al.</i> , 2007; Wu <i>et al.</i> , 2008; Yu <i>et al.</i> , 2006)
Phases inverses échangeuses d'ions		
Oasis MCX divinylbenzène-N-vinylpyrrolidone et échangeur de cations $-\text{SO}_3\text{H}$	<u>PPs basiques et neutres</u> : antiacides, antihypertenseurs (β -bloquants, diurétiques, sartans, inhibiteurs calciques), antibiotiques (tétracyclines et fluoroquinolones), psychotropes (psychostimulants, tranquillisants, antidépresseurs, antiépileptiques), corticostéroïdes, bronchodilatateurs <u>PPs acides</u> : régulateurs de lipides, analgésiques et AINS, Drogues illicites, produits de soins personnels	(Batt <i>et al.</i> , 2008; Calamari <i>et al.</i> , 2003; Castiglioni <i>et al.</i> , 2005; Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> , 2007; 2008a; b; Stolker <i>et al.</i> , 2004a; Togola <i>et al.</i> , 2008)
Oasis MAX Base HLB et échangeur d'anions $(\text{C}_4\text{H}_8)_2(\text{CH}_3)\text{-N}^+$	Antibiotiques (pénicillines β -lactames)	(Benito-Pena <i>et al.</i> , 2006)
SPE en tandem		
Oasis HLB/Oasis MCX StrataX/Strata XC	Antibiotiques (pénicillines, tétracyclines, fluoroquinolones, macrolides, sulfonamides et triméthoprime)	(Barnes <i>et al.</i> , 2008; Focazio <i>et al.</i> , 2008; Karthikeyan & Meyer, 2006; Kolpin <i>et al.</i> , 2002; Meyer <i>et al.</i> , 2007; Segura <i>et al.</i> , 2007)

Ainsi, les phases Isolute ENV+ et Lichrolut EN (copolymère ethylvinylbenzène-divinylbenzène) possèdent des propriétés adsorbantes de nature hydrophobe qui facilitent la

rétenion des PPs acides comme les analgésiques et les régulateurs de lipides (fibrates) (Comoretto & Chiron, 2005; Farre *et al.*, 2001; Pedrouzo *et al.*, 2007) et sont souvent employées pour l'extraction spécifiques de ces composés.

Les cartouches Oasis HLB (N-vinylpyrrolidone - divinylbenzène) et STRATA-X (styrène - divinylbenzène) qui possèdent des caractéristiques mixtes hydrophiles et lipophiles ont montré une grande efficacité pour l'extraction de composés aussi bien basiques, qu'acides, ou neutres (Bones *et al.*, 2006a; Hilton & Thomas, 2003; Lajeunesse & Gagnon, 2007; Van De Steene *et al.*, 2006). L'emploi de l'adsorbant Oasis HLB tend à se généraliser. Il semble présenter l'avantage de ne pas nécessiter l'ajustement du pH pour la rétenion des PPs acides (Marchese *et al.*, 2003; Weigel *et al.*, 2004) tout en favorisant la rétenion des PPs basiques (Gros *et al.*, 2006). Les même rendements d'extraction sont obtenus (> 60 %) pour la plupart des PPs extraits entre un pH de 4,2 et 10,3 (Pedrouzo *et al.*, 2007; Zhang & Zhou, 2007). L'extraction avec la cartouche Strata-X est généralement effectuée à pH acide (2, 4 et 6) et différents solvants d'élution ont été testés (Nebot *et al.*, 2007). Les rendements obtenus (entre 44 et 92 %) sont du même ordre que ceux obtenus avec la cartouche Oasis HLB. Ils sont souvent meilleurs pour les PPs acides comme les AINS et les fibrates, ou encore le triméthoprim (Bones *et al.*, 2006a), et certains psychotropes de la listes OSPAR (Roberts & Bersuder, 2006). Il a été choisi également par (Lajeunesse & Gagnon, 2007) pour les meilleurs rendements d'extraction obtenus pour les AINS et la carbamazépine dans les effluents. (Stafiej *et al.*, 2007) reportent des rendements compris entre 77 et 98 % pour des AINS, un régulateur de lipide et des œstrogènes, malgré un volume d'échantillon chargé très important (2,5 L d'eau de rivière). Pour les macrolides, par contre, les meilleurs rendements sont obtenus avec la cartouche Oasis HLB (Abuin *et al.*, 2006; Senta *et al.*, 2008). Les études comparatives montrent que ces deux cartouches sont sensiblement équivalentes. Les limites de détection atteintes par ces systèmes sont de l'ordre du ng L⁻¹ du fait d'un facteur de concentration important.

Les phases mixtes échangeuses de cations sont recommandées pour l'extraction des fluoroquinolones (Golet *et al.*, 2001) et des PPs très polaires. L'adsorbant Oasis MCX (échangeur de cations : N-vinylpyrrolidone – divinylbenzène – SO₃H) fait preuve d'une haute sélectivité vis-à-vis des composés basiques, qui sont ionisés à pH acide et se lient à la phase échangeuse de cation alors que les composés acides et neutres vont être retenus par la phase inverse. Cet adsorbant a montré son efficacité pour extraire de très nombreux PPs (jusqu'à plus de 50) à pH acide comme à pH neutre (Batt *et al.*, 2008; Castiglioni *et al.*, 2005). L'élution se fait alors en deux étapes, la première à pH neutre pour éluer les PPs acides et

neutres, la deuxième avec un solvant d'élution basique pour l'élution des PPs basiques. Les meilleurs rendements obtenus pour l'extraction d'antibiotiques (pénicillines β -lactames) à pH neutre (pH 7,5) ont été atteints à l'aide d'une phase mixte échangeuse d'anions, Oasis MAX (Benito-Pena *et al.*, 2006).

De nouvelles stratégies de développement des méthodes SPE comprennent l'utilisation d'adsorbants en série ou en tandem incluant des phases mixtes avec des capacités d'échangeurs anioniques ou cationiques (Karthikeyan & Meyer, 2006; Kolpin *et al.*, 2002; Segura *et al.*, 2007; Van De Steene & Lambert, 2008b; Zuccato *et al.*, 2000). Le couplage de phases différentes augmente la spécificité de l'extraction et, en additionnant les possibilités d'interactions, permet d'améliorer les rendements d'extraction. La combinaison Oasis HLB et Oasis MCX en tandem, ou encore Strata X en tandem avec Strata XC, sont des méthodes retenues pour l'analyse d'antibiotiques appartenant à différentes familles (Barnes *et al.*, 2008; Focazio *et al.*, 2008; Karthikeyan & Meyer, 2006; Kolpin *et al.*, 2002; Meyer *et al.*, 2007; Segura *et al.*, 2007). L'extraction en phase liquide (LLE) a également été associée à la SPE en tant qu'étape additionnelle de purification afin de réduire les effets de matrice (Ahrer *et al.*, 2001; Vasskog *et al.*, 2006).

Le développement de variantes modernes de la SPE se tourne surtout vers la réduction de manipulation des échantillons. Les techniques SPE automatisées en ligne ont l'avantage de permettre le traitement et l'analyse des échantillons à haut débit et à moindre coût ce qui facilite l'analyse de routine (Pozo *et al.*, 2006; Stoob *et al.*, 2005). La SPE en ligne permet de décupler le facteur de concentration par rapport à la SPE simple, ce qui réduit sensiblement les limites de détection (Bones *et al.*, 2006b; Feitosa-Felizzola *et al.*, 2007; Macia *et al.*, 2003; Postigo *et al.*, 2008).

I.1.3.2 Séparation et détection par spectrométrie de masse

La séparation de composés est le plus souvent réalisée par chromatographie en phase gazeuse (GC), après dérivation, ou en phase liquide (LC) pour les PPs plus polaires. La spectrométrie de masse est utilisée pour la détection.

La GC-MS a été plus particulièrement utilisée pour les PPs acides (analgésiques et anti-inflammatoires)(Radjenovic *et al.*, 2007). Cependant, son application est limitée aux PPs non

polaires et volatils : une étape de dérivation est nécessaire, ce qui réduit la reproductibilité de l'analyse. La GC est plus sensible aux impuretés matricielles que la LC (Ternes *et al.*, 1998). De ce fait, le couplage GC-MS est progressivement remplacé par la LC-MS et la LC-MS/MS.

Principe

La détection par spectrométrie de masse nécessite le couplage d'un système d'introduction de la substance (le système de chromatographie liquide), une source pour ioniser cette substance, un analyseur pour séparer les divers ions produits, un détecteur pour comptabiliser les ions et un système de traitement des données acquises (Bouchoux & Sablier, 2005).

Chromatographie liquide

La chromatographie liquide est adaptée à la séparation des PPs dont la nature va de polaires à très polaires. Elle permet la séparation des constituants d'un mélange en fonction de la vitesse à laquelle ils sont entraînés par la phase mobile à travers une phase stationnaire. Selon l'affinité de composés avec la phase stationnaire, les composés sont inégalement retenus par la colonne et la traversent à des vitesses différentes permettant leur élution à des temps de rétention séparés.

Différentes phases sont disponibles pour de nombreux types de colonnes chromatographiques. Les plus couramment employées pour l'étude des PPs sont les phases stationnaires inverses (C18) en chromatographie de partage (Zwiener & Frimmel, 2004). La phase stationnaire non polaire nécessite l'utilisation d'une phase mobile polaire qui va éluer les composés polaires en premier. Un des principaux avantages de la LC-MS/MS réside dans le fait qu'elle ne nécessite pas une séparation complète des molécules pour atteindre une détection sélective. Cependant, une meilleure séparation permet d'affiner la résolution du signal. Les solvants employés sont généralement l'acétonitrile ou le méthanol, voire un mélange des deux conduisant à une élution rapide et une haute résolution analytique. Pour les méthodes multi-résidus, l'ajustement du pH de la phase mobile est préconisé pour optimiser la séparation chromatographique des composés sur la phase stationnaire (Miao & Metcalfe, 2007) :

- Un pH acide sera préféré pour les PPs acides (Stolker *et al.*, 2004a). Facilitant leur déprotonation en mode d'ionisation négative, l'acidification de la phase mobile améliore la sensibilité de leur détection MS/MS.

- Un pH neutre ou acide, inférieur aux valeurs de pKa, augmente la protonation des PPs basiques comme les β -bloquants (Ternes *et al.*, 1998) et leur sensibilité vis-à-vis de l'ionisation positive (Barcelo *et al.*, 2005).
- L'ajout de sels dans la phase mobile entre 2 et 20 mM est effectué pour obtenir une rétention efficace sur la colonne chromatographique et améliorer la sensibilité de la détection MS. Les sels utilisés sont généralement l'acétate d'ammonium, le formiate d'ammonium, la tri-n-butylamine, l'acide formique et l'acide acétique (Petrovic *et al.*, 2007).

Mode d'ionisation

L'ionisation par nébulisation comme l'électro-nébulisation electrospray (ESI : electrospray ionization) et l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI : Atmospheric pressure chemical ionisation) sont les méthodes les plus courantes (conditions douces). Ces techniques sont basées sur la formation d'un brouillard de gouttelettes « electrospray ». L'électrospray est obtenu par l'application d'un champ électrique intense sur la solution de molécules à analyser. Celui-ci va entraîner la polarisation du liquide et la séparation des charges positives et négatives. Le plus fréquemment, un mode d'ionisation positif est appliqué pour les molécules capables de capter un H⁺ (amine et amide) et former un ion positif [M + H]⁺. La formation ions négatifs [M - H]⁻ est obtenue pour les PPs acides par ionisation négative. Les gouttelettes enrichies en charges positives et/ou négatives sont finalement pulvérisées en sortie d'un capillaire sous le flux d'un gaz nébulisant (N₂). L'electrospray est le mode d'ionisation le plus fréquemment utilisé pour l'étude des substances pharmaceutiques.

Détection par spectrométrie de masse en tandem

Le principe de la spectrométrie de masse consiste dans un premier temps à obtenir un ion moléculaire (ion précurseur), à l'état gazeux, à partir d'une substance organique. Cet ion est éclaté en différents fragments ionisés spécifiques du composé parent. Les ions fragments (ions fils) sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge [m/z] par l'application et le balayage d'un champ magnétique et/ou électrique. Ils sont finalement collectés par un détecteur de manière à produire un courant électrique proportionnel au nombre d'ions qui est amplifié et mesuré pour aboutir à l'obtention du spectre de masse de la molécule (Bouchoux & Sablier, 2005).

La spectrométrie de masse en tandem employant un analyseur triple quadripôle (QqQ) est un des systèmes le plus employés pour la détection des PPs du fait de sa très grande sensibilité

(Barcelo & Petrovic, 2007). Elle permet la détermination précise de la masse moléculaire jusqu'à plusieurs centaines de kDa et l'analyse de mélanges complexes.

La spectrométrie de masse en tandem implique le passage par plusieurs étapes d'analyse en masse (Figure I-24). Les molécules ionisées pénètrent dans l'analyseur. Les ions caractérisés par un certain rapport $[m/z]$ sont sélectionnés par le premier quadripôle (Q1). Ils sont fragmentés dans la cellule de collision (q2) par impact avec les molécules de gaz (le plus souvent l'argon). Les ions fils sont séparés par le troisième quadripôle (Q3) pour être détectés globalement en mode de balayage ou spécifiquement en mode d'ions sélectionnés (SRM).

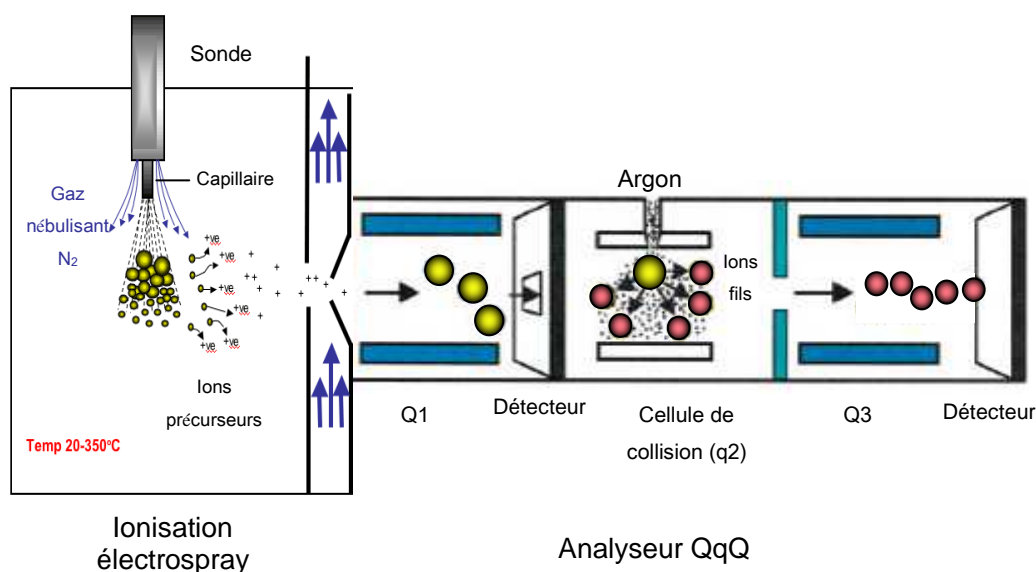


Figure I-24 Analyse en plusieurs étapes dans le système de détection de masse QqQ (schéma adapté de Li & Assmann, 2000)

Le mode de balayage des ions fils (ou « daughter scan ») permet d'obtenir le spectre de fragmentation d'un ion sélectionné dans le premier quadripôle. Le mode de balayage des ions précurseurs permet de connaître l'ensemble des ions ayant produit un fragment sélectionné en dans le dernier quadripôle. Le mode de transitions sélectionnées (ou MRM, « multiple reaction monitoring mode ») consiste à suivre un fragment sélectionné spécifique d'un ion parent donné. Le mode « full scan » est un mode de balayage qui est effectué sans sélection, au niveau des deux quadripôles. Ce dernier mode permet d'augmenter la sélectivité de l'analyse.

Limites de la technique LC/MS-MS

Une des limites de la LC-MS/MS est la co-élution de composants de la matrice qui dans les systèmes d'ionisation à pression atmosphérique (API) vont entraîner la réduction, voire plus rarement une surestimation, du signal analytique. La suppression du signal analytique par la présence de la matrice a été observée plus particulièrement pour l'HPLC-MS/MS faisant appel à un mode d'ionisation par électrospray (ESI). La source ESI est très sensible aux autres composants de la matrice. Il a été remarqué que la réduction du signal par effet de matrice était moins prononcée par ionisation positive (Petrovic *et al.*, 2006). En mode d'ionisation APCI, l'effet de matrice est moins prononcé et peut entraîner une augmentation du signal (Zhao & Metcalfe, 2008).

Plusieurs stratégies ont été proposées et expérimentées afin de compenser et/ou réduire les effets de matrice et améliorer la sensibilité :

- La dilution de l'extrait obtenu par SPE (Gómez *et al.*, 2007) ;
- L'utilisation de standards internes (SI) d'isotopes appropriés marqués ou pas (Batt *et al.*, 2008; Karthikeyan & Meyer, 2006; Petrovic *et al.*, 2006; Vanderford & Snyder, 2006) ;
- En l'absence de SI marqués, la méthode des ajouts dosés à l'aide de solutions standards est considérée comme le seul moyen d'aboutir à une quantification précise des composés du fait des différents effets de suppression et rendements obtenus selon les matrices (Van De Steene & Lambert, 2008b) ;
- L'ajout d'une étape de rinçage après passage de l'échantillon sur la cartouche pour éliminer certains interférents présents dans la matrice (Hernando *et al.*, 2006; Ollers *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2005) ;
- L'utilisation de systèmes d'extraction plus sélectifs dérivés de la SPE et la LLE permettant une purification plus poussée de l'échantillon, comme la microextraction en phase solide (SPME) ou liquide (LPME), ou encore l'extraction sur membrane imprimée moléculairement (MISPE) (McClure & Wong, 2007; Quintana *et al.*, 2004) ;
- La chromatographie liquide ultra haute performance (UPLC) pour augmenter l'intensité et la résolution des pics chromatographiques et obtenir un rapport signal/bruit plus élevé (Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2007; Kloepfer *et al.*, 2005; Petrovic *et al.*, 2006).

Les applications de la LC-MS/MS dans l'analyse multi-résidus des produits pharmaceutiques

Dans un récent article de revue, (Barcelo *et al.*, 2005) ont signalé l'utilisation de la LC-MS-MS pour l'analyse environnementale de 74 produits pharmaceutiques, appartenant à cinq classes thérapeutiques différentes (des analgésiques et AINS, des régulateurs de lipides, des β -bloquants, des antibiotiques, et des psychotropes). Avec les progrès technologiques importants, la sélectivité et la sensibilité de la LC-MS-MS ont sensiblement augmenté, et cette technique est devenue la méthode de référence aussi bien pour les études de pharmacocinétique et de surveillance des PPs dans l'environnement.

Le Tableau I-10 présente quelques exemples de détermination de PPs dans les matrices environnementales aqueuses par LC-MS/MS issus d'une revue de la littérature récente (2006 – 2008). Il est possible d'analyser plus de 150 produits pharmaceutiques dans l'environnement, principalement à l'aide de méthodes multi-résidus (Barcelo *et al.*, 2005; Batt & Aga, 2005; Castiglioni *et al.*, 2005; Gomez *et al.*, 2006; Hao *et al.*, 2007; Hao *et al.*, 2006; Karthikeyan & Meyer, 2006; Petrovic *et al.*, 2007). Les méthodes LC-MS/MS récemment développées sont également employées pour étudier le devenir des PPs dans l'environnement (Nikolaou *et al.*, 2007; Radjenovic *et al.*, 2007), ou au cours des traitements des eaux usées (Matamoros *et al.*, 2008; Zwiener, 2007). Les méthodes LC/MS hybrides telles que la détection MS/MS à temps de vol (« time-of-flight » TOF) et à pièges d'ions (« ion trap » IT) sont de plus en plus utilisées et sont recommandées pour des objectifs de confirmation (Pozo *et al.*, 2006; Roberts & Bersuder, 2006; Stolker *et al.*, 2004b) et pour des besoins d'identification de produits de dégradation ou autres composés « inconnus » (Eichhorn *et al.*, 2005; Petrovic & Barcelo, 2007).

Tableau I-10 Méthodes LC-/MS-MS pour l'analyse multi résidus de PPs dans les matrices environnementales aqueuses

Composés	Matrice	Prétraitement et extraction	Séparation LC	Détection MS	Limites de détection (ng L ⁻¹)	Réf.
4 PPs : antibiotiques (pénicillines β-lactames)	Eaux de surface, Eaux usées	pH 7,5 Na ₂ EDTA SPE	C18	IT MS/MS ESI SRM	8 - 18	(Cha et al., 2006)
11 PPs (liste OSPAR)	Eaux de surface, Eaux usées, Eaux traitées	pH 3 SPE	C18	IT MS SIM et QqQ MS/MS ESI (NI PI)	1 - 20	(Roberts & Bersuder, 2006)
21 antibiotiques 1/ sulfonamides, macrolides et autres 2/ tétracyclines et fluoroquinolones	Eaux de surface, Eaux usées, Eaux traitées	pH3 Na ₂ -EDTA SPE	1/ phenylhexyl 2/ C8 ou C18	ESI-MS PI	10 - 50	(Karthikeyan & Meyer, 2006)
8 PPs : β-bloquants fluoroquinolones et antiépileptique	Eaux de surface, Eaux usées, Eaux traitées, Eaux souterraines	pH 10 SPE	C18	QqQ MS/MS ESI (+) MRM	0,5 -50	(Vieno et al., 2006)
27 PPs : antibiotiques antiépileptique, analgésiques et AINS, régulateurs de lipides	Eaux de surface	pH 8,2 Na ₂ -EDTA SPE	C18	QqQ et Qq LIT ESI- MS/MS	20	(Hao et al., 2006)
16 PPs : carbamazépine, psychostimulant, analgésiques et AINS, antidépresseurs, β-bloquants, antibiotiques	Eaux hospitalières	pH 7 SPE	C18	QqQ ESI-MS/MS MRM	4 – 5	(Gomez et al., 2006)
5 PPs acides : analgésiques et AINS, régulateur de lipides	Eaux de surface et souterraines, Eau potable, Eaux usées/traitées	pH2 SPE	C18	QqQ ESI-MS/MS NI MRM	7,5-75	(Hernando et al., 2006)
29 PPs : analgésiques et AINS, régulateurs de lipides, antiulcéreux, psychotropes antihistaminiques, antibiotiques et β-bloquants	Eau de surface, Eaux traitées	pH neutre SPE	C18	QqQ ESI MS/MS (PI NI) MRM	Eau de surface 1 - 30 eaux traitées 3 - 160	(Gros et al., 2006)
16 antibiotiques : 10 quinolones, 6 pénicillines	Eaux de surface et souterraines	pH 2,5 SPE	C18	QqQ ESI-MS/MS et Q-ToF	0,4 - 4,3	(Pozo et al., 2006)
9 PPs : antiparasitaires, antifongiques, IPP, neuroleptiques, antihistaminique	Eaux de surface	pH neutre SPE en série	C18	ESI/MS/MS		(Van De Steene & Lambert, 2008b; Van De Steene et al., 2006)
15 PPs : régulateurs de lipides, psychotropes, AINS, antihypertenseurs et β-bloquants, antibiotiques	Eaux usées/traitées, Eaux de surface, Eau potable	pH neutre SPE	C18	ESI QqQ MS/MS PI NI	0.25 - 1.0	(Vanderford & Snyder, 2006)
9 PPs : β-bloquants, ISRS et bronchodilatateur	Eaux usées et Eaux traitées	SPE	Chirobiotic V	QTRAP QqQ MS- MS ESI (PI) MRM	0.2 - 7.5	(MacLeod et al., 2007)
8 PPs : antibiotiques (macrolides, sulfonamides et triméthoprimé)	Eaux usées, Eaux traitées	pH neutre SPE ou SPME	C18	QTrap QqQ TurboIonSpray ESI MS/MS MRM	Eaux usées 5 - 15 Eaux traitées 1 - 6	(McClure & Wong, 2007)
11 PPs analgésiques et AINS, régulateurs de lipides, caféine et carbamazépine	Eaux de surface, Eaux usées	SPE	C18	ESI-MS (PI NI) SIM	Eaux de surface 3 - 15	(Pedrouzo et al., 2007)

56 polluants dont 38 PPs et 10 métabolites, 6 pesticides et 2 désinfectants	Eaux traitées	pH 8 SPE	C18	Hybride QqQ-LIT (QTRAP) combiné à TOF-MS SRM	0,04 - 50	(Martinez Bueno et al., 2007)
14 PPs : 12 antibiotiques (fluoroquinolones, macrolides, tétracyclines, sulfonamides et triméthoprime), carbamazépine et propranolol	Eaux traitées	Na2EDTA Na2SO3 pH2 SPE en ligne	C-18	IT-MS/MS ESI full scan MS/MS et MRM	1 - 50	(Feitosa-Felizzola et al., 2007)
28 PPs et drogues illicites (basiques et neutres)	Eaux de surface, Eaux usées	pH 2.5 Na2EDTA SPE	C18	ESI MS/MS QqQ	0,3 - 50	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007) (Kasprzyk-Hordern et al., 2008a; b)
9 PPs basiques : antiparasitaires, antifongiques, IPP, neuroleptiques, antihistaminique	Eaux de surface, Eaux usées, Eaux traitées	pH 7 SPE	colonne pentafluorophenyl (PFP)	ESI MS/MS QqQ	0.05-10	(Van De Steene & Lambert, 2008a; b)
48 PPs et 6 métabolites	Eaux de surface, Eaux traitées	Na2EDTA + acide ascorbique SPE	C18	ESI-MS/MS QqQ (PI NI)	0,8 - 85	(Batt et al., 2008)
10 PPs : antidépresseurs ISRS	Eaux de surface, Eaux souterraines, Eaux traitées	pH acide SPE	Eclipse XDB-phenyl	QTrap QqQ-LIT MS/MS et MS/MS/MS ESI PI	0,2 - 0,5	(Schultz & Furlong, 2008)
21 contaminants émergents dont 6 PPs et antiseptique (triclosan)	Eaux de rivière	SPE	C18	QqQ ESI MS/MS (PI NI) SRM	< 30	(Kuster et al., 2008)
19 antibiotiques toutes classes 1/ macrolides et sulfonamides 2/ quinolones et tétracyclines	Eaux souterraines	pH3 Na2EDTA SPE indirecte et en ligne	1/ phenylhexyl 2/ C8 ou C18	Q ESI MS SIM PI QqQ ESI MS/MS	10 - 100	(Barnes et al., 2008; Focazio et al., 2008; Meyer et al., 2007)
21 PPs : 1/corticostéroïdes 2/β-bloquants	Eaux usées, Eaux traitées	pH acide SPE	1/ C18 2/ C18/C8	QqQ Turboionspray TIS MRM	0,1	(Piram et al., 2008)
20 PPs régulateurs de lipide AINS et analgésiques, antiépileptique, antifongique, β-bloquant, antiasthmatique, antibiotiques	Eaux de surface, Eaux usées	pH 4 SPE	C18	IT- MS/MS ESI	ng L ⁻¹ - µg L ⁻¹	(Lacey et al., 2008)
8 PPs : β bloquants	Eaux usées ; Eaux traitées	pH neutre MISPE	C18	Qq-LIT- MS/MS MRM QTRAP ESI PI	Eaux traitées 0.2 - 6.4 Eaux usées 0.4 - 6.5	(Gros et al., 2008) MIP
13 PPs : antibiotiques	Eaux de rivière, Eaux traitées, Eaux usées	pH 3 SPE	C18	QqQ ESI MS/MS MRM	ng L ⁻¹	(Senta et al., 2008)

I.2 Evaluation du risque environnemental des produits pharmaceutiques

Si les méthodes analytiques permettent de connaître l'ordre de grandeur des concentrations des différents médicaments retrouvés en particulier dans les milieux aquatiques, l'évaluation du risque apparaît plus délicate. Des méthodologies ont été développées en Europe et aux USA, pour l'évaluation du risque environnemental lié à l'usage des produits pharmaceutiques d'usage vétérinaire et humain.

Sur cette base, une classification environnementale des médicaments est développée en Suède pour fournir aux patients et aux prescripteurs une information environnementale sur ces produits.

1.2.1 Aspect réglementaire

La préoccupation croissante concernant le rejet de résidus de médicaments dans l'environnement a conduit les instances européenne et américaine à mener des actions réglementaires visant à évaluer l'impact environnemental de ces produits. Des procédures d'analyse du risque environnemental sont proposées en Europe par l'EMEA (European Medicines Evaluation Agency, 2006) et aux Etats-Unis par la FDA (Food and Drug Administration, (FDA, 1998)). Elles utilisent toutes les deux une approche par phases successives, approche qui compare la concentration prédite dans l'environnement (PEC, Predicted Environmental Concentration) avec la concentration prédite sans effet biologique sur les organismes aquatiques (PNEC, Predicted No Effect Concentration). Par contre, en ce qui concerne la valeur guide réglementaire, elle est dix fois plus élevée aux Etats-Unis ($0,1 \mu\text{g L}^{-1}$) qu'en Europe ($0,01 \mu\text{g L}^{-1}$).

La procédure européenne de l'EMEA

L'évaluation européenne des médicaments à usage humain repose sur la Directive du Conseil 65/65/EEC modifiée par la Directive 2001/83/EC. La méthodologie développée par l'EMEA pour l'évaluation du risque environnemental se déroule en deux phases (Figure I-25). La première consiste en l'évaluation de l'exposition de l'environnement au composé étudié : le

calcul du PEC dans les eaux de surface ($PEC_{\text{eau de surface}}$ ou PEC_{ES}) est réalisé selon un scénario de pire cas. Cette valeur est alors comparée à la valeur limite maximale considérée comme admissible dans le milieu, à savoir 10 ng L^{-1} :

- Les composés pour lesquels les $PEC_{\text{eau de surface}}$ calculés sont inférieurs à ce seuil et qui ne présentent pas de préoccupation environnementale avérée (bioconcentration, toxicité), sont considérés comme ne présentant pas de risque significatif pour l'environnement,
- Pour les autres composés, une deuxième phase d'affinage du calcul du $PEC_{\text{eau de surface}}$ est engagée à l'aide de données physico-chimiques, pharmacologiques et toxicologiques. L'évaluation du risque repose sur le rapport $PEC/PNEC$: si ce rapport est supérieur à 1, le composé est considéré comme présentant un risque pour l'environnement.

La valeur de 10 ng L^{-1} est sujette à discussion (Bound & Voulvoulis, 2004; Straub, 2002). En effet, cette limite d'action a été fixée à partir de données de toxicité aiguë à défaut de données de toxicité chronique.

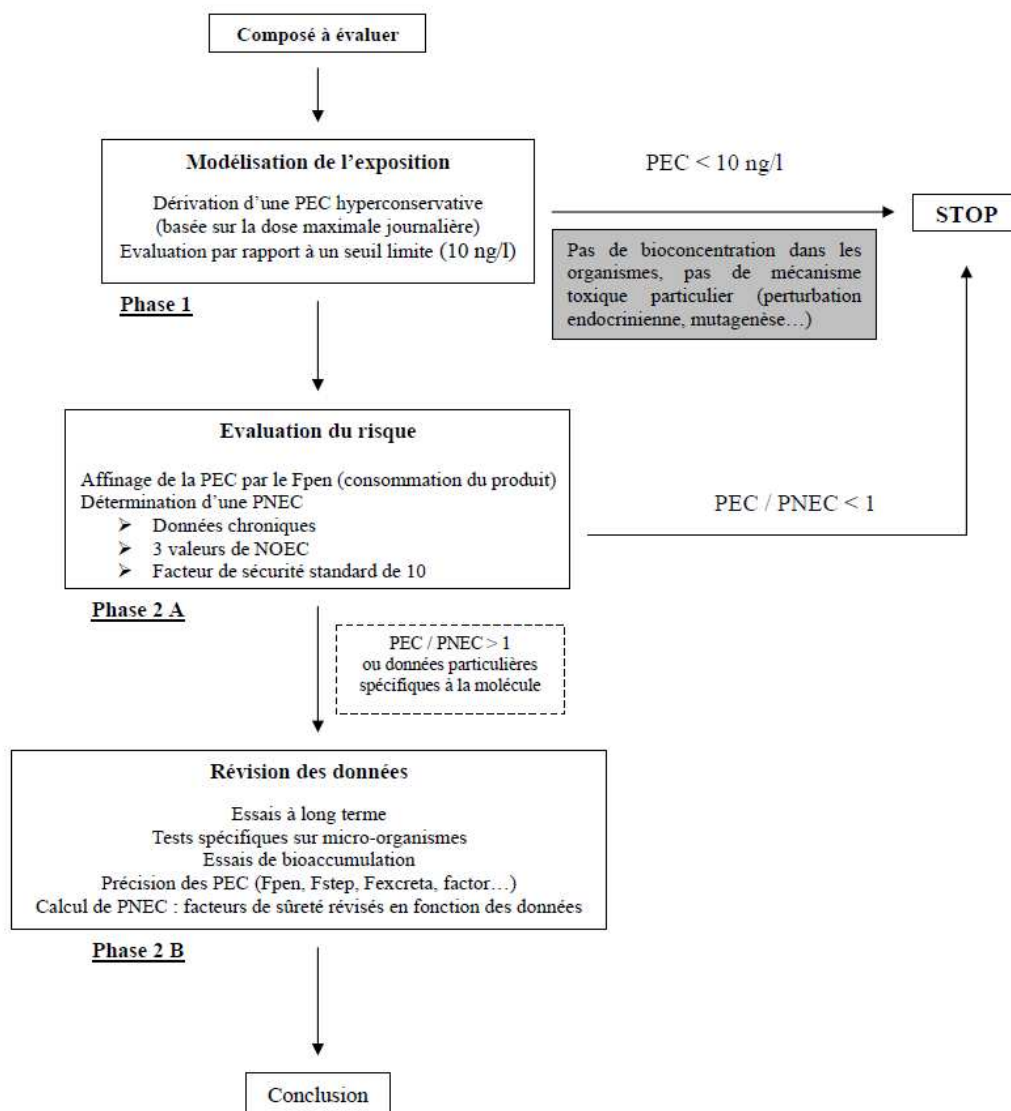


Figure I-25 Schéma récapitulatif de la procédure EMEA (Besse & Garric, 2007) adapté de (Bound & Voulvoulis, 2004)

La procédure américaine de la FDA

La réglementation américaine s'inscrit dans le contexte du National Environmental Policy Act. Avant l'estimation d'une concentration environnementale (ici MEEC : Maximum Expected Environmental Concentration), une étude des mécanismes de dégradation de la molécule étudiée dans les milieux concernés est effectuée. Si ces mécanismes sont rapides, seul un test d'inhibition microbienne est requis (Figure I-26).

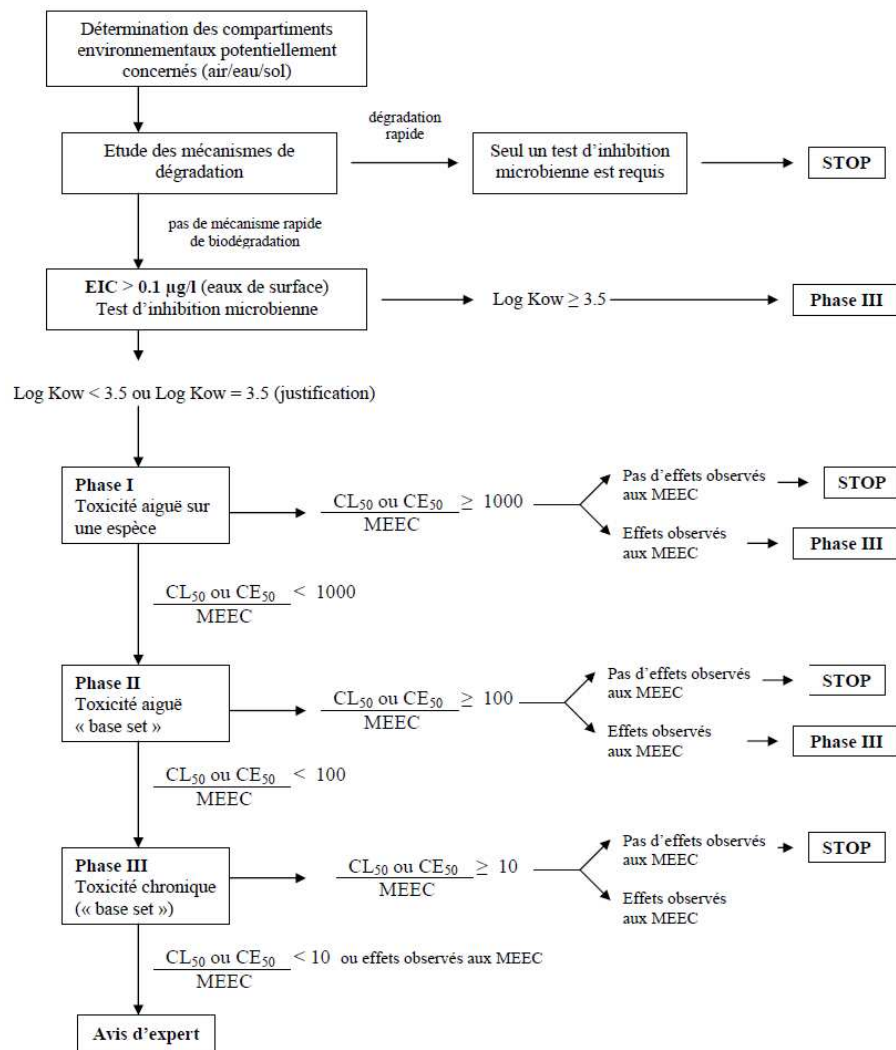


Figure I-26 Schéma récapitulatif de la procédure FDA (Besse & Garric, 2007) adapté de (FDA, 1998)

Sinon, une concentration environnementale attendue, EIC (Expected Introductory Concentration équivalente à la PEC) est calculée :

- Si cette valeur est inférieure à $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ dans les eaux de surface et que $\log K_{ow}$ est inférieur ou égal à 3,5, il n'y a pas de risque majeur pour l'environnement aquatique,
- Dans les autres cas, une évaluation de risque, à partir du quotient $CE(L)_{50}/MEEC$ (assimilable au rapport $PEC/PNEC$), comparable à celle proposée par l'EMEA est réalisée. Les valeurs seuils de ce quotient varient entre 10 et 1000 selon la complexité du test de toxicité mis en œuvre dans la procédure. Ceci équivaut à une valeur du rapport $PEC/PNEC$ de l'EMEA égal à 1 auquel un facteur de sûreté variant de 10 à 1000 aurait préalablement affecté.

Les valeurs de PNEC sont dérivées des données de toxicité reportées dans la littérature pour les composés concernés.

1.2.2 Classification environnementale

Un système de classification environnementale des substances pharmaceutiques (PPs) selon leur impact environnemental a été mis en place en Suède par le Stockholm County Council (Suède, 2009). Il résulte d'une démarche volontaire et d'une collaboration entre producteurs, acteurs du système de santé et autorités nationales. L'objectif est d'accroître la demande de médicaments présentant un faible impact environnemental. Le système est ouvert au public (www.fass.se) et le médicament est rangé en différentes classes de danger et de risque.

Le danger d'une molécule est estimé à partir de trois paramètres, les critères de Persistance, Bioaccumulation, et Toxicité, représentés par l'indice PBT) :

- la persistance caractérise l'aptitude de la molécule à résister à l'élimination ou la dégradation dans l'environnement aquatique ; elle est estimée par le temps de demi-vie,
- la bioaccumulation caractérise le potentiel d'accumulation de la substance dans les tissus adipeux des organismes aquatiques ; elle est estimée soit sur le facteur de bioaccumulation (BCF), soit par le $\log K_{ow}$,
- la toxicité caractérise le potentiel de la substance à empoisonner les organismes aquatiques : elle résulte de tests de toxicité couvrant 3 niveaux trophiques et est estimée par les valeurs de concentration létale (LC_{50}), concentration effective (EC_{50}) ou concentration inhibitrice (IC_{50}) de la substance ayant un effet sur 50 % de la population testée.

A chacun de ces paramètres est attribué un score entre 0 et 3. La somme de ces valeurs constitue l'indice PBT de la substance pharmaceutique. Un indice PBT de 0 pour chaque paramètre signifie que le médicament est biodégradable, non bioaccumulable et faiblement toxique. A l'autre extrémité de l'échelle (PBT = 9), le composé est considéré comme dangereux pour l'environnement.

Le risque présenté par un médicament est estimé par le rapport PEC/PNEC, selon la démarche de l'EMA. Quatre groupes ont été définis, une phrase de risque étant associée à chacun d'eux :

- $PEC/PNEC < \text{ou égal à } 0,1$: l'utilisation du médicament est considérée comme résultant en un risque insignifiant pour l'environnement,
- $0,1 < PEC/PNEC < \text{ou égal à } 1$: l'utilisation du médicament est considérée comme résultant en un risque faible pour l'environnement,
- $1 < PEC/PNEC < \text{ou égal à } 10$: l'utilisation du médicament est considérée comme résultant en un risque modéré pour l'environnement,
- $PEC/PNEC > 10$: l'utilisation du médicament est considérée comme résultant en un risque élevé pour l'environnement.

Ce système est effectif depuis 5 ans en Suède et aujourd'hui plus de 300 molécules représentant plus de la moitié des médicaments consommés dans ce pays ont été classées (Suède, 2009). Wennmalm *et al.* présentent un retour d'expérience sur ce système de management environnemental des produits pharmaceutiques (Wennmalm & Gunnarsson, 2009). Il s'avère que des données pour l'estimation du risque sont manquantes pour 47 % des médicaments. Parmi les molécules pour lesquelles les données sont disponibles :

- 7 % ont un ratio $PEC/PNEC > 1$ et 7 autres % ont un ratio compris entre 0,1 et 1,
- deux hormones ont un ratio > 10 ,
- 92 % ne sont pas directement biodégradables, 23 % sont bioaccumulables et 61 % sont toxiques pour les organismes aquatiques à des concentrations inférieures au mg L^{-1} .

Ces données sont utilisées par les pharmaciens experts régionaux pour sélectionner les médicaments à recommander dans les établissements de soins en Suède. Elles peuvent également être prises en compte par les médecins prescripteurs qui souhaitent identifier les médicaments les plus « éco-compatibles » parmi plusieurs ayant un effet thérapeutique équivalent. Il pourrait être intéressant d'étendre cette approche à l'ensemble des pays européens.

I.3 Elimination des produits pharmaceutiques par photolyse UV et adsorption sur charbon actif

Dans ce paragraphe sont donnés quelques éléments de bibliographie concernant un traitement tertiaire potentiel des effluents de STEP en vue d'améliorer l'élimination des produits pharmaceutiques avant rejet dans le milieu naturel. L'accent est mis sur deux techniques, la photolyse UV et l'adsorption sur charbon actif.

I.3.1 Photolyse UV

Ces dernières années de nombreux procédés d'oxydation avancée (POA) ont vu le jour afin d'éliminer les traces de micropolluants dans les eaux. Ces procédés font intervenir l'irradiation UV, le peroxyde d'hydrogène et l'ozone, seul ou combiné et apparaissent comme des techniques efficace et utile pour la dégradation des molécules médicamenteuses (Esplugas *et al.*, 2007; Ikehata *et al.*, 2008; Ikehata *et al.*, 2006; Lunn *et al.*, 1994).

Les procédés d'oxydation avancée les plus efficaces sont ceux qui conduisent à la formation des radicaux hydroxyles OH^\bullet qui ont un pouvoir oxydant supérieur à celui des oxydants traditionnels (Andreozzi *et al.*, 1999). Ils sont capables de minéraliser partiellement ou en totalité la plupart des composés organiques. Ces méthodes sont basées sur l'irradiation UV de l'eau à traiter, en présence d'eau oxygénée ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$), d'ozone (O_3/UV) ou d'une combinaison des deux ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$). Les radicaux hydroxyles peuvent aussi être générés en présence d'un semi-conducteur (TiO_2) par photocatalyse (Oppenländer, 2003).

Deux technologies sont principalement disponibles pour la photo-oxydation : elles utilisent les lampes à vapeur de mercure basse pression ou moyenne et haute pression.

- Les lampes à vapeur de mercure basse pression possèdent une pression de mercure comprise entre 10^{-3} et quelques millimètres de mercure. Elles émettent essentiellement à 184,9 nm et 254 nm. La mise en œuvre de ces lampes permet d'obtenir une importante dissociation de l'eau en radicaux H^\bullet et OH^\bullet ($\lambda = 184,9$ nm) et l'oxydation des matières organiques par les radicaux OH^\bullet . La puissance de ces lampes est limitée à 150 Watts. Elles fonctionnent au voisinage de la température ambiante et ne nécessitent pas de système de refroidissement,

- La différence entre les lampes moyenne et haute pression réside dans la prédominance de la raie à 366 nm (moyenne pression) par rapport à la raie à 436 nm (haute pression). Elles fonctionnent pour des pressions de vapeur de mercure supérieures à 10 atmosphères. Les spectres d'émission, larges, entre 240 et 600 nm, de ces lampes dépendent de la pression de la lampe. Une partie de l'énergie libérée se dissipe sous forme de chaleur. Un système de refroidissement est nécessaire.

Dans le cas d'une eau résiduaire urbaine, un abattement proche de 100 % du carbone organique total est obtenu en 50 minutes grâce à une lampe basse pression. Une lampe moyenne pression ne permet une diminution que de 25 % en 250 minutes dans les mêmes conditions expérimentales (réacteur, volume) (Roig, 1999).

Deux types de photolyse peuvent intervenir sous l'effet d'une radiation lumineuse en milieu aqueux : la photolyse directe et la photolyse indirecte (Arnold & McNeill, 2007). La Figure I-27 illustre ces deux possibilités pour un composé pharmaceutique.

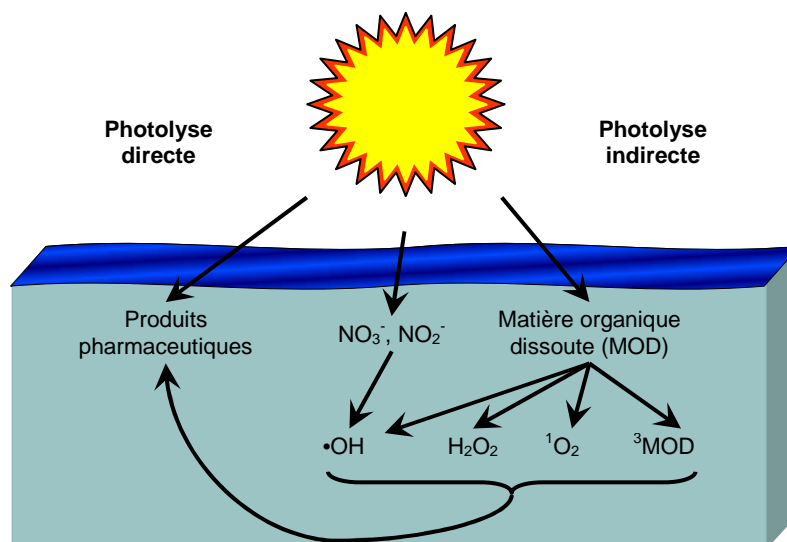


Figure I-27 Photolyse directe et indirecte dans le milieu aquatique naturel, adaptée de Arnold & McNeill (2007)

Dans le cas de la photolyse directe, le composé pharmaceutique absorbe un photon. C'est le cas des PPs dits photosensibles ou photolabiles pour lesquels une recommandation particulière est énoncée quant à la conservation du médicament à l'obscurité (délivrance dans récipients ambrés) et au risque de photosensibilisation faite au patient. Des études réalisées en test préclinique pour évaluer la phototoxicité des composés peuvent compléter les études

photochimiques environnementales (Marrot *et al.*, 2006; Onoue *et al.*, 2008a; Onoue *et al.*, 2008b; Onoue *et al.*, 2008c).

Le taux de photons adsorbé dépend du spectre d'action, c'est-à-dire du recouvrement du spectre d'adsorption du composé et du spectre d'émission lumineuse de la lampe. Le taux de photolyse est proportionnel à l'intensité d'irradiation. Il dépend également du pH du milieu et de la structure de la molécule. Dans les solutions aqueuses, certains composés peuvent être partiellement dissociés : généralement, les formes dissociées sont plus réactives que les formes non dissociées (Czaplicka, 2006).

L'irradiation directe conduit à un état excité de la molécule qui va pouvoir réagir selon d'autres procédés, comme décrit pour les pesticides par (Burrows *et al.*, 2002).

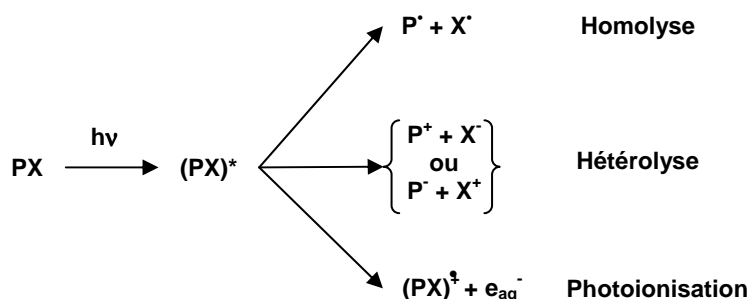


Figure I-28 Photolyse directe et réactions possibles de la molécule excitée (PX)* (Burrows *et al.*, 2002)

Dans le cas de la photolyse indirecte, le composé pharmaceutique n'absorbe pas directement la lumière : un autre composé chromophore présent dans le milieu agit comme une espèce sensibilisante (Lin & Reinhard, 2005). La photo-dégradation va alors se faire par l'intermédiaire de photosensibilisateurs (Figure I-29) :

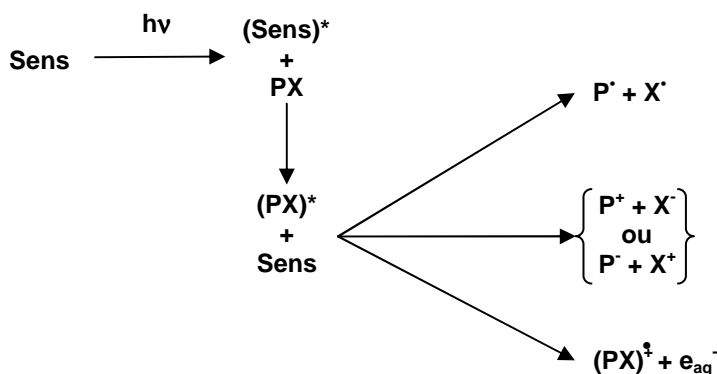


Figure I-29 Photolyse après photosensibilisation de l'espèce sensibilisante (Sens) (Burrows *et al.*, 2002)

Les photosensibilisateurs peuvent être la matière organique dissoute (MOD), les nitrates, et les nitrites qui, en absorbant la lumière, génèrent de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), des radicaux OH^\bullet , des radicaux peroxydes (ROO^\bullet) (Chiron *et al.*, 2000; Cooper *et al.*, 1989; Vaughan & Blough, 1998). De nombreuses études montrent par ailleurs que la présence d'acides humiques dans le milieu naturel peut avoir un effet positif sur la photodégradation d'un composé organique (Andreozzi *et al.*, 2004; Andreozzi *et al.*, 2003; Andreozzi *et al.*, 2002). Certains produits pharmaceutiques qui sont résistants à la photolyse directe, tels que la cimétidine (antiacide), peuvent être sensibles à la photolyse indirecte (Latch *et al.*, 2003).

1.3.2 Adsorption sur charbon actif

Le charbon actif est largement utilisé dans le traitement d'eaux résiduaires industrielles et la production d'eau potable, soit pour éliminer les composés organiques non biodégradables dans les eaux industrielles, soit pour éliminer la matière organique naturelle et les micropolluants présents dans les sources d'eau potable. L'adsorption sur charbon actif offre un excellent compromis efficacité/couts pour ces applications. De ce fait, la capacité du charbon actif pour éliminer les micropolluants du type pesticides et d'autres composés prioritaires est largement étudiée et connue (Bansal & Goyal, 2005; Najm *et al.*, 1992; Tansel, 2008; USEPA, 2001; Wang & Alben, 1998). L'intérêt actuel pour les PP a conduit à un certain nombre d'études sur l'élimination de ces composés par adsorption sur charbon actif. Elles portent sur les contraceptifs oraux (Yoon *et al.*, 2003) et quelques PP fréquemment rencontrés dans l'environnement (Adams *et al.*, 2002; Janex-Habibi *et al.*, 2004; Mestre *et al.*, 2007; Ternes *et al.*, 2005a; Ternes *et al.*, 2002; Westerhoff *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2008) et ont été faites dans les conditions de traitement de potabilisation. Le charbon actif a prouvé également son efficacité pour éliminer les pesticides et perturbateurs endocriniens dans l'eau (Bansal & Goyal, 2005; USEPA, 2001; Yoon *et al.*, 2003).

Généralités

Les divers charbons actifs se caractérisent d'une part par leurs structures poreuses et d'autre part par leurs propriétés chimiques de surface. Ces caractéristiques varient en fonction des matières premières et des procédés de fabrication. La majorité des charbons actifs utilisés dans le traitement d'eaux ont une structure microporeuse dont la taille des plus petits pores est

du même ordre de grandeur que celle de molécules organiques à éliminer. La surface spécifique (surface BET) des charbons actifs dans le traitement d'eaux est de l'ordre de 1000 m² g⁻¹. Les charbons actifs étant fabriqués par des procédés de pyrolyse et/ou oxydation contrôlées, leur surface présente en général des groupements oxygénés ayant un caractère acide ou basique. Par conséquent, l'affinité d'un charbon actif vis-à-vis de composés organiques est optimale lorsque le pH du milieu est au point de charge zéro. D'une façon générale, les charbons actifs sont utilisés pour adsorber les molécules hydrophobes et dans des conditions de pH proches de la neutralité.

L'efficacité d'un traitement par adsorption est déterminée d'une part par la capacité d'adsorption à l'équilibre (isotherme d'adsorption) et d'autre part par la cinétique d'adsorption. Les études sont relativement faciles à mettre en œuvre en laboratoire. La capacité d'adsorption dépend de l'affinité du composé à éliminer pour un charbon actif donné. Les données se présentent en général sous forme d'une courbe qui débute par une partie linéaire et termine par un palier. Dans le cas de composés organiques dans des solutions aqueuses diluées, les données d'isotherme d'adsorption sont souvent modélisées par une équation exponentielle (équation de Freundlich). Le processus d'adsorption physique (physisorption) mis en jeu dans le cas de traitement d'eaux, est cinétiquement rapide. Les étapes limitantes sont celles de transfert de masse par la diffusion. La diffusion des molécules dans les pores du charbon actif est souvent déterminante du fait que la surface d'adsorption se trouve essentiellement dans les micropores.

Pour une problématique donnée, le choix du charbon actif est basé sur des tests en laboratoire ou à l'échelle de pilote, faciles à réaliser. Il existe quelques considérations générales sur l'efficacité attendue du procédé, notamment en fonction des propriétés physico-chimiques des polluants. Une masse moléculaire plus élevée (faible solubilité) et la présence de structures aromatiques sont des facteurs qui favorisent l'adsorption sur charbon actif. En revanche, les composés polaires et les composés ionisés présentent des caractéristiques moins favorables. Le caractère hydrophobe (ou hydrophile) des composés à adsorber est souvent exprimé en terme de coefficient de partage eau/octanol ($\log K_{ow}$). Des études ont démontré la corrélation entre ce dernier et la capacité d'adsorption sur charbon actif (Hu *et al.*, 1998; Westerhoff *et al.*, 2005). Il est généralement admis que le procédé sera efficace pour éliminer les composés organiques dont le $\log K_{ow}$ est supérieur à 3-4 (Janex-Habibi *et al.*, 2004; USEPA, 2001) avec quelques particularités pour les composés ionisés (Hu *et al.*, 1998).

Au niveau de la mise en œuvre, les charbons actifs sont utilisés sous forme de poudre (PAC) ou de grains (GAC). La poudre de charbon actif, préparée sous forme d'une boue, est ajoutée dans les eaux à traiter comme un « produit chimique », puis séparée par décantation ou filtration. Son utilisation peut être temporaire. Dans le cas de la production d'eau potable, la concentration de charbon actif en poudre ajoutée peut être de 1 à 25 mg L⁻¹ et pour un temps de contact variable de 0,5 à 5 heures (Najm *et al.*, 1992). Le charbon actif en grains est utilisé sous forme d'un lit de filtration et de façon continue.

Impact de la matrice ou propriétés du milieu

La capacité et la cinétique d'adsorption des polluants sont influencées par la présence d'autres composés dans le milieu. Ceci est dû à l'adsorption compétitive de différentes substances sur la même surface (ou les mêmes sites d'adsorption) du charbon actif et/ou l'éventuel blocage de pores par des espèces de taille importante. Dans le cas de l'élimination de micropolluants pour la production d'eau potable, la concentration des composés à éliminer (composés prioritaires par exemple) est de l'ordre du ng L⁻¹, en comparaison avec le niveau de matière organique dissoute dans les eaux de rivière exprimé en mg L⁻¹. Dans l'optique du traitement tertiaire d'un effluent de STEP, la concentration des micropolluants cibles (produits pharmaceutiques par exemple) se limite au niveau de centaines de ng L⁻¹, avec une dizaine de mg L⁻¹ pour la charge organique totale. Cet écart très important des concentrations entre les micropolluants cibles et la matrice organique du milieu laisse présager de l'importance de l'effet de cette dernière.

Les constituants de la matrice organique sont hétérogènes tant pour les eaux de rivières que pour les effluents de STEP. L'effet dépend de l'importance de la fraction dont l'affinité avec le charbon actif (propriétés chimiques) et la taille (masse moléculaire) sont similaires à celles du polluant cible. D'une façon générale, la fraction constituée de composés aromatiques et d'une masse moléculaire de quelques centaines Daltons devrait contribuer majoritairement au phénomène d'adsorption compétitive. L'absorbance UV à 254 nm est utilisée pour caractériser le caractère aromatique de la matière organique dissoute. Elle est considérée comme étant hydrophobe si le rapport de l'absorbance à 254 nm sur la quantité de carbone organique dissous est supérieur à 4 (Cheng *et al.*, 2005).

De nombreuses études ont montré l'effet de la matière organique dissoute dans les eaux de rivière sur l'élimination de micropolluants (Ayele *et al.*, 1993). L'effet est plus ou moins prononcé suivant la nature des composés à éliminer et l'origine des eaux comme sources d'eau potable (Matsui *et al.*, 2003; Newcombe *et al.*, 1997; Newcombe *et al.*, 2002a; Newcombe *et al.*, 2002b). La matière organique présente dans les eaux de rivière est principalement constituée de substances humiques (polymères acides humiques et acides fulviques), qui représentent près de 50 % du COD (Ayele *et al.*, 1993; Leenheer & Croue, 2003; Thurman, 1985). Les autres substances sont des acides de plus petites tailles. La distribution de la masse moléculaire se situe entre 300 et 10000 Daltons (Ebie *et al.*, 2001; Pelekani & Snoeyink, 1999), ce qui signifie que les plus petites molécules ont la même taille que les micropolluants et les plus grosses ont une taille qui dépasse celle des micropores du charbon actif.

Les études d'adsorption dans les effluents de STEP urbaines sont manquantes dans la littérature. Selon une étude sur les caractéristiques des effluents (Imai *et al.*, 2002), la matière organique dissoute est constituée d'acides hydrophiles à 40 - 50 %, de substances humiques à 20 - 30 % et d'une fraction neutre hydrophobe qui représente environ 10 % du total. La masse moléculaire moyenne est autour de 400 Daltons avec une distribution assez étroite (300 - 1000 Daltons). Ce dernier résultat concerne la fraction de matières organique dissoute détectable par UV à 260 nm.

Application aux traitements des PPs

La concentration des produits pharmaceutiques présents dans les eaux de surface est du même ordre de grandeur que celle des pesticides et ces composés possèdent quasiment tous des structures aromatiques. L'adsorption sur charbon actif, connue pour son efficacité pour éliminer les pesticides, peut être raisonnablement considérée comme un procédé de choix pour éliminer les PPs (USEPA, 2001). Les études reportées dans la littérature sont, pour la plupart, réalisées dans les conditions de traitement de potabilisation, voire dans l'eau pure. L'adsorption sur charbon actif en tant qu'un moyen de traitement d'effluents de STEP à la source de la pollution des PPs a été très peu étudiée jusqu'à présent. Dans le Tableau I-11, sont rassemblées quelques études traitant de l'adsorption de PPs dans des matrices aqueuses données disponibles dans la littérature.

Tableau I-11 Adsorption de PPs sur charbon actif dans les matrices aqueuses

Composés pharmaceutiques	Conditions expérimentales (matrice et type de CA)	Elimination	Réf.
Bézafibrate, Ac. clofibrique, diclofénac, carbamazépine 0,1 à 100 µg L ⁻¹	GAC (F400) < 0.2 g L ⁻¹ isothermes H ₂ O milliQ Eaux souterraines	Carbamazépine > Bézafibrate ≈ diclofénac > Ac. clofibrique Efficace dans H ₂ O, limitée dans eaux souterraines (COD = 2 mg L ⁻¹)	(Ternes <i>et al.</i> , 2002)
Antibiotiques : carbadox, sulfonamides et triméthoprime 50 µg L ⁻¹	PAC (Calgon WPH) en condition de potabilisation 5 à 50 mg L ⁻¹ 4 h de contact dans H ₂ O et eau de rivière tamponnées à pH 7.5	H ₂ O : 10 mg L ⁻¹ : 57 - 97 % ; 20 mg L ⁻¹ : 81 - 98 % ; 50 mg L ⁻¹ > 90 %. eau de rivière, 10 mg L ⁻¹ : 49 - 73 % ; 20 mg L ⁻¹ : 65 - 100 % ; 50 mg L ⁻¹ > 90 %.	(Adams <i>et al.</i> , 2002)
AINS, psychotropes, antibiotiques et muscs 1 µg L ⁻¹	PAC (Chemviron F400) isothermes H ₂ O milliQ	PPs neutres et log K _{ow} > 2 (Carbamazépine, diazépam et muscs) > 99 % (PAC = 0,2 mg L ⁻¹) PPs chargés et log K _{ow} < 2 (ibuprofène, roxythromycine, sulfaméthoxazole et iopromide) < 50 % (PAC = 0,2 mg L ⁻¹)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2004) POSEIDON
	Eaux de surface (COT 1-1,5 mg L ⁻¹)	99 % (PAC = 15 mg L ⁻¹)	
49 PPCPs/EDCs 10 à 250 ng L ⁻¹	PAC en batch (AC800 et WPM) et GAC 1-20 mg L ⁻¹ eaux de rivière (COT 3-4 mg L ⁻¹)	10 à > 95 %	(Snyder <i>et al.</i> , 2007; Westerhoff <i>et al.</i> , 2005)
10 PPs et 4 produits de contraste	PAC et GAC Norit Isothermes Eaux usées traitées	Bisoprolol > Triméthoprime > carbamazépine > Métoprolol > Nonylphenol > sotalol > aténolol > HHCB = phénazone > naproxène = bisphénol A > bézafibrate > Triclosan > diclofénac	(Nowotny <i>et al.</i> , 2007)
Ibuprofène 20 à 120 mg L ⁻¹	PAC batch 80 à 700 mg L ⁻¹ cinétique et isotherme 4 h de temps de contact dans H ₂ O + MeOH 10 %	> 90 % (pH 2) < 50 % (pH > 6)	(Mestre <i>et al.</i> , 2007)
Fluoroquinolones et métabolites (ciprofloxacine, enrofloxacin et moxifloxacine, acide fluoroquinolonique et acide flufenamique) 50 µg L ⁻¹	PAC (Carbotech PAK 800 et Norit SA UF) 50 mg L ⁻¹ 15 min de temps de contact eaux usées traitées	Carbotech : fluoroquinolones acides (très polaires) < 40 % Floxacines 60 à 70 % Norit : > 95 %	(Baumgarten <i>et al.</i> , 2007)
Carbamazépine Naproxen et nonylphenol 10 à 800 ng L ⁻¹	GAC (F400 et CTIF) 1 à 10 mg L ⁻¹ eau ultrapure et eau naturelle (COD entre 3,3 et 5,4 mgC L ⁻¹) pH 7,5 à 7,9	carbamazépine > naproxène > Nonylphenol 90 % (GAC 0,5 mg L ⁻¹)	(Yu <i>et al.</i> , 2008)
Diclofénac 30 mg L ⁻¹	Lit de CA (P110 Hydrarffin, basique) 20 g L ⁻¹ dans réacteur (250 cm ³) 20 min de temps de contact dans eau pure	93 %	(Beltran <i>et al.</i> , 2009)

Dans le cadre du projet européen POSEIDON, des tests d'adsorption sur un charbon actif en poudre ont été réalisés pour 10 molécules pharmaceutiques appartenant à différentes familles (Janex-Habibi *et al.*, 2004; Ternes *et al.*, 2005a). Les composés neutres et les muscs, tels que carbamazépine, diazépam, tonalide et galaxolide, généralement avec des log K_{ow} élevés, sont faciles à éliminer (faible dose de CA). Les composés chargés ou présentant des log K_{ow} faibles (compris entre -2,3 et 2,7) tels que ibuprofène, roxythromycine, sulfaméthoxazole et

iopromide sont plus difficiles à éliminer (dose de CA plus élevée). La présence de matières organiques dissoutes dans des eaux de rivière réduit très sensiblement l'efficacité d'adsorption. Par rapport à l'eau milliQ, la présence de 1 à 2,5 mg L⁻¹ de COT multiplie la dose de charbon actif nécessaire, par un facteur de 10 à 20, pour atteindre un même taux d'élimination. Dans tous les cas, l'adsorption sur charbon actif permet d'éliminer 99 % de toutes les molécules étudiées avec une concentration initiale de 1 µg L⁻¹ pour les PPs et une dose de 20 mg L⁻¹ pour le charbon actif.

L'élimination de 7 antibiotiques (carbadox, sulfachlorpyridazine, sulfadiméthoxine, sulfamerazine, sulfaméthazine, sulfathiazole, et triméthoprim) par adsorption sur un charbon actif en poudre a été étudiée dans les conditions des procédés de potabilisation (jusqu'à 50 mg L⁻¹ de CA et 4 h de temps de contact) (Adams *et al.*, 2002). Une dose de 20 mg L⁻¹ de charbon actif permet d'obtenir un taux d'élimination entre 65 et 100 % en fonction des composés pour une concentration en PPs de 50 µg L⁻¹. La présence de la matière organique (10 mg L⁻¹) dans les eaux de rivière réduit les taux d'élimination des sept antibiotiques par rapport aux tests réalisés dans l'eau distillée.

Westerhoff et al. ont étudié l'adsorption de 62 composés perturbateurs endocriniens et pharmaceutiques dans les conditions de production d'eau potable (Westerhoff *et al.*, 2005). Les tests ont été effectués avec les eaux de rivière contenant 3 à 4 mg L⁻¹ de COT et pour des concentrations en EDC/PPCP de 20-200 ng L⁻¹. Dans ces conditions, l'ajout de 5 mg L⁻¹ de charbon actif en poudre avec un temps de contact de 4 h ne permet pas d'éliminer certains composés récalcitrants dont font partie l'ibuprofène et le diclofénac. Une dose de 20 mg L⁻¹ de charbon actif est nécessaire pour assurer un taux d'élimination supérieur à 80 % pour l'ensemble des composés. Parmi les pharmaceutiques, l'ordre de taux d'élimination est le suivant avec l'atrazine comme référence :

Ibuprofène < Diclofénac < Atrazine < Diazépam < Carbamazépine ≈ Œstrone ≈ Ethynyl-œstradiol ≈ Testostérone < Œstradiol ≈ Progestérone

Les composés pharmaceutiques sont similaires aux pesticides au niveau de la structure moléculaire. Ils peuvent être classés en quatre catégories suivant leur état ionique dans l'eau et leur comportement vis-à-vis du charbon actif.

- Composés neutres (non ionisables) : l'efficacité d'adsorption peut être généralement corrélée avec le coefficient de partage eau/octanol ($\log K_{ow}$) qui traduit l'hydrophobicité du composé (Westerhoff *et al.*, 2005). Les composés dont la valeur du $\log K_{ow}$ est inférieure à 2 sont plutôt hydrophiles, donc plus difficiles à adsorber, et ceux ayant une valeur du $\log K_{ow}$ supérieure à 3 sont considérés comme étant hydrophobes. Le pH du milieu n'a que peu d'influence sur l'efficacité d'adsorption,

- Composés acides : les fonctions acides des PPs sont le plus souvent des fonctions carboxyliques. Avec un pKa aux alentours de 5, ces composés sont négativement chargés dans le milieu naturel ou dans les effluents de STEP. Les études ont montré qu'ils sont plus difficiles à adsorber sur le charbon actif (Janex-Habibi *et al.*, 2004; Ternes *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2008). Le $\log K_{ow}$ théorique, le plus souvent calculé pour les molécules non ionisées, ne peut plus être pris en compte directement comme une indication d'efficacité d'adsorption. Il faut tenir compte de l'équilibre des deux formes des composés et du pH du milieu pour corriger le $\log K_{ow}$ (Hu *et al.*, 1998),

- Composés basiques : les fonctions basiques des PPs sont le plus souvent des fonctions amines. Les formes acides de ces composés ont un pKa aux alentours de 9, ce qui fait qu'ils sont positivement chargés dans le milieu naturel ou dans les effluents de STEP. En revanche, ils sont généralement assez faciles à adsorber par le charbon actif (Nowotny *et al.*, 2007). Ce phénomène pourrait être dû aux fonctions acides présentes pour la plupart des charbons actifs qui sont négativement chargés. Le $\log K_{ow}$, même corrigé suivant le pH, n'est qu'un indicateur de l'hydrophobicité des composés et ne permet pas de rendre compte des interactions électrostatiques entre les composés chargés et le charbon actif,

- Composés ayant à la fois des fonctions carboxyliques et des fonctions d'amines : ces composés, moins nombreux, peuvent être simultanément chargés positivement et négativement en fonction du pH du milieu (entre 6 et 8). C'est le cas par exemple de certains antibiotiques comme les fluoroquinolones (Qiang & Adams, 2004). L'interaction électrostatique entre la charge positive des composés et les sites négativement chargés du charbon actif est un des paramètres favorables à l'adsorption mais elle est atténuée par la présence de la charge négative des fonctions acides (Baumgarten *et al.*, 2007).

MATERIEL

&

METHODES

II. MATERIEL ET METHODES

Cette partie présente successivement :

- Les produits pharmaceutiques (PPs) sélectionnés pour notre étude,
- Les sites étudiés et leur échantillonnage,
- Les outils utilisés pour la caractérisation physico-chimique des échantillons,
- La démarche analytique conduisant à la détection des PPs sélectionnés,
- Les tests de toxicité mis en œuvre,
- Les conditions expérimentales des essais de traitement réalisés (photolyse UV et adsorption sur charbon actif).

II.1 Sélection des composés pharmaceutiques

La sélection des composés pharmaceutiques s'est, dans un premier temps, basée sur la liste des 100 premiers médicaments prescrits en France en 2005 (CNAM, 2006b), faisant l'hypothèse que les médicaments les plus consommés étaient ceux susceptibles de se retrouver dans l'environnement aquatique. Dans un second temps, nous avons sélectionné des critères pour limiter à une dizaine de molécules les produits pharmaceutiques pris en compte dans notre étude.

II.1.1 Critères de sélection

Les produits pharmaceutiques sélectionnés doivent représenter les classes thérapeutiques les plus retrouvées au sein de la liste des 100 médicaments les plus prescrits en France. Nous avons également croisé ces informations avec les données de la littérature en matière d'occurrence des PPs dans les effluents de stations d'épuration urbaine et de persistance dans l'environnement. Par ailleurs, d'un point de vue analytique, nous souhaitons disposer d'une méthode « multi-résidus » pour la détection de ces composés dans les matrices aqueuses étudiées (effluents de STEP, eaux de rivière). Enfin, nous avons intégré quelques PPs présentant une spécificité comme la particularité de n'être dispensés que dans les hôpitaux ou qui, de part leur activité biologique inhérente, présentent un risque avéré pour l'environnement (anticancéreux).

Ainsi, les critères de sélection utilisés peuvent être résumés comme suit:

- La représentativité de la classe thérapeutique et de la famille chimique du composé,
- L'appartenance du composé aux molécules à grand volume de prescription, selon les données de la CNAMTS - Direction de la stratégie, des études et des statistiques (DSES-DEPP) concernant les médicaments remboursés en 2006 (MEDICAM, 2006). Une consommation de plus de 5000 kg.an⁻¹ a été retenue : elle correspond à des valeurs de concentration prédites dans les eaux usées urbaines traitées en France supérieures à 1 µg L⁻¹ (scénario de pire cas) soit une concentration de 0,1 µg L⁻¹ dans le milieu récepteur (considérant un facteur de dilution de l'effluent d'une valeur de 10)
- La disponibilité d'un standard analytique ;
- La présence relatée du composé dans les effluents des stations d'épuration urbaine (STEP) en France (Andreozzi *et al.*, 2003; Dagnac *et al.*, 2005; Paffoni *et al.*, 2006).

II.1.2 Les molécules sélectionnées et leurs caractéristiques

La liste des 100 médicaments les plus prescrits en France révèle 8 classes thérapeutiques dont les 6 premières appartiennent aux groupes de composés pharmaceutiques considérés comme les plus toxiques pour l'environnement aquatique (CSTEE, 2001) :

- Antibiotiques (pénicillines, β-lactames et fluoroquinolones),
- Antihypertenseurs (β- bloquants),
- Antiépileptiques,
- Anxiolytiques (benzodiazépines),
- Cytostatiques génotoxiques et mutagènes,
- Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS),
- Anti-ulcérant,
- Régulateurs de lipides (statines et fibrates).

Pour chaque classe thérapeutique, les molécules les plus prescrites ont été choisies sous condition que le standard analytique soit disponible et que la présence dans l'environnement ait été reportée. Ainsi, 14 produits pharmaceutiques appartenant aux 8 classes thérapeutiques d'intérêt ont été sélectionnés pour notre étude (Tableau II-1). Leur indice PBT (Persistance, Bioaccumulation, Toxicité) est donné à titre d'information en matière d'impact environnemental. Il est issu des données de la classification suédoise (Suède, 2009) et, à

défaut, obtenu par modélisation à partir de la structure chimique du composé (PBT Profiler, <http://www.pbtprofiler.net/>).

Tableau II-1 PPs sélectionnés

Classe thérapeutique	Molécule pharmaceutique	Volume de prescription (kg an ⁻¹)	Concentration effluents France (µg L ⁻¹) (Andreozzi <i>et al.</i> , 2003; Dagnac <i>et al.</i> , 2005; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)	PBT (Suède, 2009) ou PBT Profiler
Antibiotiques <i>Pénicilline</i> <i>Fluoroquinolones</i>	Amoxicilline AMO	223200	0,04	6 (3-0-3)
	Norfloxacine NOR	8177	0,05 - 0,08	5* (3*-0-2)
	Ciprofloxacine CIP	7259	0,06 - 0,06	5 (3-0-2)
Antihypertenseurs β-bloquants	Acébutolol ACE	29862	0,13 - 0,08	5 (3-0-2)
	Propranolol PRO	8892	0,01 - 0,04	3 (0-0-3)
Antiépileptique	Carbamazépine CAR	22094	0,98 - 1,2	4 (3-0-1)
Anxiolytique	Lorazépam LOR	347	0,02- 0,05	5 (3-0-2)
Cytostatiques <i>Antinéoplasique</i> <i>Anti-œstrogène</i>	Ifosfamide IFO	121	-	6* (3-0-3*)
	Tamoxifène TAM	335	-	9 (3-3-3)
AINS	Diclofénac DIC	15610	0,41 - 0,25	7 (3-3-1)
	Ibuprofène IBU	139605	1,82 - 0,02	2 (0-0-2)
Anti-ulcéral	Oméprazole OME	5406	-	5 (3-0-2)
Régulateurs de lipides <i>Statine</i> <i>Fibrate</i>	Pravastatine PRA	6533	-	4 (3-0-1)
	Fénofibrate FEN	52395	0,12-0,02	6 (3-0-3)

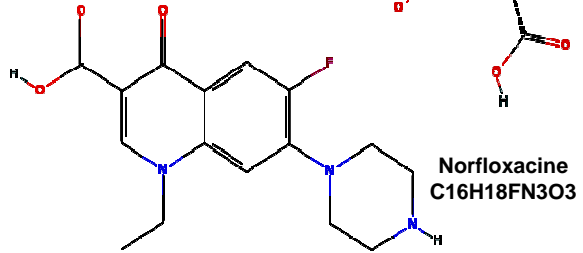
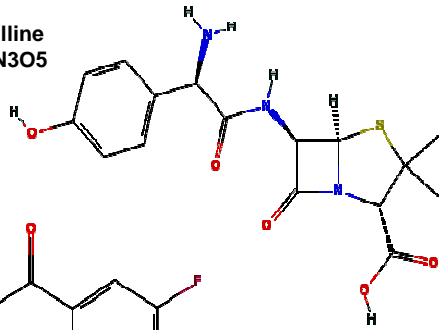
* incertitude liée à un manque de données

Il est à noter que la plupart de ces molécules sont retrouvées dans les listes de composés prioritaires développées en Europe (Besse & Garric, 2007; Carlsson *et al.*, 2006; Hilton & Thomas, 2003; Zuccato *et al.*, 2005).

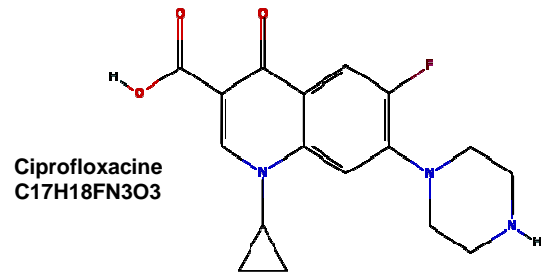
La Figure II-1 présente les structures chimiques des produits pharmaceutiques sélectionnés et le Tableau II-2 regroupe leurs caractéristiques physico-chimiques.

Antibiotiques (pénicillines et fluoroquinolones)

Amoxicilline
C₁₆H₁₉N₃O₅

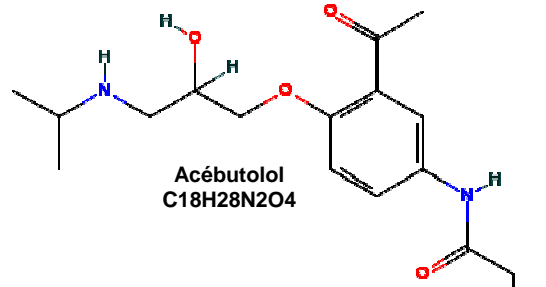


Norfloxacine
C₁₆H₁₈FN₃O₃

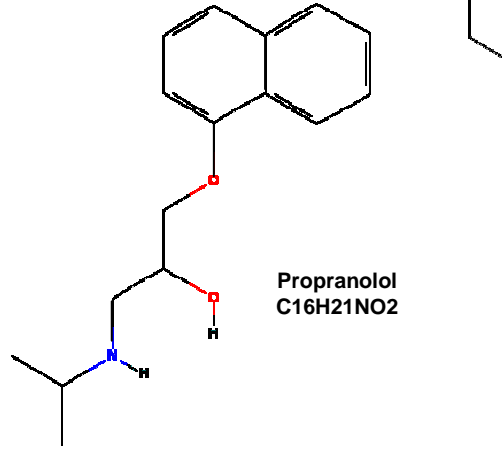


Ciprofloxacine
C₁₇H₁₈FN₃O₃

Antihypertenseurs (β-bloquants)

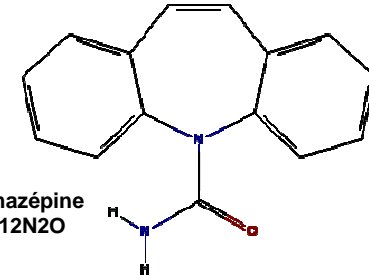


Acébutolol
C₁₈H₂₈N₂O₄



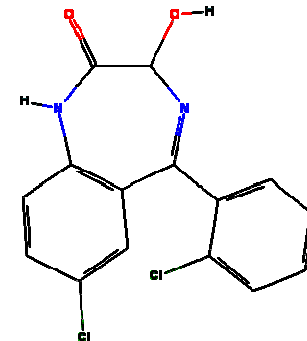
Propranolol
C₁₆H₂₁NO₂

Antiépileptique



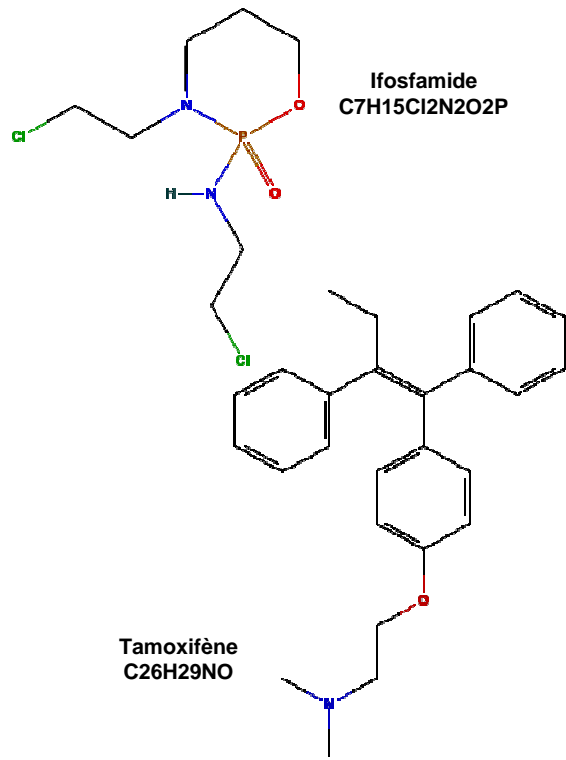
Carbamazépine
C₁₅H₁₂N₂O

Anxiolytique

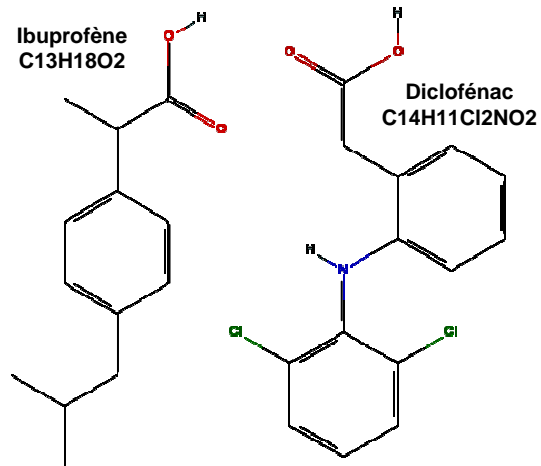


Lorazéпам
C₁₅H₁₀Cl₂N₂O₂

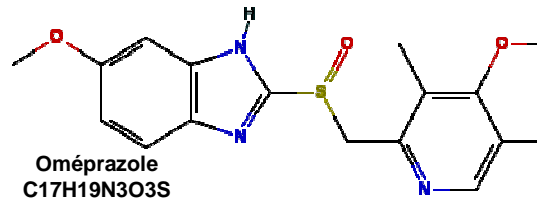
Cytostatiques (antinéoplasique et anti-œstrogène)



Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)



Anti-ulcération



Régulateurs de lipides (statine et fibrate)

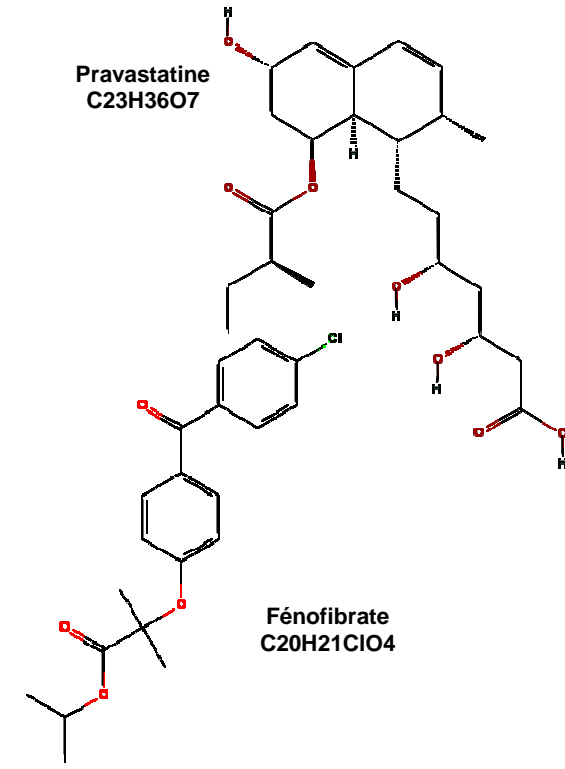


Figure II-1 Structure moléculaire des PP sélectionnés (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

Tableau II-2 Caractéristiques physico-chimiques des PPs sélectionnés

Composés	Masse moléculaire (g mol ⁻¹)	pKa	Solubilité dans l'eau (mg L ⁻¹) ^{def}	Log K _{ow}
Amoxicilline AMO	365,4	2,7 ; 7,5 ; 9,6 ^a	3430	0,87 ^b
Norfloxacine NOR	319,3	3,1 ; 6,1 ; 8,6 ; 10,6 ^c	178000	2,1 ^d
Ciprofloxacine CIP	331,3	3 ; 6,14 ; 8,7 ; 10,6 ^c	30000	2,3 ^d
Acébutolol ACE	336,4	9,2 ^e	259	1,7 ^d
Propranolol PRO	259,8	9,5 ^e	3010	3,5 ^d
Carbamazépine CAR	236,3	7 ^f	17,7	2,45 ^b
Lorazépam LOR	321,2	13 ^h	80	2,4 ^d
Ifosfamide IFO	261,1	-	3780	0,86 ^d
Tamoxifène TAM	371,5	9,2 ⁱ	0,167	5,9 ^f
Diclofénac DIC	296,1	4,15 ^d	2430	3,9 ^b
Ibuprofène IBU	206,3	4,5 ^b	21	4 ^{bd}
Pravastatine PRA	446,5	4,7 ^j	2460	2,2 ^d
Fénofibrate FEN	360,8	-	0,418	5,3 ^{db}

Réf. : a Goddard et al. (1996) cité par (Andreozzi *et al.*, 2005) ; b (Lienert *et al.*, 2007) ; c (Qiang & Adams, 2004) ; d Base de données PhysProp ; e Base de données HSDB ; f Base de données PEIAR ; h (Hilal *et al.*, 1996) ; i Flexser et al. (1935) cité par (DellaGreca *et al.*, 2007) ; j (Kobayashi *et al.*, 2003)

Les données reportées concernant les caractéristiques physico-chimiques sont issues des prédictions ECOSAR basées sur la relation quantitative structure à activité (QSAR) des composés (<http://www.pbtprofiler.net/>), de trois bases de données accessibles sur internet, Syracuse research Corporation Databases PhysProp <http://www.syrres.com/esc/physdemo.htm>, Hazardous Substances Databank (HSDB) <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> et « Pharmaceuticals in the Environment, Information for Assessing Risk » PEIAR <http://www.chbr.noaa.gov/peiar/search.aspx> ou bien de données tirées de la littérature Goddard et al. (1996) cité par (Andreozzi *et al.*, 2005), Flexser et al. (1935) cité par (DellaGreca *et al.*, 2007) et (Hilal *et al.*, 1996; Jones *et al.*, 2002; Kobayashi *et al.*, 2003; Lienert *et al.*, 2007; Qiang & Adams, 2004).

II.2 Sites étudiés et échantillonnage

Les produits pharmaceutiques sélectionnés ont été analysés dans les effluents de stations d'épuration urbaines (STEP) et dans le milieu récepteur concerné quand cela était possible. La campagne d'échantillonnage a été réalisée sur deux périodes, été 2007 et hiver/printemps 2008.

II.2.1 Sites étudiés

Notre étude s'est déployée sur les effluents de 7 stations d'épuration du Sud-Est de la France à savoir :

- STEP 1 (Lasalle, Gard), gérée par Veolia,
- STEP 2 (Alès, Gard), gérée par Veolia,
- STEP 3 (Nîmes Ouest, Gard), gérée par la SAUR,
- STEP 4 (Nice, Alpes Maritimes) gérée par Degrémont,
- STEP 5 (Grasse, Alpes Maritimes), gérée par la Lyonnaise des Eaux,
- STEP 6 (Le Grau du Roi), gérée la Société SDEI, filiale de la Lyonnaise des Eaux,
- STEP 7 (Vézénobres), gérée par Veolia.

Les stations d'épuration choisies pour cette étude présentent des différences au niveau du type d'eaux usées collectées (eaux résiduaires domestiques, industrielles et hospitalières), de la capacité de traitement (entre 1000 et 650000 Eq Hab), et de la filière de traitement mise en œuvre. Le Tableau II-3 regroupe les caractéristiques des sites étudiés fournies par les gestionnaires des stations d'épuration et reportées sur le Système d'Information sur l'Eau - SIEau - du bassin Rhône-Méditerranée (<http://sierm.eaurmc.fr/rejets-collectivites/stations-epuration.php>).

Le milieu récepteur a pu être échantillonné pour 4 des 7 sites étudiés, les STEP 1, 2, 3 et 6 (Annexe 2).

Tableau II-3 Caractéristiques des stations d'épuration étudiées

	STEP 1 Lasalle	STEP 2 Alès	STEP 3 Nîmes Ouest	STEP 4 Nice	STEP 5 Grasse	STEP 6 Le Grau du Roi	STEP 7 Vézénobres
Population desservie (Hab)	1040	55000	100000	350000	10000	13000 (hiver) 35000 (été)	1400
Capacité (Eq Hab)	3000	90000	91000	650000	24000	100000	1600
Débit moyen (m³ j⁻¹)	130	11000 (max 26000)	9500	100000	1500 (max 4000)	3000 (hiver) 8000 (été)	240
Influent DBO₅ (mg O₂ L⁻¹)	300	325	300	170	500 (kg J ⁻¹)	1290 (kg J ⁻¹) 3240 (kg J ⁻¹)	250
Age des boues (j)	20	25	25	2-3	20	15-20	-
Temps de séjour (h)	20-24	20-24	75	4	24	3 jours (hiver) 1 jour (été)	-
Eaux usées reçues	Domestiques	Domestiques Industrielles Hospitalières	Domestiques Industrielles Hospitalières	Domestiques Industrielles Hospitalières	Domestiques Industrielles Hospitalières	Domestiques Industrielles Hospitalières	Domestiques
Procédés de traitement	Boues activées Nitrification-dénitrification Faible charge	Boues activées Nitrification-dénitrification Déphosphatation Faible charge	Prétraitement (lit bactérien) Boues activées forte charge Nitrification Déphosphatation Traitement tertiaire (filtration/décantation lamellaire)	Boues activées Haute charge	Bioréacteur à membrane Boues activées Nitrification-dénitrification Déphosphatation Faible charge	Boues activées Nitrification-dénitrification déphosphatation Faible charge Lagune tertiaire	Filtres plantés de macrophytes
Milieu récepteur	Salindrenque	Gardon d'Alès	Vistre	Méditerranée	Siagne	Méditerranée	Gardon d'Alès

II.2.2 Prélèvements

Les effluents de STEP ont été échantillonnés à l'aide d'un préleveur automatique. Chaque échantillon représente un mélange moyen sur 24 h, proportionnel au débit transitant au point de prélèvement. Les échantillons ont été collectés dans des bouteilles en verre ambré et réfrigérés à 4 °C avant d'être traités au laboratoire dans les 24 h.

Les échantillons d'eau de surface ont été collectés par prélèvement ponctuel dans des bouteilles en verre ambré et conservés de la même manière que les échantillons d'effluents.

II.3 Caractérisation physico-chimique

Préalablement à leur caractérisation physico-chimique, les effluents ont été systématiquement filtrés sur des filtres en fibre de verre de porosité 0,70 µm (GFF 47 mm, Whatman® International LDT., Maidstone, England).

Le pH est mesuré sous agitation à température ambiante à l'aide d'un pH-mètre (PHM 220, étalonnage IUPAC, Radiometer Analytical S.A.).

Le carbone organique total (COT) est mesuré sur l'échantillon filtré sur filtre en polyethersulfone hydrophile de porosité 0,45 µm (Supor®-450, 25 mm, PALL Life Sciences), à l'aide d'un COT mètre (Shimadzu, modèle TOC-5000A) couplé à un passeur d'échantillons automatisé (ASI-5000). Les échantillons (15 mL) sont préalablement acidifiés (15 µL acide phosphorique 25 %, Shimadzu) avant analyse afin d'éliminer le CI en excès par dégazage. La méthode employée (NF EN 1484) consiste à oxyder par combustion la matière organique (carbone total) en CO₂. Le CO₂ produit est détecté par un détecteur infrarouge non dispersif (NDIR). Le carbone présent sous la forme de carbonates et d'hydrogénocarbonates est mesuré en tant que carbone inorganique CI. La détermination de la concentration en COT est réalisée par différence des concentrations de carbone inorganique et de carbone total (CT).

$$\text{COT} = \text{CT} - \text{CIT}$$

Les solutions standards employées pour la calibration du détecteur sont l'hydrogénophthalate de potassium (C₈H₅KO₄) fourni par Nacalai Tesque (Japon), pour le CT et

l'hydrogencarbonate de sodium (Na_2CO_3) et le carbonate de sodium (NaHCO_3) fournis par Acros Organics, pour le CI.

L'oxygène dissous est mesuré à l'aide d'un appareil de mesure Orion 420A+ (pH mètre Thermo, Eletron Corp.) équipé d'une électrode à oxygène (Model 97-08 Orion, USA).

La mesure s'effectue sur des échantillons placés dans des flacons de 300 mL sur lesquels sont placés des entonnoirs équipés d'un barreau magnétique permettant de maintenir l'échantillon sous agitation. La mesure de l'oxygène dissous est réalisée dans une pièce thermostatée à 20 °C.

Ce dispositif permet de mesurer des concentrations en oxygène dissous comprises entre 0 et 14 mg $\text{O}_2 \text{L}^{-1}$ avec une précision de 2 %.

Les spectres UV-Visible sont acquis à l'aide d'un spectrophotomètre double faisceau UVIKON XL (SECOMAM), piloté par le logiciel Lab Power Junior. La gamme de balayage du spectre s'étend de 200 à 500 nm, avec un pas de 1 nm. Les mesures sont effectuées dans des cuves (Hellma) en quartz Suprasil, de trajet optique 10 mm.

Les caractéristiques des effluents de STEP et des échantillons d'eau naturelles prélevés sont reportées en Annexe 10.

II.4 Démarche analytique

L'analyse quantitative des produits pharmaceutiques dans les différentes matrices a nécessité une étape d'extraction suivie de la détection et la quantification par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC-MS/MS). La mise au point de la méthode analytique sera présentée au chapitre 3.

II.4.1 Choix des standards et réactifs

Les standards analytiques de qualité HPLC (pureté > 90 %, n° CAS indiqué) ont été fournis par Sigma Aldrich pour les produits pharmaceutiques retenus : amoxicilline (26787-78-0), norfloxacin (70458-96-7), ciprofloxacine (85721-33-1), acébutolol (34381-68-5),

propranolol (318-98-9), ifosfamide (3778-73-2), carbamazépine (298-46-4), lorazépam (846-49-1), tamoxifène (10540-29-1), diclofénac (15307-79-6), ibuprofène (15687-27-1), oméprazole (73590-58-6), pravastatine (81131-70-6) et fénofibrate (49562-28-9).

Le composé deutérié, la carbamazépine-d10 (CBZ-d10) a été fournie par CDN Isotopes.

Les solvants de qualité HPLC (pureté 99,8 %), acétonitrile, méthanol, acétate d'éthyle, acétone ainsi que l'acide acétique proviennent de chez Carlo-Erba.

Les solutions mères de standard (0,3 à 1 g L⁻¹) sont préparées dans du méthanol. Conservées à -20 °C, elles sont renouvelées tous les 2 à 3 mois. Les solutions de travail sont préparées au jour le jour en utilisant le même solvant que celui des échantillons à analyser (mélange méthanol : eau pure ; mélange méthanol : matrice naturelle).

II.4.2 Protocole d'extraction

Les cartouches utilisées pour la phase d'extraction sont préalablement conditionnées par ajout successif de 5 mL d'acétate d'éthyle et de 5 mL d'eau acidifiée (pH 2).

Les échantillons (500 mL) dans lesquels 100 ng L⁻¹ de standard interne (200 µL CBZ-d10 à 250 µg L⁻¹) ont été ajoutés, sont déposés sur les cartouches et aspirés sous vide (10 psi). Avant l'étape d'élution, l'adsorbant est rincé avec 5 à 10 mL d'eau pure (pH 2) afin d'éliminer une partie des constituants de la matrice et ainsi réduire la suppression du signal analytique qu'ils occasionnent lors de l'ionisation par electrospray. Une heure de séchage sous flux d'azote va permettre d'éliminer toutes traces d'eau dans l'adsorbant.

L'élution des molécules pharmaceutiques retenues sur l'adsorbant est alors effectuée en trois étapes successives :

- 5 mL d'acétate éthyle,
- 5 mL d'un mélange acétate d'éthyle : acétone 50:50 (v/v),
- 5 mL d'un mélange acétate d'éthyle : acétone : hydroxyde d'ammonium 49:49:2 (v/v/v).

Après élimination de l'excès de solvant sous flux d'azote (40 °C), le volume d'échantillon est ramené à 0,5 mL avec du méthanol. Une fraction de chaque échantillon est diluée à 50 % dans de l'eau ultra pure avant d'être injectée en chromatographie liquide, pour un facteur de concentration final de 650.

Les manipulations ont été répliquées 3 fois.

II.4.3 Chromatographie liquide et spectrométrie de masse

Le système de chromatographie liquide est constitué d'un module de séparation Alliance HPLC (Waters 2695) équipé d'une pompe quaternaire, d'un dégazeur à vide et d'un passeur automatique d'échantillons thermostaté à 20 °C. La séparation chromatographique est réalisée en phase inverse à l'aide d'une colonne Ascentis C18 (50 mm x 2,1 mm, 3 µm) fournie par Supelco, UK) et équipée d'une colonne de garde de la même phase (RP Fusion, Phenomenex).

L'analyse chromatographique en phase liquide est réalisée dans les conditions suivantes :

- Volume injecté : 25 µL,
- Débit : 0,4 mL min⁻¹
- Phase mobile : (A) Eau qualité milliQ + 0,1 % Acide acétique, (B) Acétonitrile

Le gradient de solvant utilisé est décrit dans le Tableau II-4.

Tableau II-4 Gradient de solvant

Temps (min)	Solvant A	Solvant B
0	85	15
8	50	50
13	30	70
15	0	100
17	0	100
18	85	15
25	85	15

La détection des composés pharmaceutiques est réalisée à l'aide d'un spectromètre de masse triple quadripôle (Micromass Quattro microTM, Waters) équipé d'un mode d'ionisation par électro-sprays. Les données MS/MS sont acquises en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring) avec alternance des phases d'ionisation positive (ESI +) et négative (ESI -) et traitées par un logiciel d'acquisition et de quantification, QuantLynx (Waters).

Le gaz servant à la désolvatation et la nébulisation est l'azote, appliqué à un débit de désolvatation de 600 L h⁻¹ et de 32 L h⁻¹ pour la nébulisation dans le cône. L'argon est utilisé comme gaz de collision. La pression appliquée dans la chambre de collision est de 3.10⁻³ mbar au gaz argon. La température à la source est de 120 °C et la température de désolvatation est de 350 °C. Les ions positifs et négatifs sont acquis en mode de transitions sélectionnées (ou MRM, « multiple reaction monitoring mode »), sur plusieurs canaux successifs, par intervalle de 0,12 sec et un délai inter canal de 0,1 sec. Le temps d'analyse est découpé en plusieurs

fonctions permettant l'analyse successive d'ions négatifs et positifs selon leur temps de rétention.

II.4.4 Caractérisation de la méthode analytique

La calibration a été réalisée entre 0,2 et 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (10 points) à l'aide d'une solution contenant l'ensemble des standards et le standard interne. Les courbes de calibration, pour chaque composé, sont construites en effectuant une régression linéaire par la méthode des moindres carrés à partir de l'injection directe des solutions standards.

La répétabilité du système LC-MS/MS a été testée en injectant plusieurs fois des solutions standards (5, 30 et 120 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Les limites de détection (LDI) et de quantification instrumentales (LQI) sont déterminées à partir de 10 mesures effectuées sur une solution à 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ « blanc » dans les conditions de répétabilité définies par la Norme XP T 90-210. La limite de détection est égale à la moyenne des mesures ($\text{Moy}_{\text{blanc}}$) additionnée de 3 fois l'écart-type (EC_{blanc}).

$$\text{LDI} = \text{Moy}_{\text{blanc}} + 3 \times \text{EC}_{\text{blanc}}$$

La limite de quantification est considérée comme étant égale à la moyenne des mesures ($\text{Moy}_{\text{blanc}}$) à laquelle on ajoute 10 fois l'écart-type (EC_{blanc}) obtenu.

$$\text{LQI} = \text{Moy}_{\text{blanc}} + 10 \times \text{EC}_{\text{blanc}}$$

Les limites de quantification et de détection pour la méthode dans son ensemble sont calculées à partir de l'équation suivante :

$$\text{LQ} = (\text{LQI} \times 100) / (\text{rend}\% \times \text{FC})$$

Où :

FC est le facteur de concentration (FC = 650),

Rend % est le rendement absolu dans une matrice donnée.

La spécificité et les rendements d'extraction dans les différentes matrices sont déterminés par la méthode des ajouts dosés (selon la Norme XP T 90-210).

Pour cela, 4 ajouts d'un mélange des standards, (100, 200, 300 et 400 ng L⁻¹) sont réalisés dans les différentes matrices étudiées (effluent de la STEP d'Alès et Gardon d'Alès). Trois répétitions d'extraction par SPE sont effectuées pour chaque concentration ajoutée (Xi) ainsi que pour un échantillon non dopé. L'analyse de chaque échantillon fournit une valeur Yi correspondant à la concentration contenue dans l'échantillon soit x+Xi. La matrice seule (sans ajout X₀=0) donne une valeur Y₀ correspondant à la concentration réelle de PP (x) dans cette matrice.

La fonction d'étalonnage linéaire par la méthode des ajouts dosés ($Y = a_2 X + b_2$) pour chaque PP est comparée à la fonction d'étalonnage obtenue à partir du standard correspondant (droite de calibration $y = a x + b$).

La spécificité est révélée par la comparaison des pentes obtenues pour les différentes matrices (effluent et eau naturelle).

Le rendement d'extraction (rend%) est obtenu par le calcul du rapport des pentes a_2/a pour chaque PP et le standard interne, dans les différentes matrices.

La concentration Ce (en µg L⁻¹) dans l'extrait est donnée par l'équation $Ce = -b_2/a_2$.

La concentration C (en ng L⁻¹) dans l'échantillon est donnée par l'équation $C = Ce/FC*1000$

Deux approches ont été considérées pour compenser les effets de matrice :

- l'ajout d'un standard interne comme témoin d'extraction
- la dilution de l'échantillon extrait.

Ainsi, dans un premier temps, l'effet de matrice sur l'intensité du signal a été évalué à l'aide du composé deutérié CBZ-d10. Des extraits d'effluent et d'eau naturelle, sont dilués dans de l'eau pure dans différentes proportions (10, 25, 50, 75 et 100 %). Une même quantité de CBZ-d10 est ajoutée dans chaque échantillon. L'intensité du signal est mesurée en fonction de la proportion de matrice dans l'échantillon par LC-MS/MS et permet de déterminer le domaine de linéarité pour lequel la matrice va avoir un minimum d'effet sur l'intensité du signal. Le taux de dilution de l'extrait à 50 % permettant une réponse dans le domaine de linéarité est choisi.

Suite à ce test, le composé deutérié, CBZ-d10, est utilisé comme standard interne et ajouté systématiquement dans les échantillons à analyser avant extraction. La détermination de son rendement d'extraction, à partir de sa fonction d'étalonnage, va servir de contrôle de qualité sur l'ensemble de la procédure analytique.

II.5 Estimation de la toxicité

Les tests biologiques de toxicité disponibles dans le commerce sont nombreux et variés. Trois d'entre eux, adaptés à l'étude de la toxicité de produits chimiques dans l'environnement, ont été testés : les tests de toxicité aiguë, Microtox, et ToxScreen, ainsi que le test de toxicité chronique à court terme Protoxkit. Ils diffèrent de par la nature de l'espèce biologique cible et la durée d'exposition à la substance toxique.

II.5.1 Test Microtox

Il utilise les bactéries marines bioluminescentes *Vibrio fischeri* sous forme lyophilisée. Elles ont été fournies par R-Biopharm.

Principe

Le test de bioluminescence Microtox a été mis en œuvre à partir du mode opératoire préconisé par la norme européenne : NF EN ISO 11348-3 (AFNOR, 1999), équivalente au test Microtox® (AZUR Environmental). Il consiste à évaluer l'inhibition de la luminescence émise par *V. fischeri* en présence de l'échantillon analysé. L'intensité de la lumière émise est fonction du flux d'électrons de la chaîne respiratoire et reflète directement l'activité métabolique bactérienne, fournissant ainsi une mesure quantitative de la toxicité (Quiniou *et al.*, 1997). La communauté bactérienne employée exige un milieu osmotique et une température de 15 °C tout au long du test.

Les tests d'inhibition de luminescence sont réalisés à 15, 30 et 60 min, sur des solutions contenant la suspension de bactéries, le milieu osmotique et les PPs en solutions aqueuses, purs ou en mélange et à différentes concentrations. Ils ont été effectués dans différentes matrices, eau pure, eau de rivière et effluent de STEP. Une solution témoin contenant la solution de dilution (matrice + NaCl 2 %) est analysée en parallèle. Le facteur de correction f_{KI} est déterminé selon l'Équation II-1 et l'intensité de luminescence est corrigée par ce facteur selon l'Équation II-2.

Équation II-1

$$f_{Kt} = \frac{I_{Kt}}{I_{K0}}$$

Équation II-2

$$I_{Ct} = I_0 \times f_{Kt}$$

Où :

I_{Kt} est l'intensité de luminescence du témoin à $t = 15$ ou 30 min,

I_{K0} est l'intensité de luminescence du témoin à $t = 0$ min,

I_0 est l'intensité de la luminescence de la solution de PPs analysée à $t = 0$,

I_{Ct} est la valeur d'intensité corrigée de la solution de PPs.

Le taux d'inhibition de luminescence d'une solution, H_t , est calculé selon l'Équation II-3.

Équation II-3

$$H_t = \frac{I_{Ct} - I_t}{I_{Ct}} \times 100\%$$

Où :

I_t est l'intensité de la luminescence de la solution à $t = 15$ ou 30 min.

Mode opératoire (adapté de la Norme ISO 11348-3)

Les solutions aqueuses de PPs (9 concentrations) sont diluées en série dans une solution osmotique (NaCl 2 %). Les bactéries *V. fischeri* lyophilisées congelées sont reconstituées juste avant le test, dans 1mL d'eau distillée NaCl 0,01 % et sont conservées à 4 °C jusqu'à utilisation. Elles peuvent être conservées 3 heures après reconstitution.

500 µL de solution nutritive MgKNaCl (20 g L⁻¹ NaCl, 300 mg L⁻¹ KCl et 2,032 g L⁻¹ MgCl₂ – 6H₂O, pH 7,6) sont placés dans chaque tube de test et maintenus à 15 °C. 10 µL de

suspension bactérienne sont délivrés dans chaque tube et la luminescence (I_0) est mesurée à l'aide d'un luminomètre (Junior LB 9509, Berthold Technologies GmbH & Co, Allemagne). Les solutions de PPs aux différentes concentrations (500 μ L) et la solution osmotique pour le témoin (500 μ L) sont ajoutées aux suspensions bactériennes immédiatement après la mesure à T_0 . Après 15 ou 30 min d'incubation, la luminescence est à nouveau mesurée (I_t). La toxicité est déterminée par la concentration en composé pour laquelle 50 % de luminescence est inhibée (CI_{50}). Le 3,5-dichlorophénol (DCP, ProLabo) sert de toxique de référence. Les courbes « concentration-effet » sont modélisées selon le modèle de régression de Weibull (Annexe 3).

II.5.2 Test ToxScreen

Le test ToxScreen est fourni sous forme de kit par Checklight Ltd. Israël et repose sur le même principe que le test Microtox. Il utilise les bactéries lyophilisées *Photobacterium leiognathi*, un tampon d'hydratation, un tampon contenant un mélange servant au stockage et un tampon « Pro-Organic » qui favorise la détection des polluants organiques (Ulitzur *et al.*, 2002). Les bactéries lyophilisées congelées sont reconstituées juste avant le test dans le tampon d'hydratation et laissées à température ambiante pendant 5 min. Puis, les bactéries sont transférées dans le tampon de stockage et sont incubées à 4 °C pendant au moins 3 heures. Cette suspension bactérienne peut être conservée pendant 7 jours dans ces conditions. Le tampon Pro-Organic est dilué dans de l'eau pure et remplace la solution osmotique NaCl 2 % utilisée dans le test Microtox pour la dilution des solutions de PPs.

II.5.3 Test Protoxkit

Le test Protoxkit FTM est un test microbiologique dit de « toxicité chronique sur le court terme » utilisant un protozoaire cilié *Tetrahymena thermophila* d'eau douce (Protoxkit, 1998). Il est fourni en kit par R-Biopharm et utilise une suspension de *T. thermophila* vivante, une solution de dilution pour la culture de ciliés, des tubes contenant le substrat nutritif et une solution de reconstitution pour mettre le substrat en suspension.

Principe

Il consiste en la mesure de l'inhibition de croissance du cilié sur 27 et 41 heures en présence du composé étudié. La croissance du cilié est inversement proportionnelle à la densité optique (DO) mesurée à 440 nm du substrat nutritif fourni dans le kit. En l'absence de toxique, la DO diminue au cours du temps. L'observation d'une DO constante quand un toxique est présent dans le milieu nutritif indique une inhibition de la croissance du cilié due à une toxicité subchronique du composé étudié.

Le taux d'inhibition de croissance d'une solution, H_{xt} , est calculé selon l'Équation II-4.

Équation II-4

$$H_{xt} = \frac{\Delta DO_{C_0} - \Delta DO_{C_x}}{\Delta DO_{C_0}} \times 100\%$$

Où :

ΔDO_{C_0} est la différence entre la densité optique du témoin avant (T0) et après exposition (T = 27 ou 41 h)

ΔDO_{C_x} est la différence entre la densité optique du test exposé à une concentration C_x de toxique avant et après exposition.

Mode opératoire

Des tests d'inhibition de croissance sont réalisés sur 30 h sur des solutions contenant la suspension de ciliés diluée, la suspension de substrat nutritif et les PPs en solutions aqueuses pures, à différentes concentrations. Une solution témoin (C_0), sans PPs, est analysée en parallèle. Les solutions aqueuses de PPs (C_x) sont diluées en série dans de l'eau distillée et distribuées dans des cuves spectrophotométriques (2 mL). Une fraction de la culture de protozoaire *T. thermophila* est prélevée et diluée dans de l'eau distillée de manière à avoir 5000 cellules mL^{-1} . La densité cellulaire est contrôlée par spectrophotométrie à 330 nm.

40 μL de culture diluée et 40 μL de suspension nutritive sont ajoutés aux solutions testées, puis la densité optique (DO_{C_x} et DO_{C_0} à $t=0$) est mesurée à 440 nm à $t = 24, 27$ et 41 heures. Les tests sont incubés à 30 °C pour permettre à la culture de se développer et les DO_{C_x} et DO_{C_0} à 440 nm sont mesurées.

La toxicité est exprimée en concentration de toxique pour laquelle 50 % d'inhibition de croissance sont observés (CI₅₀), comparée à l'échantillon contrôle. Le dichromate de potassium K₂Cr₂O₇ (Carlo-Erba) sert de toxique de référence.

Les courbes « concentration-effet » sont modélisées selon le modèle de régression de Weibull.

II.6 Essais de traitement

Les essais de traitements des PPs étudiés par photolyse UV et adsorption sur charbon actif ont été effectués pour évaluer le potentiel d'élimination de ces deux méthodes.

II.6.1 Photolyse UV

Un montage réacteur/lampe UV a été mis en place au laboratoire pour les études de photolyse. Il est constitué d'un réacteur en PVC (30 x 30 cm) transparent permettant de contenir un volume de 415 mL de liquide sur une hauteur de 1 cm, d'un réservoir d'alimentation (5L) et d'une lampe UV basse pression à vapeur de mercure, recouvrant toute la surface du réacteur (Figure II-2). Une pompe péristaltique et une tubulure en PVC permettent le transfert de la solution dans le réacteur à un débit continu de 1,2 L min⁻¹. Les 5 L de solution passent en 4 min, chaque cycle d'exposition correspondant à 20 s d'irradiation dans le réacteur. Le temps d'irradiation a été calculé selon l'Équation II-5 :

Équation II-5

$$T_{irradiation} = T_{total} \times \left(\frac{V_{réacteur}}{V_{total}} \right)$$

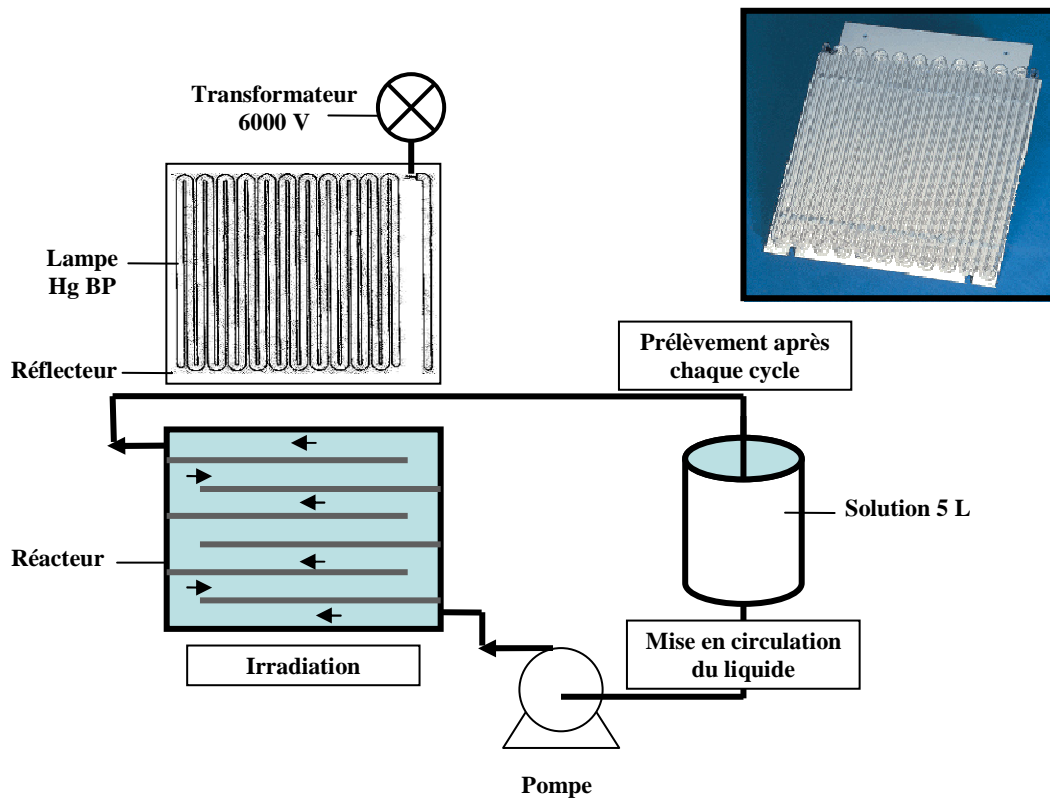


Figure II-2 Montage du réacteur/lampe UV et photographie de la lampe grille Pen-Ray® (<http://uvp.com>)

La lampe UV employée est une lampe grille Pen-Ray®, émettant principalement à 254 nm et dont le spectre d'émission fourni par le constructeur est présenté dans la Figure II-3. L'intensité de la lampe à 254 nm, mesurée à l'aide d'un radiomètre UV digital, se situe entre 10 et 15 mW cm⁻² à 1 cm de distance de la couche d'eau. La lampe émet également plus faiblement à 185 nm.

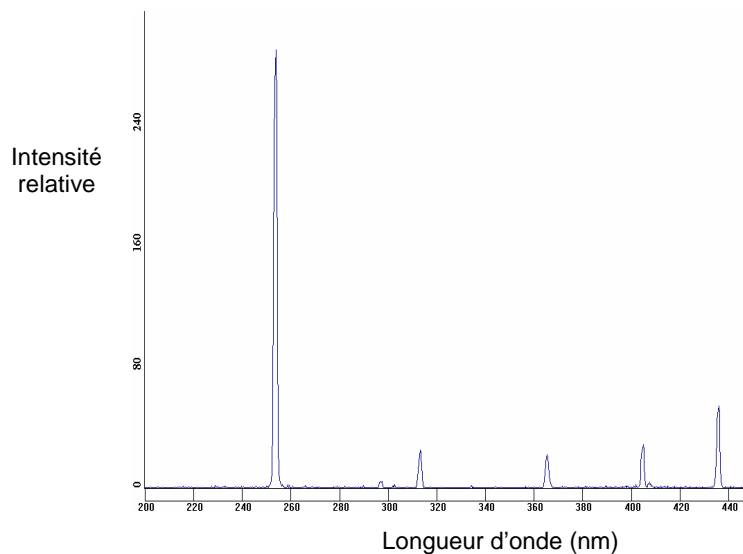


Figure II-3 Spectre de la lampe grille Pen-Ray® (bande à 185 non visible, données constructeur).

Les essais de photolyse UV ont été réalisés sur 5 L de solution aqueuse de chaque PPs à une concentration de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Des échantillons de 20 mL sont prélevés à chaque cycle d'irradiation et analysés directement par LC-MS/MS.

Préalablement au test de photolyse, un contrôle de perte dans le réacteur à l'obscurité est réalisé. Les résultats obtenus pour chaque PPs sont récapitulés dans le Tableau II-5. C_0 est la concentration initiale de la solution de PPs et C_{Tobs} est la concentration de la solution dans le réacteur après 4 à 6 cycles à l'obscurité. La perte dans le réacteur est évaluée à partir du rapport C_{Tobs}/C_0 .

Tableau II-5 Contrôle de rétention dans le réacteur

Composés	Eau		Effluent	
	C_{Tobs}/C_0	Pertes %	C_{Tobs}/C_0	Pertes %
AMO	0,96	4,2	0,99	1
NOR	0,85	15	0,57	43
ACE	0,81	19	0,93	7
PRO	0,78	22	0,96	4
CAR	0,99	1	0,99	1
LOR	0,52	48	0,97	3
IFO	1	0	0,99	1
TAM	0,66	34	0,59	41
DIC	1	0	0,98	2
IBU	1	0	0,99	1
PRA	0,96	4	0,93	7
FEN	0,65	35	0,56	44

C_0 : la concentration initiale de la solution de PPs

C_{Tobs} : concentration de la solution au temps T à l'obscurité

II.6.2 Adsorption sur charbon actif

Le charbon actif utilisé a été fourni par la Société PICA. Ses principales caractéristiques ont été déterminées au Centre des Matériaux de Grande Diffusion de l'Ecole des Mines d'Alès. La taille des particules de charbon actif a été mesurée à l'aide d'un granulomètre laser Coulter LS230 selon le principe de diffusion (Mie et Fraunhofer). Le profil de distribution des particules obtenu est présenté dans la Figure II-4.

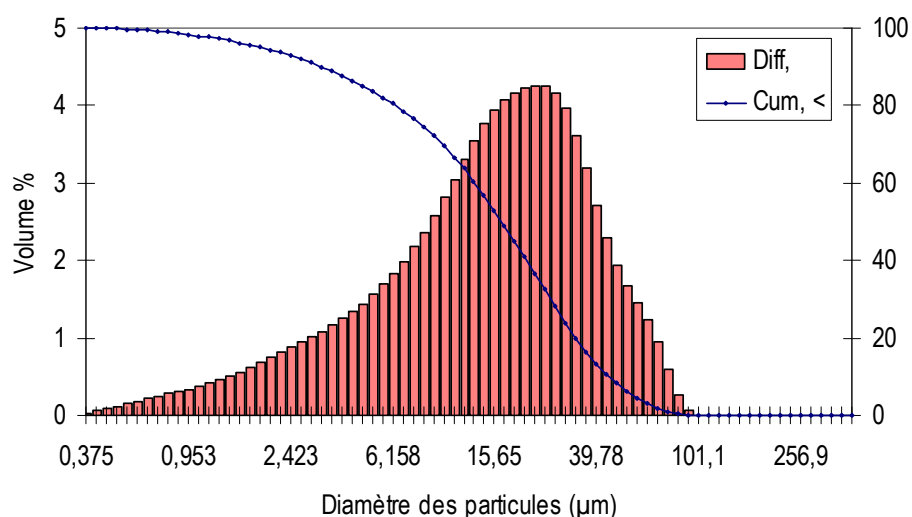


Figure II-4 Distribution de la taille des particules (µm)

La surface spécifique a été mesurée par la méthode BET (Brunauer, Emmet et Teller) à l'aide d'un analyseur de surface BET (SA 3100, Coulter). La distribution des volumes des pores est obtenue par la méthode BJH à partir de l'isotherme d'adsorption de l'azote (méthode BET, adsorption BJH).

La masse volumique apparente (densité apparente) est déterminée par pesée d'un volume connu. La masse volumique absolue est mesurée à l'aide d'un pycnomètre (Accupyc 1330, Micromeritics, France SA).

Une analyse des variations de pH du charbon actif en solution dans l'eau a démontré le caractère acide de l'adsorbant.

L'ensemble des caractéristiques est récapitulé dans le Tableau II-6.

Tableau II-6 Caractéristiques du charbon actif

Caractéristiques		Charbon actif (PICA)
Surface spécifique (BET, Azote) m ² g ⁻¹		1292-1433
Diamètre moyen des particules (Granulométrie) µm		17
Densité absolue ρ (pycnomètre) g cm ³		1,6687
Surface totale des pores (Coulter t-plot) m ² g ⁻¹		1005
Surface des micropores m ² g ⁻¹		428
Volume total des pores cm ³ /g (Ps/P ₀ = 0,9814 adsorption)		1,06
Volume des micropores cm ³ /g		0,1772
Distribution taille des pores	< 8 nm	46 %
	8-20 nm	34 %
	> 20 nm	20 %

Ces valeurs correspondent à un charbon actif à base de coque de noix de coco, avec une très grande surface spécifique et une forte capacité d'adsorption.

Les essais d'adsorption sur charbon actif ont été réalisés sous agitation (600 à 800 tours min⁻¹) sur 300 mL de solution aqueuse de chaque PP. A T0, 50 mg L⁻¹ de charbon actif en poudre sont ajoutés à la solution de PP (soit 15 mg pour 300 mL de solution). Des échantillons de 5 mL sont prélevés régulièrement (à T0, 1, 5, 10, 30 minutes, puis toutes les heures), filtrés (filtre GS Millex 0,2 µm ou filtre GFF 0,7 µm pour le tamoxifène et le fénofibrate) et analysés directement par LC-MS/MS. En parallèle, un blanc (en absence de charbon actif) est réalisé dans les mêmes conditions afin de contrôler la stabilité des composés en solution aqueuse durant l'expérience.

Un test de rétention sur le filtre a été réalisé au préalable pour chaque PP, dans l'eau pure et dans l'effluent de STEP. Les résultats sont présentés dans le Tableau II-7. C_{0F} est la concentration initiale de la solution de PPs filtrée et C_{0sF} est la concentration initiale de la solution de PPs non filtrée. La rétention sur le filtre est évaluée à partir du rapport C_{0F}/C_{0sF}.

Tableau II-7 Rétention des composés en solution sur le filtre dans les matrices eau et effluents

Composés	Eau		Effluent (STEP Alès)	
	C _{0F} /C _{0sF}	rétention filtre %	C _{0F} /C _{0sF}	rétention filtre %
AMO	0,93	7	0,93	7
NOR	0,90	10	0,95	5
ACE	0,92	8	0,96	4
PRO	0,81	19	0,86	14
CAR	0,90	10	0,86	14
LOR	0,78	22	0,93	7
IFO	0,95	5	0,92	8
TAM	0,71	29	0,68	32
DIC	1	0	0,95	5
IBU	0,9	10	0,98	2
PRA	0,97	3	0,99	1
FEN	0,665	33,5	0,73	27

C_{0F} : concentration initiale de la solution de PPs filtrée

C_{0sF} : concentration initiale de la solution non filtrée

ANALYSE DES PPs

DANS

L'ENVIRONNEMENT

III. ANALYSE DES PPs DANS L'ENVIRONNEMENT

III.1 Développement de la méthode analytique

L'analyse des composés pharmaceutiques sélectionnés (Tableau II-1) à l'état de traces dans les matrices aqueuses environnementales a nécessité le développement d'une méthode d'extraction effective pour l'ensemble des molécules étudiées puis l'optimisation de l'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

L'ensemble de ces développements a abouti à la méthode analytique multi-résidus mise en œuvre dans ces travaux de thèse.

III.1.1 Extraction en phase solide

L'extraction en phase solide (SPE) est adaptée à l'extraction et à la concentration de composés organiques présents dans des matrices aqueuses. Elle a donc été choisie pour l'analyse des composés pharmaceutiques recherchés. La mise au point de cette étape a consisté en :

- le choix de la cartouche (nature de l'adsorbant) et du solvant d'élution : les tests ont été réalisés sur 9 molécules représentatives des classes chimiques auxquelles appartiennent les 14 produits pharmaceutiques sélectionnés,
- la recherche du compromis cartouche/solvant le mieux adapté à l'extraction de ces 9 composés,
- la mise en œuvre du protocole sélectionné pour l'ensemble des molécules d'intérêt : les rendements d'extraction ont été déterminés dans les différentes matrices aqueuses étudiées (effluent de STEP, eau de surface).

Les produits pharmaceutiques sélectionnés présentent des solubilités dans l'eau (Tableau II-2) variant du mg L^{-1} (fénofibrate) à plusieurs g L^{-1} (norfloxacine, ciprofloxacine). La majorité d'entre eux sont faiblement lipophiles. Certains possèdent un caractère acide (ibuprofène, diclofénac), d'autres sont basiques (norfloxacine, ciprofloxacine, carbamazépine,

lorazépan,...). Etant donné la diversité des propriétés physico-chimiques des composés étudiés, quatre phases d'extraction présentant des propriétés de rétention différentes ont été testées :

- STRATA-X : l'adsorbant est un copolymère à caractère hydrophile et lipophile,
- STRATA-X-CW : l'adsorbant est un polymère mixte associant la phase inverse de STRATA-X et un échangeur de cations faibles,
- STRATA-X-C : l'adsorbant est un polymère mixte associant la phase inverse de STRATA-X et un échangeur de cations forts,
- CHROMABOND[®] Easy (CB-E) : l'adsorbant est un co-polymère polystyrène-di vinylbenzène modifié associé à un échangeur d'anions faibles.

Trois solvants d'élution ont été comparés :

- 12 mL méthanol 100 %
- Mélange 1 : 12 mL acétate d'éthyle/acétone, 50/50 (v/v),
- Mélange 2 : 9 mL acétate d'éthyle/acétone, 50/50 (v/v) puis 4 mL acétate d'éthyle/acétone/NH₄OH, 49/49/2 (v/v/v).

Les essais ont été réalisés sur un mélange aqueux de 9 PPs (NOR, ACE, CAR, LOR, DIC, IBU, FEN, AMO, OME) à une concentration individuelle de 0,6 µg L⁻¹. Le mélange (500 mL) est amené à pH 2 afin de faciliter la rétention des PPs à caractère acide sur l'adsorbant et d'améliorer la reproductibilité de l'extraction de ces composés (Farre *et al.*, 2007; Gentili, 2007; Lajeunesse & Gagnon, 2007; Petrovic *et al.*, 2005; Togola & Budzinski, 2007).

L'amoxicilline (AMO) et l'oméprazole (OME) n'ont été retenus par aucun des adsorbants testés. De ce fait, ils ne seront pas recherchés dans les échantillons étudiés. En ce qui concerne les autres molécules (7), deux des phases testées (STRATA-XC et STRATA-XCW) ne renaient pas la norfloxacin et très peu le fénofibrate et ont donc été écartés.

La Figure III-1 reporte les rendements d'extraction obtenus avec les cartouches STRATA-X (X) et CHROMABOND[®] Easy (CB-E) en fonction du solvant d'élution. Des triplicats ont été effectués avec la cartouche STRATA-X.

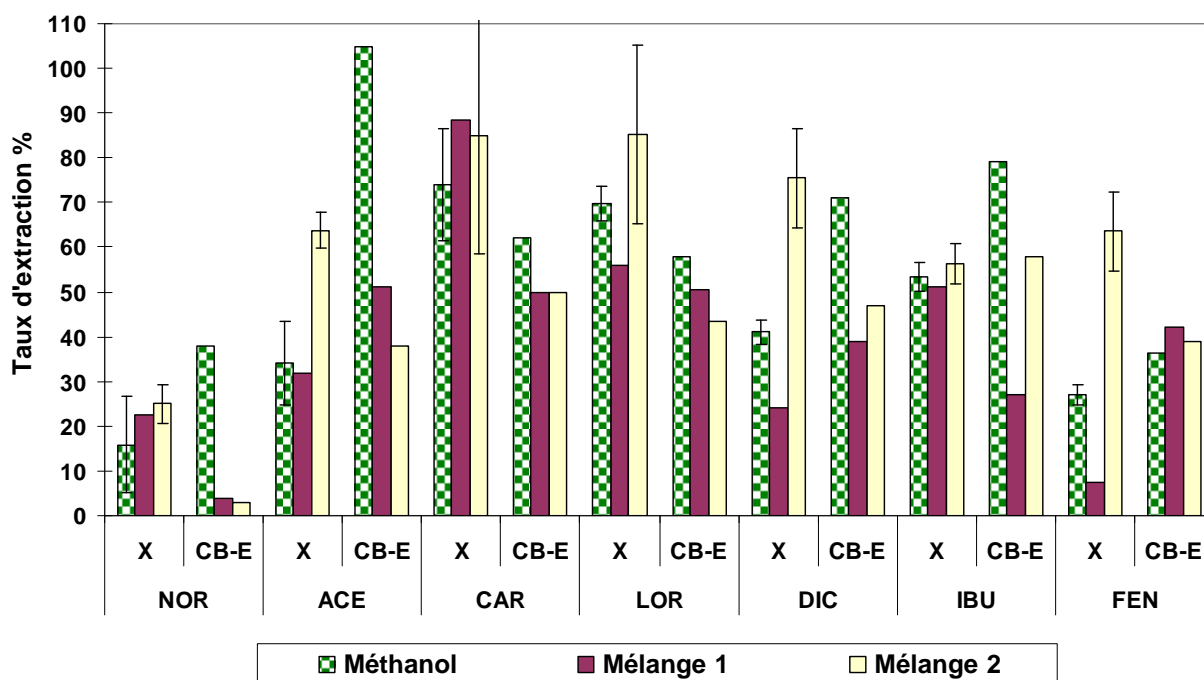


Figure III-1 Rendements d'extraction de différents PPs en solution aqueuse avec intervalles de confiance

X : Cartouche STRATA-X ; CB-E : cartouche Chromabond Easy

L'élution au méthanol permet d'obtenir d'assez bons rendements avec les deux cartouches mais elle s'accompagne d'une co-extraction d'impuretés (résidu brun-marron) responsables d'un bruit de fond analytique. L'utilisation du mélange acétate d'éthyle/acétone (mélange 1) a permis de réduire ce phénomène, ainsi que l'avait montré Ollers *et al.* mais les rendements d'extraction obtenus sont dans l'ensemble plus faibles (Ollers *et al.*, 2001). L'ajout de 2 % de NH_4OH en fin d'élution (mélange 2), recommandé par Gros *et al.*, conduit à de meilleurs résultats (Gros *et al.*, 2006), en particulier avec la cartouche STRATA-X (rendements compris entre 25 et 90 %). Cette dernière a donc été retenue dans notre étude. Enfin, concernant le solvant d'élution, une ultime étape a consisté à optimiser le mélange 2 afin d'obtenir une élution plus graduelle (Togola & Budzinski, 2008) en utilisant les conditions suivantes : 5 mL acétate d'éthyle, 5 mL acétate d'éthyle/acétone, 50/50 (v/v) et 5 mL acétate d'éthyle/acétone/ NH_4OH , 49/49/2 (v/v/v).

Les rendements d'extraction ont été déterminés dans ces conditions pour les 12 PPs retenus, dans l'eau pure et les matrices réelles étudiées (eau de surface, effluent de station d'épuration). Des concentrations individuelles de 100, 200, 300 et 400 ng L^{-1} de chaque PP en mélange ont été testées, en présence de l'analogue deutérié de la carbamazépine (CBZ-d10). Celui-ci sera systématiquement ajouté (100 ng L^{-1}) à chaque échantillon prélevé afin de mettre

en évidence les éventuels biais dus aux effets de matrice ou à des dysfonctionnements analytiques (perte d'analytes lors de l'étape d'extraction). Ce traceur interne est utilisé pour corriger les résultats en cas de déviation des rendements d'extraction. Les essais ont été menés en triplicats.

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau III-1.

Tableau III-1 Rendement d'extraction (%) des PPs et du standard interne CBZ-d10 dans différentes matrices aqueuses

Composés	Eau pure	Eau de surface (Gardon d'Alès)	Effluent de STEP (STEP d'Alès)
NOR	25 ± 13	76 ± 6	47 ± 5
CIP	-	67 ± 1	62 ± 5
ACE	60 ± 9	75 ± 5	73 ± 3
PRO	123 ± 4	87 ± 11	80 ± 8
CAR	83 ± 6	98 ± 2	93 ± 12
LOR	77 ± 5	74 ± 8	84 ± 4
IFO	90 ± 11	64 ± 8	94 ± 7
TAM	124 ± 8	53 ± 3	71 ± 4
DIC	80 ± 11	70 ± 8	80 ± 8
IBU	72 ± 5	53 ± 4	53 ± 4
PRA	48 ± 7	69 ± 9	38 ± 2
FEN	96 ± 17	64 ± 5	71 ± 6
CBZ-d10	68 ± 7	77 ± 2	58 ± 8

Dans les matrices réelles, les rendements d'extraction obtenus sont supérieurs à 50 % pour l'ensemble des composés étudiés à l'exception de la pravastatine (effluent de STEP). Ils sont reproductibles ($RSD \leq 15\%$) et en accord avec ceux reportés dans la littérature avec le même adsorbant (Bones *et al.*, 2006; Lajeunesse & Gagnon, 2007), à l'exception de l'ibuprofène pour lequel nous avons obtenu de plus faibles valeurs (50 % au lieu de 90 %).

Concernant la carbamazépine et son analogue deutérié, les rendements d'extraction varient de 75 à 100 % dans l'eau de rivière et de 50 à 100 % dans l'effluent de STEP.

III.1.2 Analyse LC-MS/MS

Le développement de l'analyse par chromatographie en phase liquide a porté sur le solvant d'élution : pH de la phase aqueuse, polarité de la phase organique et gradient d'élution. Le choix d'un solvant constitué d'une phase aqueuse acide (eau additionnée d'acide acétique 0,1 %) et d'acétonitrile facilite la séparation des fluoroquinolones (ciprofloxacine et norfloxacine) et des β -bloquants (acébutolol et propranolol) (Andreozzi *et al.*, 2003; Reverte

et al., 2003; Vieno *et al.*, 2006). Le gradient de solvant utilisé (Tableau II-4) a permis l'élution de l'ensemble des composés en moins d'une quinzaine de minutes (Tableau III-2). Les chromatogrammes pour l'ensemble des composés sont reportés en Annexe 4.

Tableau III-2 Conditions d'analyse LC-MS/MS

Composés	Temps de rétention (min)	Ion précurseur parent	MRM (ion de quantification ; ion de confirmation)	Tension de cône (V)	Energie de collision (eV)
NOR	0,80	320	276	35	17
			302	35	17
CIP	0,84	332	231	40	32
			314	40	25
ACE	1,03	337	116	29	26
			98	29	26
PRO	3,82	260	116	41	18
			183	41	18
CAR	6,20	237	194	25	20
			165	25	30
LOR	7,05	321	275	36	20
			303	36	20
IFO	3,94	261	92	43	24
			154	43	24
TAM	8,42	372	72	42	24
			129	42	24
DIC	10,6	294	250	20	11
			214	20	23
IBU	10,8	205	161	19	9
PRA	6,27	447	327	44	19
			143	44	35
FEN	15,2	361	233	29	16
			139	29	20
CBZd10	6,11	247	204	25	30
			175		

Les transitions sélectionnées (MRM) ont été déterminées pour chaque composé par infusion directe de solution pure de chaque PP (1 mg L⁻¹) dans le compartiment MS/MS, à un débit de 10 à 20 µL min⁻¹. Pour chaque composé, les ions précurseurs sont fragmentés en ions de transition, le plus intense étant utilisé pour la quantification. L'identification des composés se fait par le temps de rétention des pics pour les 2 ions précurseurs. Les spectres de masse obtenus pour les PPs étudiés sont présentés en Annexe 5. Dans le cas de l'ibuprofène, comme une deuxième transition n'est pas disponible, sa détermination est fondée sur la seule transition MRM (205 → 161) et son temps de rétention. Un mode d'ionisation positif a été appliqué pour tous les composés à l'exception de l'ibuprofène et du diclofénac qui sont analysés en mode d'ionisation négatif. Les énergies de collision et les tensions de cône ont été optimisées séparément pour chaque composé et sont reportées dans le Tableau III-2.

III.1.3 Performances de la méthode analytique

Les caractéristiques de la méthode analytique mise au point ont été évaluées. Le système fait preuve d'une bonne répétabilité. Les déviations standards relatives obtenues étant < 10 %, la méthode LC-MS/MS est considérée comme fiable. Le domaine de linéarité a été déterminé pour chaque molécule : la plupart des composés présentent une réponse linéaire ($R^2 > 0,99$, Annexe 6) jusqu'à une concentration de 1 mg L^{-1} , à l'exception de la ciprofloxacine ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$). Les limites de détection et de quantification instrumentales (LDI et LQI) ont été évaluées pour chaque composé à partir d'une solution à $0,05 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) dérivent des limites instrumentales et intègrent les rendements d'extraction de chaque molécule et le facteur de concentration (650) lié à la SPE. Les données sont regroupées dans le Tableau III-3.

Tableau III-3 Limites de détection et de quantification instrumentales (LDI et LQI, respectivement) et dans les différentes matrices (LD et LQ, respectivement)

Composés	Limites instrumentales ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Eau de surface (ng L^{-1})		Effluent STEP (ng L^{-1})	
	LDI	LQI	LD	LQ	LD	LQ
NOR	1,6	3,7	3,2	7,5	5	12
CIP	5,8	8,3	13	19	15	21
ACE	0,8	2	1,6	4,2	2	4
PRO	0,7	1,4	1,2	2,5	1,3	3
CAR	0,5	1,4	0,8	2,2	0,8	2
LOR	0,8	2,2	1,7	4,6	1,5	4
IFO	2,3	3,5	5,5	8,4	4	6
TAM	2,7	6,5	7,8	19	6	14
DIC	0,3	0,9	0,7	2	0,6	2
IBU	0,2	0,4	0,7	1,2	0,7	1
PRA	1,9	3,2	4,2	7,1	8	13
FEN	2,5	5,5	6	13	6	12

Les limites de détection pour les eaux de surface et les effluents sont peu différentes du fait de l'impact relatif de l'effluent au point de prélèvement (10 à 100 m du point de rejet de l'effluent de STEP). Les limites de quantification se situent entre 1 et 20 ng L^{-1} selon le composé et sont du même ordre de grandeur (Lajeunesse & Gagnon, 2007; Vieno *et al.*, 2006) ou légèrement supérieures aux plus basses limites de détection reportées dans la littérature (Petrovic *et al.*, 2005).

L'ensemble de la démarche analytique a été appliquée à l'analyse des effluents de stations d'épuration et des eaux de surface prélevés au cours de nos travaux.

III.2 Occurrence des PPs dans le Sud Est de la France

Les résidus de produits pharmaceutiques présents dans les réseaux d'eaux usées urbaines sont traités dans les stations d'épuration où ils ne sont que partiellement éliminés. En effet, ces stations n'ont pas été conçues pour traiter spécifiquement des composés organiques à l'état de traces comme le sont les médicaments.

Les 12 composés pharmaceutiques retenus à l'issue de la mise au point analytique ont été recherchés dans les effluents des 7 stations d'épuration ciblées du Sud Est de la France et, le cas échéant, leur milieu récepteur.

Dans une première partie, les mesures réalisées sur les effluents de STEP seront présentées. La station d'épuration d'Alès, plus particulièrement étudiée (11 prélèvements réalisés sur une période de 10 mois), fera l'objet d'une analyse plus détaillée. Les résultats obtenus pour les autres sites, seront ensuite discutés.

Une deuxième partie sera consacrée à l'impact du rejet de ces effluents sur le milieu naturel. Les travaux réalisés sur les milieux récepteurs étudiés y seront développés.

III.2.1 Occurrence des PPs dans les effluents de STEP

Les concentrations de produits pharmaceutiques mesurées en sortie de station d'épuration résultent essentiellement de la combinaison de trois principaux facteurs :

- la quantité de médicaments consommée,
- le taux d'excrétion suite au métabolisme humain,
- le taux d'élimination dans la STEP.

La consommation de médicaments peut fluctuer sur l'année dans le cas de traitement ponctuels ou de courte durée (antibiotiques, analgésiques et AINS, anticancéreux, ...) mais devrait être stable pour les traitements de longue durée (β -bloquants et régulateurs de lipides). Après ingestion, les médicaments, plus ou moins métabolisés, sont excrétés via les urines et les fèces. Les substances actives sont alors retrouvées soit sous forme inchangée, soit sous forme de métabolites, soit sous forme conjuguée. Lors de l'étape de traitement biologique, les métabolites conjugués peuvent être hydrolysés pour donner à nouveau naissance au composé actif (Halling-Sorensen *et al.*, 1998; Joss *et al.*, 2005; Zwiener *et al.*, 2002). Le taux

d'excrétion, F_{excreta} , permet de quantifier le métabolisme humain : il est calculé comme la somme des taux d'excrétion du composé non métabolisé et des conjugués hydrolysables dans les fèces et les urines. Parvenus à la station d'épuration, les composés sont plus ou moins éliminés par le traitement mis en œuvre : un taux d'élimination, F_{Step} , variable selon le composé et le procédé d'épuration, caractérise l'abattement des molécules pharmaceutiques dans la STEP.

III.2.1.1 Station d'épuration d'Alès (STEP 2)

D'une capacité de 90 000 équivalents habitants, la station d'épuration d'Alès est dotée d'un traitement biologique à boues activées avec traitement de l'azote et du phosphore. La distribution des onze prélèvements effectués en sortie de station a été la suivante : 6 prélèvements sur la période estivale (juillet-août), 3 prélèvements en février et 2 prélèvements au printemps (mars-avril). Les caractéristiques des effluents de STEP prélevés sont reportées en Annexe 10.

Le Tableau III-4 rassemble les concentrations en composés pharmaceutiques mesurées dans l'effluent de la STEP d'Alès et donne les caractéristiques de fonctionnement de la STEP pour chaque jour de prélèvement. Les valeurs moyennes et médianes ont été calculées pour chaque PP étudié. Concernant l'efficacité du traitement biologique, un fonctionnement normal de la station aux dates d'échantillonnage a été observé : l'abattement de la charge organique est très élevé (> 95 %) pour un taux de charge variant entre 30 et 90 %. Un débit entrant plus important a été remarqué début février correspondant à de fortes pluies ces jours là.

Tableau III-4 Concentration des PPs étudiés (ng L⁻¹) dans l'effluent de STEP d'Alès

Jour de prélèvements	04/07/07	13/07/07	24/07/07	27/07/07	31/07/07	28/08/07	06/02/08	08/02/08	26/02/08	31/03/08	15/04/08	Moy.	Med.
NOR	107 ± 5	129 ± 23	157 ± 9	247 ± 24	48 ± 7	<5,2	na	na	57 ± 16	130 ± 36	65 ± 4	104	107
CIP	na	na	na	na	na	na	na	na	184 ± 3	210 ± 88	46 ± 3	147	184
ACE	91 ± 10	115 ± 17	82 ± 3	92 ± 5	94 ± 3	94 ± 2	192 ± 2	145 ± 2	66 ± 4	69 ± 3	49 ± 3	99	92
PRO	486 ± 26	560 ± 23	179 ± 4	187 ± 17	267 ± 14	160 ± 3	405 ± 4	291 ± 3	322 ± 21	400 ± 11	265 ± 15	320	291
IFO	< 3,8	< 3,8	< 3,8	< 3,8	< 3,8	< 3,8	< 3,8	< 3,8	< 3,8	33 ± 4	< 3,8	3	0
PRA	< 7,7	< 7,7	< 7,7	< 7,7	< 7,7	< 7,7	< 7,7	< 7,7	18 ± 2	24 ± 5	10 ± 5	5	0
CAR	1492 ± 66	1519 ± 35	1106 ± 19	1097 ± 114	1573 ± 34	1075 ± 19	667 ± 10	326 ± 3	692 ± 48	1150 ± 66	588 ± 36	1027	1100
LOR	130 ± 8	196 ± 7	86 ± 1	88 ± 6	114 ± 6	93 ± 2	39 ± 1	31 ± 1	72 ± 5	106 ± 6	47 ± 3	91	88
TAM	53 ± 3	83 ± 44	102 ± 7	97 ± 2	< 5,8	< 5,8	< 5,8	< 5,8	< 5,8	< 5,8	< 5,8	30	0
DIC	388 ± 8	409 ± 14	148 ± 3	164 ± 19	161 ± 6	214 ± 4	399 ± 4	320 ± 4	565 ± 52	808 ± 62	362 ± 15	358	362
IBU	45 ± 2	67 ± 9	61 ± 2	61 ± 1	23 ± 2	47 ± 1	67 ± 2	58 ± 2	31 ± 3	86 ± 3	17 ± 1	52	58
FEN	23 ± 2	15 ± 2	24 ± 3	23 ± 0	< 5,5	46 ± 1	< 5,5	< 5,5	40 ± 4	18 ± 1	< 5,5	16	18
Débit STEP m³ J⁻¹	11 059	8 080	7 978	7 946	6 988	8 114	23 223	23 279	9 589	15 476	10 173		
Taux de charge %	43	31	31	31	27	31	89	90	37	60	39		
rend DBO %	99	99	99	99	99	99	98	98	99	99	99		
rend DCO %	96	97	97	96	96	96	89	95	96	97	96		

L'examen du Tableau III-4 nous a amené à distinguer 3 groupes de composés parmi les molécules étudiées :

- Groupe 1 : la carbamazépine, le diclofénac et le propranolol retrouvés systématiquement à des concentrations largement supérieures à 100 ng L^{-1} et variant en moyenne de quelques centaines de ng L^{-1} au $\mu\text{g L}^{-1}$,
- Groupe 2 : les fluoroquinolones (norfloxacine et ciprofloxacine), l'acébutolol, le lorazépam et l'ibuprofène, présents à des teneurs plus faibles, de l'ordre de la dizaine à la centaine de ng L^{-1} et détectés dans la quasi-totalité des échantillons,
- Groupe 3 : les anticancéreux (ifosfamide, tamoxifène) et régulateurs de lipides (pravastatine, fénofibrate) qui ne sont pas systématiquement retrouvés, voire sporadiquement détectés.

La Figure III-2 regroupe les valeurs moyennes et médianes calculées ainsi que les valeurs maximales mesurées pour les composés les plus fréquemment retrouvés (groupes 1 et 2), dans l'effluent de la STEP d'Alès. Elle fait apparaître peu d'écart entre les valeurs moyennes et médianes et montre que les concentrations mesurées varient de la dizaine de ng L^{-1} jusqu'au $\mu\text{g L}^{-1}$. Les plus faibles concentrations sont retrouvées pour l'ibuprofène, les plus fortes pour la carbamazépine.

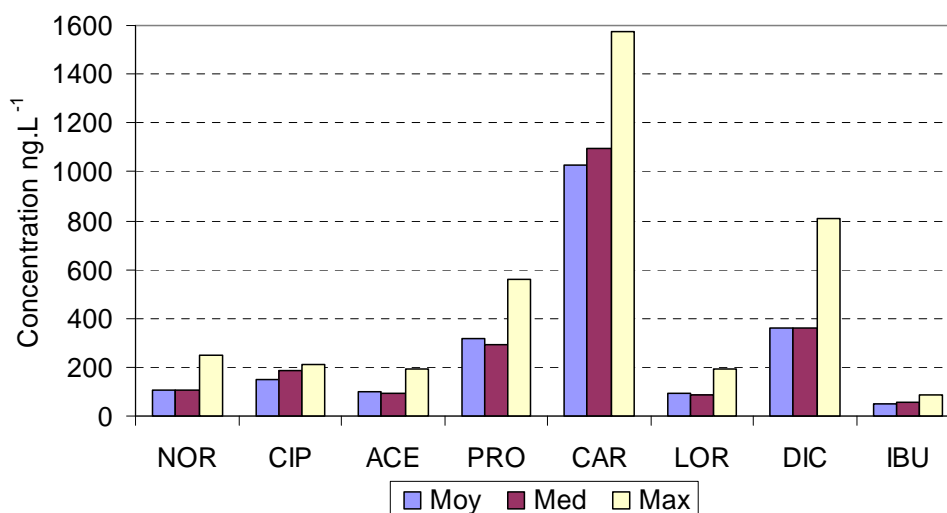


Figure III-2 Concentrations moyennes, médianes et maximales des PP des groupes 1 et 2

Le débit entrant plus important des 6 et 8 février induit une dilution de l'influent qui devrait conduire à de plus faibles concentrations, en particulier pour les composés consommés de façon continue (β -bloquants et régulateurs de lipides). L'effet de dilution n'est pas observé

pour l'acébutolol, le propranolol et le fénofibrate. Par contre, les teneurs en carbamazépine et en lorazépam sont les plus faibles, ces jours là.

Les variations temporelles de concentrations des PPs systématiquement détectés (groupes 1 et 2) ont été examinées au regard de la période de prélèvement. Les concentrations moyennes calculées d'une part, pour la saison estivale (6 mesures) et d'autre part, pour la période printemps/hiver (5 mesures) sont reportées dans la Figure III-3.

Les écarts les plus importants (facteur 2 environ) sont observés pour la carbamazépine et le diclofénac. La concentration en ibuprofène dans l'effluent de la STEP alsésienne n'est pas impactée par la saison alors que la littérature reporte une chute de 25 % dans une STEP finlandaise (Vieno *et al.*, 2005) voire 85 % dans une STEP italienne (Castiglioni *et al.*, 2006). Les auteurs imputent ces variations, d'une part à une fluctuation de la charge de ces composés en entrée de STEP et, d'autre part, à une meilleure efficacité de traitement en été.

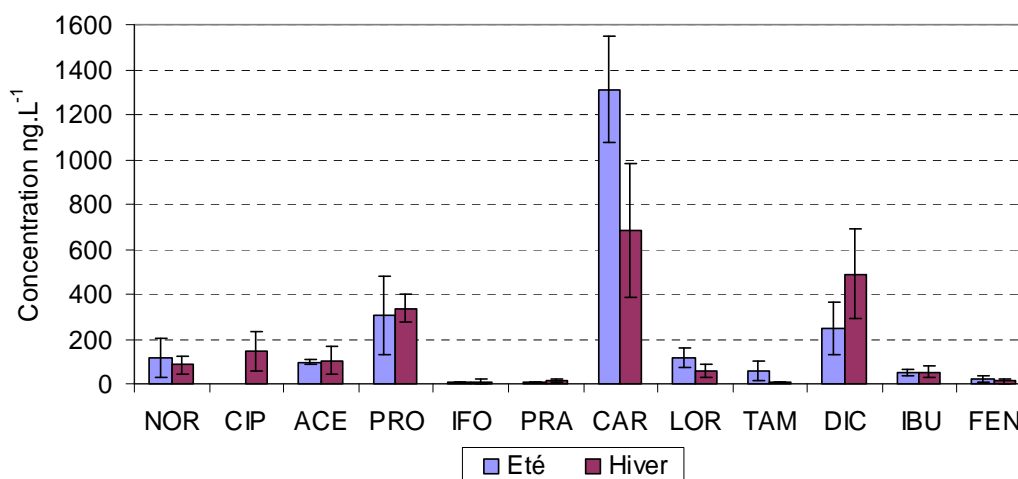


Figure III-3 Concentrations moyennes été/hiver dans les effluents de la STEP d'Alès (⊥ concentrations min et max)

Une analyse statistique employant des tests non paramétriques (test de Kruskal-Wallis et test de Dunn) a été mise en œuvre afin de comparer les concentrations en PPs dans les effluents de la STEP d'Alès selon la période de l'année : été, hiver et printemps (Annexe 13-1c). Les résultats montrent qu'il existe une différence significative entre les concentrations mesurées en été et en hiver pour les 2 psychotropes, la carbamazépine et le lorazépam (Test de Kruskal-Wallis pour $k=3$ et $N=11$, $H > H_{6,3,2}$; $p > 0,05$). Dans le cas du diclofénac, les différences de concentrations saisonnières sont aux limites du seuil de signification (Test de Kruskal-Wallis

pour $k=3$ et $N=11$, $H > H_{6,3,2}$; $p < 0,05$). Les différences observées ne peuvent être considérées comme significatives pour les autres composés étudiés.

III.2.1.2 Autres stations d'épuration

Les concentrations en PPs détectées dans les autres sites étudiés sont examinées à la lumière de l'étude alésienne et au regard du procédé de traitement mis en œuvre.

Ainsi, rappelons que :

- STEP 1 (Lasalle) : boues activées, C+N
- STEP 2 (Alès) : boues activées, C+N+P
- STEP 3 (Nîmes-Ouest) : lit bactérien, boues activées, C+N+P, filtration et décanteur lamellaire tertiaires
- STEP 4 (Nice) : boues activées, C
- STEP 5 (Grasse) : bioréacteur à membrane
- STEP 6 (Le Grau du Roi) : boues activées, C+N+P, lagune
- STEP 7 (Vézénobres) : filtres plantés de macrophytes (roseaux)

Elles représentent des filières d'épuration biologique de plusieurs types choisies parmi les procédés de traitement des eaux des collectivités les plus fréquemment rencontrés. Leur capacité nominale est comprise entre 1600 et 650 000 équivalents habitants. Le traitement biologique se fait par boues activées dont l'âge moyen est de l'ordre de 20 - 25 jours sauf dans le cas de Nice (2 - 3 jours). Le temps de rétention hydraulique est en moyenne de 24 h : il est plus faible à Nice (4 heures) et varie au Grau du Roi, selon la saison (3 jours en hiver, 24 heures en été).

Les prélèvements ont été effectués sur la période février-mars-avril (STEP 3, 4, 5, 6). Un prélèvement a également été réalisé en été sur l'effluent des STEP 1 et 7. Les concentrations de PPs (ng L^{-1}) mesurées dans les effluents des STEP 1, 3, 4, 5, 6 et 7 sont regroupées en Annexe 7. Les caractéristiques des effluents de STEP prélevés sont reportées en Annexe 10.

L'ensemble des sites échantillonnés montre la présence plus ou moins marquée des substances pharmaceutiques étudiées : les concentrations mesurées dans les effluents varient entre $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ et $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ par composé. La Figure III-4 présente les concentrations moyennes mesurées dans les effluents des différentes STEPs, pour les composés les plus représentatifs.

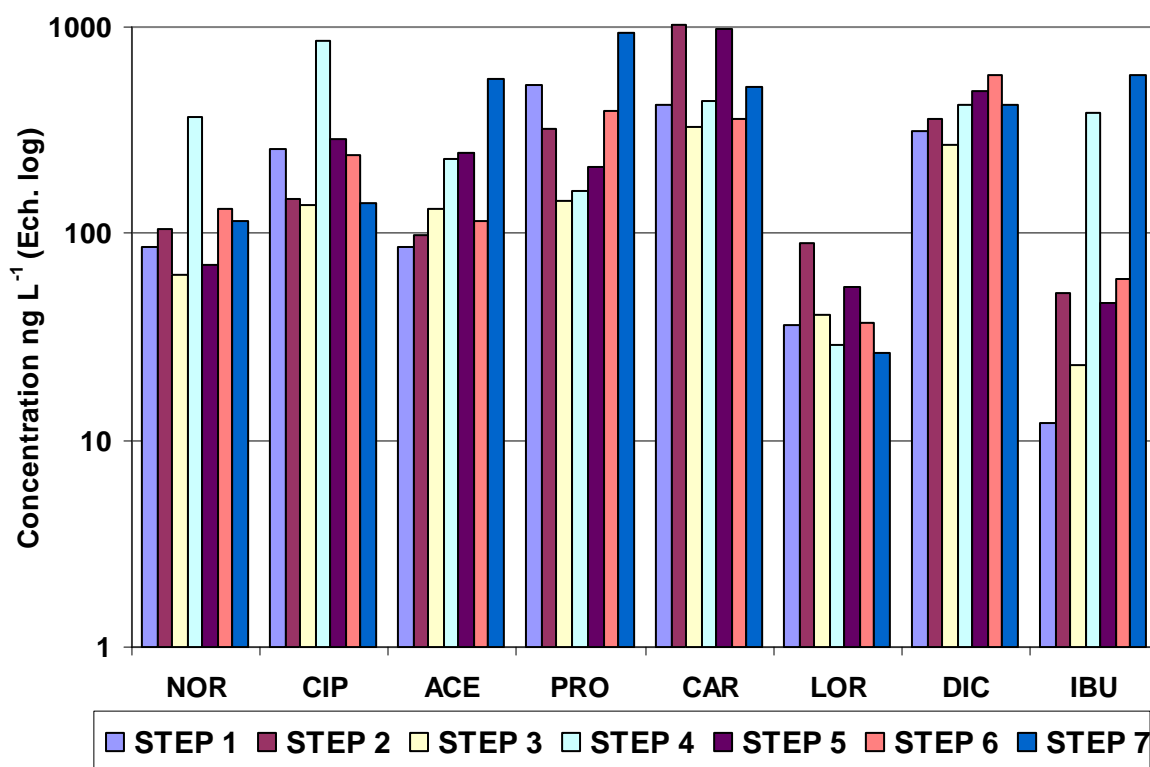


Figure III-4 Concentrations moyennes des PP (ng L⁻¹) dans les effluents

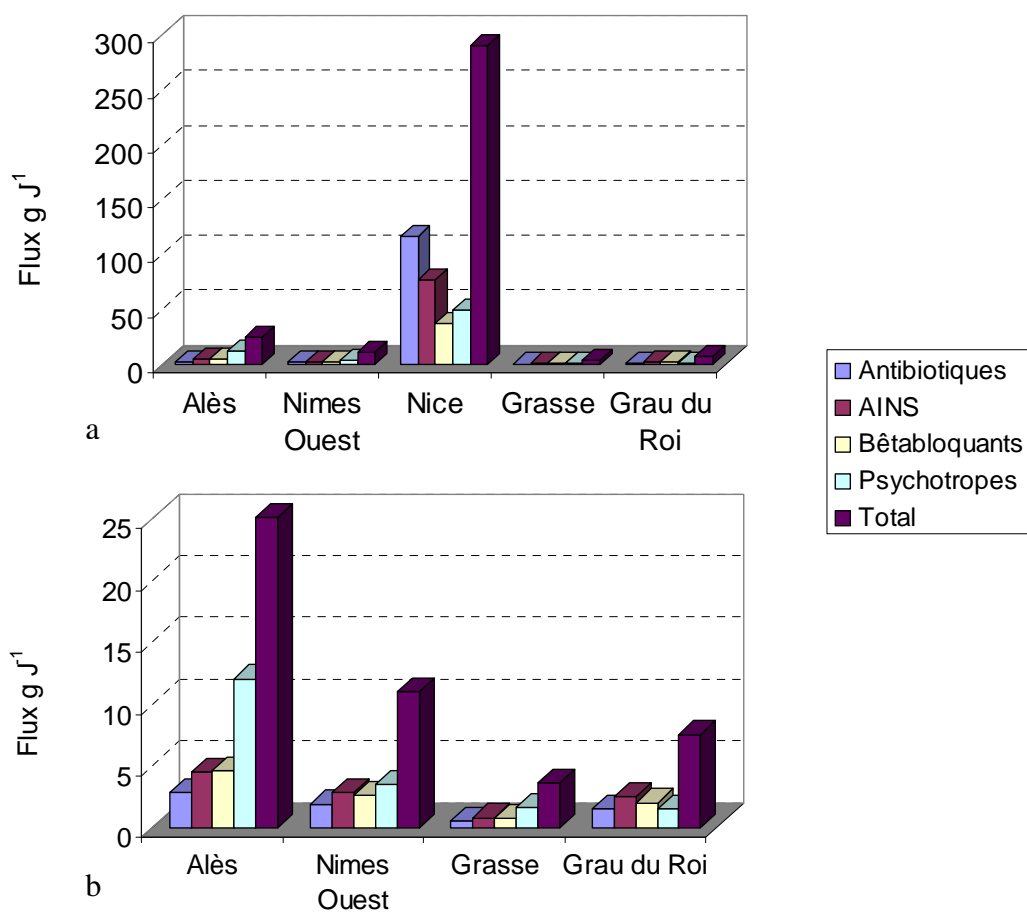
Le propranolol, la carbamazépine et le diclofénac retrouvés majoritairement dans l'effluent de la STEP d'Alès sont également systématiquement détectés à des concentrations supérieures à 100 ng L^{-1} dans les autres sites. L'effluent de la STEP de Vézénobres (STEP7) montre de fortes concentrations pour la majorité des composés, ce qui peut être expliqué par le traitement mis en œuvre, moins élaboré que dans les autres STEP.

Les flux de substances pharmaceutiques (g Jour^{-1}) rejetés par chaque STEP ont été calculés pour les composés des groupes 1 et 2, à partir des concentrations moyennes mesurées et des débits entrants. Ils sont exprimés en flux total (somme des composés quantifiés) et en flux par familles de composés : antibiotiques (NOR, CIP), AINS (DIC, IBU), β -bloquants (ACE, PRO) et psychotropes (CAR, LOR). Le Tableau III-5 regroupe l'ensemble des données.

Tableau III-5 Flux de substances pharmaceutiques (g J^{-1}) dans les STEP étudiées

Sites	Flux total (g J^{-1})	Flux Antibiotiques	Flux AINS	Flux β bloquants	Flux Psychotropes
Lasalle	0,52	0,1	0,1	0,18	0,14
Alès	25	2,8	4,5	4,6	12
Nîmes-Ouest	11	1,9	2,8	2,6	3,5
Nice	290	116	77	37	50
Grasse	3,6	0,5	0,8	0,7	1,6
Le Grau du Roi	7,5	1,5	2,5	2	1,5
Vézénobres	0,83	0,06	0,24	0,36	0,13

Le flux total de substances pharmaceutiques rejetés dans l'environnement peut être mis en relation avec la population desservie, comme le montre la Figure III-5 : il est de l'ordre du gramme par jour pour une faible population (1000-15000 hab) et atteint quelques centaines de grammes par jour à la sortie de la STEP de Nice (350 000 hab).



En termes de répartition par famille de composés analysés, la Figure III-6 montre les proportions relatives de chaque flux. Un flux d'antibiotiques proportionnellement plus élevé est reporté dans l'effluent de la STEP de Nice. La part d'antipsychotiques est plus importante dans les effluents d'Alès et de Grasse, celle d'analgésiques est la plus forte dans l'effluent du Grau du Roi. Ces différences peuvent être liées à des différences locales de consommation de médicaments.

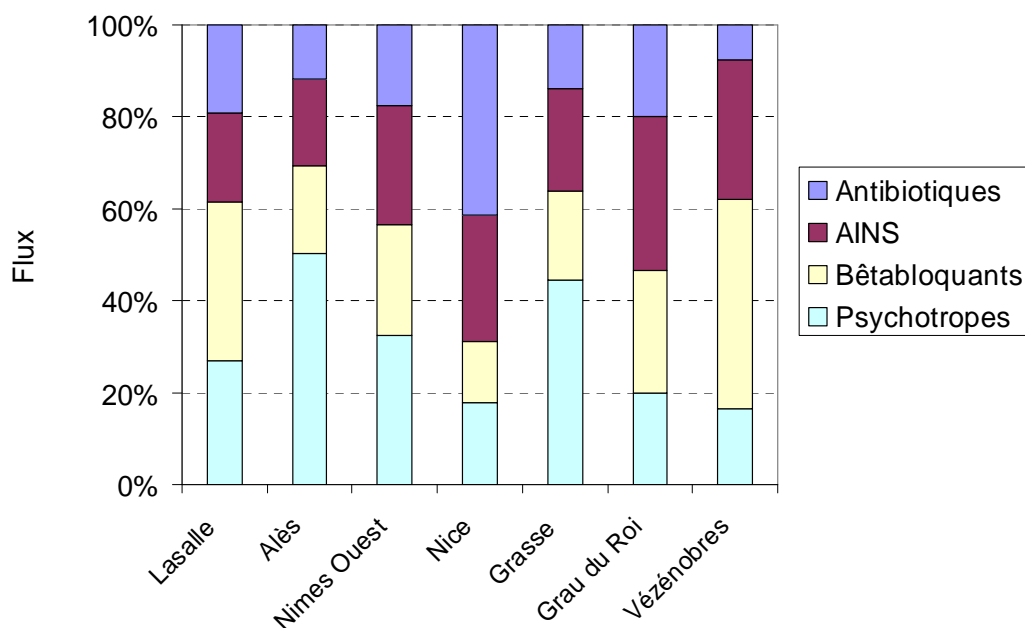


Figure III-6 Flux en sortie de STEP : répartition par famille de composés

Parmi les STEP étudiées, deux d'entre elles (Lasalle et Vézénobres) ne reçoivent pas d'eaux usées issues d'hôpitaux. Les établissements de soins sont les principaux responsables du rejet de produits radiopharmaceutiques et anticancéreux. Les composés du groupe 3 incluent l'ifosfamide et le tamoxifène. L'ifosfamide n'est pas détecté dans les rejets des STEP de Lassalle et de Vézénobres ; il est présent sporadiquement dans les effluents de la STEP de Nice. Le tamoxifène est retrouvé dans les effluents des STEP d'Alès et de Vézénobres, ce médicament étant également consommé à la maison.

Une approche par composé à l'aide de tests statistiques non paramétriques (Test de Kruskal-Wallis et Test de Dunn) a été réalisée afin d'identifier les stations d'épuration qui présentent

des concentrations significativement différentes des autres STEP (niveau de confiance 95 %, Annexe 13).

La Figure III-7 présente les plages de concentrations des produits pharmaceutiques du groupe 1, dans chaque STEP : les valeurs médianes, min et max reportées montrent la répartition des concentrations dans la plage de mesure.

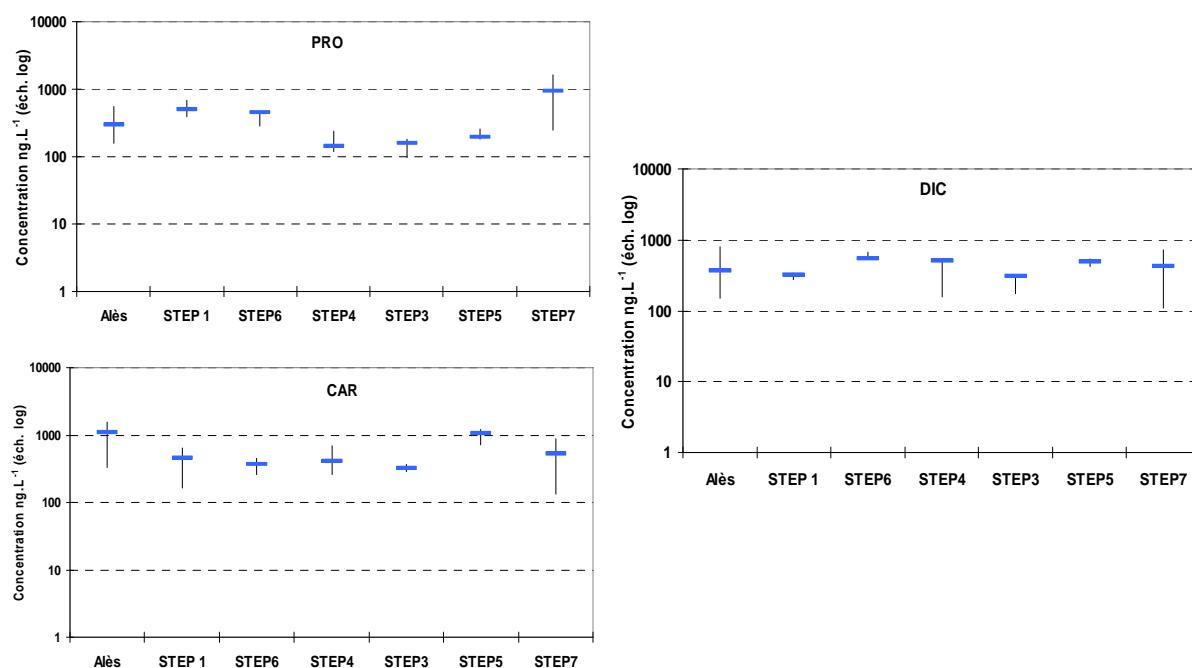


Figure III-7 Profil des concentrations des PP du groupe 1 dans les effluents des STEP étudiés (— concentrations médiane, | concentrations min et max)

Les STEPs de Lasalle (STEP 1) du Grau du Roi (STEP 6) et de Vézénobres (STEP 7) se distinguent par des concentrations en propranolol, significativement plus élevées (test de Dunn $Q > Q_{0,05; 7}$ pour $k=7$ et $p > 0,05$). Au contraire, les STEP de Nice (STEP 4) et de Nîmes (STEP 3) présentent les concentrations en propranolol les plus faibles. S'agissant de la carbamazépine, il existe une différence significative des concentrations selon les STEPs (Test de Kruskal-Wallis $H > \chi^2_{0,05; 6}$). Toutefois, les données extrêmes (Alès vs Nîmes) considérées individuellement sont à la limites du seuil de signification (test de Dunn $Q > Q_{0,1; 7}$ pour $k=7$ et $p > 0,01$ avec pour Nîmes seulement 3 échantillons prélevés en hiver uniquement). Cette différence est liée aux concentrations en carbamazépine significativement plus élevées dans les prélèvement d'été sur la STEP d'Alès ($H > H_{6,3,2; 0,05}$).

Enfin, pour le diclofénac, deux STEP semblent se distinguer plus particulièrement, avec une teneur moyenne la plus basse pour Nîmes Ouest et la plus forte pour le Grau du Roi mais cette différence n'est pas significative (Test de Kruskal-Wallis $H < \chi^2_{0,05; 6}$).

Il est à noter que la station de Nîmes Ouest (STEP 3) montre pour les 3 composés les concentrations les plus faibles (Test de Kruskal-Wallis $H > \chi^2_{0,05; 6}$).

La Figure III-8 présente les plages de concentrations des composés du groupe 2, dans chaque STEP (valeurs médianes, min et max).

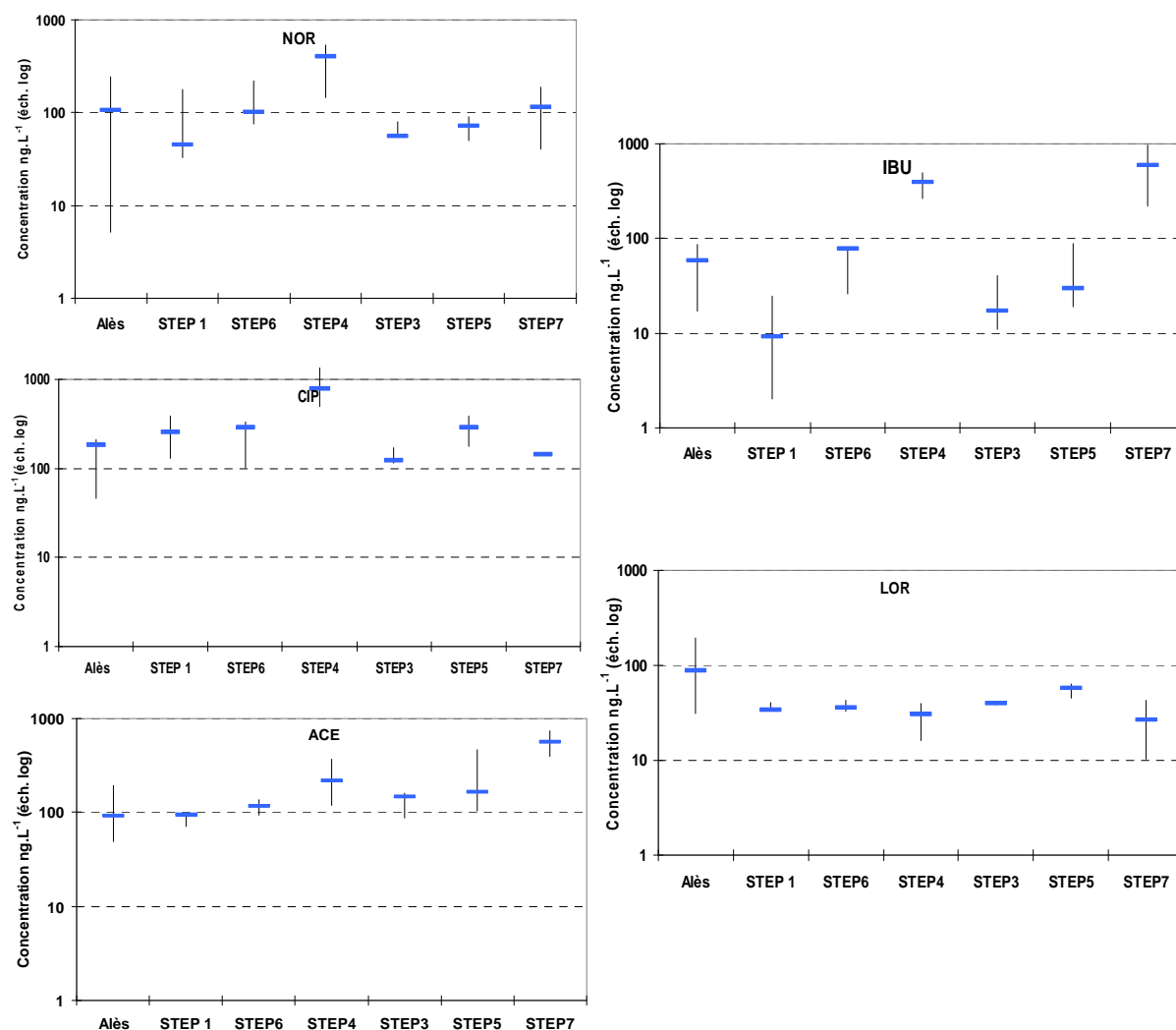


Figure III-8 Profil des concentrations des PP du groupe 2 dans les effluents de STEP étudiés (— concentrations médiane, | concentrations min et max)

Les concentrations les plus élevées sont observées pour les antibiotiques (ciprofloxacine et norfloxacine) avec des teneurs significativement plus élevées pour la STEP de Nice (STEP 4) si l'on tient compte des concentrations totales en fluoroquinolones (test de Kruskal-Wallis H

> χ^2 pour k=7 et N=44, p>0,05 et Test de Dunn Q > Q_{0,05, 7}). Les concentrations en acébutolol sont différentes selon les STEPs (Test de Kruskal-Wallis H > $\chi^2_{0,05; 6}$ pour k=7 et N=29). Les STEP de Nice (STEP 4) et de Vézénobres (STEP 7) se distinguent des autres par les concentrations les plus élevées (Test de Dunn Q > Q_{0,05, 7}). Ces deux stations se distinguent également des autres pour ce qui est des teneurs particulièrement élevées en ibuprofène (test de Kruskal-Wallis H > χ^2 pour k=7 et N= 29, p>0,05 et Test de Dunn Q > Q_{0,05, 7}). Concernant le lorazépam, les concentrations sont différentes entre les STEPs (Test de Kruskal-Wallis H > $\chi^2_{0,05; 6}$) et suivent les mêmes tendances que les concentrations en carbamazépine, avec les teneurs les plus élevées pour les STEPs d'Alès (STEP 2) et de Grasse (STEP 5).

L'ensemble de ces résultats a été confronté aux données reportées dans la littérature (Tableau III-6). Les STEP concernées mettent en œuvre un traitement biologique par boues activées conventionnel. Les populations desservies varient de quelques centaines à quelques centaines de milliers d'équivalent-habitants.

Tableau III-6 Concentrations de PPs (ng L⁻¹) dans quelques effluents de STEP françaises

PPs	Rhône-Alpes 2 STEPs (Andreozzi <i>et al.</i> , 2003)	Rhône-Alpes 5 STEPs (Miège <i>et al.</i> , 2006)	Languedoc-Roussillon 2 STEPs (Rabiet <i>et al.</i> , 2006)	Ile de France 3 STEP (Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002; Paffoni <i>et al.</i> , 2006; Tamtam <i>et al.</i> , 2007; Tamtam <i>et al.</i> , 2006)	Haute Normandie 3 STEPs (Tamtam <i>et al.</i> , 2007; Togola & Budzinski, 2007)	Centre 5 STEPs (Dagnac <i>et al.</i> , 2005)
NOR	50, 80	-	-	500, 1700, 400	20-700	-
CIP	60, 60	-	-	< 101, 1400, 270	50-830	-
ACE	80, 130	-	-	-	-	-
PRO	10, 40	420 (valeur moyenne)	-	≈ 2000, ≈ 2000, 190	-	-
IFO	-	-	-	<50	-	-
PRA	-	-	-	-	-	-
CAR	980, 1200	-	157, 293	1020	30-2520	200-750
LOR	-	-	-	-	-	20-50
TAM	-	-	-	-	-	-
DIC	250, 410	-	211, 486	300, 280, 810	25-920	130-730
IBU	20, 1820	-	18, 219	120, 70, 600	<5,8-200	30- 550
FEN	20, 120	-	-	310	-	-

Les observations suivantes peuvent être faites :

- Le propranolol, le diclofénac et la carbamazépine (groupe 1) se retrouvent majoritairement présents dans les effluents des STEP du Sud Est de la France à des concentrations supérieures à 100 ng L^{-1} . Ce niveau de concentration est comparable aux concentrations mesurées dans les effluents des STEP des régions Rhône-Alpes, Ile de France et Haute-Normandie (Tableau III-6). Une forte consommation associée à un faible taux d'élimination dans les STEPs peut expliquer les concentrations élevées. Ainsi, la carbamazépine et le diclofénac font partie des médicaments les plus consommés en France ($> 10\,000 \text{ kg an}^{-1}$). De plus, la carbamazépine est connue pour résister au traitement biologique (Heberer *et al.*, 2002; Paffoni *et al.*, 2006; Ternes, 1998; Ternes *et al.*, 1999a; Ternes *et al.*, 1999b). Par ailleurs, de nombreuses études reportent une élimination du diclofénac très variable selon les STEP (10 - 80 %) (Paxeus, 2004) avec un taux d'élimination moyen de 27 % (Paffoni *et al.*, 2006) en relation avec l'âge des boues (Clara *et al.*, 2005). C'est également le cas du propranolol, consommé à moins grande échelle mais éliminé à moins de 25 % dans les STEPs (Paffoni *et al.*, 2006),
- Dans le groupe 2, les composés fortement consommés et généralement bien éliminés par les traitements biologiques se retrouvent dans les effluents de STEP à moindre concentration. Ainsi, l'ibuprofène, médicament le plus consommé parmi les molécules étudiées, est retrouvé aux teneurs les plus faibles (de l'ordre de la dizaine de ng L^{-1}) du fait d'une dégradation par voie biologique efficace de ce composé dans les STEP (Joss *et al.*, 2005; Paxeus, 2004). Les concentrations mesurées de fluoroquinolones (norfloxacine et ciprofloxacine) sont dans le même ordre de grandeur que celles retrouvées dans les effluents de STEP des régions Rhône-Alpes ou Ile de France pour les plus fortes (Tableau III-6). Ces composés sont généralement éliminés à plus de 60 % par voie biologique (Batt *et al.*, 2007; Paffoni *et al.*, 2006). L'acébutolol, plus consommé que le propranolol, se retrouve à des concentrations plus faibles dans les effluents des STEPs du Sud Est : la tendance inverse est observée dans les 2 STEPs de la région Rhône-Alpes étudiées par Andreozzi *et al.* (Tableau III-6). Le lorazépam, moins consommé et peu recherché dans les effluents des STEP françaises, est retrouvé dans les effluents étudiés à des concentrations légèrement supérieures à celles mesurées dans les effluents de STEP de la région Centre (Dagnac *et al.*, 2005),

- Le groupe 3 est constitué des anticancéreux (ifosfamide et tamoxifène) et des régulateurs de lipides (fénofibrate et pravastatine). Les agents anticancéreux sont consommés en faible quantité (quelques centaines de $\text{kg}\cdot\text{an}^{-1}$), voire spécifiquement en milieu hospitalier (ifosfamide) et ont été, à notre connaissance, très peu recherchés dans les effluents de STEP françaises (Paffoni *et al.*, 2006). Les teneurs mesurées lors de notre étude demeurent inférieures à 50 ng L^{-1} . Le tamoxifène a été détecté ponctuellement dans des effluents de STEP anglaises à des teneurs similaires (Ashton *et al.*, 2004; Hilton & Thomas, 2003) voire supérieures (Roberts & Thomas, 2006). Les régulateurs de lipides sont plus consommés (quelques milliers de $\text{kg}\cdot\text{an}^{-1}$) et ce de façon continue. Les teneurs en fénofibrate mesurées sont plus faibles que celles reportées dans la littérature (Tableau III-6). Il est à noter que le fénofibrate est essentiellement métabolisé en acide fénofibrique que nous n'avons pas recherché (Ternes, 1998). Les régulateurs de lipides, pravastatine et fénofibrate, ont été systématiquement détectés dans les effluents des STEP de Nice (STEP 4) et de Vézénobres (STEP 7) à des teneurs allant de la dizaine à la centaine de ng L^{-1} . Le tamoxifène est retrouvé plus particulièrement durant les prélèvements du mois de juillet, dans les effluents des STEP d'Alès (STEP 2) et de Vézénobres (STEP 7).

Les stations d'épuration étudiées mettent en œuvre, pour la majorité d'entre elles, des procédés biologiques conventionnels. Miège *et al.* ont étudié l'efficacité de divers procédés de traitement d'eaux usées pour éliminer des produits pharmaceutiques dont la carbamazépine, le diclofénac, la ciprofloxacine, l'ibuprofène, la norfloxacine et le propranolol (Miège *et al.*, 2008). Les procédés avec traitement de l'azote caractérisés par un temps de rétention hydraulique ($> 12 \text{ h}$) et un âge des boues ($> 10 \text{ Jours}$) élevés sont plus efficaces. Le procédé conventionnel par boues activées avec traitement de l'azote et/ou du phosphore et le bioréacteur à membrane avec traitement de l'azote sont les plus performants avec un taux d'élimination variant de 50 à 90 % pour la plupart des composés (de l'ordre de 10 % et de 40 % pour la carbamazépine et le diclofénac, respectivement). Dans notre étude comparative entre STEPs, quelques tendances peuvent être dégagées au regard du procédé de traitement mis en œuvre :

- La chaîne de traitement classique (boues activées, C+N+P) complétée par une filtration/décantation tertiaire (STEP 3) apparaît la plus performante pour l'élimination des composés étudiés (test de Kruskal-Wallis $H > \chi^2$ pour $k=7$ et $N= 218$, $p>0,05$ et Test de Dunn $Q > Q_{0,05, 7}$, annexe 13),

- Le traitement par bioréacteur à membrane (STEP 5) ne montre pas une meilleure efficacité pour l'élimination des composés pharmaceutiques,
- L'absence de traitement de l'azote (STEP 4) semble réduire le taux d'élimination des molécules étudiées, confirmant ainsi l'analyse de Miége *et al* (2008),
- L'ibuprofène, étant généralement bien éliminé par voie biologique (Nakada *et al.*, 2008; Ternes, 1998), renseigne sur l'état de fonctionnement d'un traitement biologique. La littérature reporte pour ce composé des abattements supérieurs à 80 % en milieu aérobie (Joss *et al.*, 2005; Paxeus, 2004) et de l'ordre de 50 % en milieu anaérobie (Matamoros *et al.*, 2008). Ainsi, il apparaît que le traitement à boues activées de la STEP de Nice (STEP 4) ne fonctionnait pas dans des conditions optimales les jours de prélèvement. Le cas de la station de Vézénobres (STEP 7) est différent, le traitement s'effectuant à l'aide de filtres plantés de roseaux. Il a été montré que les lits de macrophytes étaient moins efficaces que les boues activées pour éliminer l'ibuprofène (Kanda *et al.*, 2003).

III.2.1.3 Comparaison PEC/MEC

En l'absence de mesures effectives, les concentrations prédites (PEC, Predicted Environmental Concentration) sont utilisées dans l'estimation du risque environnemental (EMEA, 2006). Les concentrations de produits pharmaceutiques dans les effluents de STEP peuvent être prédites à partir des données de consommation, de métabolisme et d'élimination dans la station d'épuration. Dans ce contexte, il apparaît pertinent de comparer les PEC, qui donnent une estimation de la contamination à l'échelle nationale, aux concentrations mesurées (MEC, Measured Environmental Concentration), représentatives à l'échelle locale. Le rapport MEC/PEC permet de mettre en évidence les différences entre les prédictions et la réalité et rend compte des particularités d'une situation donnée.

Nous avons appliqué cette démarche dans le cadre de notre étude. Pour cela, nous avons tout d'abord considéré globalement l'ensemble des 29 prélèvements réalisés dans les stations du Sud Est de la France et calculé une moyenne pondérée, A-MEC (ng L⁻¹), selon l'Équation

III-1 proposée par (Sadezky *et al.*, 2008). Pour des raisons statistiques, toutes les valeurs en dessous de la limite de détection ont été fixées à zéro.

Équation III-1

$$A - MEC = \frac{\sum_{i=1}^n (\text{Nombre d'échantillon}_{\text{sous-ensemble}} \times \text{Concentration Médiane}_{\text{sous-ensemble}})}{\sum_{i=1}^n \text{Nombre d'échantillon}_{\text{total}}}$$

La Figure III-9 présente, pour chaque composé, les valeurs de A-MEC (triangle) et la plage des concentrations mesurées. Elles se situent au-delà du seuil de 100 ng L⁻¹ pour les composés des groupes 1 et 2, à l'exception du lorazépam. Cette valeur seuil correspond à la limite de 10 ng L⁻¹ dans les eaux de surface au-delà de laquelle une analyse de risque est préconisée (considérant le facteur de dilution de l'effluent par le milieu récepteur égal à 10 (EMEA, 2006)).

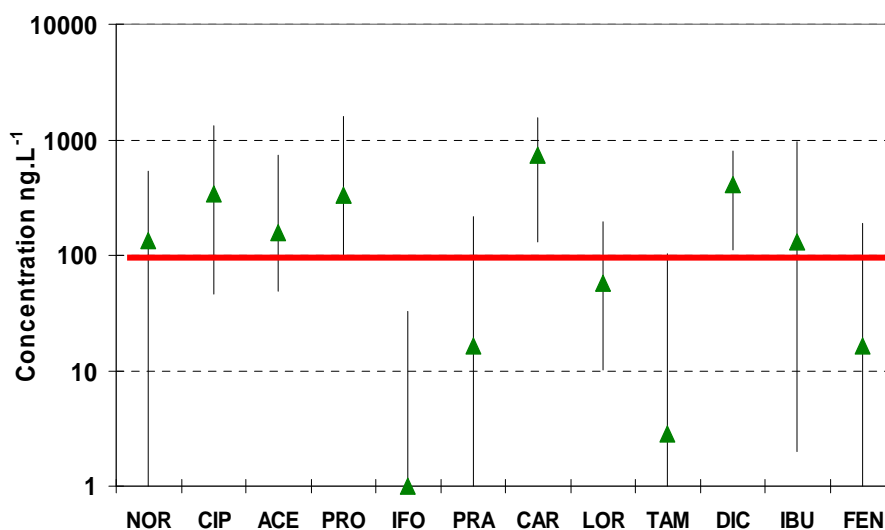


Figure III-9 A-MEC des PPs étudiés dans les effluents de 7 STEPs du Sud-Est de la France (▲ concentrations médiane, | concentrations min et max)

Dans un deuxième temps, les concentrations prédites dans les effluents de STEP (PEC_{Eff}) ont été calculées pour chaque composé pharmaceutique étudié. L'Équation III-2 adaptée de Besse *et al.* a été utilisée (Besse *et al.*, 2008) :

Équation III-2

$$PEC_{\text{Eff}} = \frac{\text{Consommation} \times F_{\text{Excreta}} \times F_{\text{Step}}}{Q_{\text{hab}} \times nb_{\text{hab}} \times 365}$$

Où :

Consommation (mg an^{-1}) : quantité de molécule active consommée par an dans une zone définie, généralement un pays

F_{Excreta} : taux d'excrétion calculé comme la somme des taux d'excrétion du composé non métabolisé et des conjugués hydrolysables dans les urines et les fèces.

F_{Step} : (1 - taux d'élimination)

Q_{hab} : Volume d'eaux usées rejeté par personne et par jour ($200 \text{ L hab}^{-1} \text{ J}^{-1}$ par défaut)

nb_{hab} : Nombre d'habitants

Pour cette étude, les données de consommation et de population de l'année 2006 ont été utilisées, à savoir, les quantités de médicaments prescrites et remboursés par le régime de sécurité sociale (MEDICAM, 2006) et une population de 61,6 millions d'habitants. Les variations de consommation et de population entre 2006 et 2007 ont été vérifiées et sont faibles ($\pm 10 \%$ et $0,5 \%$ respectivement). Par ailleurs, les hypothèses suivantes ont été prises pour les valeurs attribuées aux deux paramètres, F_{Excreta} et F_{Step} :

- Les valeurs de F_{Excreta} sont déterminées en sommant la quantité de substance active inchangée excrétée dans l'urine et dans les fèces ainsi que les métabolites glucuroconjugués, considérant que ceux-ci peuvent rapidement être déconjugués dans les eaux usées (Ternes *et al.*, 1999a). Lorsque plusieurs valeurs de F_{excreta} étaient disponibles, nous avons choisi la plus forte (scénario du pire cas). Les valeurs de F_{Excreta} sont issues de la littérature (Besse & Garric, 2007; Besse *et al.*, 2008; Kummerer *et al.*, 1997; Lienert *et al.*, 2007; Tauxe Würsch, 2005). Les données concernant le fénofibrate différant fortement, nous avons tenu compte des deux valeurs extrêmes reportées pour ce composé,
- Les taux d'abattement en STEP n'ont été étudiés que pour un nombre limité de molécules pharmaceutiques, notamment pour les anti-inflammatoires dont l'ibuprofène ($> 90 \%$) et la plupart des données sont dispersées. Pour certaines molécules et en particulier le diclofénac, des taux d'abattement très variables peuvent être observés (Besse *et al.*, 2008; Paxeus, 2004). Dans un souci d'homogénéité, nous

avons pris les données de l'étude réalisée par Paffoni *et al* sur une STEP française à boues activées (Valenton, Ile de France) et couvrant la moitié de molécules étudiées (Paffoni *et al.*, 2006). Sinon, les données ont été complétées par des valeurs obtenues au cours d'études en Europe et, à défaut, une valeur de F_{Step} de 1 a été fixée (scénario du pire cas). Les données concernant l'acébutolol différant fortement, les deux valeurs extrêmes ont été prises en compte pour ce composé.

Les données prises en compte dans notre étude sont récapitulées dans le Tableau III-7.

Tableau III-7 Données de consommation, $F_{Excreta}$ et F_{Step} pour les PPs étudiés

<u>Composés</u>	<u>Conso. 2006</u> (kg an ⁻¹)	<u>$F_{Excreta}$</u>	<u>F_{Step}</u>
<u>NOR</u>	8182	<u>1^b</u>	<u>0,15^f</u>
<u>CIP</u>	7263	<u>0,67^c</u>	<u>0,38^a</u>
<u>ACE</u>	29863	<u>0,57^b</u>	<u>0,2 ; 0,8^h</u>
<u>PRO</u>	8892	<u>0,24^b</u>	<u>0,78^a</u>
<u>IFO</u>	121	<u>0,9^d</u>	<u>1^e</u>
<u>PRA</u>	7211	<u>0,5^b</u>	<u>0,38^g</u>
<u>CAR</u>	22094	<u>0,15^c</u>	<u>0,81^a</u>
<u>LOR</u>	347	<u>0,85^b</u>	<u>1ⁱ</u>
<u>TAM</u>	335	<u>0,3^d</u>	<u>1^d</u>
<u>DIC</u>	15428	<u>0,15^b</u>	<u>0,73^a</u>
<u>IBU</u>	139605	<u>0,30^b</u>	<u>0,04^a</u>
<u>FEN</u>	52395	<u>0,01^b; 0,25^c</u>	<u>0,9^a</u>

a (Paffoni *et al.*, 2006) b (Besse & Garric, 2007); c (Lienert *et al.*, 2007); d (Tauxe Würsch, 2005); e (Kummerer *et al.*, 1997); f (Watkinson *et al.*, 2007); g (Radjenovic *et al.*, 2007); h (Lee *et al.*, 2007; Vieno *et al.*, 2006); - pas de données disponibles.

Le Tableau III-8 regroupe les valeurs de PEC calculées, de A-MEC (nombre d'échantillons) et les teneurs maximales mesurées reportées par Sadezky *et al.* pour la France, celles de notre étude (Sadezky *et al.*, 2008). Les concentrations reportées par Miège *et al.* sont issues d'une compilation des données françaises et internationales (janvier 1997 - février 2007) et sont des valeurs moyennes et maximales (Miège *et al.*, 2008).

Tableau III-8 Valeurs de A-MEC, C max, C moy et de PEC_{Eff} (ng L⁻¹) pour les composés étudiés.

Composés	PEC _{Eff}	(Sadezky <i>et al.</i> , 2008) France (1999-2006)		(Miège <i>et al.</i> , 2008) (1997-2007)		France Sud Est (2007-2008)	
		A-MEC	C max	C moy	C max	A-MEC	C max
NOR	270	40 (21)	240	-	-	136 (26)	540
CIP	410	35 (24)	100	76 (5)	140	340 (15)	1340
ACE	760	105 (2)	130	-	-	157 (29)	733
PRO	370	370 (29)	1100	236 (9)	414	328 (29)	1603
IFO	20	-	-	-	-	4 (29)	33
PRA	300	-	-	-	-	22 (29)	214
CAR	600	390 (46)	2500	1020 (23)	2300	734 (29)	1570
LOR	70	-	-	-	-	57 (29)	196
TAM	20	-	-	421 (6)	740	8 (29)	102
DIC	380	310 (46)	920	477 (42)	1720	407 (29)	808
IBU	370	100 (46)	1800	2870 (48)	24600	130 (29)	962
FEN	100	210 (5)	310	-	-	16 (29)	191

L'examen du Tableau III-8 amène les commentaires suivants :

- Les valeurs prédites (PEC_{Eff}) sont cohérentes avec les valeurs moyennes pondérées (A-MEC) reportées par Sadezky *et al.* et celles calculées lors de notre étude, pour la plupart des composés étudiés. Elles sont surestimées pour l'acébutolol, la pravastatine et le fénofibrate,
- Des écarts significatifs sont observés avec les données de Miège *et al.* pour la ciprofloxacine, l'ibuprofène et le tamoxifène : s'agissant de données provenant de différents pays, elles peuvent être influencées par des différences en termes de consommation (Miège *et al.*, 2008).

III.2.2 Impact du rejet des STEP sur le milieu naturel

L'impact du rejet des effluents de STEP a pu être étudié pour 4 des 7 STEP's échantillonnées :

- STEP d'Alès : l'effluent est rejeté dans le Gardon. Les prélèvements ont été réalisés à environ 10 mètres de l'émissaire de la STEP,
- STEP de Nîmes-Ouest : l'effluent est rejeté dans le Vistre. Trois points de prélèvement ont été suivis (Annexe 2) :

- Point 1 (amont 1) : il est situé sur le Vistre (au lieu-dit le Moulin Gazay) et en amont de la STEP de Nîmes-Ouest ; il représente un point de contrôle en amont de l'agglomération nîmoise,
 - Point 2 (aval 1) : il est situé sur le Vistre, en aval de la confluence avec le Vistre de la Fontaine qui reçoit l'effluent de la station d'épuration Nîmes-Centre (2 kms en aval de Nîmes Centre);
 - Point 3 (aval 2) : il est situé sur le Vistre, (au lieu-dit Moulin Vedel), à 900 m en aval de l'émissaire de la STEP d'intérêt.
- STEP de Lasalle : l'effluent est rejeté dans la Salindrenque. Le prélèvement a été effectué à une centaine de mètres en aval de l'émissaire.
 - STEP du Grau du Roi : l'effluent est rejeté dans une lagune (bassins successifs d'une superficie de 20 ha) qui est considérée comme un traitement tertiaire avant rejet à la mer. Le temps de séjour hydraulique dans la lagune peut varier de 19 jours à 6 mois selon le parcours emprunté par l'effluent et en fonction de la saison. Les prélèvements ont été effectués en sortie de lagune.

Les caractéristiques des échantillons d'eau naturelles prélevés sont reportées en Annexe 10.

Le Gardon, le Vistre et la Salindrenque constituent une partie du réseau hydrologique du Gard. La lagune du Grau du Roi constitue, elle, un système d'épuration des eaux à part entière. Elle a été initialement construite pour le traitement des eaux usées de la commune. Les différents bassins constituent de véritables écosystèmes dynamiques, sièges de procédés physico-chimiques et biologiques ayant pour objectif l'amélioration de la qualité des eaux. Depuis la construction de la station d'épuration biologique en amont, ce système lagunaire s'est développé et constitue un écosystème assimilable à une « zone humide ». Il est actuellement étudié en vue de la réutilisation des eaux pour l'arrosage des espaces verts (SDEI Languedoc).

L'analyse des PPs dans ces systèmes aquatiques au regard des concentrations mesurées dans les effluents sont susceptibles de montrer comment les rivières et un système lagunaire peuvent intervenir dans l'atténuation de la source de PPs.

Le Gardon d'Alès, milieu récepteur de la STEP d'Alès (STEP 2)

Les résultats des mesures effectuées sur le Gardon d'Alès sont regroupés dans le Tableau III-9. Ils sont complétés par les concentrations moyennes mesurées sur l'effluent de la STEP d'Alès pour les périodes d'été et d'hiver-printemps.

Tableau III-9 Concentration en produits pharmaceutiques (ng L⁻¹) dans le Gardon et concentration moyenne dans les effluents de la STEP d'Alès (MEC_{Eff})

Composés	MEC _{Eff} été	13/07/07	27/07/07	31/07/07	MEC _{Eff} hiv-prin	08/02/08	31/03/08	15/04/08
NOR	120	23 ± 5	< 3	15 ± 21	85	na	82 ± 10	< 5,2
CIP	-	na	na	na	150	na	183 ± 25	< 11
ACE	95	16 ± 5	28 ± 4	48 ± 4	100	38 ± 3	55 ± 2	6 ± 1
PRO	310	110 ± 27	60 ± 7	130 ± 3	340	74 ± 6	194 ± 5	26 ± 1
IFO	4	< 6	< 6	< 6	10	< 6	18 ± 1	< 6
PRA	8	< 4	< 4	< 4	15	< 4	14 ± 3	< 4
CAR	1310	326 ± 77	379 ± 70	676 ± 21	690	99 ± 5	755 ± 18	80 ± 5
LOR	120	53 ± 16	40 ± 9	47 ± 2	60	11 ± 1	57 ± 2	4 ± 1
TAM	60	18 ± 7	48 ± 8	< 8	6	< 8	< 8	< 8
DIC	250	98 ± 29	65 ± 5	92 ± 2	490	121 ± 9	562 ± 16	69 ± 3
IBU	50	21 ± 9	27 ± 1	9 ± 1	55	26 ± 1	62 ± 3	6 ± 1
FEN	25	12 ± 7	26 ± 21	< 6	10	< 6	27 ± 3	< 6

Le propranolol, la carbamazépine et le diclofénac, majoritairement présents dans l'effluent de la STEP d'Alès, sont retrouvés dans le Gardon aux teneurs les plus importantes. Le facteur de dilution de l'effluent de STEP par le milieu naturel peut être estimé à partir des variations de concentrations de ces trois composés. Les teneurs mesurées le 31/03/08 étant considérées comme « anormalement » élevées par rapport aux autres prélèvements de la période hiver-printemps, ne seront pas prises en compte.

Le Tableau III-10 regroupe les données obtenues pour la période estivale et la période printemps-hiver, soit une valeur de 3 et de 7, respectivement. Ce facteur de dilution est inférieur à la valeur prise par défaut (10) dans l'estimation du risque environnemental (EMEA, 2006), en particulier durant la période estivale. Ainsi, lorsque les conditions locales sont nettement différentes des valeurs moyennes estimées, les concentrations mesurées (MEC), lorsqu'elles sont disponibles, seront préférables aux valeurs prédites dans l'estimation du risque environnemental.

Tableau III-10 Facteur de dilution (STEP Alès/Gardon)

Composés	Effluent/Rivière été	Dilution été	Effluent/Rivière hiver	Dilution hiver
PRO	310 / 100	3,1	350 / 50	7
CAR	1300 / 460	2,8	700 / 90	7,8
DIC	250 / 85	2,9	500 / 95	5,3

L'impact des différentes familles de produits pharmaceutiques étudiés sur le Gardon d'Alès a été estimé pour les deux périodes concernées, le débit du Gardon étant estimé à 1 (été) et 3 (hiver) $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$. La Figure III-10 présente les flux d'antibiotiques, d'analgésiques, de β -bloquants et de psychotropes (g Jour^{-1}) et fait apparaître des variations sensibles en ce qui concerne les psychotropes et les analgésiques. Les apports massiques au Gardon (flux total) sont de l'ordre de 70-80 g Jour^{-1} pour une population desservie de 55 000 habitants.

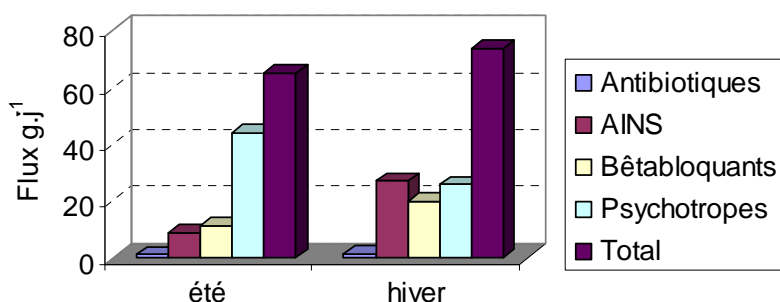


Figure III-10 Flux de médicaments dans le Gardon d'Alès (été, printemps/hiver)

Enfin, il est à noter que les concentrations environnementales des composés du groupe 1 restent élevées et de beaucoup supérieures au seuil de 10 ng L^{-1} , limite maximale considérée comme admissible dans le milieu naturel (Bound & Voulvoulis, 2004; Straub, 2002). Les concentrations des composés du groupe 2 sont, par contre, dans cet ordre de grandeur.

Le Vistre, milieu récepteur de la STEP Nîmes-Ouest (STEP 3)

Les résultats des mesures effectuées sur le Vistre sont reportés dans le Tableau III-11. Ils traduisent les variations de concentration des produits pharmaceutiques étudiés sur une portion de la rivière (environ 3 kms) qui reçoit successivement les rejets de la STEP Nîmes-Centre (Amont1 et Aval1) et de la STEP Nîmes-Ouest (Aval 2).

Tableau III-11 Concentration en PPs (ng L⁻¹) en 3 points de la rivière Vistre et concentration moyenne dans les effluents de la STEP de Nîmes-Ouest (MEC_{Eff})

Composés	Amont 1 19/03 – 02/04	Aval 1 19/03 - 02/04	MEC _{Eff}	Aval 2 19/03 – 02/04
NOR	11 / 26	20 / 46	60	21 / 38
CIP	68 / 76	76 / 63	140	84 / 50
ACE	41 / 43	70 / 66	130	86 / 113
PRO	56 / 55	63 / 63	145	87 / 105
IFO	< 3,8 / < 3,8	< 3,8 / < 3,8	< 3,8	< 3,8 / < 3,8
PRA	18 / < 7,7	28 / 9	3	24 / 13
CAR	164 / 132	113 / 111	325	180 / 207
LOR	16 / 9	27 / 32	40	32 / 40
TAM	< 5,8 / < 5,8	< 5,8 / < 5,8	< 5,8	< 5,8 / < 5,8
DIC	124 / 138	76 / 158	270	139 / 219
IBU	42 / 29	307 / 463	20	251 / 318
FEN	9 / 6	8 / 19	6	19 / 15

Des variations de concentration entre les deux prélèvements effectués en période hiver-printemps à 15 jours d'intervalle sont constatées. Elles sont plus importantes pour les antibiotiques et les analgésiques, médicaments qui sont consommés sur des courtes durées. Les teneurs mesurées en aval des rejets des deux stations d'épuration sont sensiblement supérieures à celles de l'amont. Cette tendance est particulièrement prononcée pour l'ibuprofène : il est à noter que la charge en ce composé est essentiellement amenée par le rejet de la STEP de Nîmes-Centre. En effet, de faibles concentrations d'ibuprofène sont rejetées par la STEP de Nîmes-Ouest (Tableau III-11). L'impact du rejet de substances pharmaceutiques par les 2 STEP nîmoises sur le Vistre est mis en évidence dans la Figure III-11, le débit en Amont 1 étant de 0,25 m³ s⁻¹ et celui en Aval 2 étant de 1,2 m³ s⁻¹ (Nîmes Métropole, bureau d'études AQUASCOPE). En termes de flux total des composés pharmaceutiques mesurés, l'apport massique au Vistre est globalement dix fois plus important à l'aval de la ville de Nîmes. L'impact plus important des analgésiques peut s'expliquer par le fait que leur usage n'est pas soumis à prescription médicale obligatoire.

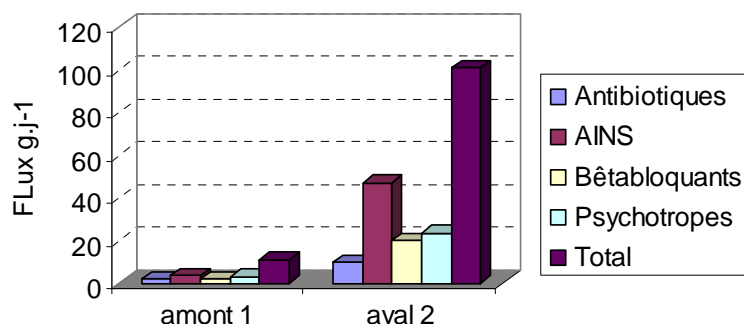


Figure III-11 Flux de médicaments dans le Vistre en amont et en aval de Nîmes

La Salindrenque, milieu récepteur de la STEP de Lasalle (STEP 1)

Le Tableau III-12 donne les concentrations de produits pharmaceutiques mesurées dans la Salindrenque.

Tableau III-12 Concentration en PPs dans la rivière Salindrenque et concentration moyenne dans les effluents de la STEP de Lasalle (MEC_{Eff})

Composés	MEC_{Eff}	31/07/07
NOR	45	< 5,2
CIP	na	na
ACE	93	6
PRO	390	52
IFO	< 3,8	< 3,8
PRA	< 7,7	< 7,7
CAR	166	51
LOR	34	8
TAM	< 5,8	< 5,8
DIC	315	6
IBU	2	1,2
FEN	< 5,5	3,5

Elles sont significativement plus faibles que dans les autres cours d'eau étudiés, en particulier pour les composés du groupe 1 présents dans l'effluent à des teneurs comparables à celles mesurées dans les autres STEP (Alès, Nîmes-Ouest). Le facteur de dilution, calculé sur la base de la concentration en carbamazépine est de l'ordre de 3 et identique à celui de la STEP d'Alès, en période estivale. Néanmoins des abattements plus importants sont observés pour le propranolol et le diclofénac.

La lagune du Grau du Roi

Le Tableau III-13 regroupe les mesures effectuées en sortie de lagune du Grau du Roi.

Tableau III-13 Concentration des PP_s étudiés (ng L⁻¹) en sortie de lagune et concentration moyenne dans les effluents de la STEP du Grau du Roi (MEC_{Eff})

Composés	MEC _{Eff}	04/03/08	26/03/08	07/04/08
NOR	130	30 ± 7	23 ± 3	35 ± 2
CIP	240	39 ± 6	162 ± 10	36 ± 4
ACE	115	18 ± 3	15 ± 2	12 ± 1
PRO	340	2 ± 0,7	1,2 ± 0,3	< 1
IFO	< 3,8	< 6	< 6	< 6
PRA	< 7,7	< 4	< 4	< 4
CAR	360	270 ± 15	406 ± 38	356 ± 13
LOR	40	12 ± 1	22 ± 3	11 ± 1
TAM	< 5,8	< 8	< 8	< 8
DIC	585	15 ± 2	4,3 ± 1	1,8 ± 0,4
IBU	60	34 ± 12	47 ± 3	39 ± 1
FEN	7	< 6	18 ± 2	14 ± 4

Les concentrations en PP_s observées en sortie de lagune sont de l'ordre de la dizaine de ng L⁻¹, à l'exception de la carbamazépine. Un net abattement des concentrations est observé pour la plupart des PP_s : la lagune constitue un traitement complémentaire de l'effluent de la STEP. La littérature reporte l'efficacité des systèmes lagunaires pour éliminer ou réduire des micropolluants tels que les perturbateurs endocriniens, les produits pharmaceutiques et les produits d'hygiène personnelle (Conkle *et al.*, 2008; Fenet *et al.*, 2006; Gomez *et al.*, 2007; Imfeld *et al.*, 2009; Matamoros & Bayona, 2006; Matamoros *et al.*, 2008; Matamoros *et al.*, 2005; Picot *et al.*, 2005; White *et al.*, 2006). Les résultats présentés ici montrent que de tels systèmes, construits ou naturels, (lagunes, zones marécageuses) peuvent contribuer à la réduction de la présence et donc de l'impact des PP_s dans l'environnement. Le rejet de la lagune du Grau du Roi est, quant à lui, dispersé au travers de marais, roubines avant de rejoindre, quelques kilomètres plus loin, la mer.

L'effluent de la STEP de Grasse est rejeté dans le Vallon de Saint Antoine. Celui-ci rejoint la Siagne, rivière dont le débit est très faible l'été et qui est classée « milieu sensible » car elle dessert une zone de pisciculture et constitue un champ de captage pour l'alimentation en eau potable de la ville de Cannes. L'effluent de la STEP de Nice se déverse quant à lui, directement dans la mer. Les milieux récepteurs de ces deux stations n'ont pas été échantillonnés lors de notre étude.

En l'absence de mesures, nous souhaitons simplement attirer l'attention sur le fait que :

- la contamination des eaux marines par les substances pharmaceutiques est reportée dans la littérature. En effet, des prélèvements effectués dans la calanque de Cortiou à 300 m du rejet de la station d'épuration de Marseille (qui ne fait pas appel à une épuration biologique) ont montré des niveaux de concentration particulièrement élevés entre 200 et 8000 ng L⁻¹ pour les AINS dont le diclofénac et l'ibuprofène, et entre 3 et 100 ng L⁻¹ pour des psychotropes dont la carbamazépine (Budzinski & Togola, 2006). La STEP de Nice rejette de l'ordre de 40 g J⁻¹ de chacun de ces composés et jusqu'à 10 g J⁻¹ d'antibiotiques (norfloxacine et ciprofloxacine),
- la STEP de Grasse a pour exutoire un milieu classé zone sensible. Des flux de l'ordre du g J⁻¹ d'analgésiques et de psychotropes sont rejetés chaque jour.

Les mesures réalisées sur les eaux de surface du Gard ont été confrontées à celles reportées par la littérature, pour certains cours d'eau français. Sadezky *et al.* ont calculé pour chaque composé pharmaceutique, les concentrations A-MEC pour les eaux de surface (Sadezky *et al.*, 2008) à partir des données reportées en France (Annexe 1). Nous avons adopté la même approche pour les mesures effectuées sur le Gardon d'Alès, le Vistre et la Salindrenque, soit 13 échantillons. La Figure III-12 présente, pour chaque composé, les valeurs de A-MEC (triangle, ng L⁻¹) et la plage des concentrations mesurées.

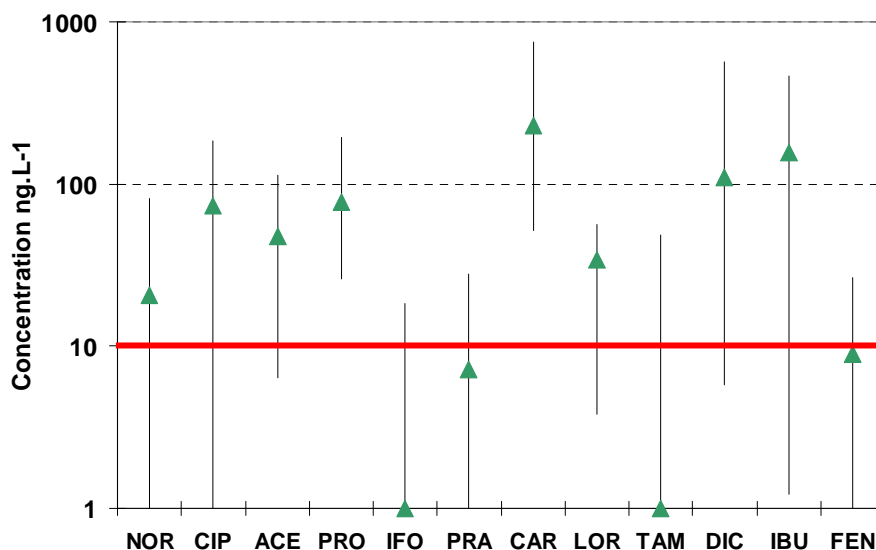


Figure III-12 A-MEC des PP étudiés dans les milieux récepteurs des STEP du Sud-Est de la France (▲ concentrations médiane, | concentrations min et max)

Les valeurs médianes dépassent le seuil de 10 ng L⁻¹ pour les composés des groupes 1 et 2, voire les 100 ng L⁻¹ pour la carbamazépine, le diclofénac et l’ibuprofène.

Le Tableau III-14 regroupe les données de concentrations médianes pondérées (A-MEC) et les valeurs maximales mesurées pour les PPs d’intérêt, à l’échelle nationale et lors de notre étude. Il montre que les valeurs mesurées sur les rivières du Gard sont globalement supérieures aux teneurs rapportées par Sadezky *et al.* (2008). Ces dernières concernent essentiellement des eaux de surface telles que la Seine, la Marne et l’Oise (Branchereau *et al.*, 2006) dont les débits et donc l’effet de dilution sont vraisemblablement plus importants que ceux des rivières gardoises. Par ailleurs, la comparaison des concentrations mesurées, des concentrations prédites et des données reportées par Sadezky *et al.* montrent que les valeurs prédites sont surestimées pour la ciprofloxacine, le propranolol et sous estimées pour l’ibuprofène et le diclofénac (Sadezky *et al.*, 2008). Les concentrations mesurées lors de notre étude sont plutôt en accord avec les valeurs prédites bien qu’une légère sous estimation soit constatée pour la carbamazépine, le diclofénac et l’ibuprofène.

Tableau III-14 A-MEC (ng L⁻¹) dans les eaux de surfaces en France

Composés	PEC _{ES}	Eaux de surface (France) (Sadezky <i>et al.</i> , 2008)		Eaux de surface (Gard)	
		A-MEC	max	A-MEC	max
NOR	30	-	-	21 (12)	82
CIP	40	6 (6)	6	73 (8)	183
ACE	75			47 (13)	113
PRO	40	2 (33)	40	77 (13)	194
IFO	2			0	18
PRA	30			7 (13)	28
CAR	60	24(89)	1150	230 (13)	755
LOR	7	0 (27)	15	34 (13)	57
TAM	2			0	48
DIC	40	23 (85)	170	108	562
IBU	40	110 (91)	5600	155	463
FEN	10	5 (33)	25	9	27

En conclusion, les différentes mesures réalisées sur les eaux de rivière, bien que ponctuelles, montrent une réelle présence des substances pharmaceutiques dans la région Sud Est de la France. Le rôle joué par les rejets urbains est ainsi avéré, même s’il n’a pas été possible d’établir un lien entre la densité de population et la concentration des substances pharmaceutiques. Le niveau de concentration mesuré pour certains composés, comme la carbamazépine, le diclofénac, le propranolol, ou encore l’ibuprofène, reste élevé

(> 100 ng L⁻¹). Les valeurs maximales observées sont, pour la majorité des composés étudiés, supérieures à celles observées sur l'ensemble de la France (Sadezky *et al.*, 2008). Ceci peut être expliqué par le faible débit des rivières gardoises. Par ailleurs, l'impact des établissements de soins n'a pu être mis en évidence pour les molécules étudiées (ifosfamide et tamoxifène). Enfin, les mesures réalisées à la sortie de du Grau du Roi montrent la potentialité d'un écosystème naturel par rapport à un traitement conventionnel pour éliminer ou réduire l'impact sur l'environnement de micropolluants tels que les produits pharmaceutiques.

III.3 Estimation du risque environnemental

L'EMA a publié en 2006 une procédure révisée pour l'évaluation du risque environnemental lié au rejet de médicaments humains et vétérinaires dans les milieux aquatiques (EMA, 2006). L'objectif de cette partie est de réaliser une estimation du risque environnemental potentiel des molécules étudiées. La procédure vise à établir un quotient de risque avec une estimation des concentrations prédites dans les eaux de surface (PEC) reflétant l'exposition et des concentrations prédites sans effet biologique sur les organismes aquatiques (PNEC) reflétant l'effet. Le quotient de risque est calculé par le rapport PEC/PNEC.

A l'échelle de notre étude, les valeurs mesurées (A-MEC) ont été utilisées préférentiellement à la valeur de PEC et les composés ont été hiérarchisés selon la classification suivante :

A-MEC/PNEC < 0,1 → Risque insignifiant

A-MEC/PNEC 0,1–1 → Risque faible

A-MEC/PNEC 1–10 → Risque modéré

A-MEC/PNEC > 10 → Risque élevé

III.3.1 Estimation de l'exposition

L'approche de l'EMA repose sur une démarche quantitative pour le calcul des PECs (EMA, 2006). La quantité consommée d'une molécule sur une année et sur une zone géographique est utilisée comme valeur centrale du modèle, l'hypothèse de départ étant que plus une molécule est consommée, plus elle est à même de se retrouver dans l'environnement

en forte concentration et de représenter un risque pour les organismes non cibles. Dans notre étude, le calcul du PEC dans les eaux de surface (PEC_{ES}) a été réalisé en utilisant l'Équation III-3 selon (Besse *et al.*, 2008).

Équation III-3

$$PEC_{ES} = \frac{\text{Consommation} \times F_{\text{Excreta}} \times F_{\text{Step}}}{Q_{\text{hab}} \times nb_{\text{hab}} \times FD \times 365}$$

Où :

Consommation (mg an^{-1}) : Consommation annuelle en 2006

Q_{hab} : Volume d'eaux usées rejeté par personne et par jour ($200 \text{ L hab}^{-1} \text{ J}^{-1}$ par défaut)

FD : Facteur de dilution de l'effluent de STEP par le milieu récepteur (10 par défaut)

nb_{hab} : Nombre d'habitants en France métropolitaine (millions d'hab)

F_{Excreta} : Taux d'excrétion $F_{\text{Step}} = (1 - \text{taux d'élimination})$

Les mêmes hypothèses de calcul ont été prises que celles utilisées pour le calcul du PEC_{Eff} . Un facteur de dilution de 10 a été systématiquement appliqué. Le Tableau III-15 rassemble nos données et celles de Besse *et al.* calculées sur la base des données de consommation de médicaments prescrits et non prescrits en 2004 (Besse *et al.*, 2008). Elles sont en accord pour les molécules concernées.

Tableau III-15 Valeurs de PEC_{ES} pour les PPs étudiés

Composés	PEC_{ES} (ng L^{-1})	PEC_{ES} (Besse <i>et al.</i> , 2008)
NOR	30	-
CIP	40	53
ACE	75	-
PRO	40	53
IFO	2	-
PRA	30	-
CAR	60	-
LOR	7	-
TAM	2	-
DIC	40	25
IBU	40	55
FEN	10	<18

III.3.2 Estimation de l'effet

Le danger écotoxique a été pris en compte dans nos travaux pour l'estimation de l'impact des produits pharmaceutiques sur l'environnement aquatique. Les données d'écotoxicité servant de base à l'évaluation du risque porte sur les trois principaux groupes taxonomiques, algues, invertébrés et poissons. Les critères d'évaluation sont l'inhibition de croissance (algues), l'immobilisation et/ou la reproduction (daphnies) et la mortalité (poissons). Les données écotoxicologiques sont soit des données d'écotoxicité aiguë exprimées sous forme de CE_{50} ou CL_{50} , soit des données d'écotoxicité chronique exprimées sous forme de CE_{10} , LOEC ou NOEC.

Besse et Garric ont réalisé une revue des données d'écotoxicité aiguë et chronique des substances pharmaceutiques vis-à-vis des organismes aquatiques (Besse & Garric, 2007). Cette étude fait ressortir les points suivants :

- la majorité des valeurs de toxicité aiguë est comprise entre 1 et 100 mg L⁻¹ pour les invertébrés et les poissons. Le risque aigu pour les composés pharmaceutiques est donc négligeable,
- les cyanophytes (algues) représentent le groupe taxonomique le plus sensible envers les antibiotiques,
- le propranolol (β -bloquant), la fluoxétine, la paroxétine (antidépresseurs) sont des composés potentiellement à surveiller,
- les données chroniques confirment les observations émises au sujet des données aiguës.

Les concentrations prédites sans effet biologique (PNEC) utilisées dans l'évaluation du risque dérivent des données d'écotoxicité affectées d'un facteur de sûreté (FS) qui traduit le degré d'incertitude existant lors de l'extrapolation de données expérimentales (tests réalisés sur un nombre limitée d'espèces) à l'environnement aquatique. Le Tableau III-16 regroupe les facteurs de sûreté recommandés par le TGD (Technical Guidance Document) pour une estimation de risque (TGD, 2003). Le facteur de sûreté est appliqué à la plus petite valeur d'écotoxicité reportée.

Tableau III-16 Critères de choix et valeurs des facteurs de sûreté (TGD, 2003).

Données disponibles	Facteurs de sûreté
au moins une CE(L) ₅₀ aigüe pour chacun des trois niveaux trophiques (algue, daphnie, poisson)	1000
1 NOEC chronique (daphnie ou poisson)	100
2 NOEC chroniques pour deux niveaux trophiques différents (poisson et/ou daphnie et/ou algue)	50
3 NOEC chroniques, une pour chacun des trois niveaux trophiques (algue, daphnie, poisson)	10

Au cours de nos travaux, nous avons effectué, à l'aide d'outils commercialisés, des tests de toxicité aigüe (Microtox et ToxScreen) et chronique à court terme (Protoxkit) sur quelques unes des molécules étudiées. Le choix de ces dernières a pris en compte des critères tels que des valeurs de A-MEC supérieures à 100 ng L⁻¹ (carbamazépine, ibuprofène et diclofénac) et l'absence de données dans la littérature pour le lorazépam. Les essais ont été menés en triplicat. Les courbes concentration-effet obtenues pour chaque composé avec les 3 tests écotoxicologiques (Microtox, ToxScreen et Protoxkit) sont présentées en Annexe 7.

La toxicité est exprimée par les valeurs de CI₅₀ (mg L⁻¹), concentration pour laquelle une inhibition de 50 % de luminescence (Microtox, ToxScreen) ou de croissance (Protoxkit) est observée après 30 minutes (Microtox, ToxScreen) ou 27 heures (Protoxkit) d'exposition. Les données expérimentales obtenues sont regroupées dans le Tableau III-17.

Tableau III-17 Valeurs de toxicité aiguës et chroniques court-terme expérimentales (CI₅₀ mg L⁻¹)

Composés	Microtox (30 min)	ToxScreen (30 min)	Protoxkit (27 heures)
CAR	> 125	45 ± 5	95,7 ± 6,6
LOR	-	40 ± 10	-
IBU	31,4 ± 3,5	0,8 ± 0,3	8,2 ± 2,3
DIC	14,8 ± 0,8	2,1 ± 0,2	4,9 ± 0,1

Les organismes testés, bactéries marines *V. fisheri* et *P. leiognathi*, et protozoaire cilié *T. thermophila*, appartiennent aux premiers maillons de la chaîne trophique en milieu aquatique. Ils consomment la matière organique dissoute présente dans le milieu et servent de nourriture aux organismes de niveaux trophiques supérieurs, comme les crustacées et les poissons. Les valeurs de CI₅₀, obtenues avec le test Microtox pour la carbamazépine, l'ibuprofène et le diclofénac, sont en accord avec les données de la littérature (Farre *et al.*, 2001; Ferrari *et al.*, 2003). Par ailleurs, les valeurs de CI₅₀ diffèrent selon l'espèce testée, *P. leiognathi* (ToxScreen) apparaissant comme l'espèce la plus sensible aux composés testés.

Les données issues du test ToxScreen, affectées d'un facteur de sûreté de 1000, ont été utilisées pour dériver des valeurs de PNEC ($PNEC_{exp}$). En parallèle, une revue des données de la littérature pour les composés cibles a été réalisée (Annexe 8) afin de déterminer un $PNEC_{lit}$ rendant compte d'une plus grande diversité d'espèces cibles. Lorsque plusieurs valeurs sont disponibles pour un composé, la donnée correspondant au danger toxique le plus élevé est prise par défaut. Le PNEC est alors obtenu en intégrant le facteur de sûreté défini par les règles préalablement exposées (Tableau III-16). Aucune donnée écotoxicologique n'est disponible dans la littérature pour la pravastatine. Cependant, elle est reconnue comme induisant des effets carcinogènes chez le rat (Snyder & Green, 2001).

Le Tableau III-18 regroupe les valeurs de PNEC pour l'ensemble des composés retenus. Le propranolol, le tamoxifène et l'ibuprofène apparaissent potentiellement prioritaires. Des écarts importants sont observés entre nos résultats expérimentaux et les données de la littérature, en particulier pour la carbamazépine et le diclofénac. Les valeurs issues de la littérature, plus consolidées, seront prises en compte dans l'évaluation du risque et, à défaut, la valeur expérimentale pour le lorazépam.

Tableau III-18 Données de toxicité choisies et calcul de $PNEC_{lit}$ et $PNEC_{exp}$ (à partir des données de la littérature et des données expérimentales, respectivement) pour les PP étudiés

Composés	Valeurs de toxicité choisies (données disponibles et Réf.)	FS	$PNEC_{lit}$ (ng L ⁻¹)	$PNEC_{exp}$ (ng L ⁻¹)
NOR	10 mg L ⁻¹ (CE ₅₀) (Eguchi <i>et al.</i> , 2004)	1000	10000	-
CIP	10 mg L ⁻¹ (NOEC/CE ₁₀) (Robinson <i>et al.</i> , 2005)	100	100000	-
ACE	16 mg L ⁻¹ (1 NOEC) (Garric <i>et al.</i> , 2006)	100	160000	-
PRO	1 µg L ⁻¹ (3 NOEC) (Huggett <i>et al.</i> , 2002)	10	100	-
IFO	160 mg L ⁻¹ (CE ₅₀) (Buerge <i>et al.</i> , 2006)	1000	160000	-
PRA	-	-	-	-
CAR	25 µg L ⁻¹ (3 NOEC) (Ferrari <i>et al.</i> , 2004)	10	2500	45000
LOR	-	-	-	40000
TAM	5 µg L ⁻¹ (1 NOEC) (Williams <i>et al.</i> , 2007)	100	50	-
DIC	1 mg L ⁻¹ (3 NOEC) (Ferrari <i>et al.</i> , 2004)	10	100000	2100
IBU	10 µg L ⁻¹ (2 NOEC) (Brun <i>et al.</i> , 2006)	50	200	800
FEN	15 µg L ⁻¹ (3 NOEC) (Garric <i>et al.</i> , 2006)	10	1500	-

Les concentrations mesurées, A-MEC, dans les rivières gardoises sont du même ordre de grandeur que les valeurs de PNEC pour deux molécules, le propranolol (77 ng L⁻¹) et l'ibuprofène (155 ng L⁻¹).

III.3.3 Estimation du risque

Le risque défini par le quotient de risque $QR = PEC/PNEC$ dans la méthodologie de l'EMEA a été appréhendé, dans notre étude, par le rapport A-MEC/PNEC. Les molécules pharmaceutiques étudiées ont alors été classées selon leur niveau de risque (insignifiant, faible, modéré ou élevé).

Le Tableau III-19 regroupe les valeurs de quotient de risque calculées pour les composés d'intérêt.

Tableau III-19 Quotient de risque calculé selon la méthodologie EMEA

	PNEC (ng L⁻¹)	A-MEC (ng L⁻¹)	QR = A-MEC/ PNEC
NOR	10000	21	0,002
CIP	100000	73	0,0007
ACE	160000	47	0,0003
PRO	100	77	0,8
IFO	160000	0	-
PRA	-	7	-
CAR	2500	230	0,09
LOR	-	34	0,0009
TAM	50	0	-
DIC	100000	109	0,001
IBU	200	155	0,8
FEN	1500	9	0,006

Il montre que, dans les rivières gardoises, le risque est insignifiant pour l'ensemble des molécules retenues à l'exception du propranolol et l'ibuprofène, composés pour lesquels, il est jugé comme faible.

Une autre approche pour estimer le risque a consisté à confronter les valeurs de toxicité les plus basses reportées dans la littérature (LOEC « Lowest Observed Effect Concentration ») et les concentrations maximales mesurées dans les rivières gardoises. Il s'agit d'un scénario « maximaliste ». Les valeurs de quotient de risque obtenues sont présentées dans le Tableau III-20. Pour la pravastatine et le lorazépam, les valeurs de toxicité reportées sont issues des prédictions ECOSAR basées sur les QSAR (<http://www.pbtprofiler.net/>).

Tableau III-20 Quotient de risque toxique dans un scénario de pire cas (LOEC : Lowest Observed Effect Concentration ; Cmax : concentrations max)

PPs	LOEC µg L ⁻¹	Cmax ng L ⁻¹	QR
NOR	22	82	0,004
CIP	5	183	0,04
ACE	16 000	113	7 10 ⁻⁶
PRO	0,5	194	0,4
IFO	160 000	18	10 ⁻⁷
PRA	180 (QSAR)	28	1,6 10 ⁻⁴
CAR	10	755	0,08
LOR	2 000 (QSAR)	57	3 10 ⁻⁵
TAM	0,8	48	0,06
DIC	1	562	0,6
IBU	1	463	0,5
FEN	15	27	7 10 ⁻⁵

Dans cette configuration (scénario de pire cas), le diclofénac passe de la classe « risque insignifiant » à la classe « risque faible ». Il est à noter que la littérature scientifique a attiré l'attention sur ce composé. En effet, l'utilisation vétérinaire de cet anti-inflammatoire est très répandue dans le sous continent indien pour soigner le bétail domestique. Ainsi, les vautours sont victimes du diclofénac lorsqu'ils se nourrissent des carcasses de bétail traités avec ce produit. Le déclin des populations de vautours a été effectivement observé dans la dernière décennie en Inde et au Pakistan (Green *et al.*, 2004; Oaks *et al.*, 2004).

En conclusion, les estimations de risque réalisées à partir des mesures réalisées sur les rivières gardoises montrent que la majorité des molécules pharmaceutiques étudiées n'induisent qu'un risque insignifiant pour les organismes aquatiques. Néanmoins, il semblerait qu'une attention particulière doive être portée au propranolol, à l'ibuprofène et au diclofénac, médicaments largement consommés. Par ailleurs, depuis une dizaine d'années, des études ont reporté des effets subtils sur des organismes aquatiques et terrestres pour certains composés en particulier le propranolol, le diclofénac, l'ibuprofène, la carbamazépine (parmi les composés étudiés). Des recherches en cours étudient si ces effets peuvent être considérés comme pertinents d'un point de vue écologique (Boxall, 2008).

**ELIMINATION DES PPs
PAR PHOTOLYSE UV**

&

**ADSORPTION SUR
CHARBON ACTIF**

IV. ELIMINATION DES PPs PAR PHOTOLYSE ET ADSORPTION SUR CHARBON ACTIF

En complément des mesures visant à diminuer le rejet des produits pharmaceutiques, il faut désormais considérer des solutions techniques permettant d'éliminer les composés les plus problématiques en termes de présence, persistance et nocivité. Deux approches peuvent être adoptées : un traitement en amont au niveau de la STEP ou en aval au niveau de la potabilisation. Il est connu que le traitement actuel des eaux urbaines par boues activées est loin d'être suffisant quant à l'élimination des PPs (Buntner *et al.*, 2008; Jones *et al.*, 2005; Miège *et al.*, 2008). La solution serait d'envisager un traitement complémentaire (ou tertiaire). Dans ce chapitre, sont présentés les résultats d'une étude préliminaire de traitement de 13 composés par photolyse UV et adsorption sur charbon actif. Le choix de ces deux techniques repose sur leur efficacité à éliminer les composés organiques en général et sur leur potentiel d'industrialisation dans un avenir proche. En effet, la technique UV est déjà utilisée dans le traitement bactériologique des eaux urbaines (Oppenländer, 2003) et la production de l'eau ultra pure et l'adsorption sur charbon actif est utilisée dans le traitement d'eaux industrielles et la potabilisation (Bansal & Goyal, 2005).

Dans un premier temps, les tests ont été réalisés sur des solutions synthétiques de composés pharmaceutiques. Dans un second temps, ces mêmes tests ont été effectués dans une matrice de type effluent de STEP afin d'évaluer l'effet de celle-ci sur l'efficacité des traitements.

IV.1 Elimination des PPs par photolyse UV

La dégradation photochimique est une voie d'élimination des produits pharmaceutiques (Boreen *et al.*, 2003) : beaucoup de ces composés présentent des cycles aromatiques, hétéroatomes, et d'autres groupes fonctionnels qui vont pouvoir soit absorber les radiations lumineuses, soit réagir avec des espèces intermédiaires photo réactives telles que les espèces oxygènes réactives et la matière organique photo-excitée.

IV.1.1 Caractéristique spectrales des composés

Les solutions de 13 produits pharmaceutiques ont été préparées dans l'eau milliQ selon leur solubilité. La Figure IV-1 montre les spectres d'absorption UV des composés pour une concentration comprise entre 15 et 75 mg L⁻¹. Le coefficient d'extinction molaire a été utilisé pour corriger l'effet de la concentration sur l'absorbance.

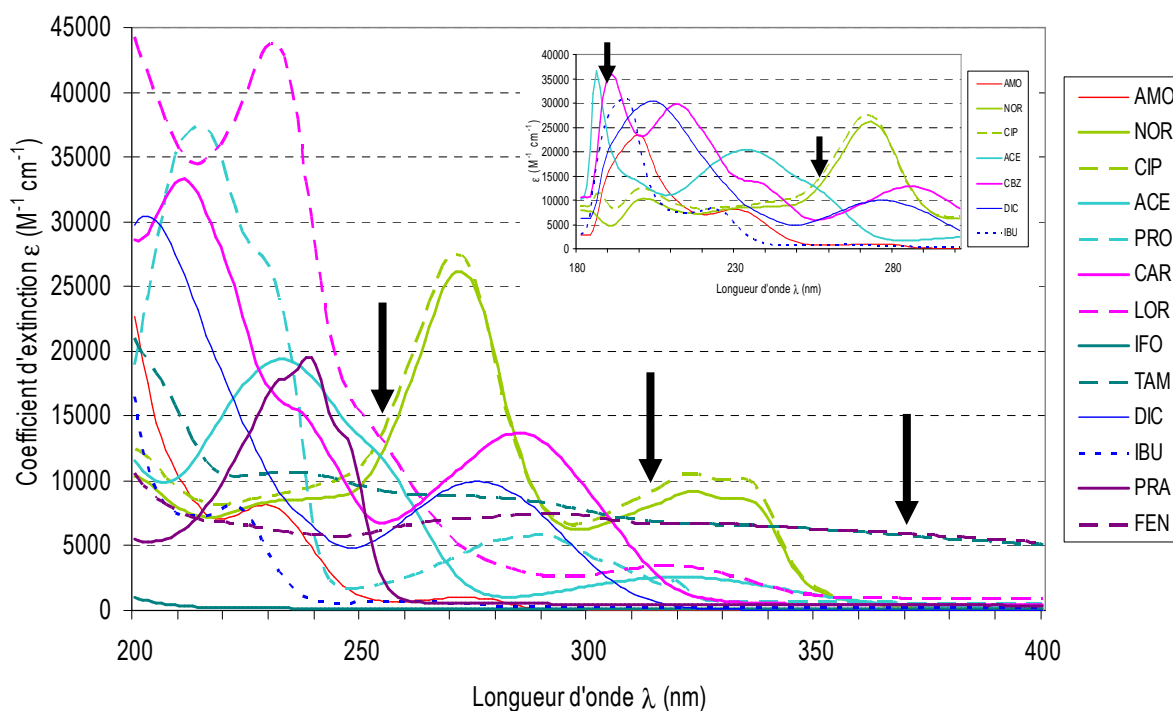


Figure IV-1 Spectres d'absorption UV/visible des PPs dans l'eau milliQ (15 à 75 mg L⁻¹). Les flèches indiquent les longueurs d'onde d'émission de la lampe.

A l'exception de l'ifosfamide, des spectres très structurés sont observés pour la majorité des composés, la structuration diminuant pour le tamoxifène et le fénofibrate (solubilité dans l'eau très faible pour ces deux molécules). Les structures moléculaires des PPs sont assez complexes et intègrent, à l'exception de la pravastatine, un ou plusieurs noyaux aromatiques plus ou moins substitués par des fonctions acide carboxylique, cétone, amide, amine... susceptibles d'étendre la conjugaison de la molécule et de déplacer l'absorption vers les plus grandes longueurs d'onde. Celle-ci est insignifiante au-delà de 360 nm pour la majorité des PPs à l'exception du fénofibrate et du tamoxifène (respectivement 2 et 3 noyaux aromatiques substitués). Pour la majorité des composés, l'absorbance est plus forte en début de spectre (200-260 nm). Les spectres de la ciprofloxacine et de la norfloxacine (fluoroquinolones) sont

très semblables et caractéristiques des quinolones : elles présentent un maximum d'absorbance vers 270 nm et un épaulement marqué entre 320 et 340 nm.

Les coefficients d'extinction molaire ou absorptivité ϵ à 254 nm des molécules sont donnés dans le Tableau IV-1, 254 nm correspondant à la longueur d'onde d'émission la plus intense de la lampe UV basse pression utilisée dans cette étude. ϵ mesure la probabilité qu'un composé absorbe la lumière à une longueur d'onde donnée (Schwarzenbach *et al.*, 1993).

ϵ ($M^{-1} cm^{-1}$) est calculé selon la loi de Beer Lambert :

$$A = \epsilon I C$$

Où :

A : absorbance

I : trajet optique (cm)

C : concentration molaire ($mol L^{-1}$) ou (M^{-1})

Tableau IV-1 Coefficients d'extinction ϵ ($M^{-1} cm^{-1}$) à 254 nm

$\epsilon < 1000$	$1000 < \epsilon < 9000$	$\epsilon > 9000$
Ifosfamide : 150	Carbamazépine: 6770	Tamoxifène: 9290
Ibuprofène : 660	Fénofibrate: 6150	Acébutolol: 11980
Amoxicilline : 770	Pravastatine: 3070	Norfloxacin: 11740
	Propranolol: 2010	Ciprofloxacine: 13210
	Diclofénac: 5610	Lorazépam: 13320

Les coefficients d'extinction (< 1000) les plus bas observés pour l'ifosfamide, l'ibuprofène et amoxicilline suggèrent une plus grande difficulté pour photodégrader ces composés. Une photodégradation plus facile est par contre attendue pour les composés comme la norfloxacine et la ciprofloxacine (Pereira *et al.*, 2007a) présentant des $\epsilon > 10000$. Ces deux fluoroquinolones sont de structures très semblables, seule la norfloxacine (ayant le plus bas ϵ des deux) a fait l'objet de tests d'élimination.

IV.1.2 Photolyse des PP dans l'eau

La photolyse des PP sous irradiation UV par une lampe à Hg basse pression a été étudiée pour une concentration initiale des PP de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dans l'eau. La concentration en PP a été choisie de manière à ce que la photodégradation des composés dans les conditions expérimentales utilisées puisse être quantifiable par une analyse directe des échantillons par LC-MS/MS sans pré-concentration. Le degré de photodégradation de chaque PP sera exprimé par la diminution de concentration du composé parent.

Les solutions ont été d'abord mises en circulation dans le réacteur sans irradiation afin de vérifier si d'autres phénomènes que la photodégradation (adsorption sur le système expérimental...) pouvaient engendrer une diminution de la concentration des composés. Celle-ci a été effectivement observée de façon plus ou moins prononcée en fonction des molécules. La perte est inférieure à 5 % pour 6 des 12 molécules. Elle se situe autour de 20 % pour la norfloxacin, l'acébutolol, et le propranolol et peut atteindre 30 à 50 % pour le tamoxifène, le fénofibrate et le lorazépam.

La Figure IV-2 montre l'évolution du taux d'élimination (C/C_0) des produits pharmaceutiques en fonction du temps d'exposition aux irradiations UV. Rappelons qu'une exposition de 20 secondes aux UV correspond à une intensité lumineuse à 254 nm de 260 mJ cm^{-2} . 8 des 12 composés sont éliminés à plus de 90 % dès le premier cycle d'exposition, soit 20 secondes d'irradiation. Les 4 composés les plus difficiles à éliminer sont l'amoxicilline, la norfloxacin, le tamoxifène et le fénofibrate. Néanmoins, deux d'entre eux, le tamoxifène et l'amoxicilline, sont éliminés jusqu'à leurs limites de détection avec un cycle d'exposition supplémentaire (40 secondes). La norfloxacin et le fénofibrate apparaissent comme les composés les plus résistants dans les conditions expérimentales mises en œuvre. Il faut mentionner que parmi ces 4 composés, la concentration initiale réelle du tamoxifène, norfloxacin et fénofibrate est diminuée (20 à 35 %) du fait de la perte dans le dispositif expérimental. Par ailleurs, il a été montré que les fluoroquinolones, comme la norfloxacin (Fasani *et al.*, 1999b) et la ciprofloxacine (Torniainen *et al.*, 1996), étaient plus sensibles à la photodégradation sous leur forme zwitterionique (pH 7,4 correspondant au point isoélectrique). Dans notre étude, le pH est proche de 6.

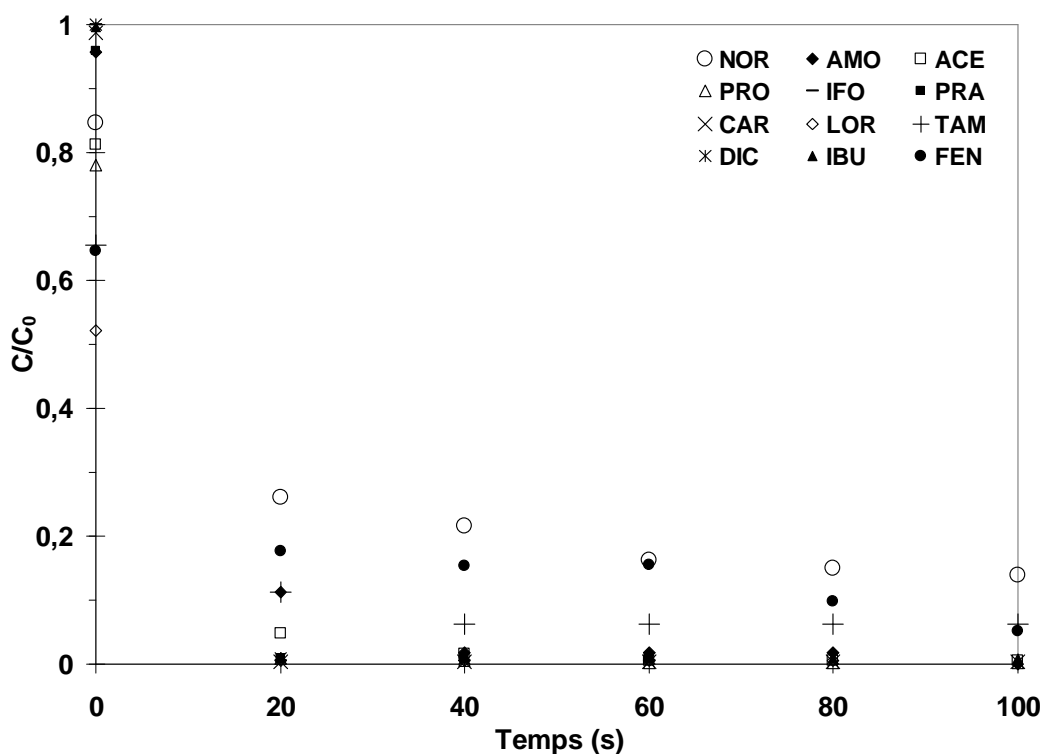


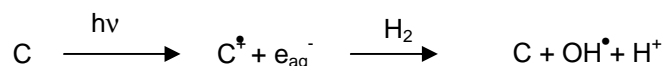
Figure IV-2 Elimination de 12 produits pharmaceutiques en solution dans l'eau par photolyse UV (C_0 : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné)

Une oxydation partielle de ces molécules est plus que probable dans les conditions expérimentales utilisées.

Aucune corrélation entre les spectres d'absorption des molécules et leur cinétique d'élimination par photolyse UV n'est observée. En particulier, il est à noter que l'ifosfamide est éliminé très facilement alors que ce composé n'absorbe pas du tout dans le spectre d'émission de la lampe utilisée (raie principale à 254 nm). Ce composé est reconnu pour ne pas être sensible à la photolyse directe dans l'environnement mais il peut être dégradé par photolyse indirecte en présence de radicaux hydroxyles et oxygène singulet (Buerge *et al.*, 2006). Le cas de l'ibuprofène est similaire (Lin & Reinhard, 2005; Tixier *et al.*, 2003). Au contraire, les deux molécules les plus difficiles à éliminer, la norfloxacine et le fénofibrate, présentent des spectres d'absorption très significatifs. Il semble évident que l'activation des molécules par absorption lumineuse n'est pas le processus prédominant de la photodégradation dans les conditions expérimentales utilisées, et ce au moins pour une partie des molécules étudiées.

La différence de cinétique observée est vraisemblablement liée à la réactivité des différentes molécules avec les espèces radicalaires produites sous irradiation UV. Les radicaux du type

hydroxyle sont connus pour être très actifs dans les réactions d'oxydation. Legrini *et al.* ont montré en utilisant une lampe basse pression émettant à 184,9 nm que la photolyse de l'eau conduit à la formation de radicaux H[•] et OH[•] (Legrini *et al.*, 1993). Chiron *et al.* suggèrent, après étude de la photolyse de la carbamazépine dans l'eau pure et dans des eaux chargées synthétiques, qu'une première étape pourrait être la photoionisation de la carbamazépine, potentiellement assistée par l'oxygène dissous, suivie d'une réaction de l'espèce intermédiaire formée avec l'eau, générant des radicaux OH[•] (Chiron *et al.*, 2006) :



Il est d'ailleurs connu que la carbamazépine s'élimine difficilement dans l'environnement sauf lorsque des mécanismes permettant sa photolyse indirecte sont possibles (présence d'espèces réactives et plus particulièrement radicaux hydroxyles) (Andreozzi *et al.*, 2002; Doll & Frimmel, 2003; Lam & Mabury, 2005). En laboratoire, la photolyse de la carbamazépine sous une lampe Hg basse pression (monochromatique 254 nm) n'a pu se faire qu'en présence d'espèces susceptibles de produire des radicaux hydroxyles (Vogna *et al.*, 2004). La photolyse en l'absence de radicaux ou en présence de piègeurs de radicaux est considérée comme négligeable.

Le pH initial des solutions irradiées se situe entre 6 et 9 en fonction de molécules. Il diminue au cours des expériences pour finir en général à 4. L'acidification des solutions est en accord avec l'oxydation partielle des molécules. La concentration en oxygène dissous diminue très faiblement lors de l'irradiation. La faible consommation d'oxygène dissous est en accord avec les taux de photodégradation observés comme décrit par (Chen *et al.*, 2008) et n'est pas étonnante au regard de la faible concentration des PPs dans les solutions.

IV.1.3 Photolyse des PPs dans des effluents de STEP

Pour se rapprocher des conditions d'un traitement tertiaire d'effluents de STEP, nous avons étudié l'efficacité de l'irradiation UV sur les solutions des molécules cibles préparées dans des effluents prélevés à la sortie d'une station d'épuration. Pour ce faire, 15 effluents d'une même station d'épuration ont été prélevés. Les analyses (Annexe 11) montrent qu'ils sont peu variables dans le temps, avec, en moyenne, un COT de 17 mg L⁻¹ et une DCO de 30 mg L⁻¹.

Les spectres UV des effluents présentent une variation d'absorbance pour les longueurs d'onde < 240 nm. La teneur en nitrate est disponible seulement pour 3 des 15 effluents et elle est de l'ordre de 1 mg L^{-1} .

Chiron *et al.* ont montré que la présence de nitrates (10 mg L^{-1}) et de matière organique naturelle (25 mg L^{-1}) pouvait influencer la photodégradation de la carbamazépine (Chiron *et al.*, 2006) : les ions nitrates sont susceptibles de favoriser la dégradation de la carbamazépine (production de radicaux OH^\bullet par photolyse des ions nitrate), tout comme la matière organique naturelle seule. En présence d'ions nitrate, la matière organique peut piéger les radicaux hydroxyles. Andreozzi *et al.* ont observé des phénomènes similaires : la présence d'ions nitrate favorise la photodégradation des composés pharmaceutiques (carbamazépine, diclofénac, acide clofibrique, ofloxacine, sulfaméthoxazole) à l'exception du propranolol (Andreozzi *et al.*, 2003). La présence d'acides humiques joue un rôle de filtre interne vis-à-vis de la carbamazépine et du diclofénac et de photosensibilisateur vis-à-vis de la sulfaméthoxazole, de l'acide clofibrique, de l'ofloxacine et du propranolol.

Les effluents ont été filtrés à $0,7 \mu\text{m}$ avant la mise en solution des PPs ($100 \mu\text{g L}^{-1}$). L'effet de la matrice de l'effluent sur l'efficacité de la photolyse UV est très variable selon les composés. Trois groupes sont distingués :

- Groupe I: composés pour lesquels la matrice a un effet prononcé sur la cinétique de la photolyse: c'est le cas de l'acébutolol, la carbamazépine, le lorazépam, l'ibuprofène et l'ifosfamide.

Le taux d'élimination à 20 secondes d'irradiation est réduit de 40 à 70 %. Néanmoins, un taux d'élimination de 90 % est obtenu avec un temps d'irradiation plus ou moins long sauf pour l'ifosfamide pour lequel ce taux reste en dessous de 80 % après 2 min d'irradiation (Figure IV-3). Les teneurs en COT (mg C L^{-1}) et en nitrates ($\text{mg NO}_3 \text{ L}^{-1}$) sont précisées pour chacun des effluents sous la forme (Cx/Ny).

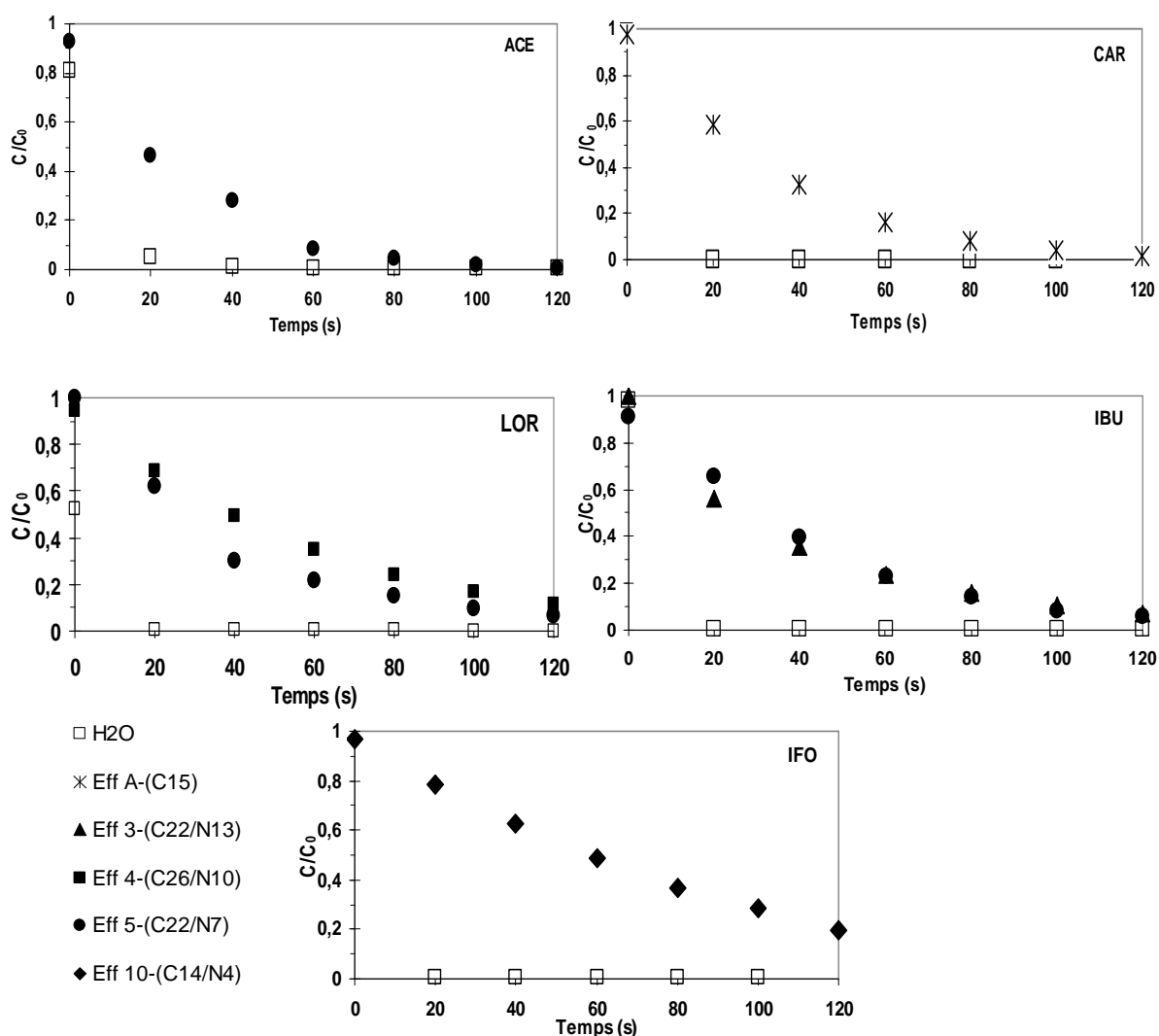


Figure IV-3 Effet de matrice sur la photolyse de l'acébutolol, la carbamazépine, le lorazépam, l'ibuprofène et l'ifosfamide (C₀: concentration initiale; C concentration en PPs au temps t donné; Cx/Ny contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)

- Groupe II : composés pour lesquels la matrice a un effet limité sur la cinétique de la photolyse : c'est le cas de l'amoxicilline et de la pravastatine.

Le taux d'élimination à 20 secondes d'irradiation est, dans ce cas, réduit de 20 %. Un cycle d'irradiation supplémentaire est nécessaire pour atteindre un taux d'élimination de 90 % (Figure IV-4).

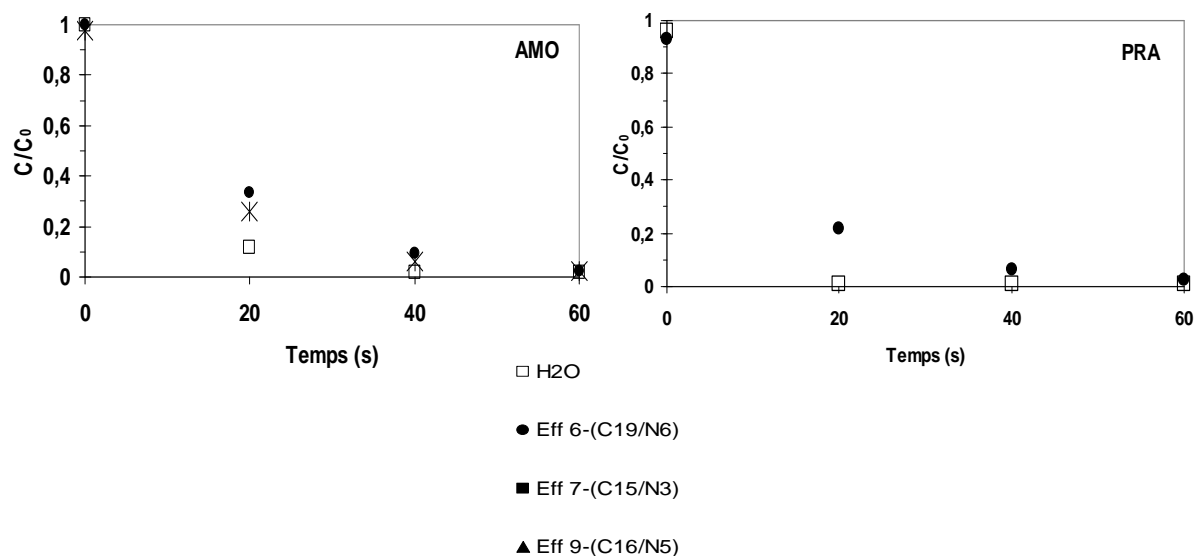


Figure IV-4 Effet de matrice sur la photolyse de l'amoxicilline et de la pravastatine (C_0 : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; C_x/N_y contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)

- Groupe III : composés pour lesquels la matrice n'a pas d'effet significatif sur l'efficacité du traitement : c'est le cas, du propranolol, du diclofénac, du tamoxifène et du fénofibrate (Figure IV-5).

Parmi ces 4 composés, le propranolol et le diclofénac font partie des molécules faciles à éliminer par photolyse. Le cas de la norfloxacine est particulier : la cinétique de photodégradation est augmentée en présence d'effluent. Cette observation pourrait être rapprochée de celle décrite par Andreozzi *et al.* pour l'ofloxacine qui montre une meilleure photodégradation en présence de nitrates pour ce composé et non pour le propranolol (Andreozzi *et al.*, 2003). La question de l'influence du pH pour les fluoroquinolones est toujours soulevée. Sachant que l'effluent est à un pH légèrement basique contrairement à l'eau, la photodégradation de la norfloxacine devrait être facilitée dans l'effluent (Fasani *et al.*, 1999b).

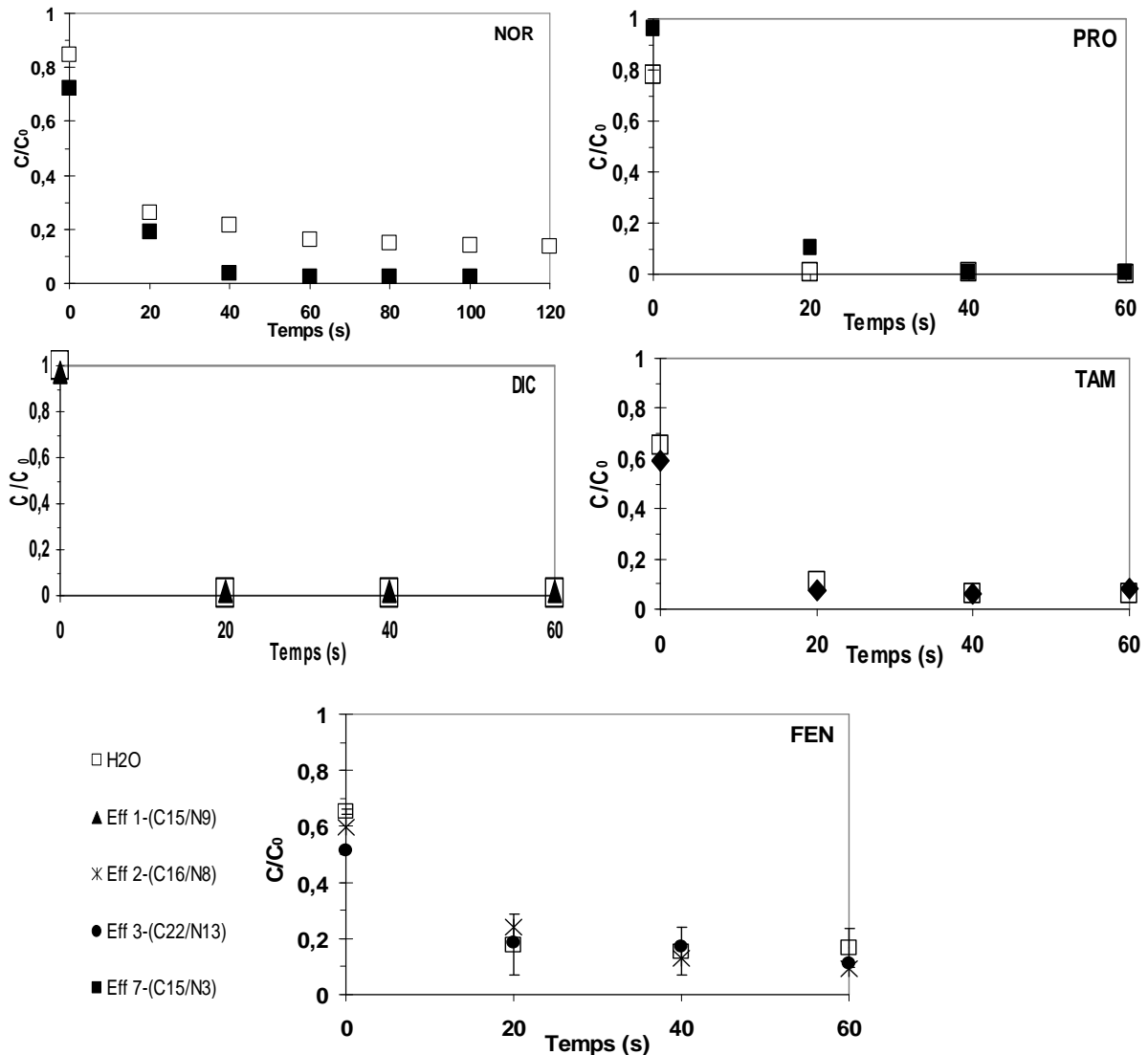


Figure IV-5 Effet de matrice sur la photolyse de la norfloxacine, du propranolol, du diclofénac, du tamoxifène et du fénofibrate (C_0 : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; C_x/N_y contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)

Le pH des solutions reste constant tout au long de l'expérience, contrairement aux essais réalisés avec les solutions des PPs dans l'eau. L'effluent aurait ainsi un effet tampon. Par ailleurs, l'irradiation n'a pas d'effet sur la charge organique totale des solutions.

D'un point de vue cinétique, les constantes de vitesse (k) de la photodégradation ont déterminées sur la base d'une cinétique de pseudo-ordre 1 par rapport aux PPs (Annexe 12). Elles sont reportées dans le Tableau IV-2 ainsi que les taux d'élimination des produits pharmaceutiques à 20 et 60 secondes d'irradiation.

Tableau IV-2 Constante de vitesse (k), temps de demi-vie ($T_{1/2}$) et pourcentage d'élimination des produits pharmaceutiques par photolyse UV dans l'eau et dans l'effluent

PPs	k (s ⁻¹)		$T_{1/2}$ (s)		% d'élimination pour temps T d'irradiation UV			
					T = 20 s (260 mJ cm ⁻²)		T = 1 min (780 mJ cm ⁻²)	
	Eau pure	Effluent STEP	Eau pure	Effluent STEP	Eau pure	Effluent STEP	Eau pure	Effluent STEP
AMO	0,11	0,06	6	11	89 ± 1	70 ± 7	> 98	> 98
NOR	0,06	0,06	12	13	74	77 ± 7	84 ± 1	> 98
ACE	0,14	0,04	5	18	95	54	> 99	92 ± 2
PRO	0,23	0,10	3	7	99	90	> 99	> 99
CAR	0,28	0,02	3	29	> 99	34 ± 13	> 99	72 ± 12
LOR	0,23	0,02	3	35	> 99	35 ± 3	> 99	72 ± 7
IFO	0,26	0,02	3	46	99 ± 1	23 ± 2	> 99	53 ± 1
TAM	0,09	0,11	8	7	89 ± 5	> 93	> 93	> 93
DIC	0,24	0,20	3	3	> 99	> 98	> 99	> 98
IBU	0,24	0,02	3	30	> 99	36 ± 7	> 99	76 ± 1
PRA	0,24	0,05	3	11	> 99	78	> 99	98 ±
FEN	0,08	0,02	9	29	82 ± 12	79 ± 6	84 ± 8	90 ± 2

L'ensemble de ces résultats nous a conduits à l'analyse suivante :

- Les molécules du Groupe I sont principalement éliminées par les réactions faisant intervenir les radicaux du type hydroxyle, c'est-à-dire par « photolyse indirecte ». Ce type de réaction ne dépend pas de l'absorptivité des molécules mais est sensible à la présence de l'effluent qui peut jouer un rôle de piège de radicaux. L'exemple typique est le cas de l'ifosfamide. Dans cette catégorie de molécules, l'ibuprofène est connu pour être dégradé principalement par photolyse indirecte dans le milieu naturel. Ainsi, cette réaction est sensible à la présence d'isopropanol, un piège à radicaux (Packer *et al.*, 2003),
- Les molécules du Groupe III sont principalement éliminées par « photolyse directe », c'est-à-dire suite à une activation de la molécule par absorption de lumière (254 nm). Ce type de réaction n'est pas influencé par la présence de l'effluent. La photolyse du diclofénac est connue pour être directe et rapide dans le milieu naturel, par irradiation solaire (Buser *et al.*, 1998; Packer *et al.*, 2003) ou

sous irradiation UV (Andreozzi *et al.*, 2003). Les études antérieures sur le tamoxifène, le propranolol et la norfloxacine sont également en accord avec cette analyse (DellaGreca *et al.*, 2007; Leguene *et al.*, 2001; Liu & Williams, 2007). Des effets de matrice ont été étudiés pour le propranolol mais la photolyse directe prédomine (Andreozzi *et al.*, 2003; Lin & Reinhard, 2005). La photosensibilité des antibiotiques de la famille des fluoroquinolones est aussi bien connue. Leur photodégradation s'effectue principalement par photolyse directe et peut être facilitée par la présence de radicaux hydroxyles. Le pH joue un rôle primordial sur la photodégradation de ces molécules, un pH neutre favorisant leur présence sous leur forme ionisée plus sensible à la photolyse (Burhenne *et al.*, 1997; Fasani *et al.*, 1999a; Fasani *et al.*, 1999b; Matsumoto *et al.*, 1992),

- Les molécules du Groupe II sont éliminées par les deux types de réactions, ce qui explique l'effet limité de l'effluent. Les études menées sur la photolyse de l'amoxicilline ont montré que ce composé était éliminé principalement par photolyse indirecte en présence de radicaux hydroxyles (Trovó *et al.*, 2008) mais également par hydrolyse (perte de 20 %) (Andreozzi *et al.*, 2004). Aucune étude n'est reportée pour la pravastatine, cependant (Cermola *et al.*, 2006; Lam & Mabury, 2005) ont étudié la photodégradation d'un composé de la famille des statines de structure similaire, l'atorvastatine : ils ont montré que, sous irradiation lumineuse, l'atorvastatine agissait comme un auto-sensibilisateur capable de générer des oxygènes singulets.

L'effet de l'effluent se manifeste principalement comme un piègeur de radicaux. En revanche, l'absorption d'irradiation par l'effluent dite « effet écran », est insignifiante dans les conditions expérimentales utilisées. A 254 nm, la perte d'irradiation à 1 cm (profondeur du réacteur) ne dépasse pas 15 %.

Enfin, les résultats obtenus dans cette étude peuvent être extrapolés de manière qualitative en cas d'un traitement tertiaire d'effluent de STEP. Un classement des molécules étudiées selon leur aptitude à être éliminées par irradiation UV a été établi (Tableau IV-3).

Tableau IV-3 Classification des PPs selon leur difficulté à être éliminés dans l'effluent par photolyse UV (taux d'élimination à 20 sec d'irradiation avec lampe Hg basse pression 260 mJ cm⁻²)

Facile (≥ 80 %)	Moyennement facile (50-80 %)	Plus difficile (≤ 50 %)
Diclofénac Propranolol Tamoxifène	Norfloxacine Amoxicilline Acébutolol Pravastatine Fénofibrate	Ibuprofène Carbamazépine Ifosfamide Lorazépam

Les lampes « germicides » visant à la réduction de la concentration en micro-organismes sont utilisées pour la désinfection de l'eau potable. Ce sont des lampes UV basse pression du même type que celle utilisée dans nos expérimentations. Il nous a semblé pertinent de comparer les doses d'irradiation mises en œuvre au cours de la photolyse UV et celles couramment délivrées lors de la stérilisation de l'eau potable. Les doses d'irradiation employés pour la désinfection de l'eau sont de l'ordre de 30 – 40 mJ cm⁻² (USEPA, 2003). Nos tests ont été réalisés à des doses UV comprises entre 260 et 1560 mJ cm⁻² soit 10 à 50 fois supérieures à celles appliquées pour la désinfection. De plus, pour certaines molécules ces doses sont insuffisantes pour atteindre une élimination complète. En conséquence, le traitement UV appliqué lors de la potabilisation de l'eau apparaît insuffisant pour éliminer totalement des résidus de produits pharmaceutiques à des concentrations de l'ordre de 100 µg L⁻¹ comme le suggèrent les études reportées dans la littérature (Adams *et al.*, 2002; Canonica *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2007b).

IV.2 Adsorption sur charbon actif

Parallèlement aux tests de photolyse UV, nous avons étudié le potentiel de l'adsorption sur charbon actif pour éliminer les PPs. 12 molécules ont été testées avec un charbon actif commercial en poudre (PAC). Le charbon actif est connu pour son affinité pour les composés organiques et déjà largement utilisé dans le traitement de l'eau potable (élimination de micropolluants organiques), mais aussi dans le traitement d'effluents industriels.

Deux aspects sont à prendre compte pour un traitement par adsorption : la cinétique et l'équilibre d'adsorption. Dans le cas de l'élimination de micropolluants dans l'eau (ou dans l'effluent), la cinétique d'adsorption est souvent le paramètre déterminant. Un charbon actif en poudre a été choisi pour cette étude afin de favoriser la diffusion des molécules au sein des particules de charbon et d'assurer une bonne dispersion de ce dernier dans les solutions.

La capacité du PAC à adsorber les PP va dépendre de la dose de charbon actif mise en œuvre, du temps de contact, mais aussi de la structure moléculaire et des propriétés physico-chimiques du composé. D'une façon générale, les composés organiques ayant une masse moléculaire élevée et une faible solubilité dans l'eau sont mieux adsorbés. De plus, l'adsorption des micropolluants cibles peut être influencée par la présence d'autres composés organiques présents du fait du phénomène de compétition.

IV.2.1 Adsorption des PP en solution dans l'eau

Un charbon actif en poudre à base de noix de coco est ajouté dans la solution sous agitation à une concentration de 50 mg L^{-1} . Cette dose a été choisie en rapport avec les doses habituellement utilisée dans le traitement de l'eau potable et la concentration de travail. La concentration initiale des PP dans la solution est de $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. La Figure IV-6 montre l'évolution de la concentration (C/C_0) en fonction du temps de contact pour les 12 molécules testées.

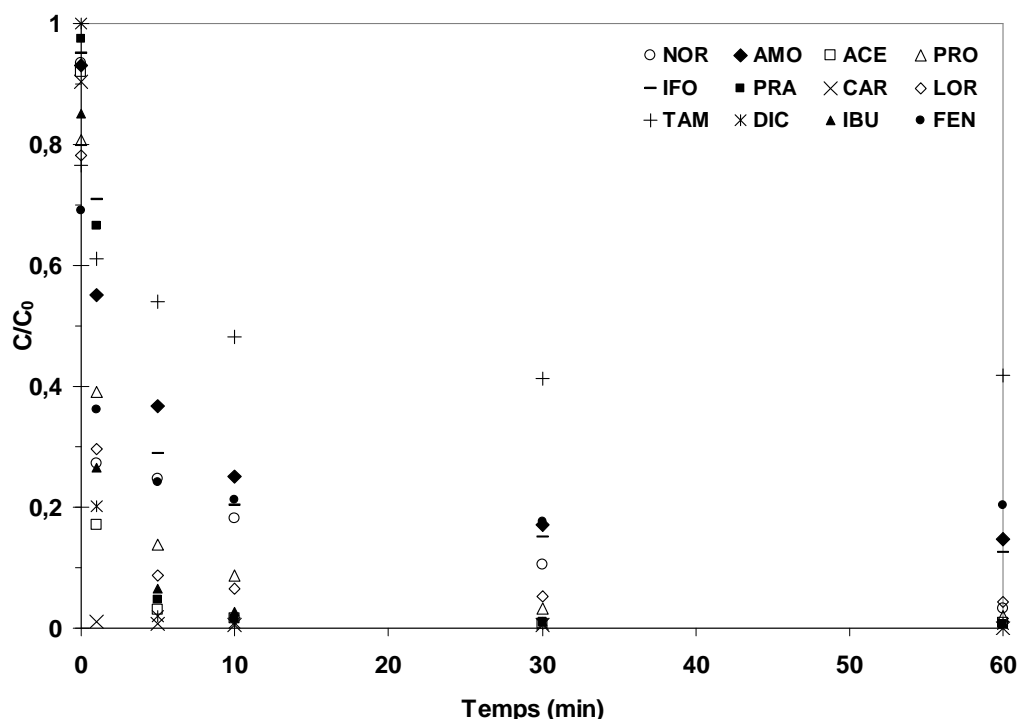


Figure IV-6 Cinétique d'adsorption sur charbon actif de 12 molécules pharmaceutiques (C_0 : concentration initiale ; C concentration en PP au temps t 0 à 60 min)

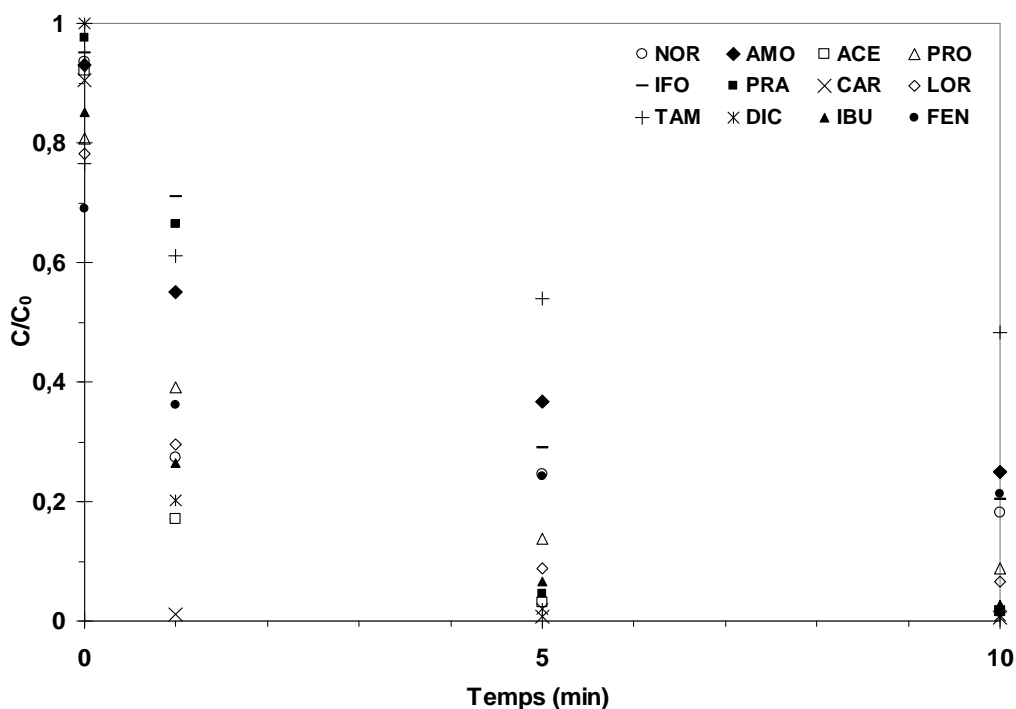


Figure IV-7 Cinétique d'adsorption sur charbon actif de 12 molécules pharmaceutiques (C_0 : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t 0 à 10 min)

Une cinétique rapide est observée pour l'ensemble des molécules et l'équilibre d'adsorption est quasiment atteint au bout de 10 minutes (Figure IV-7). La concentration résiduelle des PPs évolue peu entre 10 et 30 minutes. Le taux d'élimination à 30 minutes est supérieur à 90 % pour les trois quarts des molécules testées. Le tamoxifène (59 %), le fénofibrate (82 %), l'amoxicilline (83 %) et l'ifosfamide (85 %) sont les molécules les plus difficiles à éliminer. La bonne élimination de la carbamazépine et du diclofénac, est en accord, avec les données de la littérature (Beltran *et al.*, 2009; Ternes *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2008). Cependant en général, les capacités et affinités d'adsorption sont reportées plus élevées pour la carbamazépine que pour le diclofénac (Nowotny *et al.*, 2007; Westerhoff *et al.*, 2005). De même, une bonne élimination est observée pour l'ibuprofène comme reportée dans la littérature pour des concentrations supérieures au $\mu\text{g L}^{-1}$ (Janex-Habibi *et al.*, 2004; Mestre *et al.*, 2007). D'autres études montrent une certaine résistance de ce composé aux procédés d'adsorption avec des taux d'élimination $< 20\%$ pour des concentrations de l'ordre de la centaine de ng L^{-1} , à faible dose de charbon actif (5 mg L^{-1}) et pour un temps de contact de plusieurs heures (Snyder *et al.*, 2007; Westerhoff *et al.*, 2005) Cependant, les auteurs précisent qu'une dose plus élevée de charbon (35 mg L^{-1}) permet d'augmenter le taux d'élimination, ce que notre étude confirme.

Le pH a été mesuré en début et fin de chaque essai. Le pH initial est compris entre 5,5 et 7,5 selon les composés. Une légère acidification de la solution est observée au cours du test (pH final = 4 - 5) due au caractère acide du charbon actif utilisé.

IV.2.2 Adsorption des PPs en solution dans un effluent de STEP

Comme dans le cas de la photolyse UV, les expériences d'adsorption ont été réalisées avec des solutions de PPs préparées dans un effluent de STEP. Le pH de ces solutions est autour de 8 et reste stable après ajout du charbon actif et tout au long de l'expérience.

L'efficacité du charbon actif est, en général, réduite par la présence de la matière organique dans la matrice qui entre en compétition pour les sites de liaison et bloque l'accès aux pores à l'intérieur de la structure du charbon actif. L'effet de matrice de l'effluent est plus ou moins prononcé en fonction des composés.

Les résultats sont distingués en trois cas :

• Cas I : la matrice a un effet prononcé sur l'efficacité de traitement : les PPs concernés sont l'amoxicilline, l'ifosfamide et l'ibuprofène (Figure IV-8).

Une diminution significative de la cinétique d'adsorption et de la capacité d'adsorption à l'équilibre est observée. Parmi les trois composés concernés, l'amoxicilline et l'ifosfamide font partie des composés les moins bien adsorbés sur charbon actif.

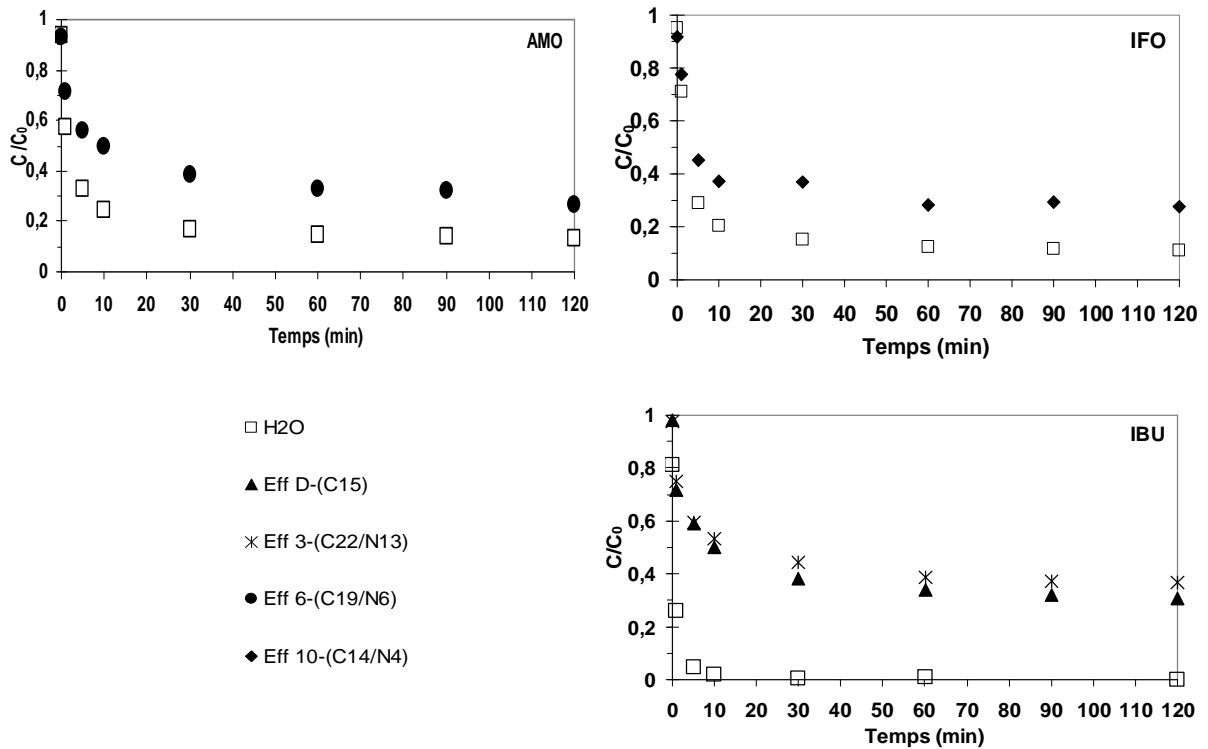


Figure IV-8 Effet de la matrice sur l'adsorption de l'amoxicilline, l'ifosfamide et l'ibuprofène (C_0 : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; C_x/N_y contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)

• Cas II : la matrice a un effet peu prononcé sur l'efficacité de traitement : sont concernés la norfloxacine, la pravastatine, la carbamazépine, le lorazépam et le diclofénac (Figure IV-9). Ces molécules sont d'une manière générale facilement adsorbées par le charbon actif. L'effet de l'effluent se traduit principalement par une diminution de la cinétique d'adsorption. La capacité d'adsorption à l'équilibre reste presque inchangée. Le taux d'élimination des PPs à l'équilibre (30 minutes environ) est supérieur à 90 %.

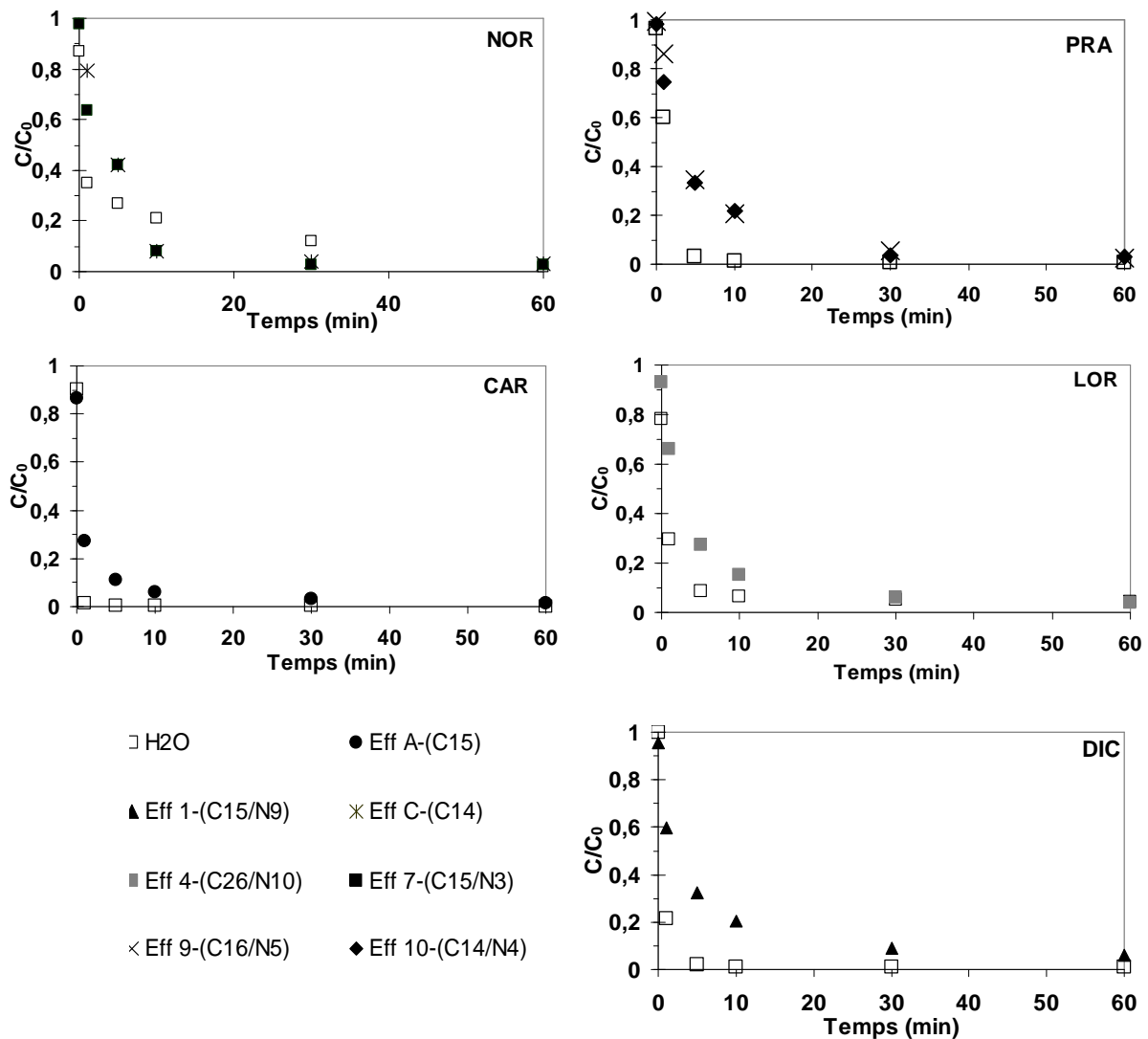


Figure IV-9 Effet de matrice sur l'adsorption de la norfloxacine, la pravastatine, la carbamazépine, le lorazépam et le diclofénac (C_0 : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; C_x/N_y contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)

- Cas III : l'effluent n'a pas d'effet significatif sur l'efficacité de traitement : l'acébutolol et le propranolol, sont dans cette catégorie (Figure IV-10). Ces molécules appartiennent à la même classe thérapeutique (β -bloquant) et possèdent un même substituant sur le cycle aromatique. Nowotny *et al.* ont montré que certains β -bloquants (aténolol) présentaient des affinités d'adsorption supérieures à celle de la matière organique vis-à-vis du charbon actif testé (Nowotny *et al.*, 2007), ce qui peut expliquer les taux d'élimination élevés obtenus pour le propranolol et l'acébutolol dans les conditions expérimentales testées.

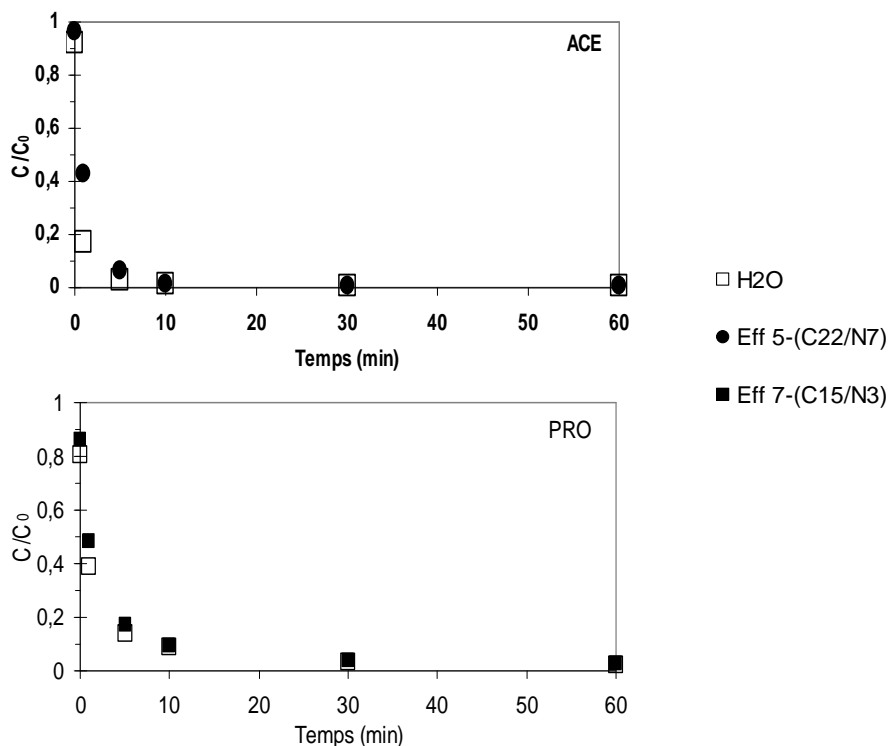


Figure IV-10 Effet de la matrice sur l'adsorption de l'acébutolol et du propranolol (C_0 : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; C_x/N_y contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)

Les résultats obtenus avec le tamoxifène et le fénofibrate qui montrent une meilleure élimination en présence d'effluent sont particuliers et difficilement explicables (Figure IV-11).

Un test blanc effectué avec le tamoxifène sans ajout de charbon actif montre que la concentration de cette molécule reste stable dans l'effluent comme dans l'eau, ce qui exclut une possible interaction entre cette molécule et les constituants de l'effluent.

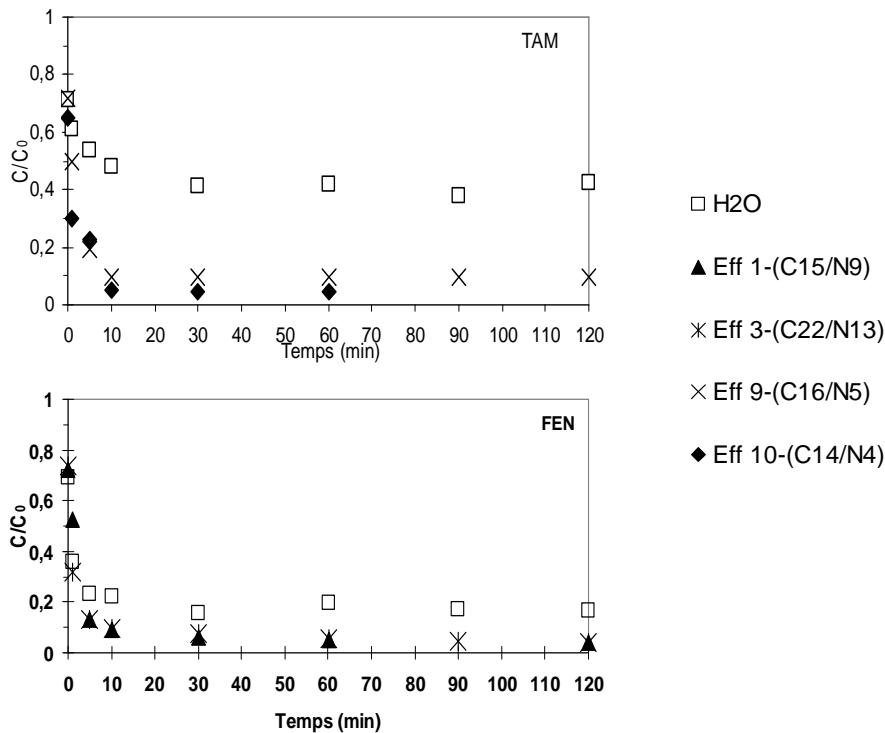


Figure 1V-11 Effet de la matrice sur l'adsorption du tamoxifène et du fénofibrate (C_0 : concentration initiale ; C concentration en PPs au temps t donné ; Cx/Ny contenu respectif en COT et nitrates dans les effluents)

Le coefficient de partage octanol/eau (K_{ow}) d'un composé, est souvent utilisé comme un indicateur de son affinité pour le charbon actif. Westerhoff *et al.* ont étudié l'adsorption sur charbon actif en poudre d'une cinquantaine de composés pharmaceutiques, perturbateurs endocriniens et produits d'hygiène personnelle (Westerhoff *et al.*, 2005). Pour une vingtaine d'entre eux, une relation linéaire entre le $\log K_{ow}$ et le pourcentage d'élimination par adsorption de ces composés a été mise en évidence dans les conditions expérimentales mises en œuvre (5 mg L⁻¹ de charbon actif, 4 heures de contact, eau naturelle). Celle-ci est modélisée par la relation :

$$\% \text{ élimination} = 0,15 \times \log K_{ow} + 0,27$$

$$(n=22, R^2 = 0,88)$$

Une élimination supérieure à 50 % est observée pour les composés dont le $\log K_{ow}$ est supérieur à 2. Des écarts par rapport à ce comportement sont observés pour les composés ionisables, en fonction du pH du milieu :

- Les composés acides, lorsqu'ils sont sous forme ionisée (chargés négativement) sont peu adsorbés : c'est le cas de l'ibuprofène, du gemfibrozil et du naproxène dont les pKa se situent autour de 5 et pour lesquels $\log K_{ow} > 2$,
- Les composés basiques, lorsqu'ils sont chargés positivement, sont mieux adsorbés que la moyenne : c'est le cas de l'acétaminophène (pKa = 9) et du triméthoprime (pKa = 7) pour lesquels $\log K_{ow} < 2$.

Les résultats de nos travaux peuvent être examinés à la lumière de cette étude. Les Figure IV-12 et Figure IV-13 situent les molécules étudiées par rapport à la droite modélisée par Westerhoff *et al* (2005), respectivement pour les tests dans l'eau (pH = 6,5) et dans l'effluent de STEP (pH = 8).

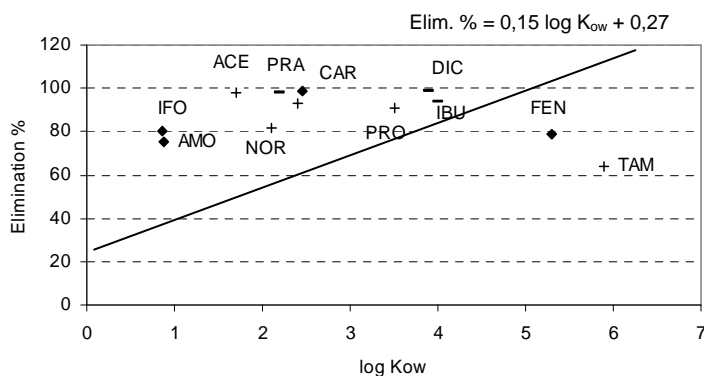


Figure IV-12 Relation entre le pourcentage d'élimination des PPs et leur log K_{ow} dans l'eau

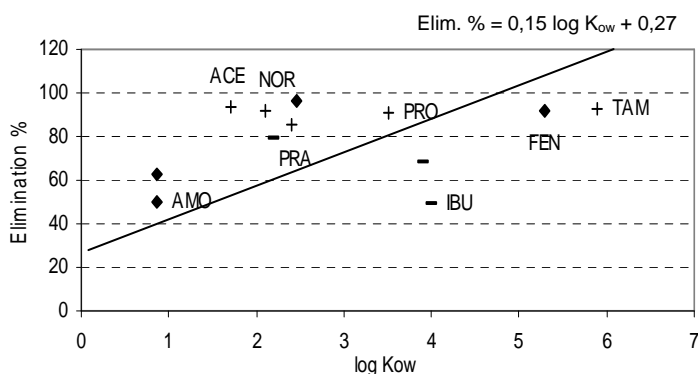


Figure IV-13 Relation entre le pourcentage d'élimination des PPs et leur log K_{ow} dans l'effluent

Dans l'effluent (pH = 8) l'élimination du diclofénac et de l'ibuprofène est moins bonne que dans l'eau. A ce pH, la forme ionisée des fonctions acide carboxylique du diclofénac (pKa ~ 4) et de l'ibuprofène (pKa ~ 5) est fortement prédominante ce qui défavorise l'adsorption de ces composés sur le charbon actif à caractère acide malgré un log K_{ow} élevé. Si l'on considère

le cas de l'amoxicilline, composé trifonctionnel (fonctions acide carboxylique, amine primaire et phénol) à pH 8, la fonction acide est fortement ionisée (charge négative) et la fonction amine l'est plus faiblement (charge positive), à pH 6, la charge positive est plus importante, ce qui favorise l'adsorption sur le charbon actif à caractère acide. L'acébutolol ($\log K_{ow} < 2$) possède une fonction amine secondaire ($pK_a = 9,2$) fortement ionisée (charge positive) aux pH de travail ce qui explique les bons rendements d'élimination ($> 80 \%$).

En termes de cinétique, les constantes de vitesse (k) de l'adsorption ont été déterminées sur la base d'une cinétique de pseudo ordre 1. Elles sont reportées dans le Tableau IV-4.

Tableau IV-4 Constante de vitesse (k), temps de demi-vie ($T_{1/2}$) et pourcentage d'élimination par adsorption des produits pharmaceutiques en solution dans l'eau et dans l'effluent à $T = 10$ et 60 min

PPs	Eau pure				Effluent STEP						
	k (min^{-1})	$T_{1/2}$ (min)	% d'élimination		k (min^{-1})	$T_{1/2}$ (min)	% d'élimination		COT_i	COT_f	$\Delta \text{ mg C / g charbon actif}$
			$T = 10$ min	$T = 30$ min			$T = 10$ min	$T = 30$ min			
AMO	0,12	6	75 ± 4	83 ± 5	12	12	50	62	19,9	15,9	80
NOR	0,12	6	82 ± 6	92 ± 7	3	3	92 ± 1	96 ± 1	16	13,3	54
ACE	0,36	2	> 98	> 98	3	3	94	> 98	20,2	16	84
PRO	0,21	3	91	97	3	3	91	96	14,1	12,6	30
CAR	0,35	2	> 99	> 99	3	3	96 ± 4	98 ± 2	20,2	16,2	80
LOR	0,23	3	93	95	4	4	85	94	27	23	78
IFO	0,15	4	80	85	8	8	63	72	11,4	8,9	50
TAM	0,04	20	52 ± 4	59 ± 4	3	3	> 93	> 93	15,7	10,9	96
DIC	0,43	2	> 99	> 99	7	7	68	80	17,5	13,6	78
IBU	0,32	2	94 ± 3	> 99	12	12	49 ± 3	59 ± 6	22,2	12,4	196
PRA	0,42	2	98 ± 2	> 99	4	4	79 ± 2	95 ± 2	10,9	9,2	35
FEN	0,10	7	79 ± 2	82 ± 3	3	3	92 ± 2	94 ± 3	9,6	7,7	38

L'effet de l'effluent sur l'adsorption des PPs résulte du phénomène de compétition entre les constituants de l'effluent et les composés pharmaceutiques. L'adsorption compétitive peut se faire en faveur des composés pharmaceutiques ou ceux présents dans la matrice organique de l'effluent selon leur affinité avec le charbon actif employé, ce qui se traduit par un effet plus ou moins marqué au niveau de la cinétique d'adsorption et de la capacité d'adsorption.

Les molécules testées présentent globalement une bonne affinité avec le charbon actif. La plupart d'entre elles possèdent des groupements de type amide et amine qui devraient

favoriser l'adsorption de ces molécules sur les sites à caractère acide du charbon actif. Ceci explique l'effet limité de l'effluent malgré une différence de concentration d'un rapport de 100 entre la matrice organique de l'effluent et les composés pharmaceutiques. L'effet de l'effluent se limite, pour la majorité des composés testés, à la cinétique d'adsorption. Il est raisonnable de penser qu'une partie des sites d'adsorption facilement accessibles (à l'extérieur des grains de charbon) soient occupés par la matrice organique de l'effluent. Les composés pharmaceutiques doivent, par conséquent, diffuser vers l'intérieur des grains de charbon et il est connu que le processus de diffusion est cinétiquement plus lent.

L'adsorption de l'ibuprofène est la plus fortement affectée par la présence de l'effluent, probablement parce que cette molécule a une structure typique d'acide organique. Or, des substances de type acide organique sont susceptibles d'être présentes abondamment dans l'effluent de STEP, qui est issu d'un procédé d'oxydation par aérobie, et le phénomène d'adsorption compétitive entre les molécules de la même famille est plus prononcé.

Du fait de l'adsorption sur le charbon actif, la charge organique de l'effluent est réduite de l'ordre de 20 % pour des teneurs initiales en COT entre 15 et 20 mg L⁻¹. Ceci se traduit également par une diminution de l'absorbance de spectre UV de l'effluent. Alors, la capacité d'adsorption du charbon actif à l'équilibre est de l'ordre de 40-80 mg.g⁻¹ et varie légèrement en fonction de la teneur en COT de l'effluent. Ce résultat est en accord avec les données de Cheng *et al.* qui rapportent des capacités d'adsorption comprises entre 30 et 60 mg de carbone organique dissous par g de charbon actif granulaire (Cheng *et al.*, 2005).

Le taux d'élimination après 30 minutes de mise en contact est supérieur à 90 % pour les trois quarts des 12 composés testés et atteint 60 % pour les plus récalcitrants. Ces résultats peuvent être raisonnablement extrapolés aux conditions d'un traitement tertiaire d'effluent.

IV.3 Application à un effluent réel

L'efficacité de la photolyse UV et de l'adsorption sur charbon actif pour l'élimination de produits pharmaceutiques a été évaluée sur un effluent non dopé de STEP. Du fait de la faible concentration des PPs, une étape de pré-concentration par SPE a été nécessaire pour l'analyse des échantillons. Les concentrations des PPs détectés sont données dans le Tableau IV-5. La carbamazépine, le diclofénac, le propranolol et la ciprofloxacine sont les composés majoritaires (concentration supérieure à 100 ng L⁻¹). Les concentrations de tamoxifène, et

d'ifosfamide et de pravastatine sont inférieures aux limites de détection. La charge organique de l'effluent (COT) est de 12 mg L⁻¹. Les expériences de photolyse UV et d'adsorption sur charbon actif ont été dupliquées. Une bonne reproductibilité a été obtenue.

Les résultats des traitements par photolyse UV (20 et 120 s d'irradiation) et adsorption sur charbon actif (10 et 50 mg) sont présentés respectivement dans les Figure IV-14 et Figure IV-15.

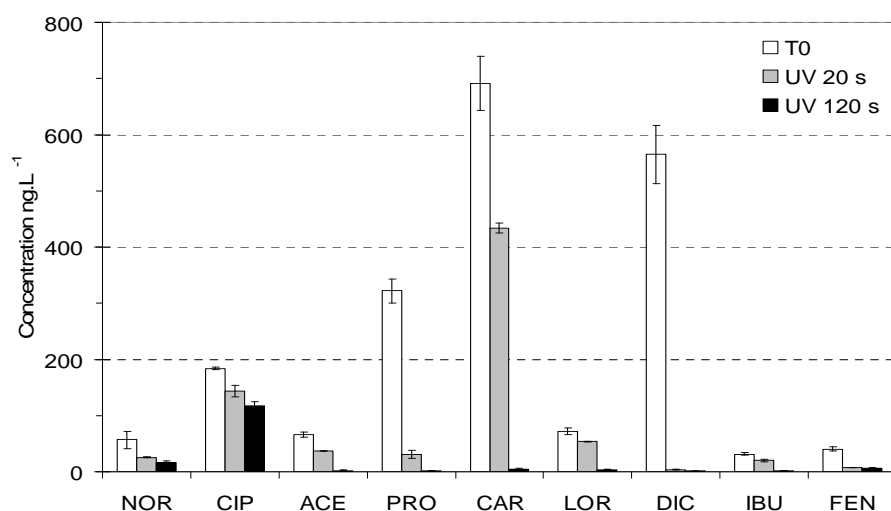


Figure IV-14 Concentration en produits pharmaceutiques dans l'effluent avant (n=3) et après irradiation UV (n=2)

En ce qui concerne la photolyse UV, le propranolol, le diclofénac et le fénofibrate sont éliminés à plus de 80 % après 20 secondes d'irradiation. Pour l'acébutolol, la carbamazépine, le lorazépam et l'ibuprofène, il faut prolonger le temps d'irradiation pour obtenir un taux d'élimination satisfaisant. La norfloxacine et la ciprofloxacine sont les molécules les plus résistantes à l'irradiation UV.

Concernant les essais d'adsorption une dose de 10 mg L⁻¹ de charbon actif ne permet pas d'obtenir un taux d'élimination satisfaisant (autour de 20 % pour la majorité des composés, Figure IV-15). Avec 50 mg L⁻¹, les taux d'élimination des composés aux concentrations en sortie de STEP sont très proches de ceux obtenus avec les solutions synthétiques à 100 µg L⁻¹ pour les mêmes composés.

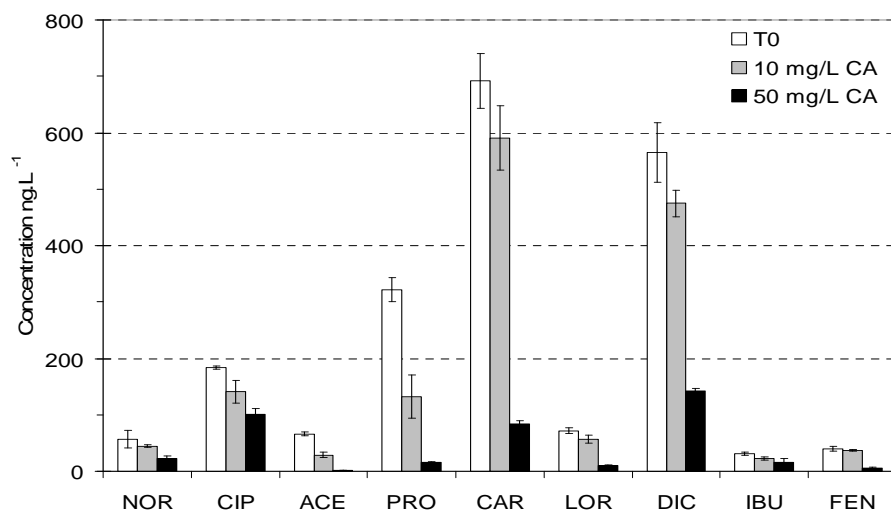


Figure IV-15 Concentration en produits pharmaceutiques dans l'échantillon d'effluent de contrôle et dans les échantillons traités par adsorption sur charbon actif.

Ainsi, pour l'acébutolol, le propranolol, la carbamazépine, le lorazépam, le diclofénac et le fénofibrate, le taux d'élimination se situe entre 75 et 95 % après 10 minutes de mise en contact. L'ibuprofène reste le composé le plus difficile à éliminer par adsorption avec un taux d'élimination de 50 %. La norfloxacine et la ciprofloxacine présentent également un taux d'élimination faible (50-60 %)

Le Tableau IV-5 donne une vue d'ensemble des résultats obtenus qui confirment globalement les tendances observées lors des essais avec les solutions synthétiques.

Tableau IV-5 Pourcentage d'élimination des PPs dans un effluent réel par photolyse UV et adsorption sur charbon actif

Concentration initiale dans l'effluent ng L ⁻¹ (n=3)		Elimination %				
		Obscurité	UV		CA 10 min	
			20 s (n=2)	120 s (n=4)	10 mg L ⁻¹ (n=2)	50 mg L ⁻¹ (n=2)
NOR	57 ± 15	7	55 ± 1	71 ± 12	21 ± 1	59 ± 11
CIP	184 ± 3	∅	22 ± 2	36 ± 2	24 ± 3	45 ± 4
ACE	66 ± 4	8	44 ± 1	> 98	56 ± 9	>98
PRO	322 ± 21	∅	91 ± 21	> 99	59 ± 17	95 ± 2
CAR	692 ± 48	∅	37 ± 1	99 ± 31	15 ± 1	88 ± 6
LOR	72 ± 5	∅	25 ± 1	> 95	21 ± 3	86 ± 9
DIC	565 ± 52	7	99 ± 15	> 99	16 ± 1	75 ± 2
IBU	31 ± 3	2	36 ± 4	95 ± 14	27 ± 2	49 ± 11
FEN	40 ± 4	∅	80 ± 2	> 84	7 ± 1	> 90

En conclusion, la photolyse UV et l'adsorption sur charbon actif sont des moyens efficaces pour éliminer les produits pharmaceutiques présents dans un effluent urbain traité par un procédé biologique à boues activées. Les conclusions de cette étude, réalisée dans des conditions proches de celles en sortie de station d'épuration, peuvent être raisonnablement extrapolées dans le cas d'un traitement complémentaire d'effluent. Il est évident que les paramètres de fonctionnement d'un tel traitement sont à optimiser par rapport aux conditions de mise en œuvre utilisées dans cette étude, ainsi que la conception de l'installation.

CONCLUSION

GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Les travaux menés au cours de cette thèse ont porté, d'une part, sur la présence et l'impact environnemental de douze molécules pharmaceutiques représentatives des principales classes thérapeutiques et choisies parmi les plus consommées au niveau national et, d'autre part sur les possibilités d'éliminer les résidus de ces médicaments dans les eaux naturelles par traitement tertiaire. Ils s'inscrivent dans une perspective de gestion environnementale intégrée des produits pharmaceutiques.

Concernant l'occurrence des produits pharmaceutiques étudiés, l'accent a été mis sur une analyse globale intégrant les données de consommation, de transformation par métabolisme, d'élimination dans les STEP s et de concentration dans le milieu récepteur. L'approche adoptée dans cette étude est simple et a consisté à établir un bilan matière des composés étudiés à l'aide des données analytiques et des paramètres de transformation disponibles dans la littérature. La cohérence de l'ensemble de ces données, démontrée dans ces travaux, permet de valider ou confirmer l'approche à adopter sur la question de la présence des PPs à différentes stades du cycle de l'eau. Jusqu'à présent, les études dans ce domaine ont été souvent réalisées de façon segmentée, portant soit sur les seules données de concentration dans le milieu récepteur, soit sur les données de consommation ou de transformation.

De façon plus spécifique, les résultats obtenus permettent de classer les 12 molécules cibles en trois catégories :

- Les molécules très consommées et faiblement éliminées dans les STEP s : le propranolol, le diclofénac, la carbamazépine et le fénofibrate font partie de cette catégorie. Les trois premières molécules sont systématiquement présentes dans les effluents des STEP s à des concentrations allant de 300 à 1000 ng L⁻¹. Les teneurs en fénofibrate mesurées sont plus faibles car le fénofibrate est essentiellement métabolisé en acide fénofibrique. Ce niveau de concentration est comparable aux concentrations mesurées dans les effluents des STEP s des régions Rhône-Alpes, Ile de France et Haute-Normandie. La comparaison avec les concentrations mesurées dans le milieu récepteur montre que le facteur de dilution est de 3 pour un cours d'eau tel que le

Gardon en période estivale, ce qui est très loin du facteur 10 généralement utilisé pour l'estimation des concentrations dans le milieu récepteur. Toutefois, les valeurs de concentration prédites à partir des données de consommation (PEC_{Eff}) sont globalement cohérentes avec les résultats analytiques des prélèvements effectués à la sortie des STEP s et dans le milieu récepteur. Par ailleurs, en examinant la concentration de ces composés dans les effluents des différentes STEP s étudiées, il semble que le traitement par bioréacteur à membrane (STEP de Grasse) n'apporte pas une amélioration sensible pour l'élimination de ces molécules ;

- Les molécules très consommées mais bien éliminées dans les STEP s : cette catégorie comprend, parmi les molécules étudiées, l'ibuprofène, l'acébutolol, la pravastatine et les deux fluoroquinolones (norfloxacin e et ciprofloxacine). Leur concentration dans les effluents de STEP s ne dépasse pas la centaine de $ng L^{-1}$. Ce résultat est comparable avec les mesurées effectuées dans des STEP s des régions Rhône-Alpes et Ile de France. Etant donné que l'ibuprofène est le médicament le plus consommé en France, et que par ailleurs il est très bien éliminé par le traitement à boues activées, le fait que sa concentration dans l'effluent soit anormalement élevée peut révéler un dysfonctionnement de la station (STEP de Nice) ou une faiblesse du système de traitement (STEP de Vézénobres) ;
- Les deux anticancéreux, ifosfamide et tamoxifène, et le lorazépam, un anxiolytique sont des molécules peu consommées mais présentant un potentiel de risque important. Ces médicaments ont été rarement recherchés jusqu'à présent. Notre étude confirme la présence de ces composés dans les effluents de certaines STEP s à des concentrations allant jusqu'à $50 ng L^{-1}$, sachant que l'ifosfamide n'est utilisé qu'en milieu hospitalier.

Il est également à noter que du fait du faible débit des rivières gardoises, notamment pour la période estivale, le niveau de concentration mesuré est, pour la majorité des composés étudiés, supérieur à celui observé dans les autres régions de France. Il dépasse $100 ng L^{-1}$ pour les composés les plus récalcitrants tels que la carbamazépine, le diclofénac, le propranolol ou encore l'ibuprofène.

Le deuxième axe de ce travail est consacré à l'étude des possibilités d'élimination des produits pharmaceutiques avant rejet dans le milieu naturel. Cette option, qui n'a quasiment

pas été exploitée jusqu'à présent, est la seule alternative pour améliorer la qualité de l'eau dans l'environnement. La photolyse UV et l'adsorption sur charbon actif ont été étudiées en tant que techniques de traitement tertiaire. Chacune présente des avantages et des limites. La photolyse UV permet d'éliminer simultanément les micropolluants et les bactéries mais la question des produits de dégradation subsiste. L'adsorption sur charbon actif ne conduit pas à la formation de produits de dégradation, est plus simple à mettre en œuvre, mais son efficacité se limite aux polluants organiques. Cette étude, réalisée dans des conditions proches de celles en sortie de station d'épuration, fournit de réels éléments de réflexion sur le potentiel des deux techniques comme traitement complémentaire d'effluents et sur la définition des conditions opératoires.

La photolyse UV par irradiation avec lampe Hg basse pression est efficace pour l'élimination de la majorité des 12 composés étudiés bien que le taux d'élimination pour un même temps d'irradiation varie en fonction des composés. L'ifosfamide est le composé le plus résistant. Suivant la structure et la réactivité des molécules, il est fort probable que le diclofénac, le propranolol, le tamoxifène, la norfloxacine et le fénofibrate soient éliminés principalement par photolyse directe, l'ibuprofène, la carbamazépine, le lorazépam et l'acébutolol par photolyse indirecte et que l'élimination de l'amoxicilline et de la pravastatine fasse intervenir les deux phénomènes. Par conséquent, l'approche classique, s'appuyant uniquement sur la photolyse directe (prédiction de la réactivité des molécules sur la base du spectre UV), ne s'applique pas au cas de l'irradiation par la lampe Hg basse pression. La cinétique d'élimination des composés par photolyse indirecte est fortement influencée par les substances présentes dans l'effluent de STEP qui jouent vraisemblablement un rôle de piègeur de radicaux (de type hydroxyle). Ceci n'est évidemment pas le cas pour la photolyse directe. En revanche, il faut souligner que dans cette étude, l'efficacité de la photolyse UV est évaluée par la transformation des composés d'origine sans tenir compte de la formation possible de sous-produits par oxydation partielle des composés parents. Ces produits d'oxydation de masse moléculaire plus faible devraient être plus facilement assimilables par le milieu naturel.

L'adsorption sur charbon actif en poudre montre également une grande efficacité pour l'élimination de la majorité des 12 composés étudiés bien que la cinétique et la capacité d'adsorption varient en fonction des composés. Beaucoup d'entre eux se trouvent à l'état ionisé dans les conditions expérimentales utilisées (pH 6 et 8). Par conséquent, le coefficient de partage octanol/eau, mesuré ou calculé pour les composés non ionisés, ne permet pas

d'expliquer les résultats de cette étude. Les composés neutres non ionisables tels que la carbamazépine, le fénofibrate et le tamoxifène sont facilement adsorbables sur le charbon actif. Les composés ayant une fonction d'amine, tels que l'acébutolol voire le propranolol, étant positivement chargés voient leur adsorption favorisée par l'interaction électrostatique avec certains sites négativement chargés (sites acides) du charbon actif. Les composés acides, par conséquent négativement chargés, tels que l'ibuprofène et le diclofénac, sont plus difficiles à adsorber. L'adsorption de ce type de molécule est fortement influencée par la matrice organique de l'effluent du fait de la compétition entre les différents adsorbats. Ce phénomène est d'autant plus important que les propriétés physico-chimiques des composés impliqués sont similaires, ce qui est vraisemblablement le cas pour les composés pharmaceutiques acides et les différents acides organiques présents majoritairement dans les effluents de STEP. Le phénomène d'adsorption compétitive a été observé pour la majorité des composés étudiés notamment au niveau de la cinétique mais également au niveau de la capacité d'adsorption dans certains cas. A la différence de la photolyse, l'adsorption sur le charbon actif permet une élimination complète des produits pharmaceutiques par leur transfert sur la phase solide, et permet également de réduire, dans une certaine mesure, la charge organique de l'effluent.

L'effet de l'effluent sur l'efficacité du traitement et la complexité du phénomène démontrés dans cette étude nous incitent à une grande prudence quant à l'extrapolation des résultats obtenus avec des solutions dans l'eau pure et ce aussi bien pour la photolyse UV que pour l'adsorption sur charbon actif.

L'estimation du risque environnemental réalisé dans cette étude a attiré l'attention sur 3 molécules pharmaceutiques, le propranolol, l'ibuprofène et le diclofénac. Cette étude montre que parmi celles-ci, seul l'ibuprofène n'est pas facilement éliminé par photolyse et adsorption sur charbon actif. De même, le traitement tertiaire par lagunage sur le site du Grau du Roi s'est avéré très efficace pour le propranolol et le diclofénac mais montre des limites pour l'ibuprofène.

Actuellement, les produits pharmaceutiques ne figurent pas dans la liste des polluants prioritaires au niveau de la législation européenne, mais leur présence dans l'eau contribue à la dégradation progressive de l'environnement et suscite de plus en plus d'interrogations auprès des pouvoirs publics et de la société. Une évolution de la législation sera de nature à

confirmer l'intérêt des études actuelles et nécessaire pour que des actions de correction soient mises en place. En d'autres termes, le challenge sur la question des produits pharmaceutiques se situe d'abord au niveau politique puis au niveau scientifique.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Abuin, S., Codony, R., Compano, R., Granados, M. & Prat, M. D. (2006).** Analysis of macrolide antibiotics in river water by solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1114**, 73-81.
- Adams, C., Wang, Y., Loftin, K. & Meyer, M. T. (2002).** Removal of antibiotics from surface and distilled water in conventional water treatment processes. *J Environ Eng* **128**, 253-260
- AFNOR (1999).** Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (essais de bactéries luminescentes) - Partie 3 : Méthode utilisant des bactéries lyophilisées.
- Aherne, G. W., English, J. & Marks, V. (1985).** The role of immunoassay in the analysis of microcontaminants in water samples. *Ecotoxicol Environ Saf* **9**, 79-83.
- Ahrer, W., Scherwenk, E. & Buchberger, W. (2001).** Determination of drug residues in water by the combination of liquid chromatography or capillary electrophoresis with electrospray mass spectrometry. *J Chromatogr A* **910**, 69-78.
- Alexy, R., Kumpel, T. & Kummerer, K. (2004a).** Assessment of degradation of 18 antibiotics in the Closed Bottle Test. *Chemosphere* **57**, 505-512.
- Alexy, R., Scholl, A., Kumpel, T. & Kummerer, K. (2004b).** What Do We Know about Antibiotics in the Environment? In *Pharmaceuticals in the Environment*, Second edn, pp. 209-221. Edited by K. Kummerer. Berlin: Springer-Verlag.
- Andersen, H. R., Wollenberger, L., Halling-Sorensen, B. & Kusk, K. O. (2001).** Development of copepod nauplii to copepodites--a parameter for chronic toxicity including endocrine disruption. *Environ Toxicol Chem* **20**, 2821-2829.
- Ando, T., Nagase, H., Eguchi, K., Hirooka, T., Nakamura, T., Miyamoto, K. & Hirata, K. (2007).** A novel method using cyanobacteria for ecotoxicity test of veterinary antimicrobial agents. *Environ Toxicol Chem* **26**, 601-606.
- Andreozzi, R., Canterino, M., Marotta, R. & Paxeus, N. (2005).** Antibiotic removal from wastewaters: the ozonation of amoxicillin. *J Hazard Mater* **122**, 243-250.
- Andreozzi, R., Caprio, V., Ciniglia, C., de Champdore, M., Lo Giudice, R., Marotta, R. & Zuccato, E. (2004).** Antibiotics in the environment: occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin. *Environ Sci Technol* **38**, 6832-6838.
- Andreozzi, R., Caprio, V., Insola, A. & Marotta, R. (1999).** Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catal Today* **53**, 51-59.
- Andreozzi, R., Marotta, R. & Paxéus, N. (2003).** Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* **50**, 1319-1330.
- Andreozzi, R., Marotta, R., Pinto, G. & Pollio, A. (2002).** Carbamazepine in water: persistence in the environment, ozonation treatment and preliminary assessment on algal toxicity. *Water Res* **36**, 2869-2877.
- Arnold, W. A. & McNeill, K. (2007).** Transformation of pharmaceuticals in the environment: Photolysis and other abiotic processes. In *Analysis, Fate and Removal of Pharmaceuticals in the Water Cycle*, First edn, pp. 361-385. Edited by M. Petrovic & D. Barcelo. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Ashton, D., Hilton, M. & Thomas, K. V. (2004).** Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci Total Environ* **333**, 167-184.

- Ayele, J., Fabre, B. & Mazet, M. (1993).** Influence of the origin and nature of humic substances on atrazine adsorption onto powdered activated carbon. *Rev Sci Eau* **6**, 381-381.
- Backhaus, T. & Grimme, L. H. (1999).** The toxicity of antibiotic agents to the luminescent bacterium *Vibrio fischeri*. *Chemosphere* **38**, 3291-3301.
- Bansal, R. C. & Goyal, M. (2005).** Activated Carbon Adsorption, 520 p.: CRC Press.
- Barcelo, D. & Petrovic, M. (2007).** Challenges and achievements of LC-MS in environmental analysis: 25 years on. *Trends Anal Chem* **26**, 2-11.
- Barcelo, D., Petrovic, M., Lopez de Alda, M. & Hernando, M. D. (2005).** Recent advances in LC-MS/MS analysis of emerging contaminants in environmental samples. In *10th International Symposium New Achievements in Chromatography*. Opatija, Croatia: IIQAB-CSIC, Departament of Environmental Chemistry, Barcelona, Spain.
- Barnes, K. K., Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Zaugg, S. D., Meyer, M. T. & Barber, L. B. (2008).** A national reconnaissance of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States--I) groundwater. *Sci Total Environ* **402**, 192-200.
- Batt, A. L. & Aga, D. S. (2005).** Simultaneous analysis of multiple classes of antibiotics by ion trap LC/MS/MS for assessing surface water and groundwater contamination. *Anal Chem* **77**, 2940-2947.
- Batt, A. L., Kim, S. & Aga, D. S. (2007).** Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations. *Chemosphere* **68**, 428-435.
- Batt, A. L., Kostich, M. S. & Lazorchak, J. M. (2008).** Analysis of ecologically relevant pharmaceuticals in wastewater and surface water using selective solid-phase extraction and UPLC-MS/MS. *Anal Chem* **80**, 5021-5030.
- Baumgarten, S., Schroder, H. F., Charwath, C., Lange, M., Beier, S. & Pinnekamp, J. (2007).** Evaluation of advanced treatment technologies for the elimination of pharmaceutical compounds. *Water Sci Technol* **56**, 1-8.
- Beausse, J. (2004).** Selected drugs in solid matrices : A review of environmental occurrence, determination and properties of principal substances. *Trends Anal Chem* **23**, 753-761.
- Belden, J. B., Maul, J. D. & Lydy, M. J. (2007).** Partitioning and photodegradation of ciprofloxacin in aqueous systems in the presence of organic matter. *Chemosphere* **66**, 1390-1395.
- Beltran, F. J., Pocostales, P., Alvarez, P. & Oropesa, A. (2009).** Diclofenac removal from water with ozone and activated carbon. *J Hazard Mater* **163**, 768-776.
- Benito-Pena, E., Partal-Rodera, A. I., Leon-Gonzalez, M. E. & Moreno-Bondi, M. C. (2006).** Evaluation of mixed mode solid phase extraction cartridges for the preconcentration of beta-lactam antibiotics in wastewater using liquid chromatography with UV-DAD detection *Anal Chim Acta* **556**, 415-422.
- Besse, J.-P. & Garric, J. (2007).** Médicaments à usage humain: risque d'exposition et effets sur les milieux récepteurs. Proposition d'une liste de médicaments à usage humain à surveiller dans les eaux de surface continentales, 238 p. Lyon: Agence de l'Eau R.M.C.
- Besse, J. P., Kausch-Barreto, C. & Garric, J. (2008).** Exposure assessment of pharmaceuticals and their metabolites in the aquatic environment. Application to the French situation and preliminary prioritization. *Hum Ecol Risk Assess* **14**, 665-695.
- Bones, J., Nesterenko, P., Thomas, K. & Paull, B. (2006a).** Dual gradient LC method for the determination of pharmaceutical residues in environmental samples using a monolithic silica reversed phase column *Int J Environ An Ch* **86**, 487-504.

- Bones, J., Thomas, K., Nesterenko, P. N. & Paull, B. (2006b).** On-line preconcentration of pharmaceutical residues from large volume water samples using short reversed-phase monolithic cartridges coupled to LC-UV-ESI-MS. *Talanta* **70**, 1117–1128.
- Boreen, A. L., Arnold, W. A. & McNeill, K. (2003).** Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment: A review. *Aquat Sci* **65** 320-341.
- Bouchoux, G. & Sablier, M. (2005).** Spectrométrie de masse. Principes et appareillage. *Techniques de l'Ingénieur P2* **645**, 1-32.
- Bound, J. P. & Voulvoulis, N. (2004).** Pharmaceuticals in the aquatic environment--a comparison of risk assessment strategies. *Chemosphere* **56**, 1143-1155.
- Boxall, A. B. (2008).** Ecotoxicology of pharmaceuticals: making sense of the published literature. In *Projet Européen KNAPPE, Deliverable D41*, 20 p. European Commission, 6th Framework Program.
- Brain, R. A., Johnson, D. J., Richards, S. M., Sanderson, H., Sibley, P. K. & Solomon, K. R. (2004).** Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. *Environ Toxicol Chem* **23**, 371-382.
- Brain, R. A., Reitsma, T. S., Lissemore, L. I., Bestari, K., Sibley, P. K. & Solomon, K. R. (2006).** Herbicidal effects of statin pharmaceuticals in *Lemna gibba*. *Environ Sci Technol* **40**, 5116-5123.
- Branchereau, V., Fauchon, N. & Thibert, S. (2006).** Perturbateurs endocriniens et résidus médicamenteux dans les rivières d'Ile-de-France. *TSM* **12**, 69-79.
- Briot, M. (2006).** Rapport sur le bon usage des médicaments psychotropes, 500 p. Office parlementaire d'évaluation des politiques de santé, Paris, France.
- Bruchet, A., Hochereau, C., Picard, C., Decottignies, V., Rodrigues, J. M. & Janex-Habibi, M. L. (2005).** Analysis of drugs and personal care products in French source and drinking waters: the analytical challenge and examples of application. *Water Sci Technol* **52**, 53-61.
- Brun, G. L., Bernier, M., Losier, R., Doe, K., Jackman, P. & Lee, H. B. (2006).** Pharmaceutically active compounds in atlantic canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters, and potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity. *Environ Toxicol Chem* **25**, 2163-2176.
- Buchberger, W. W. (2007).** Novel analytical procedures for screening of drug residues in water, waste water, sediment and sludge. *Anal Chim Acta* **593**, 129-139.
- Budzinski, H. & Togola, A. (2006).** Présence de résidus de médicaments dans les différents compartiments du milieu aquatique. *ERS* **5**, 248-253.
- Buerge, I. J., Buser, H. R., Poiger, T. & Muller, M. D. (2006).** Occurrence and fate of the cytostatic drugs cyclophosphamide and ifosfamide in wastewater and surface waters. *Environ Sci Technol* **40**, 7242-7250.
- Buntner, D., Zabczynski, S. & Miksch, K. (2008).** Report of the limitations of conventional treatment processes of the most resistant PPs and new development. In *Projet Européen KNAPPE, Deliverable D21*, 70 p. European Commission, 6th Framework Program.
- Burhenne, J., Ludwig, M. & Spiteller, M. (1997).** Photolytic degradation of fluoroquinolone carboxylic acids in aqueous solution : Part I: Primary photoproducts and half-lives & Part II: Isolation and structural elucidation of polar photometabolites *Environ Sci Pollut Res Int* **4**, 10-15; 61-67.
- Burrows, H. D., Canle, L. M., Santaballa, J. A. & Steenken, S. (2002).** Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. *J Photochem Photobiol B* **67**, 71-108.

- Buser, H.-R., Poiger, T. & Müller, M. D. (1998).** Occurrence and Fate of the Pharmaceutical Drug Diclofenac in Surface Waters : Rapid Photodegradation in a Lake *Environ Sci Technol* **32**, 3449-3456.
- Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R. & Fanelli, R. (2003).** Strategic Survey of Therapeutic Drugs in the Rivers Po and Lambro in Northern Italy. *Environ Sci Technol* **37**, 1241-1248.
- Caminada, D., Escher, C. & Fent, K. (2006).** Cytotoxicity of pharmaceuticals found in aquatic systems: comparison of PLHC-1 and RTG-2 fish cell lines. *Aquat Toxicol* **79**, 114-123.
- Canonica, S., Meunier, L. & von Gunten, U. (2008).** Phototransformation of selected pharmaceuticals during UV treatment of drinking water. *Water Res* **42**, 121-128.
- Cardoza, L. A., Knapp, C. W., Larive, C. K., Belden, J. B., Lydy, M. & Graham, D. W. (2005).** Factors affecting the fate of ciprofloxacin in aquatic field systems. *Water Air Soil Poll* **161**, 383-398.
- Carlsson, C., Johansson, A. K., Alvan, G., Bergman, K. & Kuhler, T. (2006).** Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Sci Total Environ* **364**, 67-87.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Calamari, D., Fanelli, R. & Zuccato, E. (2005).** A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. *J Chromatogr A* **1092**, 206-215.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D. & Zuccato, E. (2006).** Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environ Sci Technol* **40**, 357-363.
- Cermola, M., DellaGreca, M., Iesce, M. R., Montanaro, S., Previtera, L. & Temussi, F. (2006).** Photochemical behavior of the drug atorvastatin in water. *Tetrahedron* **62** 7390-7395.
- Cha, J. M., Yang, S. & Carlson, K. H. (2006).** Trace determination of beta-lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1115**, 46-57.
- Chen, H. C., Wang, P. L. & Ding, W. H. (2008a).** Using liquid chromatography-ion trap mass spectrometry to determine pharmaceutical residues in Taiwanese rivers and wastewaters. *Chemosphere* **72**, 863-869.
- Chen, Y., Hu, C., Qu, J. H. & Yang, M. (2008b).** Photodegradation of tetracycline and formation of reactive oxygen species in aqueous tetracycline solution under simulated sunlight irradiation. *J Photoch Photobio A* **197**, 81-87.
- Cheng, W., Dastgheib, S. A. & Karanfil, T. (2005).** Adsorption of dissolved natural organic matter by modified activated carbons. *Water Res* **39**, 2281-2290.
- Chiron, S., Fernandez-Alba, A., Rodriguez, A. & Garcia-Calvo, E. (2000).** Pesticide chemical oxidation: state-of-the-art. *Water Res* **34**, 366-377.
- Chiron, S., Minero, C. & Vione, D. (2006).** Photodegradation processes of the antiepileptic drug carbamazepine, relevant to estuarine waters. *Environ Sci Technol* **40**, 5977-5983.
- Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N. & Kroiss, H. (2005).** Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Res* **39**, 4797-4807.
- Clara, M., Strenn, B. & Kreuzinger, N. (2004).** Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Res* **38**, 947-954.

- Cleuvers, M. (2003).** Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicol Lett* **142**, 185-194.
- Cleuvers, M. (2004).** Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicol Environ Saf* **59**, 309-315.
- CNAM (2006a).** L'Assurance Maladie renforce son programme d'action contre la consommation excessive de médicaments antiulcéreux. In *Point d'information mensuel 14 novembre 2006*. Paris, France: Caisse nationale de l'Assurance Maladie.
- CNAM (2006b).** Médicaments remboursables : analyse des principales évolutions de l'année 2005. In *Point d'information mensuel 6 juin 2006*. Paris, France: Caisse nationale de l'Assurance Maladie.
- CNAM (2007).** Consommation et dépenses de médicaments en Europe. In *Point d'information mensuel 19 octobre 2007*. Paris, France: Caisse nationale de l'Assurance Maladie.
- CNAM (2008).** Mieux utiliser les traitements anti-cholestérol : L'Assurance Maladie renforce son action pour favoriser le respect des recommandations sanitaires. In *Point d'information 5 juin 2008*. Paris, France: Caisse nationale de l'Assurance Maladie.
- Comoretto, L. & Chiron, S. (2005).** Comparing pharmaceutical and pesticide loads into a small Mediterranean river. *Sci Total Environ* **349**, 201-210.
- Conkle, J. L., White, J. R. & Metcalfe, C. D. (2008).** Reduction of pharmaceutically active compounds by a lagoon wetland wastewater treatment system in Southeast Louisiana. *Chemosphere* **73**, 1741-1748.
- Cooper, W. J., Zika, R. G., Petasne, R. G. & Fischer, A. M. (1989).** Sunlight-Induced Photochemistry of Humic Substances in Natural Waters: Major Reactive Species. In *Aquatic Humic Substances: Influence on Fate and Treatment of Pollutants*, pp. 333-362. Edited by I. H. Suffet & P. MacCarthy. American Chemical Society Division of Environmental Chemistry, International Humic Substances Society, American Chemical Society Meeting - Publié par American Chemical Society.
- CSTEE (2001).** Opinion on "Draft discussion paper on environmental risk assessment of non-genetically modified organism non-gmo; containing medicinal products for human use". 22 p. Edited by European Commission. Directorate-General Health and Consumer Protection. Brussels, Belgium.
- Czaplicka, M. (2006).** Photo-degradation of chlorophenols in the aqueous solution. *J Hazard Mater* **134**, 45-59.
- Dagnac, T., Bristeau, S., Coton, C., Leroy, C., Fleury, N. & Jeannot, R. (2005).** Analyse de polluants organiques et organométalliques dans l'environnement. Etude réalisée dans le cadre de la convention Région Centre et BRGM., 53 p. Orléans: BRGM.
- De Lange, H. J., Noordoven, W., Murk, A. J., Lurling, M. & Peeters, E. T. (2006).** Behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals. *Aquat Toxicol* **78**, 209-216.
- DellaGreca, M., Iesce, M. R., Isidori, M., Nardelli, A., Previtiera, L. & Rubino, M. (2007).** Phototransformation products of tamoxifen by sunlight in water. Toxicity of the drug and its derivatives on aquatic organisms. *Chemosphere* **67**, 1933-1939.
- Diaz-Cruz, M. S. & Barcelo, D. (2006).** Determination of antimicrobial residues and metabolites in the aquatic environment by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **386**, 973-985.
- Directive (65/65/EEC).** Directive 65/65/CEE du Conseil, du 26 janvier 1965, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives, relatives aux spécialités pharmaceutiques. In *Official Journal* **022**, 09/02/1965, 369-373.

- Directive (90/676/CEE).** Directive 90/676/CEE du Conseil, du 13 décembre 1990, modifiant la directive 81/851/CEE concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux médicaments vétérinaires. In *Official Journal L 373*, 31/12/1990, 15-25.
- Directive (93/39/CEE).** Directive 93/39/CEE du Conseil du 14 juin 1993 modifiant les directives 65/65/CEE, 75/318/CEE et 75/319/CEE concernant les médicaments. In *Official Journal L 214*, 24/08/1993, 22-30.
- Directive (98/83/EC).** Directive 98/83/CE du Conseil, du 3 novembre 1998, relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine In *Official Journal L 330*, 05/12/1998, 32-54.
- Directive (1907/2006).** Rectificatif au règlement (CE) no 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), instituant une agence européenne des produits chimiques (Directive REACH). In *Official Journal L 136*, 25/05/2007, 3-280.
- Directive (2000/60/EC).** Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau - EU Water Framework Directive (WFD) In *Official Journal L 327*, 22/12/2000, 1-72.
- Directive (2001/82/EC).** Directive 2001/82/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires. In *Official Journal L 311*, 28/11/2001, 1-66.
- Directive (2001/83/EC).** Directive 2001/83/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain. In *Official Journal L 311*, 28/11/2001, 67-128.
- Directive (2004/27/CE).** Directive 2004/27/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 mars 2004 modifiant la directive 2001/83/CE instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain. In *Official Journal L 136*, 30/04/2004, 34-57.
- Directive (2004/28/CE).** Directive 2004/28/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 mars 2004 modifiant la directive 2001/82/CE instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires. In *Official Journal L 136*, 30/04/2004, 58-84.
- Directive (2006/118/EC).** Directive 2006/118/CE du Parlement européen et du Conseil du 12 décembre 2006 sur la protection des eaux souterraines contre la pollution et la détérioration. In *Official Journal L 372*, 12/12/2006, 19-31.
- Directive (2455/2001/EC).** Décision no 2455/2001/CE du Parlement européen et du Conseil du 20 novembre 2001 établissant la liste des substances prioritaires dans le domaine de l'eau et modifiant la directive 2000/60/CE. In *Official Journal L 331*, 15/12/2001, 1-5.
- Doll, T. E. & Frimmel, F. H. (2003).** Fate of pharmaceuticals_photodegradation by simulated solar UV-light. *Chemosphere* **52**, 1757-1769.
- DREES (2001).** La consommation de médicaments non prescrits. *Etudes et résultats - Direction de la recherche des études de l'évaluation et des statistiques*, 8 p.: Briand, A., Chambaretaud, S.
- DREES (2006a).** Le marché du médicament dans cinq pays européens, structure et évolution en 2004. *Etudes et résultats - Direction de la recherche des études de l'évaluation et des statistiques*, 7 p. Paris, France: Clerc, M. E., Pereira, C., Podevin, M., Villeret, S.
- DREES (2006b).** Les ventes de médicaments remboursables en 2005. *Etudes et résultats - Direction de la recherche des études de l'évaluation et des statistiques*, 8p.: Clerc, M. E.

- DREES (2008).** Les dépenses d'assurance maladie en 2007. *Point de conjoncture n°4-5 - Direction de la recherche des études de l'évaluation et des statistiques*, 16 p. Paris, France: Département Synthèse et Prévisions.
- DSE (2004).** Des tendances de fond aux mouvements de court terme. In *Direction des Statistiques et des Etudes - Points de conjoncture N°31-32, Décembre 2004*, 50 p. Paris, France: Caisse nationale de l'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés (CNAMTS).
- Dussault, E. B., Balakrishnan, V. K., Sverko, E., Solomon, K. R. & Sibley, P. K. (2008).** Toxicity of human pharmaceuticals and personal care products to benthic invertebrates. *Environ Toxicol Chem* **27**, 425-432.
- Ebie, K., Li, F., Azuma, Y., Yuasa, A. & Hagishita, T. (2001).** Pore distribution effect of activated carbon in adsorbing organic micropollutants from natural water. *Water Res* **35**, 167-179.
- Eguchi, K., Nagase, H., Ozawa, M., Endoh, Y. S., Goto, K., Hirata, K., Miyamoto, K. & Yoshimura, H. (2004).** Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. *Chemosphere* **57**, 1733-1738.
- Eichhorn, P., Ferguson, P. L., Perez, S. & Aga, D. S. (2005).** Application of ion trap-MS with H/D exchange and QqTOF-MS in the identification of microbial degradates of trimethoprim in nitrifying activated sludge. *Anal Chem* **77**, 4176-4184.
- EMEA (2006).** Note for Guidance on Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use, CMPC/SWP/4447/draft., 12 p. Edited by The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMEA). London.
- Esplugas, S., Bila, D. M., Krause, L. G. & Dezotti, M. (2007).** Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. *J Hazard Mater* **149**, 631-642.
- Eurin, J., Ollivon, D., Garban, B., Tiphagne, K. & Chevreuil, M. (2005).** Contamination des eaux superficielles par les produits pharmaceutiques : diffusion d'antibiotiques par la médecine humaine et les activités d'élevage, pp. 1-9. Paris: PIREN-Seine - Rapport d'activités 2004.
- Eurin, J., Tamtam, F., Ollivon, D., Tiphagne-Larcher, K. & Chevreuil, M. (2006).** Les antibiotiques dans les eaux de surface du bassin de la Seine : évaluation de la contamination dans différents milieux, pp. 1-9. Paris: PIREN-Seine - Rapport d'activités 2005.
- Farre, M., Petrovic, M. & Barcelo, D. (2007).** Recently developed GC/MS and LC/MS methods for determining NSAIDs in water samples. *Anal Bioanal Chem* **387**, 1203-1214.
- Farre, M. L., Ferrer, I., Ginebreda, A., Figueras, M., Olivella, L., Tirapu, L., Vilanova, M. & Barcelo, D. (2001).** 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* **938**, 187-197.
- Fasani, E., Albini, A., Mella, M., Rampi, M. & Negra, F. B. (1999a).** Light and drugs: the photochemistry of fluoroquinolone antibiotics. *Int J Photoenergy* **1**, 7-11.
- Fasani, E., Albini, A. & Rampi, M. (1999b).** Photochemistry of some fluoroquinolones: effect of pH and chloride ion. *J Chem Soc, Perkin Trans 2* **9**, 1901 - 1907.
- Fatta, D., Achilleos, A., Nikolaou, A. & Meriç, S. (2007).** Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. *Trends Anal Chem* **26**, 515-533.
- FDA (1998).** Guidance for industry—Environmental assessment of human drugs and biologics applications, 41 p. Food and Drug Administration, CDER/CBER

- Feitosa-Felizzola, J. & Chiron, S. (2009).** Occurrence and distribution of selected antibiotics in a small Mediterranean stream (Arc River, Southern France). *J Hydrol* **364**, 50-57.
- Feitosa-Felizzola, J., Temime, B. & Chiron, S. (2007).** Evaluating on-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-ion trap mass spectrometry for reliable quantification and confirmation of several classes of antibiotics in urban wastewaters. *J Chromatogr A* **1164**, 95-104.
- Fenet, H., Gomez, E., Leclerc, M. & Casellas, C. (2006).** Fate of drugs in the environment. *ERS* **5**, 243-247.
- Ferech, M., Coenen, S., Malhotra-Kumar, S., Dvorakova, K., Hendrickx, E., Suetens, C. & Goossens, H. (2006).** European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient quinolone use in Europe. *J Antimicrob Chemother* **58**, 423-427.
- Ferrari, B., Mons, R., Vollat, B., Fraysse, B., Paxeus, N., Lo Giudice, R., Pollio, A. & Garric, J. (2004).** Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environ Toxicol Chem* **23**, 1344-1354.
- Ferrari, B., Paxeus, N., Lo Giudice, R., Pollio, A. & Garric, J. (2003).** Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrac acid, and diclofenac. *Ecotoxicol Environ Saf* **55**, 359-370.
- Flippin, J. L., Huggett, D. & Foran, C. M. (2007).** Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquat Toxicol* **81**, 73-78.
- Focazio, M. J., Kolpin, D. W., Barnes, K. K., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Zaugg, S. D., Barber, L. B. & Thurman, M. E. (2008).** A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States--II) untreated drinking water sources. *Sci Total Environ* **402**, 201-216.
- Fraysse, B. & Garric, J. (2005).** Prediction and experimental validation of acute toxicity of beta-blockers in *Ceriodaphnia dubia*. *Environ Toxicol Chem* **24**, 2470-2476.
- Garric, J., Ferrari, B., Fraysse, B., Mons, R. & Vollat, B. (2006).** Impact de médicaments à usage humain sur les organismes aquatiques d'eau douce. *ERS* **5**, 290-295.
- Gentili, A. (2007).** Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in environmental samples by chromatographic and electrophoretic techniques. *Anal Bioanal Chem* **387**, 1185-1202.
- Golet, E. M., Alder, A. C. & Giger, W. (2002).** Environmental exposure and risk assessment of fluoroquinolone antibacterial agents in wastewater and river water of the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Environ Sci Technol* **36**, 3645-3651.
- Golet, E. M., Alder, A. C., Hartmann, A., Ternes, T. A. & Giger, W. (2001).** Trace determination of fluoroquinolone antibacterial agents in urban wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal Chem* **73**, 3632-3638.
- Gomez, E., Wang, X., Dagnino, S., Leclercq, M., Escande, A., Casellas, C., Picot, B. & Fenet, H. (2007).** Fate of endocrine disrupters in waste stabilization pond systems. *Water Sci Technol* **55**, 157-163.
- Gómez, M. J., Malato, O., Ferrer, I., Agüera, A. & Fernández-Alba, A. R. (2007).** Solid-phase extraction followed by liquid chromatography–time-of-flight–mass spectrometry to evaluate pharmaceuticals in effluents. A pilot monitoring study. *J Environ Monitor* **9**, 718-729.
- Gomez, M. J., Petrovic, M., Fernandez-Alba, A. R. & Barcelo, D. (2006).** 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* **1114**, 224-233.

- Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R. & Elseviers, M. (2005).** Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet* **365**, 579-587.
- Green, R. E., Newton, I., Shultz, S., Cunningham, A. A., Gilbert, M., Pain, D. J. & Prakash, V. (2004).** Diclofenac poisoning as a cause of vulture population declines across the Indian subcontinent. *J Appl Ecol* **41**, 793-800.
- Gros, M., Petrovic, M. & Barcelo, D. (2006).** Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters *Talanta* **70**, 678-690.
- Gros, M., Pizzolato, T. M., Petrovic, M., de Alda, M. J. & Barcelo, D. (2008).** Trace level determination of beta-blockers in waste waters by highly selective molecularly imprinted polymers extraction followed by liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1189**, 374-384.
- Haguenoer, J. M., Rouban, A., Aourousseau, M., Bohuon, C., Bourillet, F., Bourrinet, P., Carpentier, A., Delage, M., Dûchene, D., Festy, B., Galliot-Guilley, M., Guignard, J.-L., Jamet, J.-L., Jouanin, C., Levi, Y., Parier, J.-L., Raynaud, G., Ribet, J.-P., Santini, C., Velo, G., Jançon, G., Parvy, P., Body, C., Sibenaler, C., Aumonier, J. & Bisson, M. (2008).** Médicaments et environnement, 94 p. Membres de la commission santé environnement: Académie Nationale de Pharmacie - AP - HP - LEEM - INERIS.
- Halling-Sorensen, B., Lutzhoft, H. C., Andersen, H. R. & Ingerslev, F. (2000).** Environmental risk assessment of antibiotics: comparison of mecillinam, trimethoprim and ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother* **46 Suppl 1**, 53-58; discussion 63-55.
- Halling-Sorensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lutzhoft, H. C. & Jorgensen, S. E. (1998).** Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-a review. *Chemosphere* **36**, 357-393.
- Han, G. H., Hur, H. G. & Kim, S. D. (2006).** Ecotoxicological risk of pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: occurrence and toxicity to *Daphnia magna*. *Environ Toxicol Chem* **25**, 265-271.
- Hao, C., Clement, R. & Yang, P. (2007).** Liquid chromatography-tandem mass spectrometry of bioactive pharmaceutical compounds in the aquatic environment--a decade's activities. *Anal Bioanal Chem* **387**, 1247-1257.
- Hao, C., Lissemore, L., Nguyen, B., Kleywegt, S., Yang, P. & Solomon, K. (2006).** Determination of pharmaceuticals in environmental waters by liquid chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **384**, 505-513.
- Heberer, T. (2002).** Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *J Hydrol* **266**, 175-189.
- Heberer, T., Feldmann, D., Reddersen, K., Altmann, H.-J. & Zimmermann, T. (2002).** Production of Drinking Water from Highly Contaminated Surface Waters: Removal of Organic, Inorganic, and Microbial Contaminants Applying Mobile Membrane Filtration Units. *Acta hydroch Hydrob* **30**, 24-33.
- Heckmann, L. H., Callaghan, A., Hooper, H. L., Connon, R., Hutchinson, T. H., Maund, S. J. & Sibly, R. M. (2007).** Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. *Toxicol Lett* **172**, 137-145.
- Hernando, M. D., Aguera, A. & Fernandez-Alba, A. R. (2007).** LC-MS analysis and environmental risk of lipid regulators. *Anal Bioanal Chem* **387**, 1269-1285.

- Hernando, M. D., Heath, E., Petrovic, M. & Barcelo, D. (2006).** Trace-level determination of pharmaceutical residues by LC-MS/MS in natural and treated waters. A pilot-survey study. *Anal Bioanal Chem* **385**, 985-991.
- Hernando, M. D., Petrovic, M., Fernandez-Alba, A. R. & Barcelo, D. (2004).** Analysis by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for beta-blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples. *J Chromatogr A* **1046**, 133-140.
- Hignite, C. & Azarnoff, D. L. (1977).** Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sci* **20**, 337-341.
- Hilal, S. H., El-Shabrawy, Y., Carreira, L. A., Karickhoff, S. W., Toubar, S. S. & Rizk, M. (1996).** Estimation of the ionization pK(a) of pharmaceutical substances using the computer program Sparc. *Talanta* **43**, 607-619.
- Hilton, M. J. & Thomas, K. V. (2003).** Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1015**, 129-141.
- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K. & Kratz, K. L. (1999).** Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci Total Environ* **225**, 109-118.
- Hirsch, R., Ternes, T. A., Haberer, K., Mehlich, A., Ballwanz, F. & Kratz, K. L. (1998).** Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **815**, 213-223.
- Hu, J. Y., Aizawa, T., Ookubo, Y., Morita, T. & Magara, Y. (1998).** Adsorptive characteristics of ionogenic aromatic pesticides in water on powdered activated carbon. *Water Res* **32**, 2593-2600.
- Huggett, D. B., Brooks, B. W., Peterson, B., Foran, C. M. & Schlenk, D. (2002).** Toxicity of select beta adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (B-blockers) on aquatic organisms. *Arch Environ Contam Toxicol* **43**, 229-235.
- Ikehata, K., Gamal El-Din, M. & Snyder, S. A. (2008).** Ozonation and advanced oxidation treatment of emerging organic pollutants in water and wastewater. *Ozone-Sci Eng* **30**, 21-26.
- Ikehata, K., Naghashkar, N. J. & El-Din, M. G. (2006).** Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. *Ozone-Sci Eng* **28**, 353-414.
- Imai, A., Fukushima, T., Matsushige, K., Kim, Y. H. & Choi, K. (2002).** Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants. *Water Res* **36**, 859-870.
- Imfeld, G., Braeckevelt, M., Kusch, P. & Richnow, H. H. (2009).** Monitoring and assessing processes of organic chemicals removal in constructed wetlands. *Chemosphere* **74**, 349-362.
- Isidori, M., Nardelli, A., Pascarella, L., Rubino, M. & Parrella, A. (2007).** Toxic and genotoxic impact of fibrates and their photoproducts on non-target organisms. *Environ Int* **33**, 635-641.
- Janex-Habibi, M.-L., Bruchet, A. & Ternes, T. (2004).** Effet des traitements d'eau potable et d'épuration des eaux usées sur les résidus médicamenteux. Résultats du projet Poseidon. *TSM* **11**, 59-66.
- Janex-Habibi, M. L., Bruchet, A., Levi, Y. & Ternes, T. (2002).** Pharmaceutical compounds: occurrence in the environment and fate in drinking water treatment.

- Water Quality and Technology Conference*, 10 p. Edited by American Water Works Association. Seattle, Washington.
- Jones, O. A., Voulvoulis, N. & Lester, J. N. (2002).** Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water Res* **36**, 5013-5022.
- Jones, O. A., Voulvoulis, N. & Lester, J. N. (2005).** Human Pharmaceuticals in Wastewater Treatment Processes. *Crit Rev Env Sci Tec* **35**, 401-427.
- Jorgensen, S. E. & Halling-Sorensen, B. (2000).** Drugs in the environment. *Chemosphere* **40**, 691-699.
- Jos, A., Repetto, G., Rios, J. C., Hazen, M. J., Molero, M. L., del Peso, A., Salguero, M., Fernandez-Freire, P., Perez-Martin, J. M. & Camean, A. (2003).** Ecotoxicological evaluation of carbamazepine using six different model systems with eighteen endpoints. *Toxicol In Vitro* **17**, 525-532.
- Joss, A., Keller, E., Alder, A. C., Gobel, A., McArdell, C. S., Ternes, T. & Siegrist, H. (2005).** Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Res* **39**, 3139-3152.
- Kanda, R., Griffin, P., James, H. A. & Fothergill, J. (2003).** Pharmaceutical and personal care products in sewage treatment works. *J Environ Monit* **5**, 823-830.
- Karthikeyan, K. G. & Meyer, M. T. (2006).** Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. *Sci Total Environ* **361** 196-207.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M. & Guwy, A. J. (2007).** Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1161**, 132-145.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M. & Guwy, A. J. (2008a).** Multiresidue methods for the analysis of pharmaceuticals, personal care products and illicit drugs in surface water and wastewater by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **391**, 1293-1308.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M. & Guwy, A. J. (2008b).** The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res* **42**, 3498-3518.
- Kloepfer, A., Quintana, J. B. & Reemtsma, T. (2005).** Operational options to reduce matrix effects in liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry analysis of aqueous environmental samples. *J Chromatogr A* **1067**, 153-160.
- Kobayashi, D., Nozawa, T., Imai, K., Nezu, J., Tsuji, A. & Tamai, I. (2003).** Involvement of human organic anion transporting polypeptide OATP-B (SLC21A9) in pH-dependent transport across intestinal apical membrane. *J Pharmacol Exp Ther* **306**, 703-708.
- Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B. & Buxton, H. T. (2002).** Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol* **36**, 1202-1211.
- Kosjek, T., Heath, E. & Krbavcic, A. (2005).** Determination of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) residues in water samples. *Environ Int* **31**, 679-685.
- Kot-Wasik, A., Debska, J. & Namiesnik, J. (2007).** Analytical techniques in studies of the environmental fate of pharmaceuticals and personal-care products. *Trends Anal Chem* **26**, 557-568.
- Kummerer, K. (2004).** Resistance in the environment. In *Pharmaceuticals in the Environment*, Second edn, pp. 223-231. Edited by K. Kummerer. Berlin: Springer.

- Kummerer, K., Al-Ahmad, A. & Mersch-Sundermann, V. (2000).** Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere* **40**, 701-710.
- Kummerer, K., Steger-Hartmann, T. & Meyer, M. T. (1997).** Biodegradability of the anti-tumour agent ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage. *Water Res* **31**, 2705-2710.
- Kuster, M., López de Alda, M. J., Hernando, M. D., Petrovic, M., Martín-Alonso, J. & Barceló, D. (2008).** Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *J Hydrol* **358**, 112-123.
- Lacey, C., McMahon, G., Bones, J., Barron, L., Morrissey, A. & Tobin, J. M. (2008).** An LC-MS method for the determination of pharmaceutical compounds in wastewater treatment plant influent and effluent samples. *Talanta* **75**, 1089-1097.
- Lajeunesse, A. & Gagnon, C. (2007).** Determination of acidic pharmaceutical products and carbamazepine in roughly primary-treated wastewater by solid-phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Int J Environ An Ch* **87**, 565-578.
- Lam, M. & Mabury, S. (2005).** Photodegradation of the pharmaceuticals atorvastatin, carbamazepine, levofloxacin, and sulfamethoxazole in natural waters. *Aquat Sci* **67**, 177-188.
- Latch, D. E., Stender, B. L., Packer, J. L., Arnold, W. A. & McNeill, K. (2003).** Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: cimetidine and ranitidine. *Environ Sci Technol* **37**, 3342-3350.
- Laville, N., Ait-Aissa, S., Gomez, E., Casellas, C. & Porcher, J. M. (2004).** Effects of human pharmaceuticals on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in fish hepatocytes. *Toxicology* **196**, 41-55.
- Le Pen, C., Lemasson, H. & Roullière-Lelidec, C. (2007).** La consommation médicamenteuse dans 5 pays européens : une réévaluation, 62 p. : Les Entreprises du Médicaments (LEEM).
- Lee, H. B., Sarafin, K. & Peart, T. E. (2007).** Determination of beta-blockers and beta2-agonists in sewage by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1148**, 158-167.
- Leenheer, J. A. & Croue, J. P. (2003).** Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environ Sci Technol* **37**, 18A-26A.
- Legrini, O., Oliveros, E. & Braun, A. M. (1993).** Photochemical Processes for Water Treatment. *Chem Rev* **93**, 671-698.
- Leguene, C., Clavere, P., Jore, D. & Gardes-Albert, M. (2001).** [Radiolytic oxidation of tamoxifen with the free radicals OH⁻ and/or HO₂⁻]. *Can J Physiol Pharmacol* **79**, 184-188.
- Lévi, Y. (2006).** Inquiétudes sur la présence d'antibiotiques et de bactéries antibiorésistantes dans les eaux. *ERS* **5**, 261-265.
- Li, J. & Assmann, S. M. (2000).** Mass spectrometry. An essential tool in proteome analysis. *Plant Physiol* **123**, 807-809.
- Lienert, J., Gudel, K. & Escher, B. I. (2007).** Screening method for ecotoxicological hazard assessment of 42 pharmaceuticals considering human metabolism and excretory routes. *Environ Sci Technol* **41**, 4471-4478.
- Lin, A. Y. & Reinhard, M. (2005).** Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water. *Environ Toxicol Chem* **24**, 1303-1309.
- Lindberg, R., Jarnheimer, P. A., Olsen, B., Johansson, M. & Tysklind, M. (2004).** Determination of antibiotic substances in hospital sewage water using solid phase

- extraction and liquid chromatography/mass spectrometry and group analogue internal standards. *Chemosphere* **57**, 1479-1488.
- Lindsey, M. E., Meyer, T. M. & Thurman, E. M. (2001).** Analysis of trace levels of sulfonamide and tetracycline antimicrobials in groundwater and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. *Anal Chem* **73**, 4640-4646.
- Liu, Q. T. & Williams, H. E. (2007).** Kinetics and degradation products for direct photolysis of beta-blockers in water. *Environ Sci Technol* **41**, 803-810.
- Lützhøft, H. C. H., Halling-Sorensen, B. & Jørgensen, S. E. (1999).** Algal Toxicity of Antibacterial Agents Applied in Danish Fish Farming. *Arch Environ Contam Toxicol* **36**, 1-6.
- Lunn, G., Rhodes, S. W., Sansone, E. B. & Schmuff, N. R. (1994).** Photolytic destruction and polymeric resin decontamination of aqueous solutions of pharmaceuticals. *J Pharm Sci* **83**, 1289-1293.
- Macia, A., Borruell, F., Aguilar, C. & Calull, M. (2003).** Improving sensitivity by large-volume sample stacking using the electroosmotic flow pump to analyze some nonsteroidal anti-inflammatory drugs by capillary electrophoresis in water samples. *Electrophoresis* **24**, 2779-2787.
- MacLeod, S. L., Sudhir, P. & Wong, C. S. (2007).** Stereoisomer analysis of wastewater-derived beta-blockers, selective serotonin re-uptake inhibitors, and salbutamol by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1170**, 23-33.
- Marchese, S., Perret, D., Gentili, A., Curini, R. & Pastori, F. (2003).** Determination of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Surface Water and Wastewater by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Chromatographia* **58**, 263-269.
- Marrot, L., Labarussiat, A., Perez, P. & Meunier, J. R. (2006).** Use of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a pre-screening approach for assessment of chemical-induced phototoxicity. *Toxicol In Vitro* **20**, 1040-1050.
- Martinez Bueno, M. J., Aguera, A., Gomez, M. J., Hernando, M. D., Garcia-Reyes, J. F. & Fernandez-Alba, A. R. (2007).** Application of liquid chromatography/quadrupole-linear Ion trap mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry to the determination of pharmaceuticals and related contaminants in wastewater. *Anal Chem* **79**, 9372-9384.
- Matamoros, V. & Bayona, J. M. (2006).** Elimination of pharmaceuticals and personal care products in subsurface flow constructed wetlands. *Environ Sci Technol* **40**, 5811-5816.
- Matamoros, V., Caselles-Osorio, A., Garcia, J. & Bayona, J. M. (2008).** Behaviour of pharmaceutical products and biodegradation intermediates in horizontal subsurface flow constructed wetland. A microcosm experiment. *Sci Total Environ* **394**, 171-176.
- Matamoros, V., Garcia, J. & Bayona, J. M. (2005).** Behavior of selected pharmaceuticals in subsurface flow constructed wetlands: a pilot-scale study. *Environ Sci Technol* **39**, 5449-5454.
- Matsui, Y., Fukuda, Y., Inoue, T. & Matsushita, T. (2003).** Effect of natural organic matter on powdered activated carbon adsorption of trace contaminants: characteristics and mechanism of competitive adsorption. *Water Res* **37**, 4413-4424.
- Matsumoto, M., Kojima, K., Nagano, H., Matsubara, S. & Yokota, T. (1992).** Photostability and biological activity of fluoroquinolones substituted at the 8 position after UV irradiation. *Antimicrob Agents Chemother* **36**, 1715-1719.
- McClure, E. L. & Wong, C. S. (2007).** Solid phase microextraction of macrolide, trimethoprim, and sulfonamide antibiotics in wastewaters. *J Chromatogr A* **1169**, 53-62.

- MEDICAM (2006).** Médicaments remboursables par le Régime Général. France: CNAMTS - Direction de la stratégie, des études et des statistiques (DSES-DEPP).
- MEDICAM (2007).** Médicaments remboursables par le Régime Général. France: CNAMTS - Direction de la stratégie, des études et des statistiques (DSES-DEPP).
- Mestre, A. S., Pires, J., Nogueira, J. M. F. & Carvalho, A. P. (2007).** Activated carbons for the adsorption of ibuprofen. *Carbon* **45**, 1979-1988.
- Meyer, M. T., Lee, E. A., Ferrell, G. F., Bumgarner, J. E. & Varns, J. (2007).** Evaluation of Offline Tandem and Online Solid-phase Extraction with Liquid Chromatography/electrospray Ionization-mass Spectrometry for Analysis of Antibiotics in Ambient Water and Comparison to an Independent Method, 28 p. : U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2007-5021.
- Miao, X. S., Bishay, F., Chen, M. & Metcalfe, C. D. (2004).** Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada. *Environ Sci Technol* **38**, 3533-3541.
- Miao, X. S., Koenig, B. G. & Metcalfe, C. D. (2002).** Analysis of acidic drugs in the effluents of sewage treatment plants using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **952**, 139-147.
- Miao, X. S. & Metcalfe, C. D. (2003).** Determination of pharmaceuticals in aqueous samples using positive and negative voltage switching microbore liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* **38**, 27-34.
- Miao, X. S. & Metcalfe, C. D. (2007).** Analysis of neutral and acidic pharmaceuticals by liquid chromatography mass spectrometry. In *Analysis, Fate and Removal of Pharmaceuticals in the Water Cycle*, First edn, pp. 133-156. Edited by M. Petrovic & D. Barcelo. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Miège, C., Choubert, J. M., Ribeiro, L., Eusebe, M. & Coquery, M. (2008).** Removal efficiency of pharmaceuticals and personal care products with varying wastewater treatment processes and operating conditions - conception of a database and first results. *Water Sci Technol* **57**, 49-56.
- Miège, C., Favier, M., Brosse, C., Canler, J. P. & Coquery, M. (2006).** Occurrence of betablockers in effluents of wastewater treatment plants from the Lyon area (France) and risk assessment for the downstream rivers. *Talanta* **70**, 739-744.
- Mompelat, S., Lebot, B. & Thomas, O. (2009).** Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environ Int* **35**, 803-814.
- Mutavdzic Pavlovic, D., Babic, S., Horvat, A. J. M. & Kastelan-Macan, M. (2007).** Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. *Trends Anal Chem* **26**, 1062-1075.
- Najm, I. N., Snoeyink, V. L., Lykins Jr, B. W. & Adams, J. Q. (1992).** Using Powdered Activated Carbon: A Critical Review. In *Influence and Removal of Organics in Drinking Water*, pp. 35-66. Edited by J. Mallevialle, I. H. Suffet & U. Sam Chan: CRC Press.
- Nakada, N., Kiri, K., Shinohara, H., Harada, A., Kuroda, K., Takizawa, S. & Takada, H. (2008).** Evaluation of pharmaceuticals and personal care products as water-soluble molecular markers of sewage. *Environ Sci Technol* **42**, 6347-6353.
- Nalecz-Jawecki, G., Wojcik, T. & Sawicki, J. (2008).** Evaluation of in vitro biotransformation of propranolol with HPLC, MS/MS, and two bioassays. *Environ Toxicol* **23**, 52-58.
- Namiesnik, J., Zabiegala, B., Kot-Wasik, A., Partyka, M. & Wasik, A. (2005).** Passive sampling and/or extraction techniques in environmental analysis: a review. *Anal Bioanal Chem* **381**, 279-301.

- Nebot, C., Gibb, S. W. & Boyd, K. G. (2007).** Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* **598**, 87-94.
- Nentwig, G. (2008).** Another Example of Effects of Pharmaceuticals on Aquatic Invertebrates: Fluoxetine et Ciprofloxacin In *Pharmaceuticals in the Environment Sources, Fate, Effects and Risks* Third edn, pp. 205-222. Edited by K. Kummerer. Berlin: Springer-Verlag.
- Newcombe, G., Drikas, M. & Hayes, R. (1997).** Influence of characterised natural organic material on activated carbon adsorption .2. Effect on pore volume distribution and adsorption of 2-methylisoborneol. *Water Res* **31**, 1065-1073.
- Newcombe, G., Morrison, J. & Hepplewhite, C. (2002a).** Simultaneous adsorption of MIB and NOM onto activated carbon. I. Characterisation of the system and NOM adsorption. *Carbon* **40**, 2135-2146.
- Newcombe, G., Morrison, J., Hepplewhite, C. & Knappe, D. R. U. (2002b).** Simultaneous adsorption of MIB and NOM onto activated carbon - II. Competitive effects. *Carbon* **40**, 2147-2156.
- Nie, X., Wang, X., Chen, J., Zitko, V. & An, T. (2008).** Response of the freshwater Alga *Chlorella vulgaris* to trichloroisocyanuric acid and ciprofloxacin. *Environ Toxicol Chem* **27**, 168-173.
- Nikolaou, A., Meric, S. & Fatta, D. (2007).** Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal Bioanal Chem* **387**, 1225-1234.
- Nowotny, N., Epp, B., vonSonntag, C. & Fahlenkamp, H. (2007).** Quantification and Modeling of the Elimination Behavior of Ecologically Problematic Wastewater Micropollutants by Adsorption on Powdered and Granulated Activated Carbon. *Environ Sci Technol* **41**, 2050-2055.
- Oaks, J. L., Gilbert, M., Virani, M. Z., Watson, R. T., Meteyer, C. U., Rideout, B. A., Shivaprasad, H. L., Ahmed, S., Chaudhry, M. J., Arshad, M., Mahmood, S., Ali, A. & Khan, A. A. (2004).** Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* **427**, 630-633.
- Ollers, S., Singer, H. P., Fassler, P. & Muller, S. R. (2001).** Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. *J Chromatogr A* **911**, 225-234.
- Onoue, S., Igarashi, N., Kitagawa, F., Otsuka, K. & Tsuda, Y. (2008a).** Capillary electrophoretic studies on the photogenotoxic potential of pharmaceutical substances. *J Chromatogr A* **1188**, 50-56.
- Onoue, S., Igarashi, N., Yamada, S. & Tsuda, Y. (2008b).** High-throughput reactive oxygen species (ROS) assay: an enabling technology for screening the phototoxic potential of pharmaceutical substances. *J Pharm Biomed Anal* **46**, 187-193.
- Onoue, S., Kawamura, K., Igarashi, N., Zhou, Y., Fujikawa, M., Yamada, H., Tsuda, Y., Seto, Y. & Yamada, S. (2008c).** Reactive oxygen species assay-based risk assessment of drug-induced phototoxicity: classification criteria and application to drug candidates. *J Pharm Biomed Anal* **47**, 967-972.
- Oppenländer, T. (2003).** Photochemical Purification of Water and Air: Advanced Oxidation Processes (AOPs) : Principles, Reaction Mechanisms, Reactor Concepts, 383 p. : Wiley-VCH.
- Packer, J. L., Werner, J. J., Latch, D. E., McNeill, K. & Arnold, W. A. (2003).** Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, diclofenac, clofibric acid, and ibuprofen. *Aquat Sci* **65**, 342-351.

- Paffoni, C., Welte, B., Gousailles, M. & Montiel, A. (2006).** New molecules involved by the european directives: from wastewater to drinking water treatment plants. *J eur hydrol* **37**, 21-38.
- Pagano, G., de Biase, A., Deeva, I. B., Degan, P., Doronin, Y. K., Iaccarino, M., Oral, R., Trieff, N. M., Warnau, M. & Korkina, L. G. (2001).** The role of oxidative stress in developmental and reproductive toxicity of tamoxifen. *Life Sci* **68**, 1735-1749.
- Pascoe, D., Karntanut, W. & Muller, C. T. (2003).** Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere* **51**, 521-528.
- Paxeus, N. (2004).** Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, beta-blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water Sci Technol* **50**, 253-260.
- Pedrouzo, M., Reverte, S., Borrull, F., Pocurull, E. & Marce, R. M. (2007).** Pharmaceutical determination in surface and wastewaters using high-performance liquid chromatography-(electrospray)-mass spectrometry. *J Sep Sci* **30**, 297-303.
- Pelekani, C. & Snoeyink, V. L. (1999).** Competitive adsorption in natural water: Role of activated carbon pore size. *Water Res* **33**, 1209-1219.
- Pepin, S. & Ricordeau, P. (2006).** La consommation d'antibiotiques: situation en France au regard des autres pays européens. In *Points de repère N°6 - Novembre 2006*, 8 p. Paris, France: Caisse nationale de l'Assurance Maladie.
- Pereira, V. J., Linden, K. G. & Weinberg, H. S. (2007a).** Evaluation of UV irradiation for photolytic and oxidative degradation of pharmaceutical compounds in water. *Water Res* **41**, 4413-4423.
- Pereira, V. J., Weinberg, H. S., Linden, K. G. & Singer, P. C. (2007b).** UV degradation kinetics and modeling of pharmaceutical compounds in laboratory grade and surface water via direct and indirect photolysis at 254 nm. *Environ Sci Technol* **41**, 1682-1688.
- Petrovic, M. & Barcelo, D. (2007).** LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment. *Trends Anal Chem* **26**, 486-493.
- Petrovic, M., Gros, M. & Barcelo, D. (2006).** Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1124**, 68-81.
- Petrovic, M., Gros, M. & Barcelo, D. (2007).** Multi-residue analysis of pharmaceuticals using LC-tandem MS and LC-hybrid MS. In *Analysis, Fate and Removal of Pharmaceuticals in the Water Cycle*, First edn, pp. 157-183. Edited by M. Petrovic & D. Barcelo. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Petrovic, M., Hernando, M. D., Diaz-Cruz, M. S. & Barcelo, D. (2005).** Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *J Chromatogr A* **1067**, 1-14.
- Picot, B., Andrianarison, T., Gosselin, J. P. & Brissaud, F. (2005).** Twenty years' monitoring of Meze stabilisation ponds: part I--Removal of organic matter and nutrients. *Water Sci Technol* **51**, 23-31.
- Piram, A., Salvador, A., Gauvrit, J. Y., Lanteri, P. & Faure, R. (2008).** Development and optimisation of a single extraction procedure for the LC/MS/MS analysis of two pharmaceutical classes residues in sewage treatment plant. *Talanta* **74**, 1463-1475.
- Pomati, F., Netting, A. G., Calamari, D. & Neilan, B. A. (2004).** Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*. *Aquat Toxicol* **67**, 387-396.
- Poole, C. F. (2003).** New trends in solid-phase extraction. *Trends Anal Chem* **22**, 362-373.

- Postigo, C., de Alda, M. J. & Barcelo, D. (2008).** Fully automated determination in the low nanogram per liter level of different classes of drugs of abuse in sewage water by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Anal Chem* **80**, 3123-3134.
- Pounds, N., Maclean, S., Webley, M., Pascoe, D. & Hutchinson, T. (2008).** Acute and chronic effects of ibuprofen in the mollusc *Planorbis carinatus* (Gastropoda: Planorbidae). *Ecotoxicol Environ Saf* **70**, 47-52.
- Pozo, O. J., Guerrero, C., Sancho, J. V., Ibanez, M., Pitarch, E., Hogendoorn, E. & Hernandez, F. (2006).** Efficient approach for the reliable quantification and confirmation of antibiotics in water using on-line solid-phase extraction liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1103**, 83-93.
- Protoxkit, F. (1998).** Freshwater toxicity test with a ciliate protozoan. Standard Operational Procedure. , 18 p. Creasel, Deinze, Belgium.
- Qiang, Z. & Adams, C. (2004).** Potentiometric determination of acid dissociation constants (pKa) for human and veterinary antibiotics. *Water Res* **38**, 2874-2890.
- Quiniou, F., Judas, A. & Le Squer-André, E. (1997).** Toxicité potentielle des eaux et des sédiments des principaux estuaires de la rade de Brest évaluée par deux bio-essais. *Ann I Oceanogr Paris* **73**, 35-48.
- Quinn, B., Gagne, F. & Blaise, C. (2008).** An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Sci Total Environ* **389**, 306-314.
- Quintana, J. B. & Reemtsma, T. (2004).** 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* **18**, 765-774.
- Quintana, J. B., Rodil, R. & Reemtsma, T. (2004).** Suitability of hollow fibre liquid-phase microextraction for the determination of acidic pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry without matrix effects. *J Chromatogr A* **1061**, 19-26.
- Rabiet, M., Togola, A., Brissaud, F., Seidel, J. L., Budzinski, H. & Elbaz-Poulichet, F. (2006).** Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment. *Environ Sci Technol* **40**, 5282-5288.
- Radjenovic, J., Petrovic, M. & Barcelo, D. (2007a).** Advanced mass spectrometric methods applied to the study of fate and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment. *Trends Anal Chem* **26**, 1132-1144.
- Radjenovic, J., Petrovic, M. & Barcelo, D. (2007b).** Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. *Anal Bioanal Chem* **387**, 1365-1377.
- Reverte, S., Borrull, F., Pocurull, E. & Marce, R. M. (2003).** Determination of antibiotic compounds in water by solid-phase extraction-high-performance liquid chromatography-(electrospray) mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1010**, 225-232.
- Richards, S. M. & Cole, S. E. (2006).** A toxicity and hazard assessment of fourteen pharmaceuticals to *Xenopus laevis* larvae. *Ecotoxicology* **15**, 647-656.
- Richardson, S. D. (2008).** Environmental mass spectrometry: emerging contaminants and current issues. *Anal Chem* **80**, 4373-4402.
- Roberts, P. H. & Bersuder, P. (2006).** Analysis of OSPAR priority pharmaceuticals using high-performance liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1134**, 143-150.

- Roberts, P. H. & Thomas, K. V. (2006).** The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Sci Total Environ* **356**, 143-153.
- Robinson, A. A., Belden, J. B. & Lydy, M. J. (2005).** Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environ Toxicol Chem* **24**, 423-430.
- Rodriguez-Mozaz, S., Lopez de Alda, M. J. & Barcelo, D. (2007).** Advantages and limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry technologies versus biosensors for monitoring of emerging contaminants in water. *J Chromatogr A* **1152**, 97-115.
- Roig, B. (1999).** Couplage UV/UV : Applications analytiques environnementale, 175 p. Thèse de Doctorat, spécialité : Chimie de l'environnement: Université Aix-Marseille I.
- Sabban, C. & Courtois, J. (2007).** Comparaisons européennes sur huit classes de médicaments. In *Points de repère N°12 - Décembre 2007*, 8 p. Paris, France: Caisse nationale de l'Assurance Maladie.
- Sacher, F., Lange, F. T., Brauch, H. J. & Blankenhorn, I. (2001).** Pharmaceuticals in groundwaters analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *J Chromatogr A* **938**, 199-210.
- Sadezky, A., Löffler, D. & Ternes, T. (2008).** Proposal of an environmental indicator and classification system of pharmaceutical product residues for environmental management. In *Projet Européen KNAPPE, Deliverable D12*, 92 p. European Commission, 6th Framework Program.
- Samson, S., Ricordeau, P., Pepin, S., Tilly, B., Weill, A. & Allemand, H. (2007).** Hypertension artérielle et facteurs de risque associés : évolution du traitement entre 2000 et 2006. In *Points de repère n°10, octobre 2007*, 8 p. Paris, France: Caisse nationale de l'Assurance Maladie.
- Santos, J. L., Aparicio, I., Alonso, E. & Callejon, M. (2005).** Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors. *Anal Chim Acta* **550**, 116-122.
- Schecker, J., Al-Ahmad, A., Bauer, M., Zellmann, H. & Kummerer, K. (1998).** Elimination des Zytostatikums Ifosfamid während der simulierten Zersetzung von Hausmuell im Labormassstab. *UWSF - Z Umweltchem Ökotox* **10**, 339-344.
- Schlüsener, M., Löffler, D. & Ternes, T. (2008).** List of the relevant PPs. In *Projet Européen KNAPPE, Deliverable D11*, 63 p. European Commission, 6th Framework Program.
- Schultz, M. M. & Furlong, E. T. (2008).** Trace Analysis of Antidepressant Pharmaceuticals and Their Select Degradates in Aquatic Matrixes by LC/ESI/MS/MS. *Anal Chem* **80**, 1756-1762.
- Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H. & Negele, R. D. (2004).** Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquat Toxicol* **68**, 141-150.
- Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M. & Imboden, D. M. (1993).** Photochemical transformation reactions. In *Environmental Organic Chemistry*, pp. 436-484. Edited by I. John Wiley & Sons. New York.
- Segura, P. A., Garcia-Ac, A., Lajeunesse, A., Ghosh, D., Gagnon, C. & Sauve, S. (2007).** Determination of six anti-infectives in wastewater using tandem solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Environ Monit* **9**, 307-313.

- Senta, I., Terzic, S. & Ahel, M. (2008).** Simultaneous Determination of Sulfonamides, Fluoroquinolones, Macrolides and Trimethoprim in Wastewater and River Water by LC-Tandem-MS. *Chromatographia* **68**, 747-758.
- Snyder, R. D. & Green, J. W. (2001).** A review of the genotoxicity of marketed pharmaceuticals. *Mutat Res* **488**, 151-169.
- Snyder, S. A., Adham, S., Redding, A. M., Cannon, F. S., DeCarolis, J., Oppenheimer, J., Wert, E. C. & Yoon, Y. (2007).** Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. *Desalination* **202**, 156-181.
- Snyder, S. A., Westerhoff, P., Yoon, Y. & Sedlak, D. L. (2003a).** Pharmaceuticals, Personal Care Products, and Endocrine Disruptors in Water: Implications for the Water Industry. *Environ Eng Sci* **20**, 449-469.
- Stafiej, A., Pyrzynska, K. & Regan, F. (2007).** Determination of anti-inflammatory drugs and estrogens in water by HPLC with UV detection. *J Sep Sci* **30**, 985-991.
- Steger-Hartmann, T., Kummerer, K. & Hartmann, A. (1997).** Biological degradation of cyclophosphamide and its occurrence in sewage water. *Ecotoxicol Environ Saf* **36**, 174-179.
- Stolker, A. A., Niesing, W., Hogendoorn, E. A., Versteegh, J. F., Fuchs, R. & Brinkman, U. A. (2004a).** Liquid chromatography with triple-quadrupole or quadrupole-time of flight mass spectrometry for screening and confirmation of residues of pharmaceuticals in water. *Anal Bioanal Chem* **378**, 955-963.
- Stolker, A. L., Niesing, W., Fuchs, R., Vreeken, R. J., Niessen, W. M. & Brinkman, U. A. (2004b).** Liquid chromatography with triple-quadrupole and quadrupole-time-of-flight mass spectrometry for the determination of micro-constituents - a comparison. *Anal Bioanal Chem* **378**, 1754-1761.
- Stoob, K., Singer, H. P., Goetz, C. W., Ruff, M. & Mueller, S. R. (2005).** Fully automated online solid phase extraction coupled directly to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Quantification of sulfonamide antibiotics, neutral and acidic pesticides at low concentrations in surface waters. *J Chromatogr A* **1097**, 138-147.
- Straub, J. O. (2002).** Environmental risk assessment for new human pharmaceuticals in the European Union according to the draft guideline/discussion paper of January 2001. *Toxicol Lett* **135**, 231-237.
- Suède (2009).** Environmentally classified pharmaceuticals, 40 p. Stockholm, Sweden: Apoteket AB (The National Corporation of Swedish Pharmacies) & Stockholm County Council and Stockholm University.
- Tamtam, F., Almayrac, J.-L., LeBot, B., Mercier, F., Bredeloux, M., Desportes, A., Eurin, J. & Chevreuil, M. (2007).** Les antibiotiques dans les eaux de surface : première évaluation de la contamination de la Seine et de rejets de stations d'épuration. In *Les antibiotiques dans les eaux de surface - PIREN-Seine - Rapport d'activité 2008* 12 p. Ile de France: UPMC.
- Tamtam, F., Le Bot, B., Eurin, J., Mercier, F., Tiphagne-Larcher, K., Desportes, A., Seux, R. & Chevreuil, M. (2006).** Les antibiotiques dans les eaux de surface du Bassin de la Seine : suivi des molécules en station d'épuration. In *Les antibiotiques dans les eaux de surface - PIREN-Seine - Rapport d'activité 2007* 8 p. Ile de France: UPMC.
- Tamtam, F., Mercier, F., Le Bot, B., Eurin, J., Tuc Dinh, Q., Clement, M. & Chevreuil, M. (2008).** Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions. *Sci Total Environ* **393**, 84-95.
- Tansel, B. (2008).** New Technologies for Water and Wastewater Treatment: A Survey of Recent Patents. *Recent Patents Chem Eng* **1**, 17-26.

- Tauxe Würsch, A. (2005).** Wastewaters: Occurrence of pharmaceutical substances and genotoxicity, 263 p. Thèse de Doctorat, spécialité : Sciences et Ingénierie de l'Environnement: Ecole polytechnique fédérale de Lausanne.
- Ternes, T., Bonerz, M. & Schmidt, T. (2001).** Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **938**, 175-185.
- Ternes, T., Janex-Habibi, M.-L., Knacker, T., Kreuzinger, N. & Siegrist, H. (2005a).** Assessment of Technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Sewage and Drinking Water Facilities to Improve the Indirect Potable Water Reuse. POSEIDON, detailed report related to the overall duration (1.1.2001-30.6.2004), 58 p.
- Ternes, T., Joss, A., Kreuzinger, N., Miksch, K., Lema, J. M., von Gunten, U., McArdell, C. S. & Siegrist, H. (2005b).** Removal of pharmaceuticals and personal care products: results of the POSEIDON project. In *WEFTEC*, pp. 227-243.
- Ternes, T. A. (1998).** Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res* **32**, 3245-3260.
- Ternes, T. A., Hirsch, R., Mueller, J. & Haberer, K. (1998).** Methods for the determination of neutral drugs as well as betablockers and β_2 -sympathomimetics in aqueous matrices using GC/MS and LC/MS/MS. *Fresenius J Anal Chem* **362**, 329-340.
- Ternes, T. A., Kreckel, P. & Mueller, J. (1999a).** Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants--II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Sci Total Environ* **225**, 91-99.
- Ternes, T. A., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H. J., Haist-Gulde, B., Preuss, G., Wilme, U. & Zulei-Seibert, N. (2002).** Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ Sci Technol* **36**, 3855-3863.
- Ternes, T. A., Stumpf, M., Mueller, J., Haberer, K., Wilken, R. D. & Servos, M. (1999b).** Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants--I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci Total Environ* **225**, 81-90.
- TGD (2003).** Technical Guidance Document on risk Assessment. TGD part II. European Commission joint research centre. EUR 20418 EN/2., p. 337.
- Thurman, E. M. (1985).** Organic geochemistry of natural waters, 497 p. Edited by E. M. Thurman: Springer Science & Business.
- Tixier, C., Singer, H. P., Oellers, S. & Muller, S. R. (2003).** Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environ Sci Technol* **37**, 1061-1068.
- Togola, A. (2006).** Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques, 334 p. Thèse de Doctorat, spécialité : Science du vivant, Géosciences, Sciences de l'environnement: Université de Bordeaux 1.
- Togola, A., Amalric, L. & Bristeau, S. (2008).** Les substances pharmaceutiques dans les eaux superficielles et souterraines du bassin Loire-Bretagne, 53 p. Rapport final. Orléans: BRGM.
- Togola, A. & Budzinski, H. (2007).** Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE and GC-MS. *Anal Bioanal Chem* **388**, 627-635.
- Togola, A. & Budzinski, H. (2008).** Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *J Chromatogr A* **1177**, 150-158.
- Torniainen, K., Tammilehto, S. & Ulvi, V. (1996).** The effect of pH, buffer type and drug concentration on the photodegradation of ciprofloxacin. *Int J Pharm* **132**, 53-61.
- Tournoud, M. G., Perrin, J. L., Salles, C., Got, P., Caro, A., Picot, B., Rodier, C., Grillot, C. & Yin, C. (2008).** Impact of the hydrological behaviour on pollutant dynamics in

- an intermittent Mediterranean river (Vène, France). In *13th IWRA World Water Congress*. Montpellier, France.
- Tournoud, M. G., Perrin, J. L., Salles, C. & Picot, B. (2004).** Spatial heterogeneity of pollutant fluxes along an intermittent river: contribution of diffuse and point source inputs under different flow conditions. *European Geosciences Union Conference 2004*. Geophysical Research Abstracts. Nice, France.
- Triebskorn, R., Casper, H., Heyd, A., Eikemper, R., Kohler, H. R. & Schwaiger, J. (2004).** Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part II: cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat Toxicol* **68**, 151-166.
- Triebskorn, R., Casper, H., Scheil, V. & Schwaiger, J. (2007).** Ultrastructural effects of pharmaceuticals (carbamazepine, clofibrac acid, metoprolol, diclofenac) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*). *Anal Bioanal Chem* **387**, 1405-1416.
- Trovó, A. G., Melo, S. A. S. & Nogueira, R. F. P. (2008).** Photodegradation of the pharmaceuticals amoxicillin, bezafibrate and paracetamol by the photo-Fenton process--Application to sewage treatment plant effluent. *J Photoch Photobio A* **198**, 215-220.
- Turiel, E., Bordin, G. & Rodriguez, A. R. (2005).** Study of the evolution and degradation products of ciprofloxacin and oxolinic acid in river water samples by HPLC-UV/MS/MS-MS. *J Environ Monit* **7**, 189-195.
- Ulitzur, S., Lahav, T. & Ulitzur, N. (2002).** A novel and sensitive test for rapid determination of water toxicity. *Environ Toxicol* **17**, 291-296.
- USEPA (2001).** Removal of Endocrine Disruptor Chemicals Using Drinking Water Treatment Processes, 27 p. Cincinnati, Ohio, US.
- USEPA (2003).** UV Disinfection Guidance Manual-Draft, Office of water, EPA 815-D-03-007, 478 p. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.
- Van De Steene, J. C. & Lambert, W. E. (2008a).** Comparison of matrix effects in HPLC-MS/MS and UPLC-MS/MS analysis of nine basic pharmaceuticals in surface waters. *J Am Soc Mass Spectrom* **19**, 713-718.
- Van De Steene, J. C. & Lambert, W. E. (2008b).** Validation of a solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometric method for the determination of nine basic pharmaceuticals in wastewater and surface water samples. *J Chromatogr A* **1182**, 153-160.
- Van De Steene, J. C., Mortier, K. A. & Lambert, W. E. (2006).** Tackling matrix effects during development of a liquid chromatographic-electrospray ionisation tandem mass spectrometric analysis of nine basic pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *J Chromatogr A* **1123**, 71-81.
- Vanderford, B. J., Pearson, R. A., Cody, R. B., Rexing, D. J. & Snyder, S. A. (2003a).** Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, MS/MS and Time of Flight MS: Analysis of Emerging Contaminants, pp. 96-108. Edited by I. Ferrer & E. M. Thurman. Oxford University Press, New York (American Chemical Society Symposium Series 850).
- Vanderford, B. J., Pearson, R. A., Rexing, D. J. & Snyder, S. A. (2003b).** Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Anal Chem* **75**, 6265-6274.
- Vanderford, B. J. & Snyder, S. A. (2006).** Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Environ Sci Technol* **40**, 7312-7320.

- Vasskog, T., Berger, U., Samuelsen, P. J., Kallenborn, R. & Jensen, E. (2006). Selective serotonin reuptake inhibitors in sewage influents and effluents from Tromsø, Norway. *J Chromatogr A* **1115**, 187-195.
- Vaughan, P. P. & Blough, N. V. (1998). Photochemical formation of hydroxyl radical by constituents of natural waters. *Environ Sci Technol* **32**, 2947-2953.
- Verenitch, S. S., Lowe, C. J. & Mazumder, A. (2006). Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1116** 193-203.
- Vieno, N. M., Tuhkanen, T. & Kronberg, L. (2005). Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water. *Environ Sci Technol* **39**, 8220-8226.
- Vieno, N. M., Tuhkanen, T. & Kronberg, L. (2006). Analysis of neutral and basic pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection. *J Chromatogr A* **1134**, 101-111.
- Vogna, D., Marotta, R., Andreozzi, R., Napolitano, A. & d'Ischia, M. (2004). Kinetic and chemical assessment of the UV/H₂O₂ treatment of antiepileptic drug carbamazepine. *Chemosphere* **54**, 497-505.
- Wang, G. S. & Alben, K. T. (1998). Effect of preadsorbed background organic matter on granular activated carbon adsorption of atrazine. *Sci Total Environ* **224**, 221-226.
- Watkinson, A. J., Murby, E. J. & Costanzo, S. D. (2007). Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Res* **41**, 4164-4176.
- Webb, S. (2004). A data-based perspective on the environmental risk assessment of human pharmaceuticals I - Collation of Available Ecotoxicity Data. In *Pharmaceuticals in the Environment*, Second edn, pp. 317-343. Edited by K. Kummerer. Berlin: Springer-Verlag.
- Weigel, S., Kallenborn, R. & Huhnerfuss, H. (2004). Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1023**, 183-195.
- Wennmalm, A. & Gunnarsson, B. (2009). Pharmaceutical management through environmental product labeling in Sweden. *Environ Int* **35**, 775-777.
- Westerhoff, P., Yoon, Y., Snyder, S. & Wert, E. (2005). Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. *Environ Sci Technol* **39**, 6649-6663.
- White, J. R., Belmont, M. A. & Metcalfe, C. D. (2006). Pharmaceutical compounds in wastewater: wetland treatment as a potential solution. *TSWJ* **6**, 1731-1736.
- Williams, T. D., Caunter, J. E., Lillcrap, A. D., Hutchinson, T. H., Gillings, E. G. & Duffell, S. (2007). Evaluation of the reproductive effects of tamoxifen citrate in partial and full life-cycle studies using fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environ Toxicol Chem* **26**, 695-707.
- Wu, C., Spongberg, A. & Witter, J. (2008). Use of solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous determination of various pharmaceuticals in surface water. *Int J Environ An Ch* **88**, 1033-1048.
- Yang, L. H., Ying, G. G., Su, H. C., Stauber, J. L., Adams, M. S. & Binet, M. T. (2008). Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Environ Toxicol Chem* **27**, 1201-1208.

- Yang, S., Cha, J. & Carlson, K. (2005).** Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1097**, 40-53.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A. & Esparza, M. (2003).** HPLC-fluorescence detection and adsorption of bisphenol A, 17 β -estradiol, and 17 α -ethynyl estradiol on powdered activated carbon. *Water Res* **37**, 3530-3537.
- Yu, J. T., Bouwer, E. J. & Coelhan, M. (2006).** Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. *Agr Water Manage* **86**, 72-80.
- Yu, Z. R., Peldszus, S. & Huck, P. M. (2008).** Adsorption characteristics of selected pharmaceuticals and an endocrine disrupting compound - Naproxen, carbamazepine and nonylphenol - on activated carbon. *Water Res* **42**, 2873-2882.
- Zhang, Z. L. & Zhou, J. L. (2007).** Simultaneous determination of various pharmaceutical compounds in water by solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1154**, 205-213.
- Zhao, X. & Metcalfe, C. D. (2008).** Characterizing and compensating for matrix effects using atmospheric pressure chemical ionization liquid chromatography-tandem mass spectrometry: analysis of neutral pharmaceuticals in municipal wastewater. *Anal Chem* **80**, 2010-2017.
- Zuccato, E., Calamari, D., Natangelo, M. & Fanelli, R. (2000).** Presence of therapeutic drugs in the environment. *Lancet* **355**, 1789-1790.
- Zuccato, E., Castiglioni, S. & Fanelli, R. (2005).** Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *J Hazard Mater* **122**, 205-209.
- Zwiener, C. (2007).** Occurrence and analysis of pharmaceuticals and their transformation products in drinking water treatment. *Anal Bioanal Chem* **387**, 1159-1162.
- Zwiener, C. & Frimmel, F. H. (2004).** LC-MS analysis in the aquatic environment and in water treatment--a critical review. Part I: Instrumentation and general aspects of analysis and detection. *Anal Bioanal Chem* **378**, 851-861.
- Zwiener, C., Seeger, S., Glauner, T. & Frimmel, F. H. (2002).** Metabolites from the biodegradation of pharmaceutical residues of ibuprofen in biofilm reactors and batch experiments. *Anal Bioanal Chem* **372**, 569-575.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1

Détection de produits pharmaceutiques dans les compartiments aquatiques en France

Classe thérapeutique/ molécule	Compartiment	Concentrations reportées (max) ng L ⁻¹	Fleuves et Rivières Estuaire et mer	Réf.
Analgésiques et anti-inflammatoires				
Paracétamol	Eaux de surface			
	Rivière Bassin Ile de France	273 470 78	Seine Marne Oise	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006)
	Affluents estuaire de la Seine	350	Ste Gertrude, Risle, Rançon, Austreberthe, Eure, Robec, Cailly, Commerce, Andelle (A)	(Togola, 2006)
	Affluents de l'Hérault	68 72	Thongue Lergue	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Affluent de la Garonne	250	Jalles d'Eysines	(Togola, 2006)
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	Vilaine, Allier, Loire, Vienne, Clain, Moine (B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	20 45 200	Estuaire de la Loire Sèvre Niortaise estuaire du Gouët	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Eaux souterraines			
	Bassin Loire Bretagne	< 12		(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	bassin de l'Hérault	211		(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eau de mer			
	Méditerranée	250 µg L ⁻¹	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008)
Acide acétylsalicylique	Eaux de surface			
	Estuaires Loire Bretagne Normandie	4 27 28 196	Gironde; Loire; Adour; Seine	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2007)
	Fleuve	30	Meuse	(Togola, 2006)
	Affluents estuaire de la Seine	300	(A)	(Togola, 2006)
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	affluent de la Garonne	40	Jalles d'Eysines	(Togola, 2006)
	Eaux souterraines			
	Bassin Loire-Bretagne	43		(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	bassin de l'Hérault	1,4		(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)

	Eau de mer			
	Méditerranée	8000	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008)
Ibuprofène	Eaux de surface			
	Fleuves et rivière Bassin Ile de France	25	Seine à Paris	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		120	Seine à Achères (aval Paris)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)
		37	Meuse	(Togola, 2006)
	Affluents Estuaire de la Seine	≈ 50	(A)	(Togola, 2006)
	Estuaire	611	Seine	(Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2007)
	Rivière et affluents bassin de l'Hérault	3,5 4,5 0,3	Thongue; Lergue Hérault	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Affluent Garonne	80	Jalles d'Eysines	(Togola, 2006)
	Rivière Bouche du Rhône	5600 (en hiver)	L'Arc (0 à 0,3 m3/s) Zone semi-rurale Rousset	(Comoretto & Chiron, 2005)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	3 9 37	Gironde ; Loire ; Adour;	(Budzinski & Togola, 2006)
	Eaux souterraines			
	bassin de l'Hérault	0,6		(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eau de mer			
	Méditerranée	1000	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008)
Kétoprofène	Eaux de surface			
	Fleuve	86	Seine	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Budzinski & Togola, 2006; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
	Affluents de l'Estuaire de la Seine	100	(A)	(Togola, 2006)
	Estuaire	33	Seine	(Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2007)
	Fleuve	10	Meuse	(Togola, 2006)
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	24 9 3	Gironde ; Loire ; Adour;	(Budzinski & Togola, 2006)
	Rivière et affluents bassin de l'Hérault	3 15 3	Thongue; Lergue Hérault	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eaux souterraines			
	bassin de l'Hérault	3		(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eau de mer			
Méditerranée	6000	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006)	

Naproxène	Eaux de surface			
	Fleuve	35	Seine	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Budzinski & Togola, 2006; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
	Affluents de l'Estuaire de la Seine	≈ 50	(A)	(Togola, 2006)
	Estuaire	185	Seine	(Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2007)
	Fleuve	23	Meuse	(Togola, 2006)
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	7 8 6 ≈ 200	Gironde ; Loire ; Adour; estuaire du Gouët	(Budzinski & Togola, 2006; Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Rivière et affluents bassin de l'Hérault	7 9 <	Thongue; Lergue Hérault	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eaux souterraines			
	bassin de l'Hérault	0,2		(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eau de mer			
	Méditerranée	2000	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008)
Diclofénac	Eaux de surface			
	Fleuve Rivière Bassin Ile de France	90	Seine à Paris	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		40	Seine à Achères (aval Paris)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)
		119 121	Marne Oise	(Branchereau, Fauchon <i>et al.</i> 2006)
	Affluents de l'Estuaire de la Seine	≈ 120	(A)	(Togola, 2006)
	Estuaire	380	Seine	(Togola & Budzinski, 2007) (Togola, 2006)
	Fleuve	29	Meuse	(Togola, 2006)
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	affluent de la Garonne	90	Jalles d'Eysines	(Togola, 2006)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	7 - 10 ≈ 100	Gironde ; Loire ; Adour; Sèvre Niortaise; estuaire du Gouët	(Budzinski & Togola, 2006; Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Rivière et affluents bassin de l'Hérault	11 33 2	Thongue; Lergue Hérault	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Rivière Bouche du Rhône	Non précisé	L'Arc (0 à 0,3 m3/s) Zone semi-rurale Rousset	(Comoretto & Chiron, 2005)
	Eaux souterraines			
	bassin de l'Hérault	2,5		(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eau de mer			
	Méditerranée	1000	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008)

Traitements HTA (Diurétique et β -bloquants)					
Furosémide	Eaux de surface				
	Rivières, affluents et Estuaire Bassin Loire Bretagne	Non précisé	Vilaine, Allier, Loire, Vienne, Clain, Moine	(Togola <i>et al.</i> , 2008)	
		≈ 100	Estuaire du Gouët		
Aténolol	Eaux de surface				
	Fleuve Ile de France	36	Seine	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)	
		110	Seine à Achères (aval Paris)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)	
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)	
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	≈ 10	Estuaire de la Loire Sèvre Niortaise estuaire du Gouët	(Togola <i>et al.</i> , 2008)	
≈ 50 ≈ 200					
Propranolol	Eaux de surface				
	Fleuve Ile de France	12	Seine	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)	
		120	Seine à Achères (aval Paris)		(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	Vilaine, Allier, Loire, Vienne, Clain, Moine	(Togola <i>et al.</i> , 2008)	
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	≈ 15 ≈ 200	Sèvre Niortaise estuaire du Gouët	(Togola <i>et al.</i> , 2008)	
Sotalol	Eaux de surface				
	Fleuve	63	Seine à Paris et Achères	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)	
Métoprolol	Eaux de surface				
	Fleuve	10	Seine à Paris et Achères	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)	
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)	
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	≈ 10 ≈ 20 ≈ 100	Estuaire de la Loire Sèvre Niortaise estuaire du Gouët		
Céliprolol	Eaux de surface				
	Fleuve Bassin Ile de France	350	Seine (Paris et aval)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)	
Carbamazépine	Psychotropes				
	Eaux de surface				
	Fleuve Rivière Bassin Ile de France	80	Seine	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)	
		800	Seine		(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)
		33 50	Marne Oise		(Branchereau, Fauchon <i>et al.</i> 2006)
	Affluents de l'Estuaire de la Seine	≈ 80	(A)	(Togola, 2006)	
	Estuaire	164	Seine	(Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2007)	
	Fleuve	196	Meuse	(Togola, 2006)	
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B) et Loire aval Angers et aval Orléans,	(Togola <i>et al.</i> , 2008)	
	affluent de la Garonne	110	Jalles d'Eysines	(Togola, 2006)	

	Estuaire Bassin Loire Bretagne	13 228 8 80 90 500 à 1000	Gironde Loire Adour Estuaire de la Loire Sèvre Niortaise estuaire du Gouët (Vilaine)	(Budzinski & Togola, 2006; Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Rivière et affluents bassin de l'Hérault	24 56 <	Thongue; Lergue Hérault	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Rivière Bouche du Rhône	1150 (été)	L'Arc (0 à 0,3 m ³ /s) Zone semi-rurale Rousset	(Comoretto & Chiron, 2005)
		6720 (hiver)	l'Arc (5 à 8 m ³ .s ⁻¹) Zone habitée Aix en Provence	(Feitosa-Felizzola & Chiron, 2009)
	Eaux souterraines			
	Bassin Loire-Bretagne	23	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	bassin de l'Hérault	43		(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eau de mer			
	Méditerranée	1000	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008)
Oxazépam	Eaux de surface			
	Rivières Bassin Loire-Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	50 80 1000 à 2200	Estuaire de la Loire Sèvre Niortaise; Estuaire du Gouët	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Eaux souterraines			
	Bassin Loire-Bretagne	3		(Togola <i>et al.</i> , 2008)
Bromazépam	Eaux de surface			
	Rivières Bassin Loire-Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	50 ≈ 400	Estuaire de la Loire Estuaire du Gouët	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Eaux souterraines			
	Bassin Loire-Bretagne	161		(Togola <i>et al.</i> , 2008)
Lorazépam	Eaux de surface			
	Rivières Bassin Loire-Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	≈ 30	Estuaire du Gouët	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
Diazépam	Eaux de surface			
	Fleuve	8	Meuse	(Togola, 2006)
	Eau de mer			
	Méditerranée	< 10	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008)
Alprazolam	Eaux de surface			
	Rivières Bassin Loire-Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
Zolpidem	Eaux de surface			
	Rivières Bassin Loire-Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
Amitryptiline	Eau de mer			

	Méditerranée	25	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008)
Caféine	Eaux de surface			
	Fleuve	199	Meuse	(Togola, 2006)
	Affluents de l'Estuaire de la Seine	≈ 120	(A)	(Togola, 2006)
	Estuaire	860	Seine	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2007)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	31 73 16	Gironde ; Loire ; Adour	(Budzinski & Togola, 2006)
	Rivière et affluents bassin de l'Hérault	103 107 25	Thongue; Lergue Hérault	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eaux souterraines			
	bassin de l'Hérault	23		(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	Eau de mer			
	Méditerranée	8000	Calanque Cortiou	(Budzinski & Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2008)
Antiasthmatique et bronchodilatateur				
Clenbuterol	Eaux de surface			
	Fleuve	5	Meuse	(Togola, 2006)
Régulateurs de lipides (Fibrates)				
Fénofibrate	Eaux de surface			
	Fleuve Rivière Bassin Ile de France	179	Seine	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		45 212	Marne Oise	(Branchereau, Fauchon <i>et al.</i> 2006)
	Rivière Loire Bretagne	Non précisé	Loire aval Orléans	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
Acide fénofibrique	Eaux de surface			
	Fleuve Rivière Bassin Ile de France	118	Seine à Paris et Achères	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
	Rivière Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	< 10 < 10 ≈ 20	Estuaire de la Loire Sèvre Niortaise estuaire du Gouët	
Bézafibrate	Eaux de surface			
	Fleuve Rivière Bassin Ile de France	48	Seine	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		430	Seine à Achères (aval Paris)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)
		38	Marne	(Branchereau, Fauchon <i>et al.</i> 2006)
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	0 à 40	Allier, Loire, Vienne, Clain, Moine	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	≈ 20 ≈ 30	Sèvre Niortaise estuaire du Gouët	
	Rivière Bouche du Rhône	780 (été)	L'Arc (0 à 0,3 m3/s) Zone semi-rurale Rousset	(Comoretto & Chiron, 2005)
Gemfibrozil	Eaux de surface			

	Fleuve Rivière Bassin Ile de France	13	Seine	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		120	Seine à Achères (aval Paris)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)
		2	Meuse	(Togola, 2006)
	Affluents de l'Estuaire de la Seine	≈ 20	(A)	(Budzinski & Togola, 2006; Togola, 2006; Togola & Budzinski, 2007)
		126		
	Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
	Estuaire Bassin Loire Bretagne	4	Gironde ; Loire ; Adour; Estuaire de la Loire Sèvre Niortaise; estuaire du Gouët (Vilaine)	(Budzinski & Togola, 2006; Togola <i>et al.</i> , 2008)
		5		
		9		
< 10				
20				
Rivière et affluents bassin de l'Hérault	1 2,3 <	Thongue; Lergue Hérault	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)	
Rivière Bouche du Rhône	Non précisé	L'Arc (0 à 0,3 m ³ /s) Zone semi-rurale Rousset	(Comoretto & Chiron, 2005)	
Acide clofibrique	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	50	Seine à Achères (aval Paris)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)
Antibiotiques				
Oxytétracycline	Eaux de surface			
	Fleuve Rivière Bassin Ile de France	74	Oise	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006)
	Rivière Bouche du Rhône	680	l'Arc (5 à 8 m ³ .s ⁻¹) Zone habitée Aix en Provence	(Feitosa-Felizzola & Chiron, 2009)
Amoxicilline	Eaux de surface			
	Fleuve Rivière Bassin Ile de France	11	Seine	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Dicloxacilline	Eaux de surface			
	Fleuve Rivière Bassin Ile de France	5	Seine	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Sulfaméthoxazole	Eaux de surface			
	Fleuves et affluent Bassin Ile de France Normandie	202	Seine à Paris	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		154	Seine entre Paris et Poses	(Tamtam <i>et al.</i> , 2007)
		33	Marne	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Tamtam <i>et al.</i> , 2007)
		540	Seine en aval de Poses Estuaires	(Tamtam <i>et al.</i> , 2008)
	Rivière Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
Estuaire Bassin Loire Bretagne	20 120 ≈ 200	Estuaire de la Loire Sèvre Niortaise estuaire du Gouët		
Sulfadimidine (sulfaméthazine)	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	2	Seine à Paris	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Triméthoprime	Eaux de surface			

	Fleuve Bassin Ile de France Normandie	3	Seine à Paris	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		20	Seine entre Paris et Poses	(Tamtam <i>et al.</i> , 2007)
		45	Seine en aval de Poses Estuaires	(Tamtam <i>et al.</i> , 2008)
	Rivière Bassin Loire Bretagne	Non précisé	(B)	(Togola <i>et al.</i> , 2008)
Estuaire Bassin Loire Bretagne	< 10 < 10 < 10	Estuaire de la Loire Sèvre Niortaise estuaire du Gouët		
Clarithromycine	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	75	Seine	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
	Rivière Bouche du Rhône	2330 (en hiver)	l'Arc (5 à 8 m ³ .s ⁻¹) Zone habité Aix en Provence	(Feitosa-Felizzola & Chiron, 2009)
Roxithromycine	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	36	Seine	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		240	Marne	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006)
Erythromycine	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	75	Seine à Paris	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		200	Seine à Achères (aval Paris)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)
		118	Marne	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006)
Azithromycine	Eaux de surface			
Fleuve Bassin Ile de France	5	Seine	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)	
Clindamycine	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	1	Seine	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Spiramycine	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	4	Seine	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Tylosine	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	31	Marne	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006)
Ciprofloxacin	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Seine - Haute Normandie	32	Seine	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		38	Marne	(Branchereau <i>et al.</i> , 2006)
		11	Seine en aval de Poses Estuaires	(Tamtam <i>et al.</i> , 2007; Tamtam <i>et al.</i> , 2008)
	Bassin de la Blaise Haute Marne	5	Affluent	(Eurin <i>et al.</i> , 2005)
Rivière Bouche du Rhône	9660 (en été)	l'Arc (5 à 8 m ³ .s ⁻¹) Zone habité Aix en Provence	(Feitosa-Felizzola & Chiron, 2009)	
Norfloxacin	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Seine - Haute Normandie	12	Marne	(Tamtam <i>et al.</i> , 2007; Tamtam <i>et al.</i> , 2008)
		154	Seine entre Paris et Poses	
163		Seine en aval de Poses Estuaires		
Ofloxacin	Eaux de surface			

	Fleuve Bassin Ile de France Normandie	5	Seine à Paris	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		30	Seine entre Paris et Poses	(Tamtam <i>et al.</i> , 2007)
		55	Seine en aval de Poses Estuaires	(Tamtam <i>et al.</i> , 2008)
Danafloxacin	Eaux de surface			
	Bassin Seine - Haute Normandie	19	Seine à Poses	(Tamtam <i>et al.</i> , 2008)
Fluméquine	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France Normandie	32	Seine en aval de Poses Estuaires	(Tamtam <i>et al.</i> , 2007; Tamtam <i>et al.</i> , 2008)
	Bassin de la Blaise Haute Marne	10	Affluent	(Eurin <i>et al.</i> , 2005)
Ac. oxolinique	Eaux de surface			
	Bassin Ile de France	140	Seine à Jussieu	(Eurin <i>et al.</i> , 2006)
	Bassin Seine - Haute Normandie	19	Seine à Poses	(Tamtam <i>et al.</i> , 2008)
	Bassin de la Blaise Haute Marne	5	Affluent	(Eurin <i>et al.</i> , 2005)
Produits de contraste				
Iopamidol	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	456	Seine à Paris et aval	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Iomeprol	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	411	Seine à Paris et aval	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Acide ioxithalamique	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	438	Seine à Paris et aval	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002; Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Acide amidotrizoïque	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	129	Seine à Paris	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Iohexol	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	115	Seine	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
		440	Seine à Achères (aval Paris)	(Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)
Acide ioxaglique	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	39	Seine	(Paffoni <i>et al.</i> , 2006)
Iopromide	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	11	Seine aval Paris	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005)
Diatrizoate	Eaux de surface			
	Fleuve Bassin Ile de France	118	Seine aval Paris	(Bruchet <i>et al.</i> , 2005; Janex-Habibi <i>et al.</i> , 2002)

(A) Affluents estuaire de la Seine : Ste Gertrude, Risle, Rançon, Austreberthe, Eure, Robec, Cailly, Commerce, Andelle

(B) Rivières et affluents Bassin Loire Bretagne : Loire aval Angers et aval Orléans, Vienne, Allier, Clain, Moine, Vilaine

Annexe 2

Sites de prélèvement

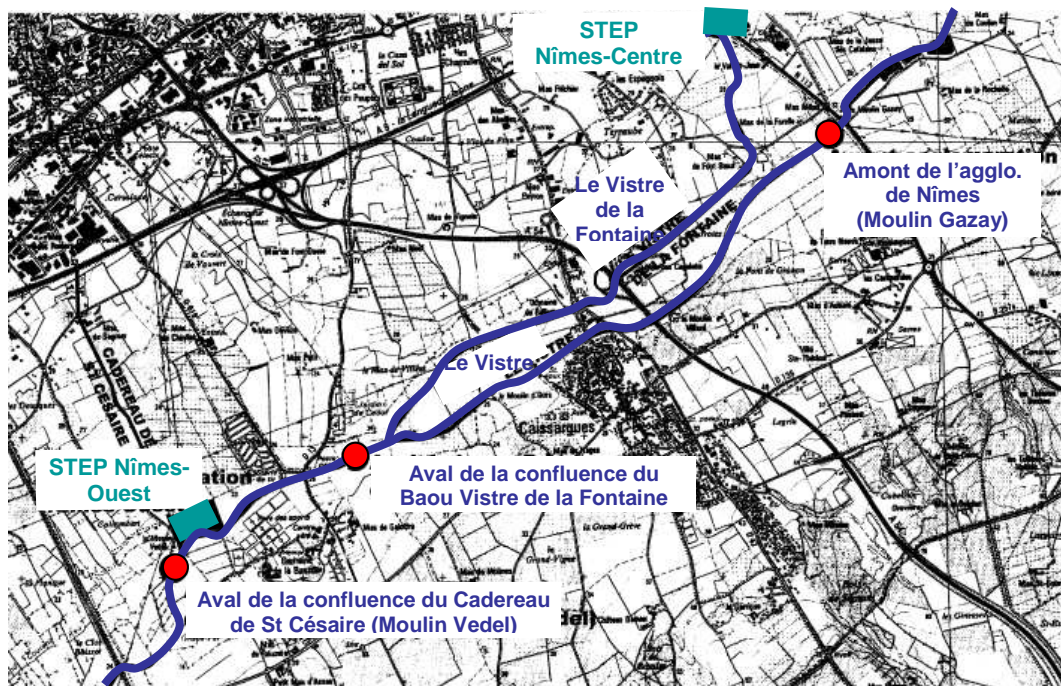
STEP de Lasalle (STEP 1)/Rivière La Salendrinque



STEP d'Alès (STEP 2)/Rivière Gardon d'Alès



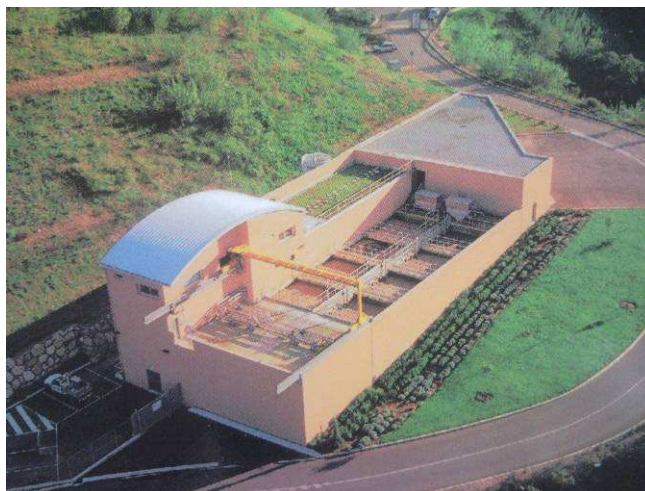
STEP Nîmes-Ouest (STEP 3)/Rivière Le Vistre



STEP Nice Haliotis (STEP 4)



STEP Grasse Les Roumigières (STEP 5)



STEP et lagune du Grau du Roi (STEP 6)



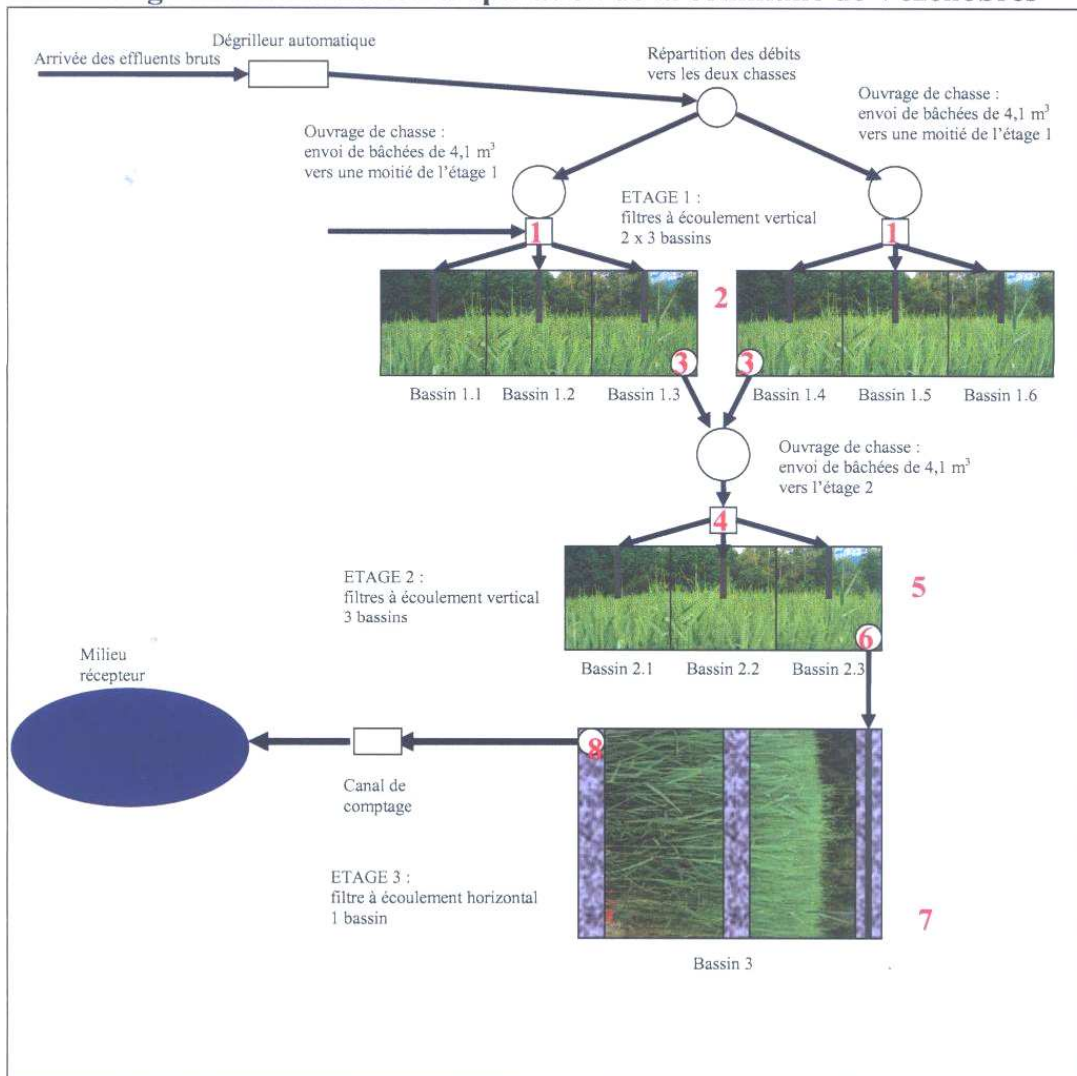
STEP de Vézénobres (STEP 7)



Septembre 2006

COMMUNE DE VEZENOBRES (30)

Plan général de la station d'épuration de la commune de Vézénobres



- | | |
|---|--|
| 1 Choix d'alimentation des bassins du 1 ^{er} étage | 5 Etage 2 |
| 2 Etage 1 | 6 Regard de collecte et de drainage de l'étage 2 |
| 3 Regard de collecte et de drainage de l'étage 1 | 7 Etage 3 |
| 4 Choix d'alimentation des bassins du 2 ^{ème} étage | 8 Regard de collecte et d'évacuation de l'étage 3 |

Annexe 3

Modélisation de la courbe concentration-effet par la régression de Weibull

La relation concentration-effet peut être interprétée par le modèle de régression de Weibull :

Équation 1

$$I_C = 1 - \exp(-\exp(\theta_1 + \theta_2 \log c))$$

Où :

I_c est l'effet obtenu à la concentration c

θ_1 et θ_2 sont les coefficients à déterminer

A partir des résultats expérimentaux obtenus : la concentration testée (c_i) et l'effet correspondant à cette concentration (I_{c_i}), les coefficients θ_1 et θ_2 sont déterminées à partir de L'Équation 1 transformée :

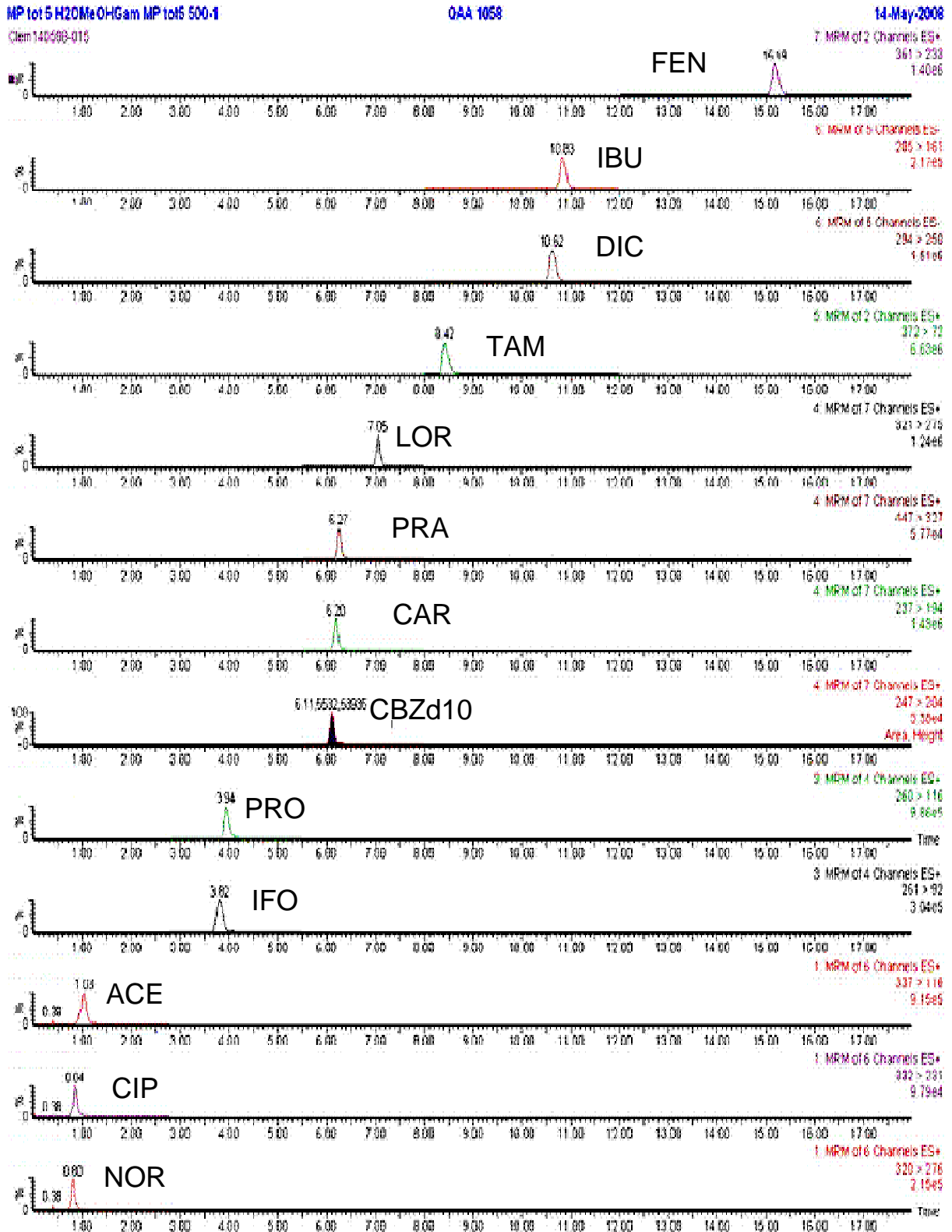
Équation 2

$$\ln(-\ln(1 - I_C)) = \theta_1 + \theta_2 \log c$$

La relation linéaire ainsi obtenue entre $\log c_i$ et $\ln(-\ln(1 - I_{c_i}))$ permet de déduire les coefficients θ_1 et θ_2 par une régression linéaire.

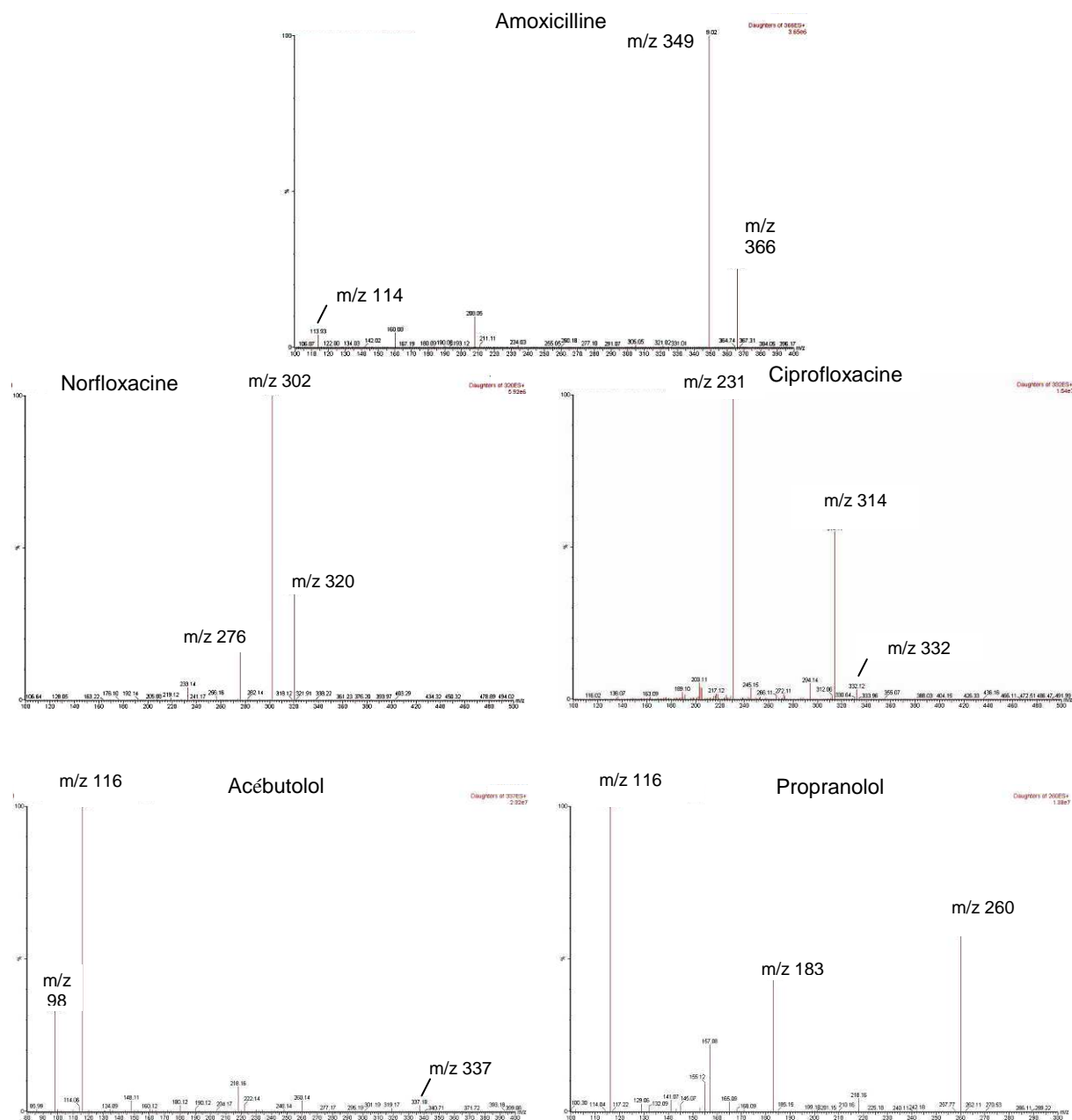
Annexe 4

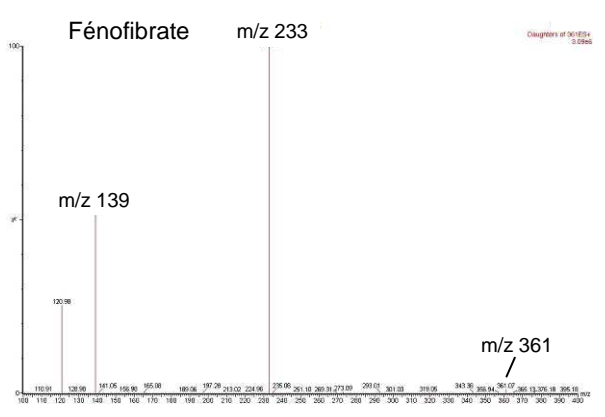
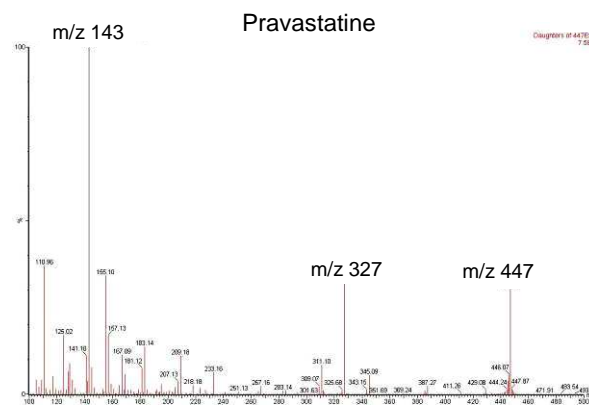
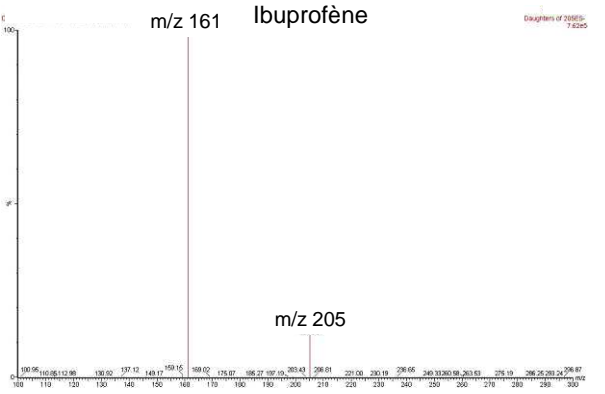
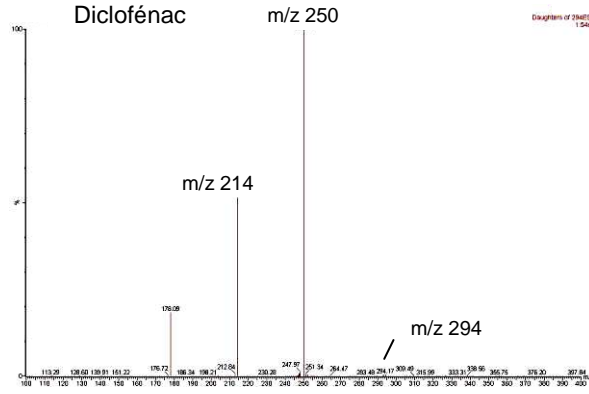
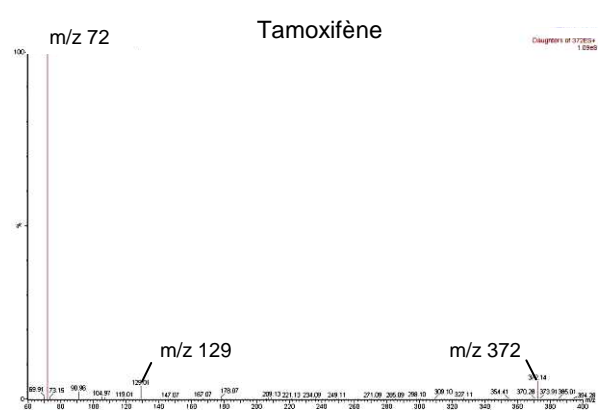
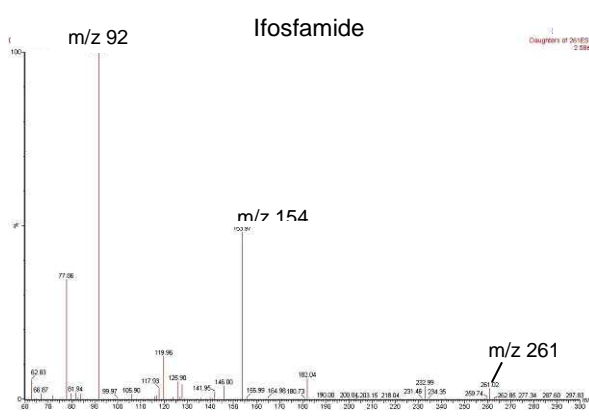
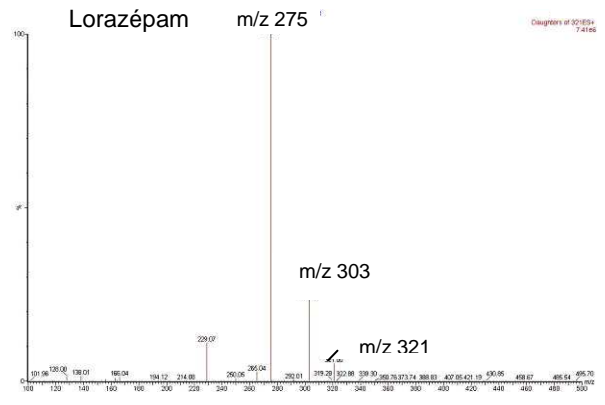
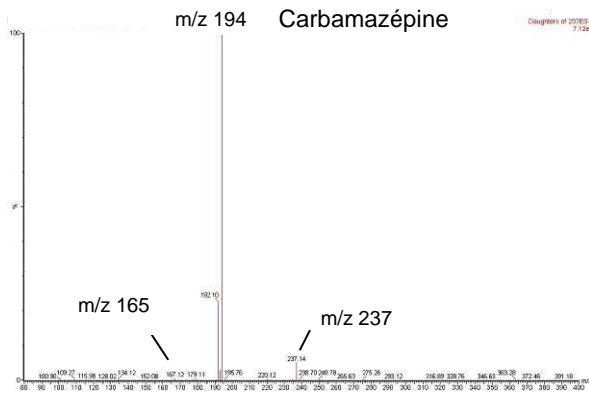
Chromatogrammes HPLC-MS/MS des PP's étudiés



Annexe 5

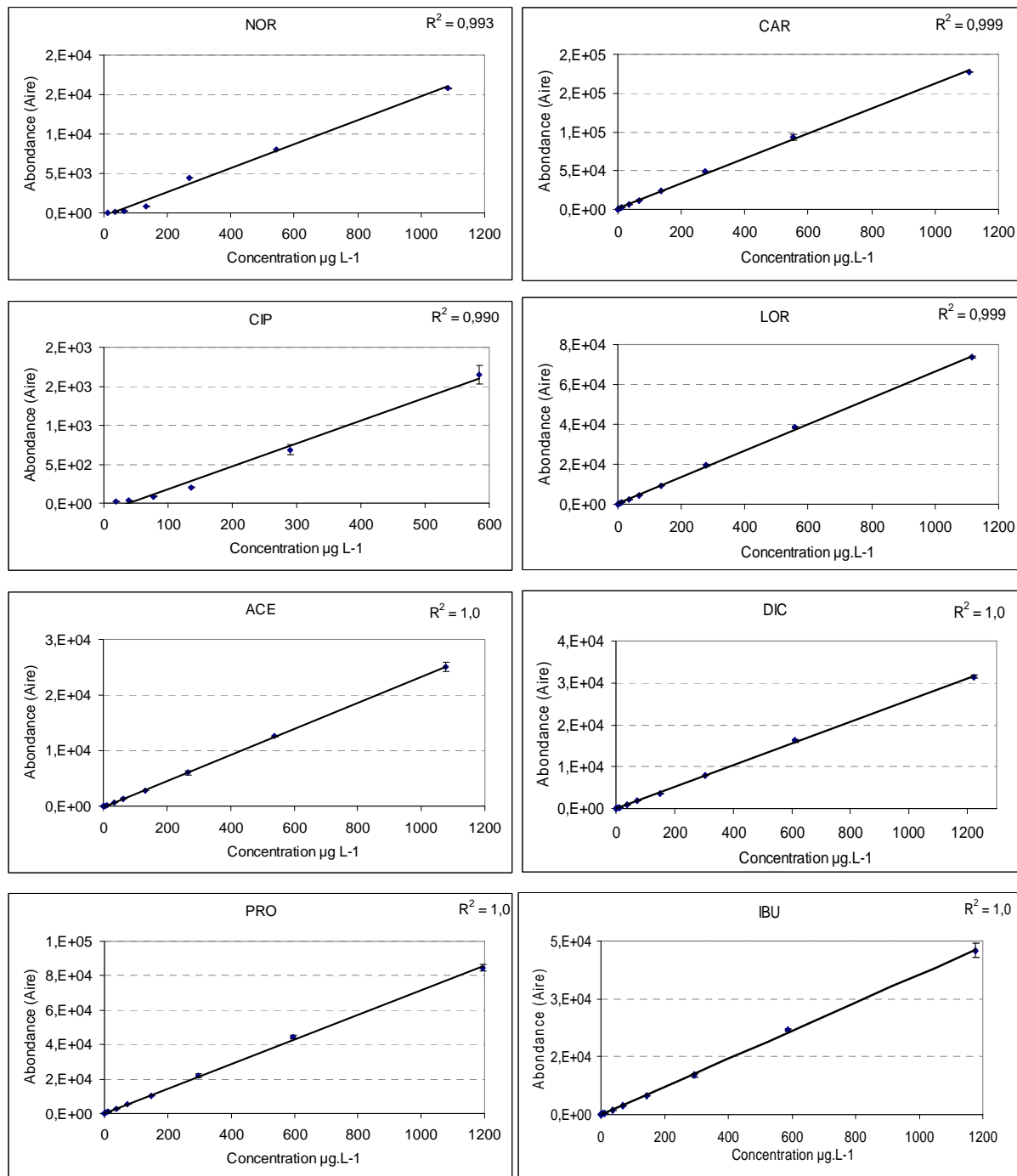
Spectres de masse ESI-MS/MS des PP étudiés

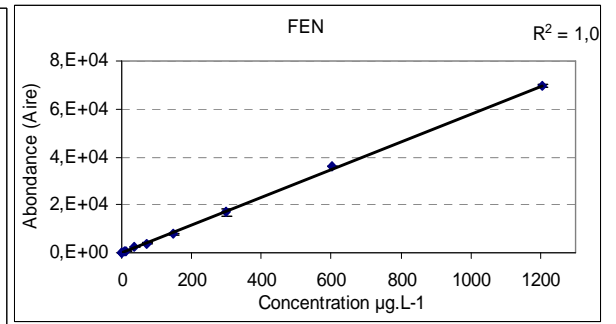
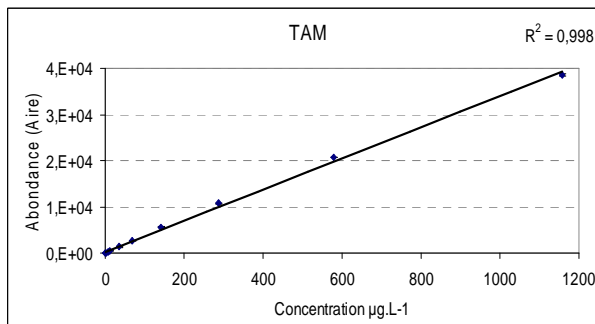
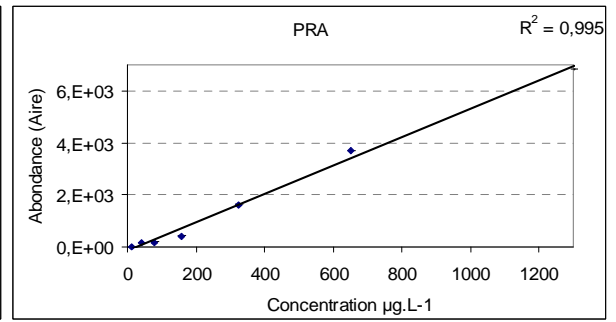
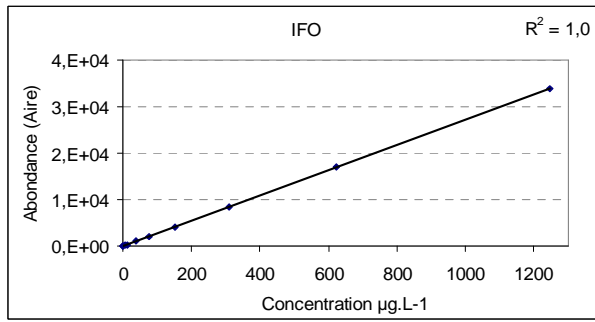




Annexe 6

Gamme de linéarité HPLC-MS/MS des PP's étudiés





Annexe 7

Concentration des PPs étudiés dans les effluents de STEP (ng L⁻¹)

Concentrations dans les effluents de STEP de Lasalle (STEP 1)

PPs	31/07/07	18/02/08	27/04/08	MOY
NOR	45 ± 1	33 ± 4	181 ± 15	86
CIP	na	132 ± 20	384 ± 43	258
ACE	93 ± 3	71 ± 2	94 ± 3	86
PRO	390 ± 6	673 ± 10	492 ± 19	518
IFO	< 4	< 4	< 4	0
PRA	< 8	< 8	< 8	0
CAR	166 ± 5	461 ± 9	636 ± 44	421
LOR	34 ± 2	41 ± 1	34 ± 2	36
TAM	< 6	< 6	< 6	0
DIC	315 ± 5	277 ± 6	342 ± 18	311
IBU	2 ± 1	25 ± 5	9 ± 1	12
FEN	< 6	27 ± 1	6 ± 1	11

Concentrations dans les effluents de STEP de Nîmes (STEP 3)

PPs	20/03/08	03/04/08	24/04/08	MOY
NOR	54 ± 3	56 ± 2	80 ± 12	63
CIP	121 ± 11	117 ± 5	171 ± 37	136
ACE	160 ± 6	146 ± 4	88 ± 13	131
PRO	159 ± 3	178 ± 4	96 ± 17	144
IFO	< 4	< 4	< 4	0
PRA	10 ± 3	< 8	< 8	3
CAR	292 ± 79	315 ± 6	368 ± 50	325
LOR	41 ± 1	40 ± 1	39 ± 5	40
TAM	< 6	< 6	< 6	0
DIC	319 ± 12	311 ± 9	172 ± 21	267
IBU	41 ± 2	17 ± 1	11 ± 1	23
FEN	8 ± 1	8 ± 1	9 ± 1	8

Concentrations dans les effluents de STEP de Nice (STEP 4)

PPs	18/02/08	03/03/08	14/03/08	25/04/08	MOY
NOR	145 ± 3	449 ± 61	347 ± 34	540 ± 63	370
CIP	498 ± 26	1338 ± 234	523 ± 32	1040 ± 121	850
ACE	214 ± 13	119 ± 1	220 ± 6	371 ± 59	231
PRO	119 ± 27	136 ± 16	240 ± 5	150 ± 34	161
IFO	< 4	< 4	10 ± 1	7 ± 2	4
PRA	35 ± 5	29 ± 4	86 ± 10	189 ± 42	85
CAR	326 ± 10	257 ± 8	492 ± 10	690 ± 128	441
LOR	25 ± 1	16 ± 1	35 ± 1	40 ± 6	29
TAM	< 6	< 6	< 6	< 6	0
DIC	156 ± 2	522 ± 16	476 ± 15	531 ± 76	421
IBU	267 ± 3	355 ± 7	494 ± 11	419 ± 36	384
FEN	42 ± 1	< 6	191 ± 39	25 ± 1	65

Concentrations dans les effluents de STEP de Grasse (STEP 5)

PPs	04/02/08	14/03/08	25/04/08	MOY
NOR	na	50 ± 12	92 ± 9	71
CIP	na	176 ± 15	394 ± 36	285
ACE	466 ± 8	102 ± 1	163 ± 12	244
PRO	179 ± 8	260 ± 11	193 ± 15	211
IFO	4,5 ± 0,7	< 4	< 4	2
PRA	< 8	< 8	< 8	0
CAR	725 ± 46	1038±41	1202 ± 86	988
LOR	45 ± 3	58 ± 2	64 ± 3	56
TAM	< 6	< 6	< 6	0
DIC	416 ± 25	495 ± 15	546 ± 29	486
IBU	89 ± 3	30 ± 3	19 ± 1	46
FEN	23 ± 2	9 ± 1	9 ± 1	14

Concentrations dans les effluents de STEP du Grau du Roi (STEP 6)

PPs	04/03/08	26/03/08	28/03/08	MOY
NOR	221 ± 17	76 ± 4	101 ± 17	133
CIP	284 ± 40	337 ± 21	103 ± 20	241
ACE	135 ± 8	117 ± 3	93 ± 2	115
PRO	281 ± 20	453 ± 12	453 ± 24	396
IFO	< 4	< 4	< 4	0
PRA	< 8	< 8	< 8	0
CAR	256 ± 20	361 ± 15	460 ± 16	359
LOR	33 ± 3	36 ± 1	43 ± 2	37
TAM	< 6	< 6	< 6	0
DIC	672 ± 37	534 ± 18	544 ± 18	583
IBU	77 ± 9	79 ± 3	26 ± 1	61
FEN	< 6	9 ± 1	11 ± 1	8

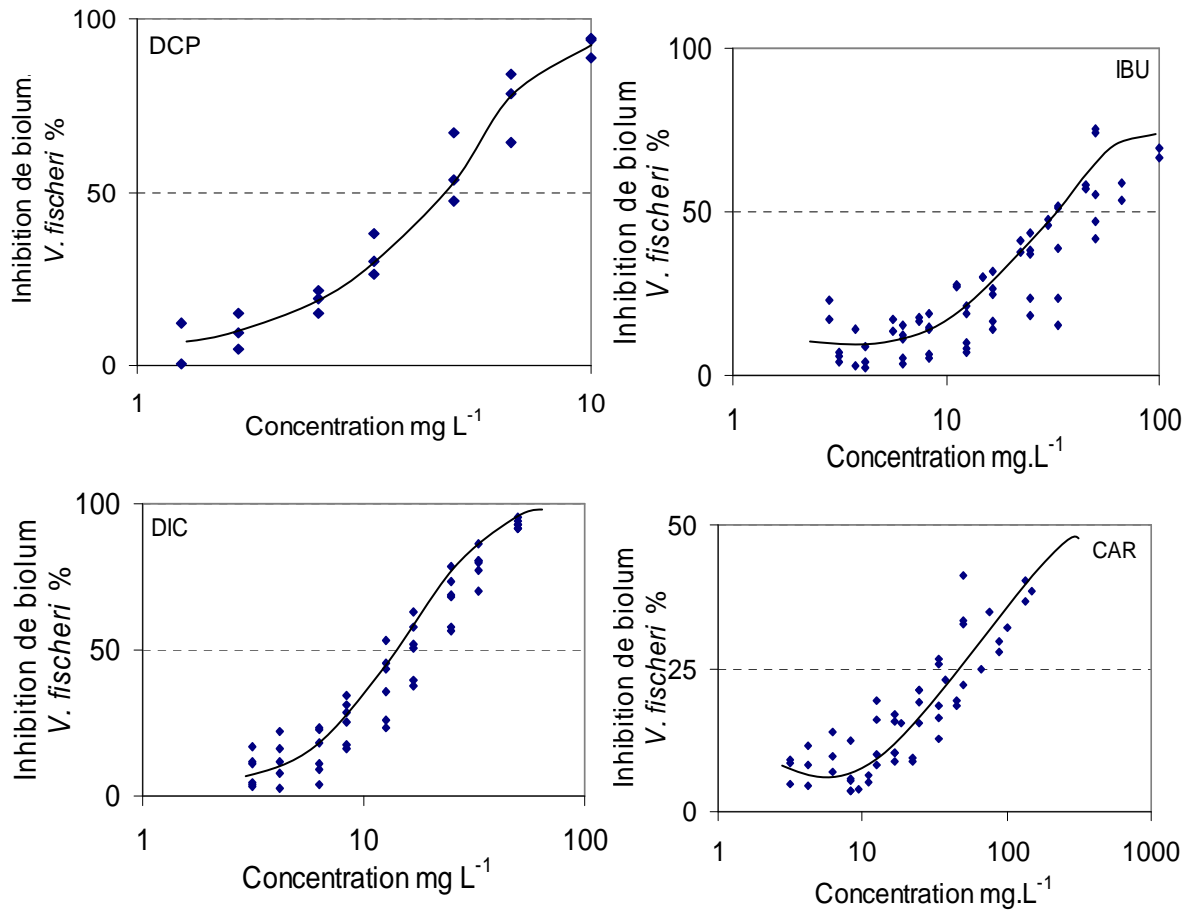
Concentrations dans les effluents de STEP de Vézénobres (STEP 7)

PPs	04/07/07	19/02/08	MOY
NOR	187 ± 37	41 ± 3	114
CIP	na	142 ± 16	142
ACE	733 ± 48	396 ± 20	565
PRO	248 ± 20	1603± 118	925
IFO	< 4	< 4	0
PRA	214 ± 17	16 ± 4	115
CAR	895 ± 107	132 ± 13	513
LOR	43 ± 6	10 ± 1	27
TAM	81 ± 42	< 6	41
DIC	732 ± 132	111 ± 8	422
IBU	962 ± 126	223 ± 26	592
FEN	27 ± 1	14 ± 1	21

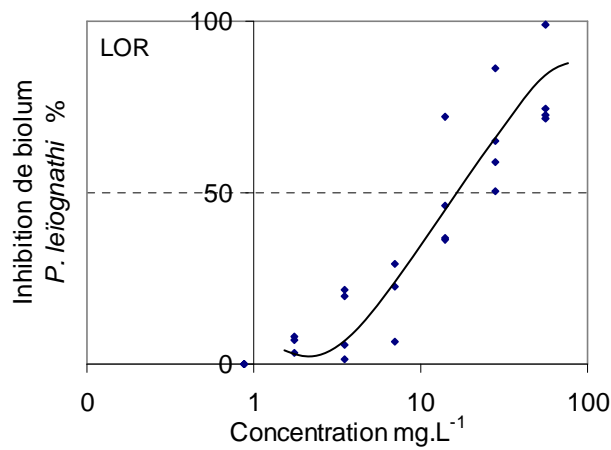
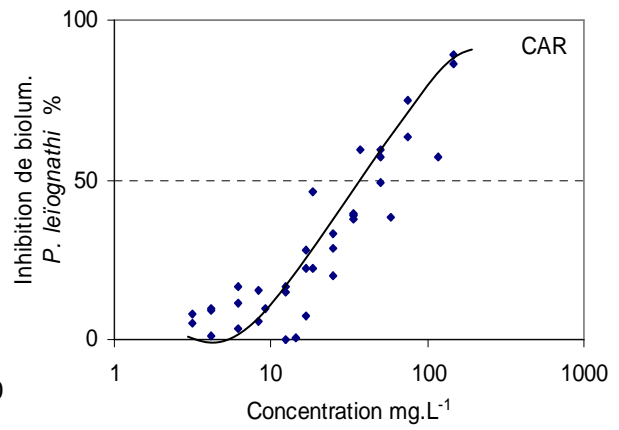
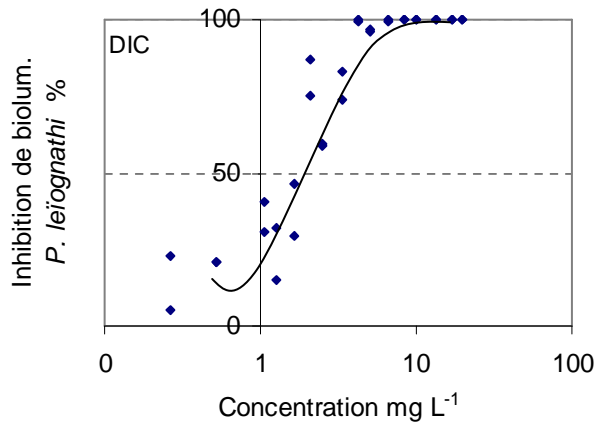
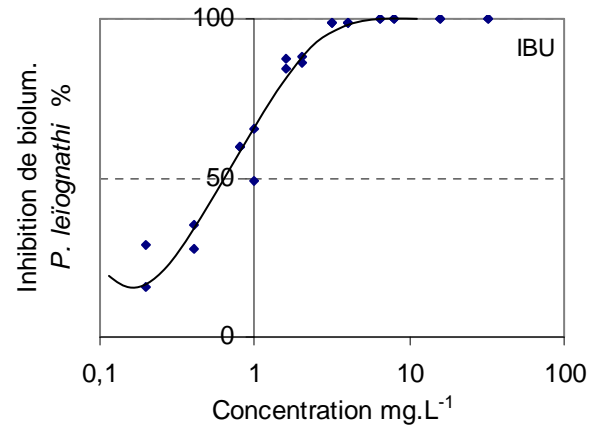
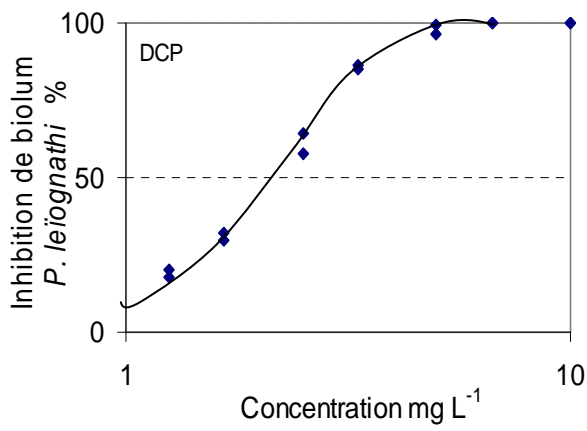
Annexe 8

Courbes concentration (échelle log)-effet des PPs : Microtox, ToxScreen et Protoxkit

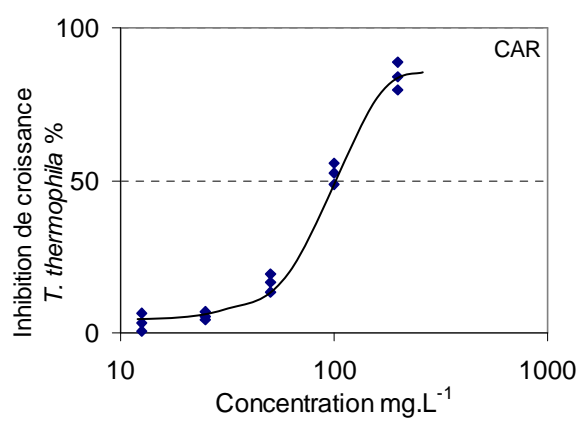
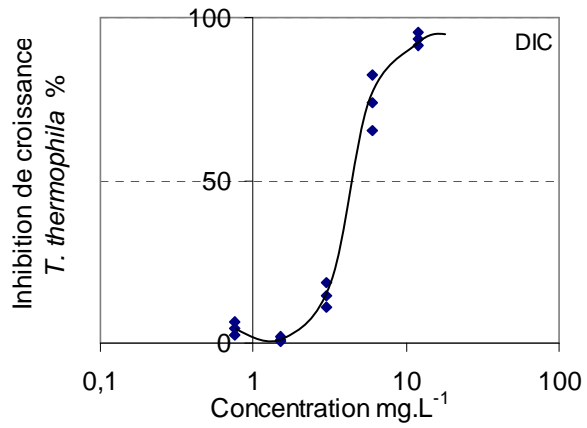
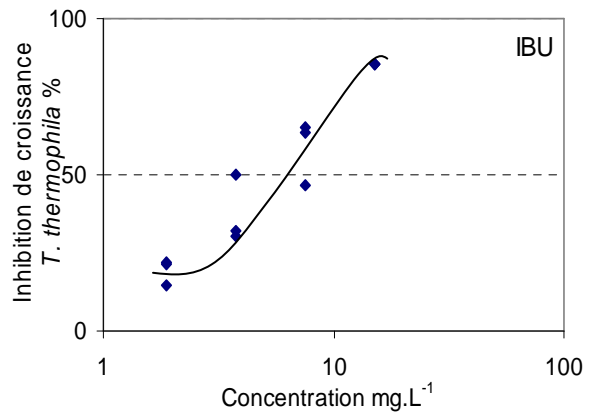
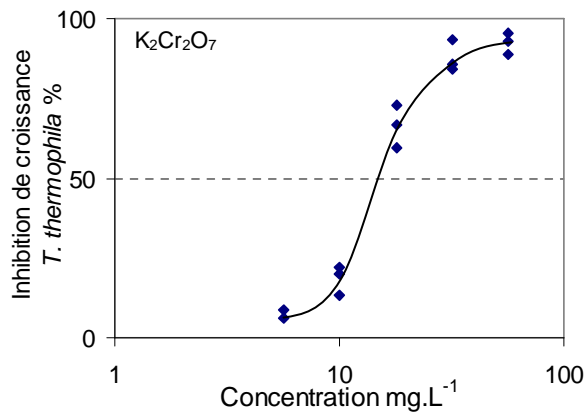
Test MICROTOX



Test ToxScreen



Test Protoxkit



Annexe 9

Données de toxicité reportées dans la littérature

Composés	Critères d'évaluation		Groupes taxonomiques	Valeurs d'information	Référence
Amoxicilline	Tox aigüe	Chlorophycée <i>Pseudokirkneriella subcapitata</i> et <i>Closterium ehrenbergii</i> et la Bacillariophycée <i>Cyclotella meneghiniana</i> inhibition de croissance 96 h	Algues eucaryotes	CE ₅₀ > 50 mg L ⁻¹	(Andreozzi <i>et al.</i> , 2004)
		<i>Synechococcus leopolensis</i> inhibition de croissance 96 h	Cyanophyte (Algues vertes)	CE ₅₀ = 2,22 µg L ⁻¹	
		<i>C. dubia</i> inhibition de la mobilité 48 h (EPA, 1999)	Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 2500 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)
	Tox chronique	<i>Microcystis aeruginosa</i> inhibition de croissance sur 7 jours	Cyanobactérie	CE ₅₀ = 0,0037 mg L ⁻¹	(Lützhöft <i>et al.</i> , 1999)
		<i>Synechococcus leopolensis</i> inhibition de croissance 96 h;	Algues vertes	NOEC = 0,78 µg L ⁻¹ ; LOEC = 1,56 µg L ⁻¹	(Andreozzi <i>et al.</i> , 2004)
		Rotokit™ <i>B. calyciflorus</i> reproduction 48h (Norme AFNOR)	Rotifères	CE ₅₀ > 2500 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)
		<i>C. dubia</i> reproduction 7 j (Norme AFNOR)	Invertébré crustacée		
		<i>D. rerio</i> mortalité embryonnaire et larvaire 10 jours (ISO 12890)	Poisson		
	Cytotoxicité	MTT PLHC-1 lignée cellulaire de Poisson 24 h,	Cellule Poisson	CE ₅₀ > 183 mg L ⁻¹ non cytotoxique	(Laville <i>et al.</i> , 2004)
		MTT <i>Onchorynchus mykiss</i> hepatocytes (PRTH) 24 h,		CE ₅₀ > 183 mg L ⁻¹ non cytotoxique	
Norfloxacin	Tox aigüe	<i>Selenastrum capricornutum</i> (<i>P. subcapitata</i> ATCC 22662) inhibition de croissance 72h OCDE 201	Algues	CE ₅₀ = 16,6 mg L ⁻¹ NOEC 4,01 mg L ⁻¹	(Eguchi <i>et al.</i> , 2004)
		<i>Chlorella vulgaris</i> inhibition de croissance 72h OCDE 201		CE ₅₀ = 10,4 mg L ⁻¹ NOEC 4,02 mg L ⁻¹	(Eguchi <i>et al.</i> , 2004)
	Tox chronique	<i>Inhibition de croissance 144 h Anabaena cylindrica</i> (NIES-19)	Cyanobactéries	NOEC = 0,025 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 0,053 mg L ⁻¹ MIC = 0,20 mg L ⁻¹ minimum inhibitory concentration	(Ando <i>et al.</i> , 2007)
		<i>Anabaena variabilis</i> (NIES-23)		NOEC = 0,0098 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 0,19 mg L ⁻¹ MIC = 2,5 mg L ⁻¹	
		<i>Microcystis aeruginosa</i> (NIES-44),		NOEC = 0,0016 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 0,062 mg L ⁻¹ MIC = 0,20 mg L ⁻¹	
		<i>Microcystis wesenbergii</i> (NIES-107)		CE ₅₀ = 0,038 mg L ⁻¹ NOEC = 0,0063 mg L ⁻¹ MIC = 0,20 mg L ⁻¹	
		<i>Nostoc sp.</i> (PCC 7120)		CE ₅₀ = 1,7 mg L ⁻¹ NOEC = 0,31 mg L ⁻¹ MIC = 5,0 mg L ⁻¹	
		<i>Synechococcus sp.</i> (PCC 7002)		CE ₅₀ = 0,63 mg L ⁻¹ NOEC = 0,16 mg L ⁻¹ MIC > 5,0 mg L ⁻¹	
		<i>Synechococcus leopoldensis</i> (IAM M-6)		CE ₅₀ = 0,63 mg L ⁻¹ NOEC = 0,16 mg L ⁻¹ MIC > 5,0 mg L ⁻¹	
		<i>Anabaena flos-aquae</i> (ATCC 29413)		CE ₅₀ = 0,039 mg L ⁻¹ NOEC = 0,29 mg L ⁻¹ MIC = 2,5 mg L ⁻¹	
		<i>V. fischeri</i> inhibition de luminescence 24h		Bactéries	
	<i>P. subcapitata</i> inhibition croissance 72 h	Algue verte	CE ₅₀ = 18 mg L ⁻¹ NOEC = 2 mg L ⁻¹ LOEC = 16 mg L ⁻¹	(Yang <i>et al.</i> , 2008)	
	<i>Lemna gibba</i> croissance poids frais Autres critères (Chla, nombre de fronde,...) 7j	Végétaux supérieurs	LOEC = 1000 µg L ⁻¹	(Brain <i>et al.</i> , 2004)	

Ciprofloxacine	Tox aigüe	<i>P. subcapitata</i> croissance test OCDE	Algues	CE ₅₀ = 2,97 mg L ⁻¹	(Halling-Sorensen <i>et al.</i> , 2000)	
		<i>D. magna</i> Mortalité 48h	Invertébré crustacée	EC ₁₀ /NOEC = 10 mg L ⁻¹	(Robinson <i>et al.</i> , 2005)	
		<i>D. magna</i> Mortalité 48h		NOEC = 60 mg L ⁻¹	(Halling-Sorensen <i>et al.</i> , 2000)	
		<i>Chironomus riparius</i> Larve test de mobilité 24h OCDE 218	Invertébré insecte	LC ₅₀ > 4,8 mg L ⁻¹	(Nentwig, 2008)	
		<i>Lumbriculus variegatus</i> mortalité 96h OCDE 218	Invertébré oligochaete	LC ₅₀ > 4,8 mg L ⁻¹		
		<i>Brachydanio rerio</i> 72h OCDE 203	Poisson	NOEC = 100 mg L ⁻¹	(Halling-Sorensen <i>et al.</i> , 2000)	
	Tox chronique	<i>M. aeruginosa</i> croissance 5j	Cyanobactéries	CE ₅₀ = 17 µg L ⁻¹	(Robinson <i>et al.</i> , 2005)	
		<i>M. aeruginosa</i> croissance 7 j	Cyanobactéries	CE ₅₀ = 5 µg L ⁻¹	(Halling-Sorensen <i>et al.</i> , 2000)	
		Boues activées	Bactéries	EC ₅₀ = 0,61 mg L ⁻¹		
		<i>Chlorella vulgaris</i> croissance 96h	Algues	CE ₅₀ = 20,6 mg L ⁻¹	(Nie <i>et al.</i> , 2008)	
		<i>P. subcapitata</i> inhibition croissance 72 h	Algue verte	CE ₅₀ = 6,7 mg L ⁻¹ NOEC < 5 mg L ⁻¹ LOEC = 5 mg L ⁻¹	(Yang <i>et al.</i> , 2008)	
		<i>P. subcapitata</i> croissance 3j	Algues	CE ₅₀ = 18700 µg L ⁻¹	(Robinson <i>et al.</i> , 2005)	
		<i>Chironomus riparius</i> Larve reproduction 28 jours OCDE 218	Invertébré insecte	LOEC = 4 µg.kg ⁻¹	(Nentwig, 2008)	
		<i>Lumbriculus variegatus</i> reproduction 28 jours OCDE 218	Invertébré oligochaete	LOEC = 1 µg.kg ⁻¹		
		<i>Potamopyrgus antipodarum</i> reproduction 56 jours	mollusque	LOEC = 0,8 µg L ⁻¹		
		L. minor reproduction 7j	Végétaux supérieurs	CE ₅₀ = 203 µg L ⁻¹	(Robinson <i>et al.</i> , 2005)	
		<i>L. gibba</i> croissance 7j	Végétaux supérieurs	LOEC = 300 µg L ⁻¹ EC ₁₀ = 106 µg L ⁻¹	(Brain <i>et al.</i> , 2004)	
		Pimephales promelas survie et croissance 7j (US EPA)	Poissons	NOEC/EC ₁₀ = 10 mg L ⁻¹	(Robinson <i>et al.</i> , 2005)	
		Acébutolol	Tox aigüe	<i>C. dubia</i> immobilisation 48 h test normalisé	Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 51 mg L ⁻¹
<i>C. dubia</i> inhibition de la mobilité 48 h (EPA, 1999)	Invertébré crustacée			CE ₅₀ = 90 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)	
Tox chronique	Rotokit™ <i>B. calyciflorus</i> reproduction 48h (Norme AFNOR)		Rotifères	LOEC = 250 mg L ⁻¹		
	<i>C. dubia</i> reproduction 7 j (Norme AFNOR)		Invertébré crustacée	LOEC > 62,5 mg L ⁻¹		
	<i>D. rerio</i> mortalité embryonnaire et larvaire 10 jours (ISO 12890)		Poisson	NOEC > 16 mg L ⁻¹		
Cytotoxicité	Viabilité cellulaire PLHC cellule hépatique de <i>Poeciliopsis lucidatest</i> MTT	Cellule de Poisson	CE ₅₀ > 3730 mg L ⁻¹	(Caminada <i>et al.</i> , 2006)		
Propranolol	Tox aigüe	<i>V. fischeri</i> Microtox inhibition de luminescence 30 min (AFNOR T90- 320-3)	Bactéries	EC ₅₀ = 61 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004)	
		<i>Synechococcus leopoldensis</i> 96 h croissance	Cyanobactérie	CE ₅₀ = 668 µg L ⁻¹		
		<i>P. subcapitata</i> 96 h croissance	Algues vertes	CE ₅₀ = 7,4 mg L ⁻¹		
		<i>Cyclotella meneghiniana</i> 96 h croissance	Diatomée	CE ₅₀ = 244 µg L ⁻¹		
		<i>B. calyciflorus</i> mortalité 24 h Well, 2001	Rotifère	CE ₅₀ = 2,59 mg L ⁻¹		
		Thamnoxkit F 24h tox lethale aigue larve de <i>Thamnocephalus platyurus</i>	crustacé anostracé	LC ₅₀ = 3,86 mg L ⁻¹ LOEC/NOEC 2,5/1,0 mg L ⁻¹	(Nalecz-Jawecki <i>et al.</i> , 2008)	
		<i>Spirotox Spirostomum ambiguum</i> 24 h	Protozoaire	CE ₅₀ = 1,77 mg L ⁻¹ LC ₅₀ = 2,22 mg L ⁻¹ LOEC = 1,25 mg L ⁻¹ NOEC = 0,62 mg L ⁻¹		
		<i>D. magna</i> , mortalité 48h (US EPA, 1991)	Invertébré crustacée	CL ₅₀ = 1,6 mg L ⁻¹		(Huggett <i>et al.</i> , 2002)
		<i>D. magna</i> mortalité 48 h AFNOR T90-301	Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 2,75 mg L ⁻¹		(Ferrari <i>et al.</i> , 2004)
		<i>C. dubia</i> mortalité 48h (US EPA, 1991) 48h	Invertébré crustacée	LC ₅₀ = 0,8 mg L ⁻¹		(Huggett <i>et al.</i> , 2002)

		<i>H. azteca</i> mortalité 48h	Invertébré arthropode crustacée	CL ₅₀ = 30 mg L ⁻¹	(Huggett <i>et al.</i> , 2002)	
		<i>C. dubia</i> immobilisation 48 h test normalisé	Invertébré crustacée planctonique	CE ₅₀ = 1,4 mg L ⁻¹	(Frayssé & Garric, 2005)	
		<i>C. dubia</i> inhibition de la mobilité 48 h (EPA 600/4-90/027, 1999)	Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 1,6 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004; Garric <i>et al.</i> , 2006)	
		<i>Oryzias latipes</i> (Japanese medaka) mortalité 48 h	Poisson	CL ₅₀ = 24,3 mg L ⁻¹	(Huggett <i>et al.</i> , 2002)	
	Tox chronique		<i>P. subcapitata</i> 96 h croissance	Algues vertes	NOEC = 5 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004)
			<i>Cyclotella meneghiniana</i> 96 h croissance	Diatomée	NOEC = 94 µg L ⁻¹	
			<i>Synechococcus leopoldensis</i> 96 h croissance	Cyanobactéries	NOEC = 350 µg L ⁻¹	
			<i>Brachionus calyciflorus</i> 48 h reproduction Rotoxkit™ AFNOR T90-377	Rotifères	NOEC = 180 µg L ⁻¹	
		Rotoxkit™ <i>B. calyciflorus</i> reproduction 48h (Norme AFNOR)	Rotifères	LOEC = 0,38 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 0,66 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)	
		<i>H. azteca</i> Reproduction 7 jours (US EPA, 1994)	invertébrés	NOEC = 1 µg L ⁻¹ LOEC = 0,1 mg L ⁻¹	(Huggett <i>et al.</i> , 2002)	
		<i>C. dubia</i> Reproduction 7 jours	invertébrés	NOEC = 0,125 mg L ⁻¹ LOEC = 0,25 mg L ⁻¹		
		<i>C. dubia</i> Reproduction 7 jours AFNOR T90-376	invertébrés	NOEC = 9 µg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004)	
		<i>C. dubia</i> reproduction 7 j (Norme AFNOR)	Invertébré crustacée	LOEC = 0,028 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 0,24 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)	
		<i>D. rerio</i> mortalité embryonnaire et larvaire 10 jours (ISO 12890)	Poisson	NOEC = 2 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 2,6 mg L ⁻¹		
		<i>Oryzias latipes</i> (Japanese medaka) Croissance 14 jours	Poisson	LOEC = 0,5 mg L ⁻¹	(Huggett <i>et al.</i> , 2002)	
		<i>Oryzias latipes</i> (Japanese medaka) reproduction 28 jours	Poisson	LOEC = 0,5 µg L ⁻¹		
	<i>D. rerio</i> mortalité embryonnaire et larvaire 10 jours (ISO 12890)	Poisson	NOEC = 2 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004)		
	Cytotoxicité		Viabilité cellulaire test MTT PLHC cellules hépatiques de <i>Poeciliopsis lucida</i>	Cellules de Poisson	CE ₅₀ = 47 mg L ⁻¹	(Caminada <i>et al.</i> , 2006)
			Viabilité cellulaire test MTT RTG cellules gonadiques de <i>Onchorynchus mykiss</i>		CE ₅₀ = 21 mg L ⁻¹	
			MTT PLHC-1 lignée cellulaire de Poisson 24 h		CE ₅₀ = 22 mg L ⁻¹	(Laville <i>et al.</i> , 2004)
			MTT <i>Onchorynchus mykiss</i> hepatocytes (PRTH) 24 h		CE ₅₀ = 118 mg L ⁻¹	
	Carbamazépine	Tox aigüe	<i>Chlorella vulgaris</i> croissance 48 h	Algues/	CE ₅₀ = 36,6 mg L ⁻¹	(Jos <i>et al.</i> , 2003)
<i>Synechococcus leopoldensis</i> 96 h croissance			Cyanobactérie	CE ₅₀ = 33,6 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004)	
<i>P. subcapitata</i> 96 h croissance			Algues vertes	CE ₅₀ > 100 mg L ⁻¹		
<i>Cyclotella meneghiniana</i> 96 h croissance			Diatomée	CE ₅₀ = 31,6 mg L ⁻¹		
<i>V. fischeri</i> Microtox luminescence 30 min (Norme AFNOR T90-320-3)			Bactéries	CE ₅₀ > 81 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2003)	
<i>V. fischeri</i> Microtox luminescence			Bactéries	CE ₅₀ (5 min) = 87 mg L ⁻¹ CE ₅₀ (15 min) = 78,5 mg L ⁻¹ CE ₅₀ (60 min) = 64 mg L ⁻¹	(Jos <i>et al.</i> , 2003)	
<i>Hydra attenuata</i> changement morphologique 96 h			Cnidaire	LC ₅₀ = 29,4 mg L ⁻¹	(Quinn <i>et al.</i> , 2008)	
<i>D. magna</i> immobilisation 48h (Norme EPA 600/4-90/027)			Invertébré crustacée	CE ₅₀ > 13,8 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2003)	
<i>D. magna</i> immobilisation 48h OCDE 202				CE ₅₀ = 98 mg L ⁻¹	(Jos <i>et al.</i> , 2003)	
<i>C. dubia</i> immobilisation 48h (EPA 600/4-90/027, 1991)			Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 77,7 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2003)	

		<i>C. dubia</i> inhibition de la mobilité 48 h (EPA, 1999)	Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 78 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)	
		<i>Allium cepa</i> croissance 72 h	Végétaux supérieurs	CE ₅₀ = 106 mg L ⁻¹	(Jos <i>et al.</i> , 2003)	
	Tox chronique	<i>Cyclotella meneghiniana</i> croissance 96 h	Diatom	NOEC = 10,0 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004)	
			<i>Synechococcus leopolensis</i> croissance 96 h	Cyanobactéries		NOEC = 17,5 mg L ⁻¹
		<i>P. subcapitata</i> croissance 96 h	Algues	NOEC > 100 mg L ⁻¹ ; LOEC > 100 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004; Ferrari <i>et al.</i> , 2003)	
		<i>B. calyciflorus</i> Rotoxkit™ reproduction 48 h (Norme AFNOR T90-377)	Rotifères	NOEC = 377 µg L ⁻¹ ; LOEC = 754 µg L ⁻¹		
		Rotoxkit™ <i>B. calyciflorus</i> reproduction 48h (Norme AFNOR T90-377)		LOEC = 0,75 mg L ⁻¹ ; CE ₅₀ = 1,6 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)	
		<i>Hydra attenuata</i> comportement alimentaire, fixation et croissance 96 h	Cnidaire	CE ₅₀ = 15,52 mg L ⁻¹ ; LOEC = 5 mg L ⁻¹ ; NOEC = 1 mg L ⁻¹	(Quinn <i>et al.</i> , 2008)	
		<i>C. dubia</i> reproduction 7 jours (Norme AFNOR T90-376)	Crustacée invertébré	NOEC = 25 µg L ⁻¹ ; LOEC = 100 µg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004; Ferrari <i>et al.</i> , 2003)	
		<i>C. dubia</i> reproduction 7 j (Norme AFNOR T90-376)	Invertébré crustacée	LOEC = 0,01 mg L ⁻¹ ; CE ₅₀ = 0,054 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)	
		<i>Chironomus tentans</i> mortalité et croissance 10 jours	Invertébré benthique	CL ₅₀ = 47,3 mg L ⁻¹ ; CE ₅₀ = 9,5 mg L ⁻¹ ; EC ₁₀ = 2,6 mg L ⁻¹	(Dussault <i>et al.</i> , 2008)	
		<i>Hyalella azteca</i> mortalité et croissance 10 jours	Invertébré benthique	CL ₅₀ = 9,9 mg L ⁻¹ ; CE ₅₀ = 2,4 mg L ⁻¹ ; CE ₁₀ = 1,4 mg L ⁻¹		
		<i>L. gibba</i>	Végétaux supérieures	CE ₁₀ > 1,0 mg L ⁻¹	(Brain <i>et al.</i> , 2004)	
		<i>Lemna minor</i>	Végétaux supérieures	CE ₅₀ = 25,5 mg L ⁻¹	(Cleuvers, 2003)	
		<i>Danio rerio</i> mortalité embryonnaire et larvaire 10 jours (Norme ISO 12890)	Poisson	NOEC = 25 mg L ⁻¹ ; LOEC = 50 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004; Ferrari <i>et al.</i> , 2003)	
		<i>D. rerio</i> mortalité embryonnaire et larvaire 10 jours (ISO 12890)	Poisson	NOEC = 25 mg L ⁻¹ ; CE ₅₀ = 53 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)	
	<i>Gammarus pulex</i> comportement	Invertébré Crustacé	LOEC = 10 ng L ⁻¹	(De Lange <i>et al.</i> , 2006)		
	Cytotoxicité	Viabilité cellulaire test MTT PLHC cellule hépatique de <i>Poeciliopsis lucida</i>	Cellules de Poisson	CE ₅₀ > 590 mg L ⁻¹	(Caminada <i>et al.</i> , 2006)	
				MTT PLHC-1 lignée cellulaire de Poisson 24 h,	CE ₅₀ = 154 mg L ⁻¹	(Laville <i>et al.</i> , 2004)
				MTT <i>Onchorynchus mykiss</i> hépatocytes (PRTH) 24 h,	CE ₅₀ = 75 mg L ⁻¹	
Croissance de cytopathologies dans le foie rein et branchies de <i>Onchorynchus mykiss</i> et <i>Cyprinus carpio</i> 28 jours		Organes Poisson	LOEC (rein) = 1 µg L ⁻¹ ; LOEC (foie) > 100 µg L ⁻¹	(Triebkorn <i>et al.</i> , 2007)		
Ifosfamide	Tox aigüe	<i>D. magna</i> OCDE 202 immobilisation 48 h	Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 162 mg L ⁻¹	(Schecker <i>et al.</i> , 1998) cité par (Buerge <i>et al.</i> , 2006)	
		<i>Salmo gairdeni</i> OCDE 203 96 h	Poisson	CL ₅₀ > 1000 mg L ⁻¹		
Tamoxifène	Tox aigüe	<i>B. calyciflorus</i> mortalité 24h	Crustacée	CL ₅₀ = 0,9 mg L ⁻¹	(DellaGreca <i>et al.</i> , 2007)	
		<i>T. platyurus</i> mortalité 24h	Crustacée	CL ₅₀ = 0,40 mg L ⁻¹		
		<i>D. magna</i> inhibition de croissance 24h	Crustacée	CE ₅₀ = 1,53 mg L ⁻¹		
		Paracentrotus lividus et Spherechinus granularis développement et mortalité embryonnaire 72 h	Echinidés Oursin	LOEC = 3,7 µg L ⁻¹	(Pagano <i>et al.</i> , 2001)	
	Tox chronique	<i>B. calyciflorus</i> inhibition de croissance 48h (ISO)	Rotifer	CE ₅₀ = 0,25 mg L ⁻¹	(DellaGreca <i>et al.</i> , 2007)	
		<i>C. dubia</i> inhibition de croissance 7 jours (ISO)	Invertébré arthropode	CE ₅₀ = 0,81 µg L ⁻¹		
		<i>Acartia tonsa</i> développement larvaire 5 jours	Copépodes crustacée	CE ₅₀ = 49 µg L ⁻¹ ; CE ₁₀ = 8,7 µg L ⁻¹	(Andersen <i>et al.</i> , 2001)	

		<i>P. promelas</i> cycle de vie reproduction 42 à 211 j	Poisson	NOEC = 5,12 µg L ⁻¹ LOEC = 5,6 µg L ⁻¹	(Williams <i>et al.</i> , 2007)
	Cytotoxicité	Viabilité cellulaire test MTT PLHC cellule hépatique de <i>Poeciliopsis lucida</i>	Cellules de Poisson	CE ₅₀ = 7,4 mg L ⁻¹	(Caminada <i>et al.</i> , 2006)
		Viabilité cellulaire test MTT RTG cellules gonadiques de <i>Onchorynchus mykiss</i>		CE ₅₀ = 7,1 mg L ⁻¹	
Diclofénac	Tox aigüe	<i>Synechococcus leopolensis</i> 96 h croissance	Cyanobactérie	CE ₅₀ = 14,5 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004)
		<i>P. subcapitata</i> 96 h croissance	Algues vertes	CE ₅₀ = 16,3 mg L ⁻¹	
		<i>Cyclotella meneghiniana</i> 96 h croissance	Diatomée	CE ₅₀ = 19,24 mg L ⁻¹	
		<i>V. fischeri</i> Microtox inhibition de luminescence 30 min (Norme AFNOR T90-320-3)	Bactéries	CE ₅₀ = 11,5 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2003)
		<i>V. fischeri</i> Microtox™ inhibition de luminescence 15 min	Bactéries	CE ₅₀ = 13,7 mg L ⁻¹	(Farre <i>et al.</i> , 2001)
		ToxAlert 100 inhibition de luminescence 15 min	Bactéries	CE ₅₀ = 13,5 mg L ⁻¹	
		<i>D. magna</i> immobilisation 48 h AFNOR T90-301	invertébré	CE ₅₀ = 22,4 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2003)
		<i>C. dubia</i> immobilisation 48h (US EPA 600/4-90/027 1991)	Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 22,7 mg L ⁻¹	
		<i>Gyps bengalensis</i> vautour mortalité et histopathologie dysfonctionnement rénaux	oiseau	LOEC = 7 µg.kg ⁻¹	(Oaks <i>et al.</i> , 2004)
	Tox chronique	<i>Synechococcus leopolensis</i> croissance 96 h	Cyanobactéries	NOEC = 10 mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2004; Ferrari <i>et al.</i> , 2003)
		<i>P. subcapitata</i> croissance 96 h	Algue verte	NOEC = 10 mg L ⁻¹ ; LOEC = 20 mg L ⁻¹	
		<i>Cyclotella meneghiniana</i> croissance 96 h	Diatomée	NOEC = 10 mg L ⁻¹	
		<i>B. calyciflorus</i> Rotoxkit™ reproduction 48 h (Norme AFNOR T90-377)	rotifère	NOEC = 12,5 mg L ⁻¹ ; LOEC = 25 mg L ⁻¹	
		<i>C. dubia</i> reproduction 7 jours (Norme AFNOR T90-376)	invertébré	NOEC = 1,0 mg L ⁻¹ ; LOEC = 2,0 mg L ⁻¹	
		<i>Lemna minor</i> croissance 7 jours norme ISO, 2001	Végétaux supérieures	CE ₅₀ = 7,5 mg L ⁻¹	(Cleuvers, 2003)
		<i>Danio rerio</i> mortalité embryonnaire et larvaire 10 jours (Norme ISO 12890)	Poisson	NOEC = 4 mg L ⁻¹ ; LOEC = 8mg L ⁻¹	(Ferrari <i>et al.</i> , 2003)
	Cytotoxicité	<i>Croissance de cytopathologies dans le foie rein et branchies de Onchorynchus mykiss et Cyprinus carpio 28 jours</i>	Organes Poisson	LOEC (foie, rein ou branchie) = 1µg L ⁻¹	(Tribskorn <i>et al.</i> , 2004; Tribskorn <i>et al.</i> , 2007)
		<i>Croissance de cytopathologies dans le foie rein et branchies de Onchorynchus mykiss Lésion rénale et altération des branchies</i>		LOEC = 5 µg L ⁻¹	(Schwaiger <i>et al.</i> , 2004)
	Cytotoxicité	MTT PLHC-1 lignée cellulaire de Poisson 24 h	Cellule Poisson	CE ₅₀ = 6 mg L ⁻¹	(Laville <i>et al.</i> , 2004)
		MTT <i>Onchorynchus mykiss</i> hepatocytes (PRTH) 24 h		CE ₅₀ = 134 mg L ⁻¹	
Viabilité cellulaire test MTT PLHC cellule hépatique de <i>Poeciliopsis lucida</i>		CE ₅₀ = 77 mg L ⁻¹		(Caminada <i>et al.</i> , 2006)	
Viabilité cellulaire test MTT RTG cellules gonadiques de <i>Onchorynchus mykiss</i>		CE ₅₀ = 566 mg L ⁻¹			
Ibuprofène	Tox aigüe	<i>V. fischeri</i> Microtox™ inhibition de la luminescence 15 min	Bactéries	CE ₅₀ = 19,1 mg L ⁻¹	(Farre <i>et al.</i> , 2001)
		ToxAlert 100 inhibition de la luminescence 15 min	Bactéries	CE ₅₀ = 12,1 mg L ⁻¹	(Farre <i>et al.</i> , 2001)
		<i>Skeletonema costatum</i> non spécifié 96 h	Diatomée	CE ₅₀ = 7,1 mg L ⁻¹	Knoll BASF (1995) cité par (Halling-Sorensen <i>et al.</i> , 1998)

		<i>Pseudokichneriella subcapitata</i> inhibition de croissance (Directive 92/69/EEC)	Algues	CE ₅₀ = 342,20 mg L ⁻¹	(Cleuvers, 2004)
		<i>Hydra attenuata</i> changement morphologique 96 h	Cnidaire	CL ₅₀ = 22,36 mg L ⁻¹	(Quinn <i>et al.</i> , 2008)
		<i>D. magna</i> immobilisation 48h (Directive 92/69/EEC)	invertébré	CE ₅₀ = 101,2 mg L ⁻¹	(Cleuvers, 2004)
		<i>D. magna</i> immobilisation 48h	invertébré	CE ₅₀ = 9,06 mg L ⁻¹	(Webb, 2004)
		<i>D. magna</i> mortalité 48 h	invertébré	CL ₅₀ = 132,6 mg L ⁻¹	(Han <i>et al.</i> , 2006)
		<i>Planorbis carinatus</i> mortalité 48 et 72 h	mollusque	CL ₅₀ = 17,1mg L ⁻¹	(Pounds <i>et al.</i> , 2008)
		<i>Xenopus laevis</i> Embryon de grenouille Teratogenesis Assay-Xenopus (FETAX) 96 h	Amphibien	CE ₁₀ = 30,7 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 39,9 mg L ⁻¹	(Richards & Cole, 2006)
		<i>Lepomis macrarchirus</i> mortalité 96h	Poisson	CL ₅₀ = 173 mg L ⁻¹ NOEC = 10 mg L ⁻¹	Knoll BASF (1995) cité par (Halling-Sorensen <i>et al.</i> , 1998)
		<i>Gammarus pulex</i> comportement 2h	Invertébré Crustacé	LOEC = 10 ng L ⁻¹	(De Lange <i>et al.</i> , 2006)
	Tox chronique	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	Algues/Bactéries	CE ₅₀ = 315,0 mg L ⁻¹	(Cleuvers, 2003)
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> inhibition de croissance 3 jours	Algues	NOEC = 10 µg L ⁻¹ LOEC = 32 µg L ⁻¹	(Brun <i>et al.</i> , 2006)
		<i>Synechocystis sp.</i> croissance 5 jours	Cyanobactéries	Stimulation de la croissance NOEC < 1µg L ⁻¹	(Pomati <i>et al.</i> , 2004)
		<i>D. magna</i> reproduction 21 j (US EPA)	Invertébré crustacée	NOEC = 20 mg L ⁻¹	(Han <i>et al.</i> , 2006)
		<i>D. magna</i> 14 jours Reproduction, Survie et croissance de la population		CE ₅₀ = 13,4 mg L ⁻¹ CE ₁₀ = 2,04 mg L ⁻¹ NOEC = 20 mg L ⁻¹ LOEC = 80 mg L ⁻¹	(Heckmann <i>et al.</i> , 2007)
		<i>Hydra vulgaris</i> régénération 1 à 7 jours	Cnidaire	NOEC > 0,01 mg L ⁻¹	(Pascoe <i>et al.</i> , 2003)
		<i>Hydra attenuata</i> comportement alimentaire, fixation et croissance 96 h		CE ₅₀ = 1,65 mg L ⁻¹ LOEC = 1 mg L ⁻¹ NOEC = 0,1 mg L ⁻¹	(Quinn <i>et al.</i> , 2008)
		<i>Planorbis carinatus</i> Survie/reproduction (nombre d'œuf)/croissance (poids frais) 21 jours	Mollusque	LOEC = 5,36/ 5,36/ 2,43 mg L ⁻¹ NOEC = 5,36/ 2,43/ 1,02 mg L ⁻¹	(Pounds <i>et al.</i> , 2008)
		<i>L. gibba</i> croissance poids humide	Végétaux supérieurs	CE ₁₀ > 1,0 mg L ⁻¹	(Brain <i>et al.</i> , 2004)
		<i>Lemna minor</i> croissance poids frais 7 j		CE ₅₀ = 22,0 mg L ⁻¹	(Cleuvers, 2003)
		<i>L. minor</i> inhibition de la croissance 7 jour		CE ₅₀ = 4 mg L ⁻¹ LOEC = 10 µg L ⁻¹	(Pomati <i>et al.</i> , 2004)
			<i>Oryzias latipes</i> reproduction 6 semaines	Poisson	Changement du comportement de ponte 1 à 100 µg L ⁻¹
	Cytotoxicité	Viabilité cellulaire test MTT PLHC cellule hépatique de <i>Poeciliopsis lucida</i>	Cellules de Poisson	CE ₅₀ = 248 mg L ⁻¹	(Caminada <i>et al.</i> , 2006)
		Viabilité cellulaire test MTT RTG cellules gonadiques de <i>Onchorynchus mykiss</i>		CE ₅₀ = 1200 mg L ⁻¹	
Pravastatine	Cytotoxicité	Viabilité cellulaire test MTT PLHC cellule hépatique de <i>Poeciliopsis lucida</i>		CE ₅₀ = 2335 mg L ⁻¹	
		Viabilité cellulaire test MTT RTG cellules gonadiques de <i>Onchorynchus mykiss</i>		CE ₅₀ > 4245 mg L ⁻¹	
	Autre statine (atorvastatine)	<i>Chironomus tentans</i> mortalité et croissance 10 jours	Invertébré benthique	CL ₅₀ = 14,3 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 10,2 mg L ⁻¹ CE ₁₀ = 5,6 mg L ⁻¹	(Dussault <i>et al.</i> , 2008)
		<i>Hyalella azteca</i> mortalité et croissance 10 jours		CL ₅₀ = 1,5 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 2,4 mg L ⁻¹ CE ₁₀ = 1,4 mg L ⁻¹	

	Atorvastatine et lovastatine	<i>L. gibba</i> croissance 7 jours	Végétaux supérieurs	CE ₅₀ = 106/135 µg L ⁻¹ LOEC = 19/126 µg L ⁻¹	(Brain <i>et al.</i> , 2006)
Fénofibrate	Tox aigüe	<i>B. calyciflorus</i> mortalité 24 h	Algue	CL ₅₀ = 65 mg L ⁻¹	(Isidori <i>et al.</i> , 2007)
		<i>V. fischeri</i> inhibition de luminescence	Bactérie	NOEC >100 mg L ⁻¹	
		<i>D. magna</i> immobilisation 24 h		CE ₅₀ = 50 mg L ⁻¹	Hernando <i>et al.</i> , 2004(Isidori <i>et al.</i> , 2007)
		<i>C. dubia</i> immobilisation 48 h		NOEC > 100 mg L ⁻¹	(Isidori <i>et al.</i> , 2007)
		<i>C. dubia</i> inhibition de la mobilité 48 h (EPA, 1999)		Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 0,32 mg L ⁻¹
		<i>T. platyurus</i> mortalité 24 h	NOEC > 190 mg L ⁻¹		
	Tox chronique	<i>P. subcapitata</i> , inhibition de croissance 72 h	Algues	CE ₅₀ = 20 mg L ⁻¹ LOEC = 6,25 mg L ⁻¹ NOEC = 3,12 mg L ⁻¹	(Isidori <i>et al.</i> , 2007)
		<i>B. calyciflorus</i> inhibition de croissance 48 h	Rotifères	CE ₅₀ = 1,44 mg L ⁻¹ LOEC = 0,31 mg L ⁻¹ NOEC = 0,156 mg L ⁻¹	
		Rotokit™ <i>B. calyciflorus</i> reproduction 48h (Norme AFNOR)		LOEC = 0,15 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 0,6 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)
		<i>C. dubia</i> inhibition de croissance 7 jours	Invertébré crustacée	CE ₅₀ = 0,76 mg L ⁻¹ LOEC = 0,078 mg L ⁻¹ NOEC = 0,039 mg L ⁻¹	(Isidori <i>et al.</i> , 2007)
		<i>C. dubia</i> reproduction 7 j (Norme AFNOR)		LOEC = 0,015 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 0,062 mg L ⁻¹	(Garric <i>et al.</i> , 2006)
		<i>D. rerio</i> mortalité embryonnaire et larvaire 10 jours (ISO 12890)	Poisson	NOEC = 2 mg L ⁻¹ CE ₅₀ = 3,6 mg L ⁻¹	
	Cytotoxicité	MTT PLHC-1 lignée cellulaire de Poisson 24 h	Cellule Poisson	CE ₅₀ = 3,25 mg L ⁻¹	(Laville <i>et al.</i> , 2004)
		MTT <i>Onchorynchus mykiss</i> hepatocytes (PRTH) 24 h		CE ₅₀ = 19,1 mg L ⁻¹	
Viabilité cellulaire test MTT PLHC cellule hépatique de <i>Poeciliopsis lucida</i>		CE ₅₀ > 1800 mg L ⁻¹		(Caminada <i>et al.</i> , 2006)	

Annexe 10

Caractéristiques physico-chimiques des échantillons étudiés

Effluents de STEP

Caractéristiques de l'effluent de STEP d'Alès (STEP 2)

Dates de prélèvement	Données step (mg L ⁻¹)			Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)						
	DBO ₅	DCO	MES	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	Erreur %
04/07/2007	3	30	5	17,6							
13/07/2007	3	30	5	16,5							
24/07/2007	3	31	5	16,2							
27/07/2007	3	30	6	14,0							
31/07/2007	3	34	11	16,1							
28/08/2007	3	30	5	10,2							
06/02/2008	3	30	5	10,2	11,3	24,3	6,6	6,7	5,1	0,2	0,2
08/02/2008	4	30	5	7,7	8,5	20,4	6,8	6,1	5,3	0,2	0,1
26/02/2008	3	32	4	11,1	10,4	38,2	9,6	9,0	2,4	0,0	0,1
31/03/2008	3	30	8	15,9	10,7	41,5	11,3	10,1	0,4	0,0	0,5
15/04/2008	3	30	4	11,0	9,0	35,2	10,2	8,8	2,6	0,0	0,4
Moyenne	3	31	6	13,3	10,0	31,9	8,9	8,1	3,2	0,1	0,2

Caractéristiques de l'effluent de STEP de Lasalle (STEP 1)

Dates de prélèvement	Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)							
	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %	
31/07/2007	6,7								
18/02/2008	8,4	8,7	39,9	11,6	9,8	61,3	0,2	0,2	
27/04/2008	7,7	10,1	23,1	7,1	6,7	13,6	0,2	0,5	
Moyenne	7,6	9,4	31,5	9,4	8,3	37,5	0,2	0,4	

Caractéristiques de l'effluent de STEP de Nîmes-Ouest (STEP 3)

Dates de prélèvement	Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)							
	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %	
06/02/2008	18,5	7,4	44,1	13,7	11,4	97,7	2,8	0,3	
20/03/2008	20,6	9,0	59,2	13,3	12,3	126,0	1,1	0,5	
03/04/2008	11,7	8,6	54,8	11,9	11,2	137,0	0,6	0,7	
Moyenne	11,9	8,1	48,5	11,2	10,4	116,8	1,3	0,5	

Caractéristiques de l'effluent de STEP de Nice (STEP 4)

Dates de prélèvement	Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)						
	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %
18/02/2008	26,8	10,8	79,1	23,2	15,9	24,5	1,2	0,4
03/03/2008	24,9	12,1	77,5	15,7	14,4	20,9	1,0	0,4
14/03/2008	35,1	11,1	69,5	15,5	14,3	22,2	0,6	0,4
25/04/2008	13,6	10,2	53,6	12,5	11,4	28,9	0,0	0,3
Moyenne	25,1	11,1	69,9	16,7	14,0	24,1	0,7	0,4

Caractéristiques de l'effluent de STEP de Grasse (STEP 5)

Dates de prélèvement	Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)						
	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %
04/02/2008	11,8	28,7	50,4	6,2	11,3	76,7	0,0	3,5
14/03/2008	13,2	8,4	40,2	10,4	9,2	119,6	0,0	0,6
25/04/2008	15,6	9,3	48,5	10,5	10,2	87,6	1,0	0,3
Moyenne	13,5	15,5	46,4	9,0	10,2	94,6	0,3	1,5

Caractéristiques de l'effluent de STEP du Grau du Roi (STEP 6)

Dates de prélèvement	Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)						
	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %
04/03/2008	24,2	10,7	41,9	13,5	11,2	30,7	0,0	0,8
26/03/2008	21,4	10,3	55,0	12,8	11,8	51,3	0,4	0,6
28/03/2008	22,6	10,8	48,0	12,5	11,1	38,3	0,0	0,7
Moyenne	22,8	10,6	48,3	12,9	11,4	40,1	0,1	0,7

Caractéristiques de l'effluent de STEP de Vézénobres (STEP 7)

Dates de prélèvement	Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)						
	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %
04/07/2007	18,08							
19/02/2008 analyse trait PC	14,89	0,5	21,9	7	4,8	96,2	0	2,5
19/02/2008 analyse trait Bio		3	45,3	13,6	10,1	96,2	0	2,5

Milieux récepteurs

L'échantillon prélevé sur milieu récepteur de la STEP de Lasalle (STEP 1), rivière la Salendrinque, contenait une charge en carbone organique totale de 17 mg L⁻¹.

Caractéristiques des eaux naturelles prélevées dans la rivière Gardon d'Alès, milieu récepteur de la STEP 2 (Alès)

Dates de prélèvement	Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)						
	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %
13/07/2007	18,8							
27/07/2007	11,4							
31/07/2007	8,4							
08/02/2008	5,3	4,7	5,9	2,7	1,8	4,3	0,0	0,2
31/03/2008	11,8	11,3	7,6	2,8	2,3	2,7	0,0	-0,1
14/04/2008	5,2	2,0	4,7	2,2	1,5	3,8	0,0	0,3
Moyenne	10,1	6,0	6,1	2,6	1,9	3,6	0,0	0,1

Caractéristiques des eaux naturelles prélevées dans le Vistre, milieu récepteur de la STEP 3 (Nîmes Ouest)

Dates de prélèvement	Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)						
	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %
19/03/2008 Point 1	34,4	12,0	5,6	2,5	1,7	29,9	0,0	0,4
19/03/2008 Point 2	40,8	10,3	8,1	2,5	2,5	25,2	0,0	0,1
19/03/2008 Point 3	38,3	9,6	10,7	2,9	3,3	48,6	0,0	-0,1
02/04/2008 Point 1	9,7	10,3	5,8	2,6	1,8	29,7	0,0	0,4
02/04/2008 Point 2	17,3	11,7	8,1	2,7	2,5	26,5	0,0	0,1
02/04/2008 Point 3	15,6	8,3	11,3	3,1	3,6	57,5	0,2	0,0
Moyenne	26,0	10,4	8,3	2,7	2,6	36,2	0,0	0,2

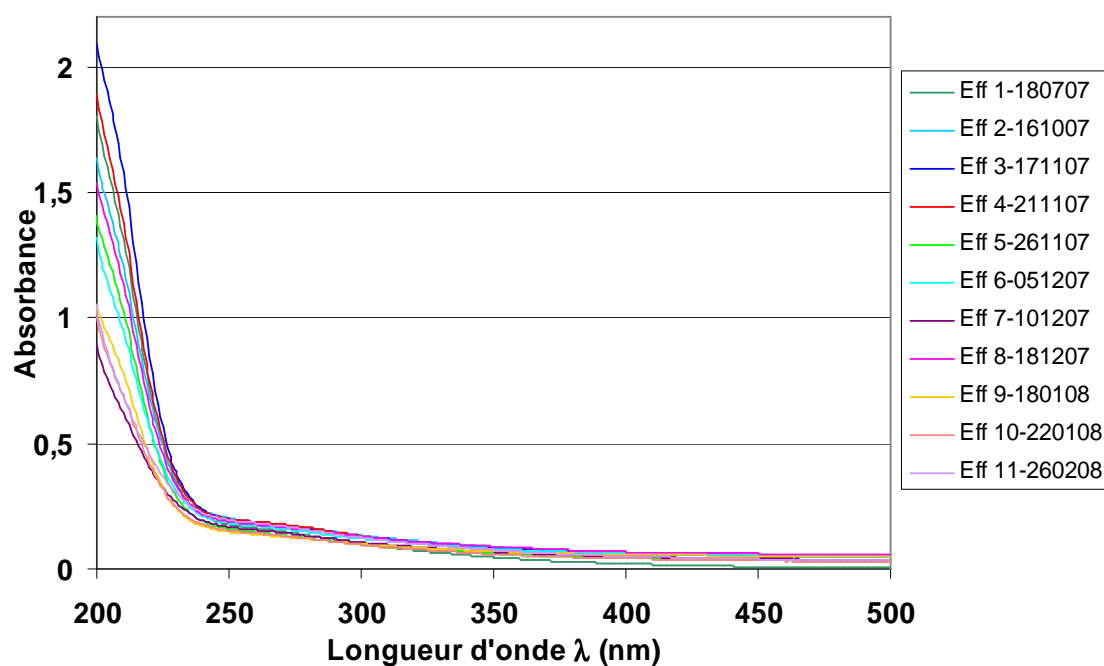
Caractéristiques des eaux naturelles prélevées en sortie de la lagune du Grau du Roi (prolongation du traitement de la STEP du Grau du Roi, STEP 6)

Dates de prélèvement	Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)						
	COT	MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %
04/03/2008	25,8	0,0	23,0	5,3	7,1	2,5	0,0	14,3
26/03/2008	26,2	0,0	22,7	5,0	7,0	2,7	0,0	14,5
07/04/2008	21,7	0,0	24,0	5,3	7,4	2,4	0,0	13,8
Moyenne	24,6	0,0	23,2	5,2	7,2	2,5	0,0	14,2

Annexe 11

Caractéristiques physico-chimiques des effluents utilisés lors des essais de traitement

Spectres d'absorption UV-Vis (200 à 500 nm) des effluents



Caractéristiques physico-chimiques des effluents

Echantillons	données step (mg L ⁻¹)				Shimadzu (mg L ⁻¹)	UVICON UV Pro (mg L ⁻¹)						
	DBO ₅	DCO	MES	COT		MES	DCO	DBO	COT	NO ₃	DBS	E %
Eff A-02/07/2007				15,0								
Eff 1-18/07/2007	3	30	5	15,1	5,5	28,1	10,1	7,7	9,3	0,1	1,1	
Eff B-27/07/2007	3	30	6	15,4								
Eff C-02/08/2007	3	30	5	14,4								
Eff D-09/10/2007	3	30	5	14,8								
Eff 2-16/10/2007	3	36	5	15,8	12,3	31,4	9,5	8,8	8,4	0,3	0,2	
Eff 3-17/11/2007	3	30	5	21,6	12,6	32,5	8,9	8,6	12,6	0,2	0,3	
Eff 4-21/11/2007				26,2	12,8	38,3	8,8	9	10,2	0	0,5	
Eff 5-26/11/2007	3	30	7	21,6	7,3	20,1	8,4	6,5	7,3	0,1	0,3	
Eff 6-05/12/2007	6	30	5	19,2	11,3	28,9	8,4	8	6	0,4	0,1	
Eff 7-10/12/2007	5	30	6	14,7	8,8	26,7	8,3	7,3	2,6	0,3	0,1	
Eff 8-18/12/2007	5	30	7	14,9	13,2	31,6	8,1	8,3	8,1	0,3	0,2	
Eff 9-18/01/2008	3	30	5	16,0	10	22	6,4	6,2	5,3	0,1	0	
Eff 10-22/01/2008				14,4	7,9	25,3	7,6	6,7	3,7	0	0,2	
Eff 11-26/02/2008	3	32	4	11,1	10,4	38,2	9,6	9	2,4	0	0,1	
Moyenne	3,6	30,7	5,4	16,7	10,2	29,4	8,6	7,8	6,9	0,2	0,3	

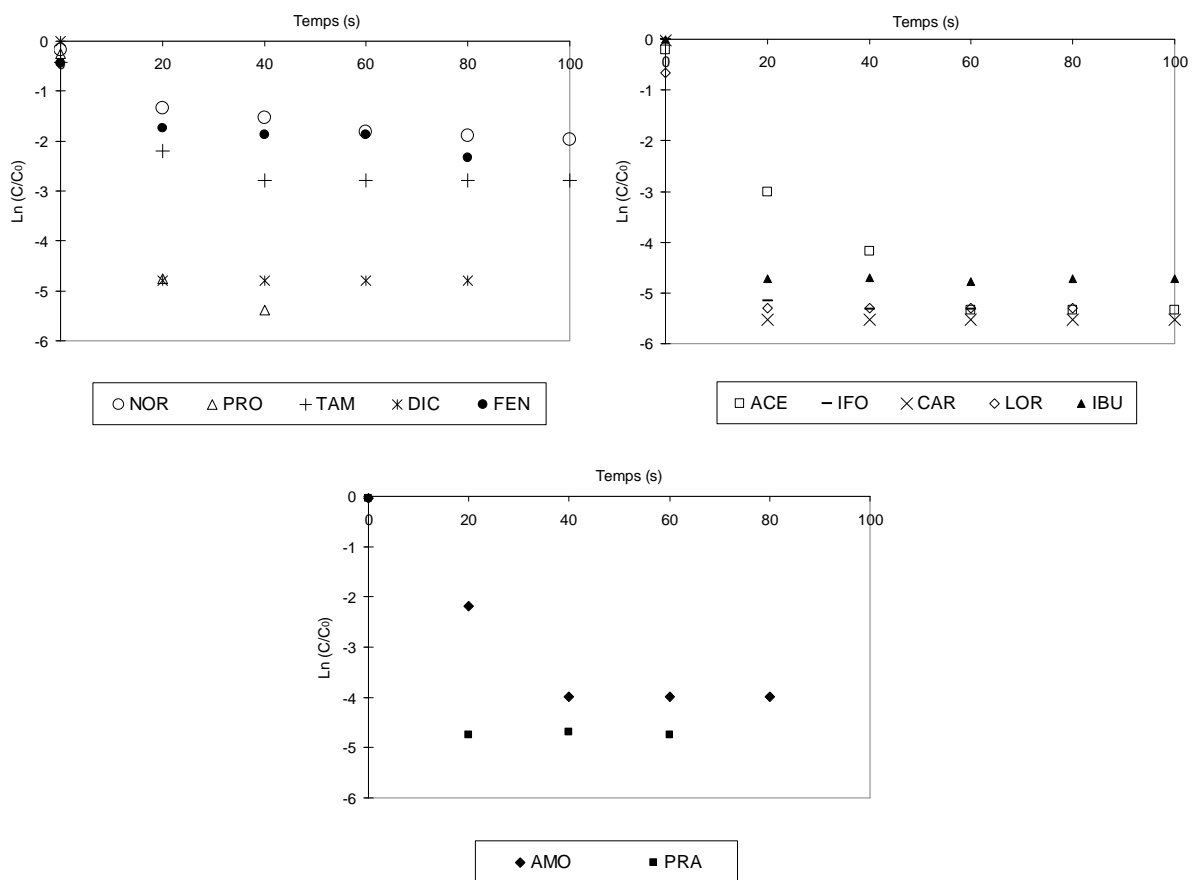
Annexe 12

Courbes $\ln C/C_0$ Traitement par photolyse

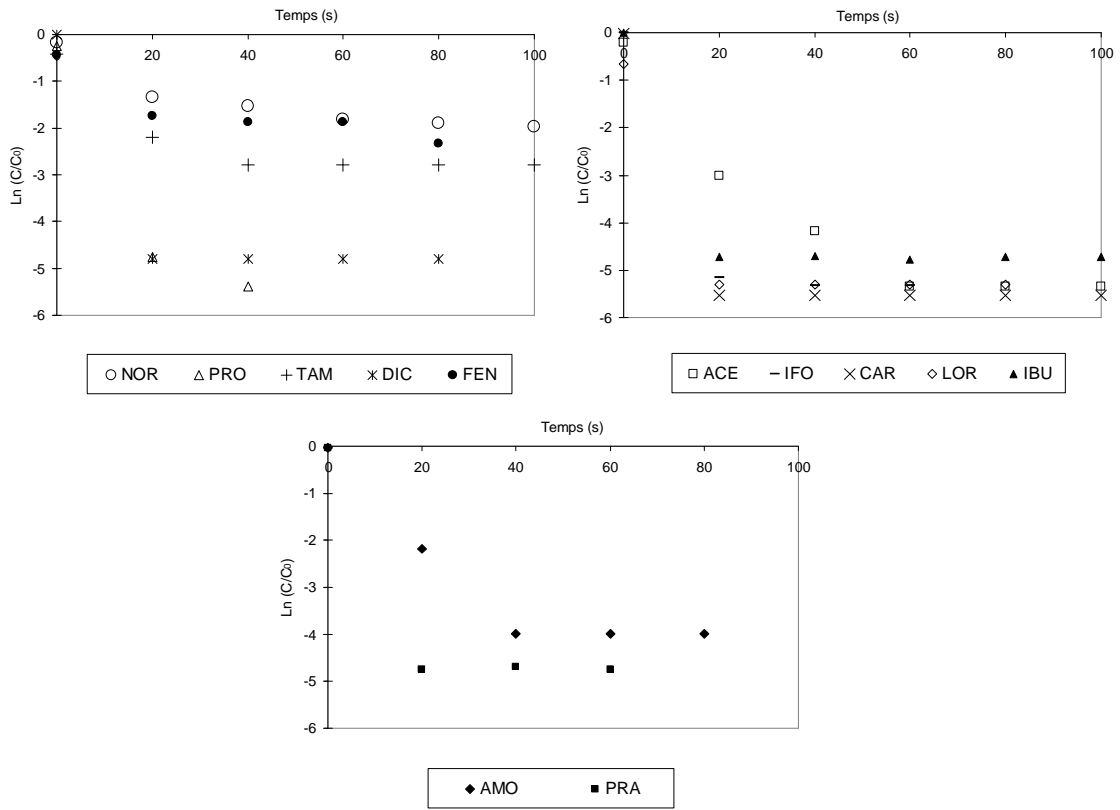
et

adsorption sur charbon actif

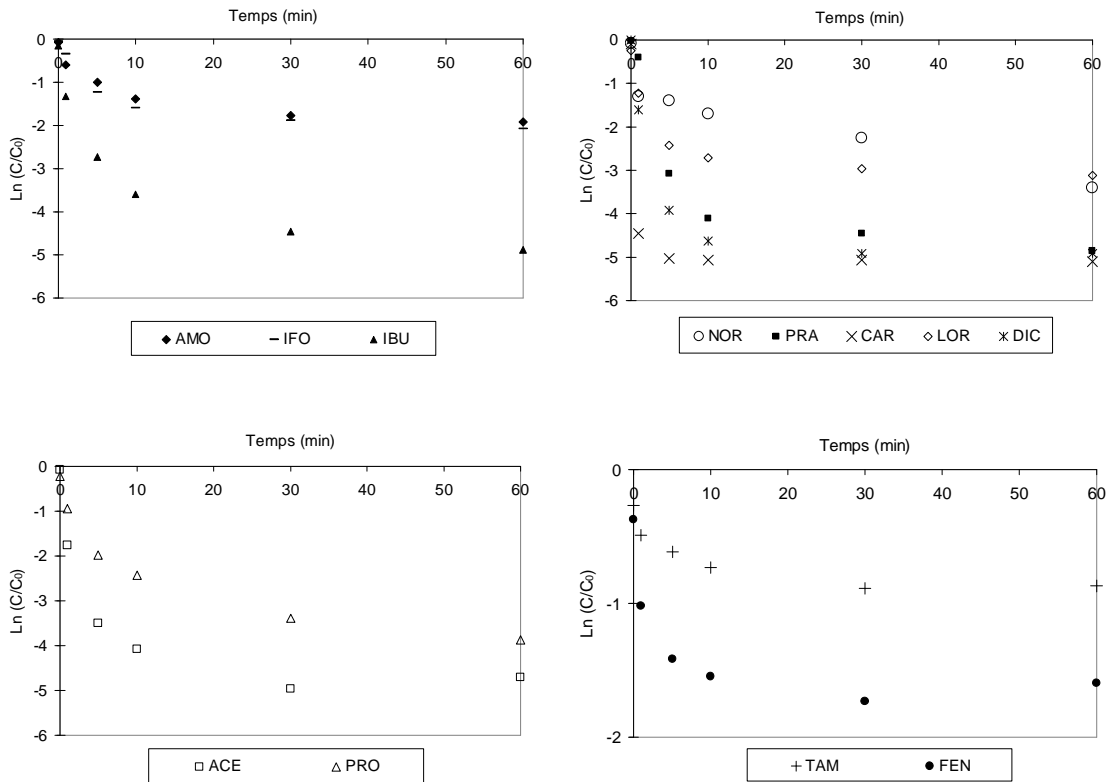
Courbes de cinétique de photodégradation UV des PPs dans l'eau (C_0 : concentration initiale ;
C concentration en PPs au temps t donné)



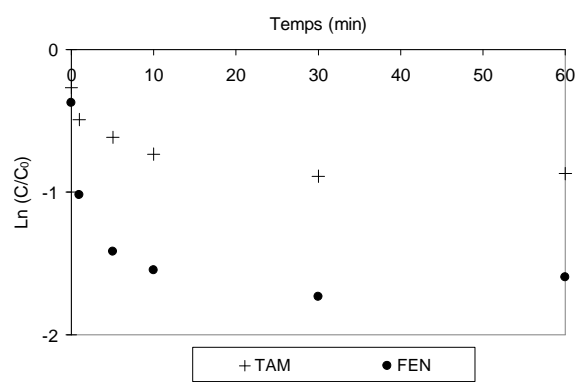
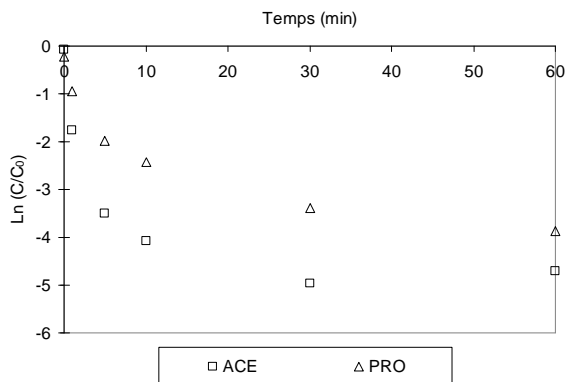
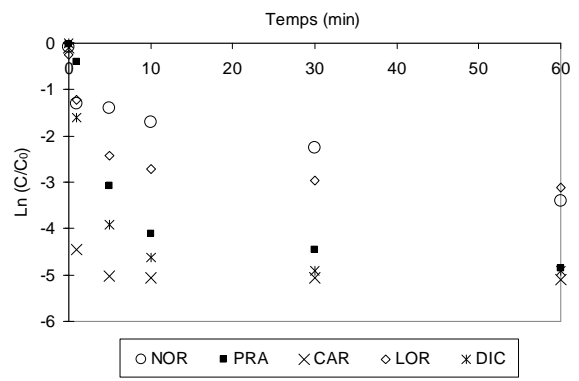
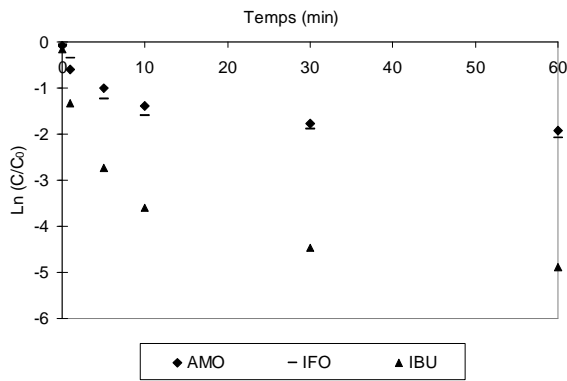
Courbes de cinétique de photodégradation UV des PP dans l'effluent



Courbes de cinétique d'adsorption des PP sur charbon actif dans l'eau



Courbes de cinétique d'adsorption des PP sur charbon actif dans les effluents



Annexe 13

Tests non paramétriques et tableaux d'analyses statistiques pour la comparaison des concentrations en PPs dans les différentes STEP

1 / Test de Kruskal-Wallis

1a/ Pour comparer les concentrations de chaque PPs entre les différentes STEP, nous avons tout d'abord utilisé le test de Kruskal-Wallis pour une analyse de la variance par rang (avec rang de même valeur). Ce test est préférable lorsque la variance des k groupes est hétérogène. Il est $3/\pi$ aussi puissant qu'un test paramétrique ANOVA (Zar, 1999).

Le test statistique Kruskal-Wallis, H, est calculé selon l'équation suivante :

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \times \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

Où,

n_i : nombre de mesures dans le groupe i

N : nombre total de mesures dans les k groupes

$$N = \sum_{i=1}^k n_i$$

k : nombre de groupes, soit 7 STEPs

R_i : somme des rangs des n_i mesures dans le groupe i

Comme des rangs de même valeur sont mis en évidence, la valeur de H est corrigée comme suit :

$$H_c = H/C$$

$$\text{Avec } C = 1 - \frac{\sum t}{N^3 - N}$$

$$\text{et } \sum t = \sum_{i=1}^m (t_i^3 - t_i)$$

Où,

t_i : nombre de valeurs de même rang i

m : nombre de rangs identiques

Il teste l'hypothèse, H0 : « la concentration du composé est la même dans les effluents des 7 STEPs ».

Pour $k > 5$, H est considéré comme pouvant être approché par χ^2 avec $k-1$ degrés de liberté (soit $k-1=6$). Dans la table de distribution statistique, les valeurs critiques de χ^2 sont :

$$\chi^2_{0,05;6} = 12,592$$

$$\chi^2_{0,01;6} = 16,812$$

$$\chi^2_{0,001;6} = 22,458$$

Quand la valeur de H est supérieure à la valeur de χ^2 au seuil de signification de 95 % ($\alpha = 0,05$) alors l'hypothèse H0 est rejeté : les concentrations sont différentes pour les 7 STEPs.

Tableau de données du test Kruskal-Wallis pour la totalité des PPs (k=7) pour les 8 composés principalement détectés (PPs Tot), et par composé individuel : norfloxacin, ciprofloxacine, acébutolol, propranolol, carbamazépine, lorazépam, diclofénac, ibuprofène.

Données comparées, concentrations	N	$\sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i}$	H	$\sum t$	H/c	Conclusion
PPs Tot	218	2664608	12,75	300	12,75	$H > \chi^2_{0,05;6}$ H0 est rejetée, les concentrations en PPs sont différentes dans les effluents des 7 STEPs
NOR	26	5305	9,68	0	9,68	$H < \chi^2_{0,05;6}$ H0 est acceptée, les concentrations en norfloxacin sont les mêmes dans les effluents des 7 STEPs
CIP	18	1936	10,9	0	10,9	$H < \chi^2_{0,05;6}$ H0 est acceptée, les concentrations en ciprofloxacine sont les mêmes dans les effluents des 7 STEPs
ACE	29	7674	15,85	30	15,88	$H > \chi^2_{0,05;6}$ H0 est rejetée, les concentrations en acébutolol sont différentes dans les effluents des 7 STEPs
PRO	29	7809	17,71	12	17,72	$H > \chi^2_{0,05;6}$ H0 est rejetée, les concentrations en propranolol sont différentes dans les effluents des 7 STEPs

CAR	29	7663	15,7	6	15,7	$H > \chi^2_{0,05;6}$ H0 est rejetée, les concentrations en carbamazépine sont différentes dans les effluents des 7 STEPs
LOR	29	7635	15,31	30	15,33	$H > \chi^2_{0,05;6}$ H0 est rejetée, les concentrations en lorazépam sont différentes dans les effluents des 7 STEPs
DIC	29	7129	8,32	0	8,32	$H < \chi^2_{0,05;6}$ H0 est acceptée, les concentrations en diclofénac sont les mêmes dans les effluents des 7 STEPs
IBU	29	7947	19,62	18	19,63	$H > \chi^2_{0,05;6}$ H0 est rejetée, les concentrations en ibuprofène sont différentes dans les effluents des 7 STEPs

Conclusion : les concentrations en PPs sont différentes dans les effluents des 7 STEPs en ce qui concernent les b-bloquants (propranolol et acébutolol), les psychotropes (carbamazépine et lorazépam) et l'ibuprofène.

1b/ Des analyses supplémentaires sont effectuées en utilisant le test de Kruskal-Wallis pour confirmer ces résultats et sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau de données du test Kruskal-Wallis pour les fluoroquinolones (ciprofloxacine + norfloxacine), la carbamazépine et le lorazépam (prélèvements effectués en hiver uniquement).

Données comparées, concentrations	N	$\sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i}$	H	$\sum t$	H/c	Conclusion
Fluoroquinolones	44	25097	17,1	0	17,1	$H > \chi^2_{0,05;6}$ H0 est rejetée, les concentrations en fluoroquinolones sont différentes dans les effluents des 7 STEPs
CAR (mesures sans données été de la STEP d'Alès)	23	3779	10,15	6	10,16	$H < \chi^2_{0,05;6}$ H0 est acceptée, les concentrations en carbamazépine sont les mêmes dans les effluents des 7 STEPs si l'on ne tient pas compte des prélèvements d'été sur la STEP d'Alès
CAR (mesures hiver seules)	21	3050	13,2	6	13,2	$H > \chi^2_{0,05;6}$ H0 est acceptée, les concentrations en carbamazépine sont les différentes en hiver dans les effluents des 7 STEPs
LOR (mesures hiver seules)	21	2946	10,5	18	10,5	$H < \chi^2_{0,05;6}$ H0 est acceptée, les concentrations en lorazépam durant l'hiver sont les mêmes dans les effluents des 7 STEPs

Conclusion : les concentrations en fluoroquinolones, en considérant globalement les concentrations en norfloxacine et en ciprofloxacine, sont différentes dans les effluents des 7 STEPs. Les concentrations en carbamazépine et en lorazépam ne sont pas significativement différentes entre les effluents des 7 STEPs si l'on considère uniquement les prélèvements effectués en hiver ou en ne tenant pas compte des prélèvements effectués en été sur la STEP d'Alès. En effet, une influence des prélèvements effectués en été sur la STEP d'Alès pourrait être à l'origine de la différence observée entre les concentrations en carbamazépine mesurées pour les 7 STEPs.

1c/ Afin de vérifier la particularité de la STEP d'Alès concernant les concentrations en carbamazépine durant les prélèvements d'été, un test de Kruskal-Wallis est appliqué aux données de concentrations pour la carbamazépine, uniquement pour la STEP d'Alès.

L'hypothèse testée est H_0 : « les concentrations en carbamazépine sont les mêmes dans les effluents de la STEP d'Alès prélevés en été et en période hiver-printemps ».

Dans ce cas $k < 5$, alors la valeur critique pour ce test est la distribution $H_{n_1, n_2, n_3 ; \alpha}$,

avec,

n_1 = nombre de prélèvements effectués durant la période été ($n_1 = 6$) ;

n_2 = nombre de prélèvements effectués durant la période hiver ($n_2 = 3$) ;

n_3 = nombre de prélèvements effectués durant la période printemps ($n_3 = 2$)

Soit,

$$H_{6,3,2 ; 0,05} = 5,348$$

$$H_{6,3,2 ; 0,01} = 6,97$$

Tableau de données du test Kruskal-Wallis pour les concentrations en carbamazépine dans les effluents de la STEP d'Alès uniquement (comparaison hiver, printemps, été, soit $k=3$ et $N=11$).

Données comparées, concentrations	N	$\sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i}$	H	$\sum t$	H/c	Conclusion
CAR Hiv vs Eté STEP Alès	11	455	5,394	0	5,39	$H > H_{6,3,2 ; 0,05}$ H_0 est rejetée, les concentrations en carbamazépine sont différentes dans les effluents de la STEP d'Alès en hiver par rapport aux prélèvement d'été.
LOR Hiv vs Eté STEP Alès	11	461	5,89	0	5,89	$H > H_{6,3,2 ; 0,05}$ H_0 est rejetée, les concentrations en carbamazépine sont différentes dans les effluents de la STEP d'Alès en hiver par rapport aux prélèvement d'été.

Conclusion : les concentrations en carbamazépine et en lorazépam mesurées en été sur la STEP d'Alès sont différentes des concentrations mesurées durant la période hiver-printemps

2/ Test de Dunn

Pour identifier quelles STEPs présentent des concentrations différentes des autres nous avons effectué une comparaison multiple avec le test non paramétrique de Dunn pour des échantillons de taille inégale et tenant compte des rangs de même valeur ($\sum t$).

Le test de Dunn Q est calculé selon l'équation suivante :

$$Q = \frac{\bar{R}_B - \bar{R}_A}{SE}$$

Où,

$$\bar{R}_i = \frac{R_i}{n_i}$$

SE : erreur standard est calculée selon l'équation suivante :

$$SE = \sqrt{\left(\frac{N(N+1)}{12} - \frac{\sum t}{12(N-1)} \right) \times \left(\frac{1}{n_A} + \frac{1}{n_B} \right)}$$

La valeur critique pour ce test est $Q_{\alpha, k}$ soit :

$$Q_{0,1,7} = 2,823$$

$$Q_{0,05,7} = 3,038$$

$$Q_{0,01,7} = 3,494$$

Il teste l'hypothèse nulle H_0 : « les concentrations d'un composé sont les mêmes dans les STEP A et B ». Si Q calculé est supérieur à la valeur critique, $Q_{\alpha, k}$, alors l'hypothèse H_0 est rejetée ; la STEP A présente des concentrations différentes de la STEP B pour le composé donné.

Tableau de données du test de Dunn pour la totalité des PPs (k=7, N=218 pour les 8 composés principalement détectés, soit norfloxacine, ciprofloxacine, acébutolol, propranolol, carbamazépine, lorazépam, diclofénac, ibuprofène).

Comparaison A vs B	\bar{R}_A	\bar{R}_B	n_A	n_B	$(\bar{R}_B - \bar{R}_A)$	$(1/n_A)+(1/n_B)$	SE	Q	Conclusion
Alès vs Lasalle	106,7	94,3	78	23	12,39	0,06	13,59	0,91	$< Q_{0,05,7}$
Alès vs Nîmes	106,7	82,2	78	24	24,50	0,05	13,37	1,83	$< Q_{0,05,7}$
Alès vs Nice	106,7	136,1	78	32	29,42	0,04	12,02	2,45	$< Q_{0,05,7}$
Alès vs Grasse	106,7	114,1	78	22	7,38	0,06	13,82	0,53	$< Q_{0,05,7}$
Alès vs Grau	106,7	109,1	78	24	2,37	0,05	13,37	0,18	$< Q_{0,05,7}$
Alès vs Vézénobres	106,7	127,9	78	15	21,24	0,08	16,14	1,32	$< Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Nîmes	94,3	82,2	23	24	12,12	0,09	16,71	0,73	$< Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Nice	94,3	136,1	23	32	41,81	0,07	15,65	2,67	$< Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Grasse	94,3	114,1	23	22	19,76	0,09	17,08	1,16	$< Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Grau	94,3	109,1	23	24	14,76	0,09	16,71	0,88	$< Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Vézénobres	94,3	127,9	23	15	33,63	0,11	19,00	1,77	$< Q_{0,05,7}$
Nîmes vs Nice	82,2	136,1	24	32	53,92	0,07	15,46	3,49	$> Q_{0,05,7}$
Nîmes vs Grasse	82,2	114,1	24	22	31,88	0,09	16,90	1,89	$< Q_{0,05,7}$
Nîmes vs Grau	82,2	109,1	24	24	26,88	0,08	16,53	1,63	$< Q_{0,05,7}$
Nîmes vs Vézénobres	82,2	127,9	24	15	45,75	0,11	18,85	2,43	$< Q_{0,05,7}$
Nice vs Grasse	136,1	114,1	32	22	22,04	0,08	15,86	1,39	$< Q_{0,05,7}$
Nice vs Grau	136,1	109,1	32	24	27,05	0,07	15,46	1,75	$< Q_{0,05,7}$
Nice vs Vézénobres	136,1	127,9	32	15	8,18	0,10	17,92	0,46	$< Q_{0,05,7}$
Grasse vs Grau	114,1	109,1	22	24	5,01	0,09	16,90	0,30	$< Q_{0,05,7}$
Grasse vs Vézénobres	114,1	127,9	22	15	13,87	0,11	19,17	0,72	$< Q_{0,05,7}$
Grau vs Vézénobres	109,1	127,9	24	15	12,12	0,11	18,85	0,64	$< Q_{0,05,7}$

Conclusion : Les concentrations mesurées pour les 8 PPs principaux sont significativement différentes entre les STEPs de Nice et de Nîmes.

Tableau de données du test de Dunn pour les fluoroquinolones : ciprofloxacine + norfloxacine (k=7, N = n_A+ n_B)

Comparaison A vs B	\bar{R}_A	\bar{R}_B	n _A	n _B	$(\bar{R}_B - \bar{R}_A)$	$(1/n_A)+(1/n_B)$	SE	Q	Conclusion
Alès vs Lasalle	17,4	18,6	12	5	1,18	0,14	4,76	0,25	< Q _{0,05, 7}
Alès vs Nîmes	17,4	15,5	12	6	1,92	0,15	4,94	0,39	< Q _{0,05, 7}
Alès vs Nice	17,4	38,6	12	8	21,21	0,11	4,25	5,00	> Q _{0,05, 7}
Alès vs Grasse	17,4	21,5	12	4	4,08	0,13	4,63	0,88	< Q _{0,05, 7}
Alès vs Grau	17,4	24,0	12	6	6,58	0,13	4,54	1,45	< Q _{0,05, 7}
Alès vs Vézénobres	17,4	18,7	12	3	1,25	0,14	4,75	0,26	< Q _{0,05, 7}
Lasalle vs Nîmes	18,6	15,5	5	6	3,10	0,26	6,61	0,47	< Q _{0,05, 7}
Lasalle vs Nice	18,6	38,6	5	8	20,03	0,23	6,11	3,28	> Q _{0,05, 7}
Lasalle vs Grasse	18,6	21,5	5	4	2,90	0,25	6,38	0,45	< Q _{0,05, 7}
Lasalle vs Grau	18,6	24,0	5	6	5,40	0,24	6,31	0,86	< Q _{0,05, 7}
Lasalle vs Vézénobres	18,6	18,7	5	3	0,07	0,25	6,47	0,01	< Q _{0,05, 7}
Nîmes vs Nice	15,5	38,6	6	8	23,13	0,19	5,64	4,10	> Q _{0,05, 7}
Nîmes vs Grasse	15,5	21,5	6	4	6,00	0,21	5,93	1,01	< Q _{0,05, 7}
Nîmes vs Grau	15,5	24,0	6	6	8,50	0,21	5,86	1,45	< Q _{0,05, 7}
Nîmes vs Vézénobres	15,5	18,7	6	3	3,17	0,22	6,03	0,53	< Q _{0,05, 7}
Nice vs Grasse	38,6	21,5	8	4	17,13	0,17	5,32	3,22	> Q _{0,05, 7}
Nice vs Grau	38,6	24,0	8	6	14,63	0,17	5,24	2,79	< Q _{0,05, 7}
Nice vs Vézénobres	38,6	18,7	8	3	19,96	0,18	5,43	3,68	> Q _{0,05, 7}
Grasse vs Grau	21,5	24,0	4	6	2,50	0,29	6,94	0,36	< Q _{0,05, 7}
Grasse vs Vézénobres	21,5	18,7	4	3	2,83	0,30	7,08	0,40	< Q _{0,05, 7}
Grau vs Vézénobres	24,0	18,7	6	3	5,33	0,22	6,03	0,88	< Q _{0,05, 7}

Conclusion : Les concentrations en fluoroquinolones sont différentes selon les STEPs. Les concentrations les plus élevées sont reportées pour les STEP de Nice qui se distinguent des autres STEPs.

Tableau de données du test de Dunn pour l'acébutolol (k=7, N = n_A+ n_B)

Comparaison A vs B	\bar{R}_A	\bar{R}_B	n _A	n _B	$(\bar{R}_B - \bar{R}_A)$	$(1/n_A)+(1/n_B)$	SE	Q	Conclusion
Alès vs Lasalle	9,7	8,5	11	3	1,23	0,42	1,03	1,19	< Q _{0,05,7}
Alès vs Nîmes	9,7	15,7	11	3	5,94	0,42	1,03	5,77	> Q _{0,05,7}
Alès vs Nice	9,7	23,0	11	4	13,27	0,34	0,92	14,38	> Q _{0,05,7}
Alès vs Grasse	9,7	21,3	11	3	11,61	0,42	1,03	11,27	> Q _{0,05,7}
Alès vs Grau	9,7	14,5	11	3	4,77	0,42	1,03	4,63	> Q _{0,05,7}
Alès vs Vézénobres	9,7	28,0	11	2	18,27	0,59	1,22	15,03	> Q _{0,05,7}
Lasalle vs Nîmes	8,5	15,7	3	3	7,17	0,67	1,29	5,55	> Q _{0,05,7}
Lasalle vs Nice	8,5	23,0	3	4	14,50	0,58	1,21	12,01	> Q _{0,05,7}
Lasalle vs Grasse	8,5	21,3	3	3	12,83	0,67	1,29	9,94	> Q _{0,05,7}
Lasalle vs Grau	8,5	14,5	3	3	6,00	0,67	1,29	4,65	> Q _{0,05,7}
Lasalle vs Vézénobres	8,5	28,0	3	2	19,50	0,83	1,44	13,51	> Q _{0,05,7}
Nîmes vs Nice	15,7	23,0	3	4	7,33	0,58	1,21	6,07	> Q _{0,05,7}
Nîmes vs Grasse	15,7	21,3	3	3	5,67	0,67	1,29	4,39	> Q _{0,05,7}
Nîmes vs Grau	15,7	14,5	3	3	1,17	0,67	1,29	0,90	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Vézénobres	15,7	28,0	3	2	12,33	0,83	1,44	8,54	> Q _{0,05,7}
Nice vs Grasse	23,0	21,3	4	3	1,67	0,58	1,21	1,38	< Q _{0,05,7}
Nice vs Grau	23,0	14,5	4	3	8,50	0,58	1,21	7,04	> Q _{0,05,7}
Nice vs Vézénobres	23,0	28,0	4	2	5,00	0,75	1,37	3,65	> Q _{0,05,7}
Grasse vs Grau	21,3	14,5	3	3	6,83	0,67	1,29	5,29	> Q _{0,05,7}
Grasse vs Vézénobres	21,3	28,0	3	2	6,67	0,83	1,44	4,62	> Q _{0,05,7}
Grau vs Vézénobres	14,5	28,0	3	2	13,50	0,83	1,44	9,35	> Q _{0,05,7}

Conclusion : Les concentrations en acébutolol sont différentes selon les STEPs. Les concentrations les plus élevées sont reportées pour les STEP de Nice et de Vézénobres qui se distinguent des STEP d'Alès et de Lasalle où les concentrations reportées sont les plus faibles.

Tableau de données du test de Dunn pour le propranolol (k=7, N = n_A+ n_B)

Comparaison A vs B	\bar{R}_A	\bar{R}_B	n _A	n _B	$(\bar{R}_B - \bar{R}_A)$	$(1/n_A)+(1/n_B)$	SE	Q	Conclusion
Alès vs Lasalle	17,0	24,7	11	3	7,62	0,42	4,34	1,75	< Q _{0,05,7}
Alès vs Nîmes	17,0	4,3	11	3	12,71	0,42	4,34	2,93	< Q _{0,05,7}
Alès vs Nice	17,0	5,3	11	4	11,80	0,34	3,89	3,03	< Q _{0,05,7}
Alès vs Grasse	17,0	11,2	11	3	5,88	0,42	4,34	1,35	< Q _{0,05,7}
Alès vs Grau	17,0	21,3	11	3	4,29	0,42	4,34	0,99	< Q _{0,05,7}
Alès vs Vézénobres	17,0	21,0	11	2	3,95	0,59	5,13	0,77	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Nîmes	24,7	4,3	3	3	20,33	0,67	5,45	3,73	> Q _{0,05,7}
Lasalle vs Nice	24,7	5,3	3	4	19,42	0,58	5,09	3,81	> Q _{0,05,7}
Lasalle vs Grasse	24,7	11,2	3	3	13,50	0,67	5,45	2,48	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Grau	24,7	21,3	3	3	3,33	0,67	5,45	0,61	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Vézénobres	24,7	21,0	3	2	3,67	0,83	6,09	0,60	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Nice	4,3	5,3	3	4	0,92	0,58	5,09	0,18	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Grasse	4,3	11,2	3	3	6,83	0,67	5,45	1,25	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Grau	4,3	21,3	3	3	17,00	0,67	5,45	3,12	> Q _{0,05,7}
Nîmes vs Vézénobres	4,3	21,0	3	2	16,67	0,83	6,09	2,74	< Q _{0,05,7}
Nice vs Grasse	5,3	11,2	4	3	5,92	0,58	5,09	1,16	< Q _{0,05,7}
Nice vs Grau	5,3	21,3	4	3	16,08	0,58	5,09	3,16	> Q _{0,05,7}
Nice vs Vézénobres	5,3	21,0	4	2	15,75	0,75	5,78	2,73	< Q _{0,05,7}
Grasse vs Grau	11,2	21,3	3	3	10,17	0,67	5,45	1,87	< Q _{0,05,7}
Grasse vs Vézénobres	11,2	21,0	3	2	9,83	0,83	6,09	1,61	< Q _{0,05,7}
Grau vs Vézénobres	21,3	21,0	3	2	0,33	0,83	6,09	0,05	< Q _{0,05,7}

Conclusion : les concentrations en propranolol sont différentes selon les STEPs. Les concentrations les plus élevées sont reportées pour les STEP du Grau du Roi et de Lasalle qui se distinguent des STEP de Nice et de Nîmes où les concentrations reportées sont les plus faibles.

Tableau de données du test de Dunn pour la carbamazépine (k=7, N = n_A+ n_B)

Comparaison A vs B	\bar{R}_A	\bar{R}_B	n _A	n _B	$(\bar{R}_B - \bar{R}_A)$	$(1/n_A)+(1/n_B)$	SE	Q	Conclusion
Alès vs Lasalle	21,2	9,7	11	3	11,56	0,42	4,98	2,32	< Q _{0,05,7}
Alès vs Nîmes	21,2	7,0	11	3	14,23	0,42	4,98	2,86	> Q _{0,1,7} < Q _{0,05,7}
Alès vs Nice	21,2	10,4	11	4	10,85	0,34	4,47	2,43	< Q _{0,05,7}
Alès vs Grasse	21,2	22,0	11	3	0,77	0,42	4,98	0,16	< Q _{0,05,7}
Alès vs Grau	21,2	7,7	11	3	13,56	0,42	4,98	2,72	< Q _{0,05,7}
Alès vs Vézénobres	21,2	10,5	11	2	10,73	0,59	5,88	1,82	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Nîmes	9,7	7,0	3	3	2,67	0,67	6,24	0,43	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Nice	9,7	10,4	3	4	0,71	0,58	5,84	0,12	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Grasse	9,7	22,0	3	3	12,33	0,67	6,24	1,97	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Grau	9,7	7,7	3	3	2,00	0,67	6,24	0,32	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Vézénobres	9,7	10,5	3	2	0,83	0,83	6,98	0,12	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Nice	7,0	10,4	3	4	3,38	0,58	5,84	0,58	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Grasse	7,0	22,0	3	3	15,00	0,67	6,24	2,40	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Grau	7,0	7,7	3	3	0,67	0,67	6,24	0,11	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Vézénobres	7,0	10,5	3	2	3,50	0,83	6,98	0,50	< Q _{0,05,7}
Nice vs Grasse	10,4	22,0	4	3	11,63	0,58	5,84	1,99	< Q _{0,05,7}
Nice vs Grau	10,4	7,7	4	3	2,71	0,58	5,84	0,46	< Q _{0,05,7}
Nice vs Vézénobres	10,4	10,5	4	2	0,13	0,75	6,62	0,02	< Q _{0,05,7}
Grasse vs Grau	22,0	7,7	3	3	14,33	0,67	6,24	2,30	< Q _{0,05,7}
Grasse vs Vézénobres	22,0	10,5	3	2	11,50	0,83	6,98	1,65	< Q _{0,05,7}
Grau vs Vézénobres	7,7	10,5	3	2	2,83	0,83	6,98	0,41	< Q _{0,05,7}

Conclusion : il existe une différence significative entre les concentrations en carbamazépine dans les effluents des différentes STEP (Test de Kruskal-Wallis $H > \chi^2_{0,05; 6}$). Toutefois, les données extrêmes (Alès vs Nîmes) considérées individuellement sont à la limites du seuil de signification ($Q > Q_{0,1, 7}$ avec pour Nîmes seulement 3 échantillons prélevés en hiver uniquement). Cette différence est liée aux concentrations en carbamazépine significativement plus élevées dans les prélèvement d'été sur la STEP d'Alès ($H > H_{6,3,2; 0,05}$).

Tableau de données du test de Dunn pour le lorazépam (k=7, N = n_A+ n_B)

Comparaison A vs B	\bar{R}_A	\bar{R}_B	n _A	n _B	$(\bar{R}_B - \bar{R}_A)$	$(1/n_A)+(1/n_B)$	SE	Q	Conclusion
Alès vs Lasalle	21,6	9,2	11	3	12,42	0,42	1,03	12,06	> $Q_{0,05,7}$
Alès vs Nîmes	21,6	12,5	11	3	9,09	0,42	1,03	8,83	> $Q_{0,05,7}$
Alès vs Nice	21,6	6,4	11	4	15,22	0,34	0,92	16,48	> $Q_{0,05,7}$
Alès vs Grasse	21,6	19,7	11	3	1,92	0,42	1,03	1,87	< $Q_{0,05,7}$
Alès vs Grau	21,6	10,2	11	3	11,42	0,42	1,03	11,09	> $Q_{0,05,7}$
Alès vs Vézénobres	21,6	8,8	11	2	12,84	0,59	1,22	10,56	> $Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Nîmes	9,2	12,5	3	3	3,33	0,67	1,29	2,58	< $Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Nice	9,2	6,4	3	4	2,79	0,58	1,21	2,31	< $Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Grasse	9,2	19,7	3	3	10,50	0,67	1,29	8,13	> $Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Grau	9,2	10,2	3	3	1,00	0,67	1,29	0,77	< $Q_{0,05,7}$
Lasalle vs Vézénobres	9,2	8,8	3	2	0,42	0,83	1,44	0,29	< $Q_{0,05,7}$
Nîmes vs Nice	12,5	6,4	3	4	6,13	0,58	1,21	5,07	> $Q_{0,05,7}$
Nîmes vs Grasse	12,5	19,7	3	3	7,17	0,67	1,29	5,55	> $Q_{0,05,7}$
Nîmes vs Grau	12,5	10,2	3	3	2,33	0,67	1,29	1,81	< $Q_{0,05,7}$
Nîmes vs Vézénobres	12,5	8,8	3	2	3,75	0,83	1,44	2,60	< $Q_{0,05,7}$
Nice vs Grasse	6,4	19,7	4	3	13,29	0,58	1,21	11,01	> $Q_{0,05,7}$
Nice vs Grau	6,4	10,2	4	3	3,79	0,58	1,21	3,14	> $Q_{0,05,7}$
Nice vs Vézénobres	6,4	8,8	4	2	2,38	0,75	1,37	1,73	< $Q_{0,05,7}$
Grasse vs Grau	19,7	10,2	3	3	9,50	0,67	1,29	7,36	> $Q_{0,05,7}$
Grasse vs Vézénobres	19,7	8,8	3	2	10,92	0,83	1,44	7,56	> $Q_{0,05,7}$
Grau vs Vézénobres	10,2	8,8	3	2	1,42	0,83	1,44	0,98	< $Q_{0,05,7}$

Conclusion : les concentrations en lorazépam sont différentes selon les STEPs. Les concentrations les plus élevées sont reportées pour la STEP d'Alès (du fait d'une concentration plus élevées en lorazépam dans les prélèvements effectués en été sur cette STEP, $H > H_{6,3,2; 0,05}$). Cette STEP se distingue plus particulièrement de la STEP de Nice où les concentrations reportées pour le lorazépam sont les plus faibles.

Tableau de données du test de Dunn pour l'ibuprofène (k=7, N = n_A+ n_B)

Comparaison A vs B	\bar{R}_A	\bar{R}_B	n _A	n _B	$(\bar{R}_B - \bar{R}_A)$	$(1/n_A)+(1/n_B)$	SE	Q	Conclusion
Alès vs Lasalle	14,2	3,7	11	3	10,56	0,42	3,60	2,94	< Q _{0,05,7}
Alès vs Nîmes	14,2	6,5	11	3	7,73	0,42	3,60	2,15	< Q _{0,05,7}
Alès vs Nice	14,2	26,5	11	4	12,27	0,34	3,22	3,81	> Q _{0,05,7}
Alès vs Grasse	14,2	13,0	11	3	1,23	0,42	3,60	0,34	< Q _{0,05,7}
Alès vs Grau	14,2	16,7	11	3	2,44	0,42	3,60	0,68	< Q _{0,05,7}
Alès vs Vézénobres	14,2	26,5	11	2	12,27	0,59	4,25	2,89	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Nîmes	3,7	6,5	3	3	2,83	0,67	4,51	0,63	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Nice	3,7	26,5	3	4	22,83	0,58	4,22	5,41	> Q _{0,05,7}
Lasalle vs Grasse	3,7	13,0	3	3	9,33	0,67	4,51	2,07	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Grau	3,7	16,7	3	3	13,00	0,67	4,51	2,88	< Q _{0,05,7}
Lasalle vs Vézénobres	3,7	26,5	3	2	22,83	0,83	5,04	4,53	> Q _{0,05,7}
Nîmes vs Nice	6,5	26,5	3	4	20,00	0,58	4,22	4,74	> Q _{0,05,7}
Nîmes vs Grasse	6,5	13,0	3	3	6,50	0,67	4,51	1,44	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Grau	6,5	16,7	3	3	10,17	0,67	4,51	2,25	< Q _{0,05,7}
Nîmes vs Vézénobres	6,5	26,5	3	2	20,00	0,83	5,04	3,97	> Q _{0,05,7}
Nice vs Grasse	26,5	13,0	4	3	13,50	0,58	4,22	3,20	> Q _{0,05,7}
Nice vs Grau	26,5	16,7	4	3	9,83	0,58	4,22	2,33	< Q _{0,05,7}
Nice vs Vézénobres	26,5	26,5	4	2	0,00	0,75	4,78	0,00	< Q _{0,05,7}
Grasse vs Grau	13,0	16,7	3	3	3,67	0,67	4,51	0,81	< Q _{0,05,7}
Grasse vs Vézénobres	13,0	26,5	3	2	13,50	0,83	5,04	2,68	< Q _{0,05,7}
Grau vs Vézénobres	16,7	26,5	3	2	9,83	0,83	5,04	1,95	< Q _{0,05,7}

Conclusion : les concentrations en ibuprofène sont différentes selon les STEPs. Les concentrations les plus élevées sont reportées pour les STEP de Nice et de Vézénobres qui se distinguent des STEP de Lasalle et de Nîmes où les concentrations reportées sont les plus faibles.

PUBLICATIONS

&

COMMUNICATIONS

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Communications orales

Coetsier, C., Lin, L., Roig, B., & Touraud, E., 2008. "An integrated approach for the management of pharmaceutical products in environmental waters". 13th IWRA World Water Congress 2008, Montpellier, France.

Coetsier, C., Roig, B., & Touraud, E., 2008. "KNAPPE project: key findings". SETAC2008, 5th SETAC World Congress, Sydney, Australia.

Posters

Coetsier, C., Spinelli, S., Lin, L., Roig, B., & Touraud, E., 2008. "Distribution of pharmaceutical products (PPs) in sewage treatment plants' effluents in south-eastern France: relevant information for water management?" SETAC2008, 5th SETAC World Congress, Sydney, Australia.

Coetsier, C., Spinelli, S., Lin, L., Roig, B., & Touraud, E., 2008. "Pharmaceutical products in effluent of a French Southeastern biological treatment plant: Measured vs Predicted concentrations." KNAPE International Conference, Nîmes, France.

Coetsier, C., Bazin, I., Lin, L., & Touraud, E., 2007. "Assessment of adsorption on powdered activated carbon and uv photo-oxidation as tertiary treatments to eliminate pharmaceutical products." EMEC8, 8th European Meeting on Environmental Chemistry, Inverness, Scotland.

Bazin, I., Spinelli, S., Coetsier, C., & Roig, B., 2007. "Environmental impact of parabens." EMEC8, 8th European Meeting on Environmental Chemistry, Inverness, Scotland.

Roig, B., Coetsier, C., Bazin, I., & Touraud, E., 2007. "Knowledge and Need Assessment on Pharmaceutical Products in Environmental Waters: KNAPE." Emcon2007 International Conference on Analysis of Emerging Contaminants in the Environment, York, UK.

Coetsier, C., Spinelli, S., Lin, L., Roig, B., & Touraud, E., 2007. "Proposition of an environmental typology of pharmaceutical and personal care products." ERAPharm2007 International Conference on Pharmaceuticals in the Environment, York, UK.

Coetsier, C., Lahondès, S., Blachère-Lopez, C., Bazin, I., & Touraud, E., 2007. "Comparative study of microbiotests for the assessment of pharmaceuticals ecotoxicity." Emcon2007 International Conference on Analysis of Emerging Contaminants in the Environment, York, UK.

Publications internationales

1/ Coetsier, C., Lin, L., Roig, B. & Touraud, E. 2007. "Integrated approach to the problem of pharmaceutical products in the environment: an overview." *Anal Bioanal Chem*, 387(4): 1163-1166.

2/ Coetsier, C., Spinelli, S., Lin, L., Roig, B., & Touraud, E., "Discharge of pharmaceutical products (PPs) through a conventional biological sewage treatment plant: MECs vs PECs?" *Environ Inter*, 35: 787-792.

Integrated approach to the problem of pharmaceutical products in the environment: an overview

Clemence Coetsier · Liming Lin ·
Benoit Roig · Evelyne Touraud

Published online: 3 November 2006
© Springer-Verlag 2006

Introduction

There is an increasing need to monitor water quality across Europe. Pharmaceutical products (PPs), as emerging contaminants, should receive particular attention. There are, currently, no regulations or norms to limit their use, nor are there any types of survey or control to prevent exposure. According to European guidelines, predicted environmental concentrations (PECs) of PPs in water must be equal to or more than $0.01 \mu\text{g L}^{-1}$ before further environmental risk assessment (ERA) is necessary [1]. Some PPs and their metabolites are not removed from water during conventional biological treatment and enter the water supply via wastewater-treatment plants (WWTPs) [2]. These compounds can be biologically active even at environmental concentrations (sub-ng L^{-1} to ng L^{-1}) [3] and could, hence, be harmful to aquatic species. Their persistence is of particular importance, because it increases the risk of long-term exposure which could be responsible for chronic toxicity and subtle effects in animals and plants (endocrine disruption, growth inhibition, disruption of microbial ecosystems, cytotoxicity, mutagenicity, teratogenicity ...). Spatial and temporal variation of the chemicals in water also make PEC determination difficult and uncertain.

In recent years, research and studies on PPs in the environment have increased; the research has, however,

been fragmentary, dealing with only part of the issue (occurrence, treatment, fate, or toxicity), resulting in weak connection between the different data. To improve environmental impact assessment there is, therefore, a need to take into account the whole life-cycle of PPs.

This article presents the concept of an integrated approach enabling better comprehension of the issue of PPs in the environment as a whole. Specific attention is devoted to some of the main analytical tools required in implement this approach.

Integrated approach

The proposed integrated approach relies on the whole life-cycle of PPs (from manufacture to exposure) and requires, as a first step, collection of representative and reliable data (Fig. 1). In particular, these data would help to establish a list of the most relevant PPs in terms of occurrence, degradation/transformation, exposure effects, etc.

The second step is to interconnect all these data to enable better understanding of the fate and behaviour of selected PPs since their manufacture. It would make it possible to identify the main pressure points along the life-cycle of PPs and to propose relevant action aimed at reducing their occurrence and their impact on the aquatic environment.

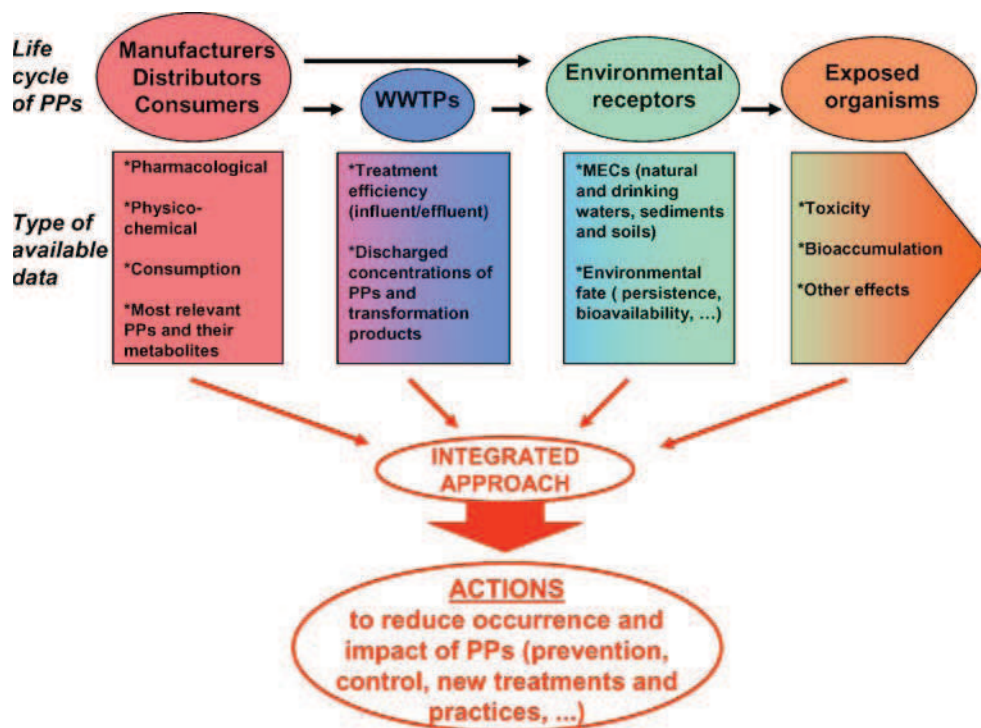
Several actions, which could be taken at the different pressure points of the life-cycles of PPs, can already be proposed:

- use of environmental PP indicators to elucidate the sources of contamination;
- monitoring of relevant PPs at identified pressure points;
- changes in or improvement of current treatment technology which could lead to cleaner technology; and
- prevention, by informing manufacturers, prescribers, and consumers about the risk caused by release of PPs

C. Coetsier (✉) · L. Lin · B. Roig · E. Touraud
Ecole des Mines d'Alès, Centre LGEL,
6 avenue de Clavières,
30319 Alès Cedex, France
e-mail: Clemence.Coetsier@ema.fr

B. Roig
Unité de recherche JE 2470, ADONIM, CUFN de Nîmes,
Place Gabriel Péri,
30021 Nîmes, France

Fig. 1 Integrated approach considering the whole life-cycle of PPs



in the environment, and suggestions about better practices.

Complete fulfilment of this integrated approach could be a decision-making tool for those involved in the issue of PPs.

This integrated approach first requires a set of data about the occurrence and fate of PPs in the different water compartments. These data can only be obtained by using sensitive and selective methods able to detect PPs, their metabolites, transformation products, and degradation products at environmental concentrations.

Liquid chromatographic and spectrometric analysis

LC–MS–MS seems to be an ideal technique for the proposed integrated approach, because it can be used to screen for the presence of a broad spectrum of PPs. Indeed, because of important technological progress the selectivity and sensitivity of LC–MS–MS have increased substantially and the techniques has become the reference method both for pharmacokinetic studies and for environmental monitoring of PPs. In a recent review article, Petrovic et al. [4] reported the use of LC–MS–MS for the analysis of 74 human pharmaceuticals, in five classes (anti-inflammatory/analgesics, lipid-regulating agents, β -blockers, antibiotics, and psychiatric drugs), in environmental samples. Because of improvements in LC–MS–MS it is now possible to analyse a total of approximately 150 pharmaceutical

compounds in the environment, most of which can be detected using multi-residue methods [5–10].

The analytical performance of LC–MS–MS (higher selectivity and specificity), especially in the analysis of complex matrices, can be increased by improving:

1. Pretreatment and extraction. Several strategies have been proposed and tested to compensate and/or reduce matrix effects and to improve sensitivity: the establishment of calibration plots by using similar matrices, the use of stable-isotope-labelled internal standards [5, 9], adjustment of the ionic strength and pH of the sample [6], and sample clean-up [12] and extraction. Solid-phase extraction (SPE) is widely used to preconcentrate targeted PPs to a detectable level (from low ng L^{-1} to $\mu\text{g L}^{-1}$) [4]. New strategies in SPE development include use of tandem [5] or mixed-mode extraction adsorbents with ion-exchange capability [8] to make multi-class methodology easier. The concentration factor of the whole SPE process is usually approximately 100 to 1000 and enables the limit of quantification (LOQ) of PPs in effluents to be reduced from $1 \mu\text{g L}^{-1}$ to 1ng L^{-1} . Use of modern variants of SPE, including solid-phase micro-extraction (SPME) and membrane-imprinted SPE (MISPE) [14] result in increased sensitivity and reduced sample handling. On-line and automated SPE techniques [13] have the advantages of higher sample-throughput and faster analysis, which are indispensable in routine analysis. Immunosorbents could also be used for extraction and

preconcentration [15]. New sampling systems, which can be used to extract PPs directly in the field, offer interesting possibilities—a passive sampler such as the Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) can be used to concentrate polar PPs in waterways over a period of deployment ranging from weeks to months [16].

2. Separation efficiency. Use of ultra-performance LC (UPLC) for analysis of PPs has recently been reported. This new technology enables substantial improvement of separation efficiency (by reducing column-packing particle size) and reduction of run time, because of the use of shorter columns, increased flow rates, and faster gradients [9].
3. Spectrometric detection. The development of mass spectrometric technology such as triple quadrupole (QqQ), quadrupole time of flight (Q-TOF), and ion-trap (IT) tandem mass spectrometers has improved detection of PPs in multi-residue analysis. Only high-resolution hyphenated techniques can be used for accurate mass determination and unequivocal identification of target compounds and their degradation products [9–11].

Because of this analytical performance, LC–MS–MS is an appropriate tool which can be useful in an integrated approach. Nevertheless, because of its main drawbacks:

1. it is time-consuming;
2. the cost per analysis is high; and
3. an experienced operator is needed

complementary methods which are more rapid, cost-effective and easier to use, for example biological methods, must be envisaged.

Immunoassays/bioassays

For analysis of trace contaminants in the aquatic environment, immunochemical techniques seem to be more or less selective for a particular analyte, and some are class-specific only [17]. This could be an advantage in the detection both of specific PPs and of families of compounds (similar in structure). Immunoassays are, moreover, excellent tools for screening large numbers of samples in a short time. In environmental analysis, commercially available immunoassays have been readily adopted, mainly to detect pesticides. Few immunochemical methods have been used to detect PPs in water samples, however (Table 1) [11].

Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) are, occasionally, not sufficiently sensitive to reach environmental levels; improvement of the detection limit can, however, be achieved by coupling to surface plasmon resonance (Biacore, Spreeta) [22].

Table 1 Main quantitative and semi-quantitative immunoassays developed for environmental analysis of PPs

Analyte	Detection technique	Sensitivity (LOD)	Ref.
Antibiotics	RIA Charm II	1–10 $\mu\text{g L}^{-1}$	[18]
	SPE/RIA	0.05 $\mu\text{g L}^{-1}$	[19]
Sulfonamides	RIANA AWACSS	10 ng L^{-1}	[20]
Methotrexate	RIA	6.25 $\mu\text{g L}^{-1}$	[21]
Ibuprofen	ELISA–SPR ^a	0.02 $\mu\text{g L}^{-1}$	[22]
Naproxen	ELISA	3.5 mg L^{-1}	[22]
Diclofenac	ELISA	6 ng L^{-1}	[23]

^a Surface plasmon resonance

Use of the semi-quantitative radioimmunoassay Charm II RIA test to analyse antibiotic residues in water has been reported [18]. RIA enables rapid, sensitive, and inexpensive screening of many samples but has the major disadvantage of requiring radioisotopes and scintillation fluids [17]. This method was only effective for measurement of high levels of all antibiotic families in water near a farm (large-scale animal feeding operations AFOs) and was not suited to measurement of specific individual antibiotic compounds. To improve the detection limits of the RIA method it has been tested in combination with SPE [19].

Progress in array-based technology for multi-analyte detection recently led to the development of two multi-analyte immunoassay-based prototypes in the EU projects river-analyser (RIANA) and AWACSS (automated water analyser computer supported system) [20]. AWACSS was building on the achievements of the RIANA device (functional model) with major improvements:

1. expansion to multi-analyte detection;
2. miniaturisation of the design; and
3. equipment with intelligent remote control and surveillance facilities for unattended continuous monitoring.

Complementary to immunochemical methods, bioassays are of interest in an integrated approach to estimation of the impact of PPs in the environment. They give semi-quantitative or qualitative information about the toxicity of a single PP or of a mixture of PPs in laboratory tests, and global toxicity in environmental samples. As an example, growth-inhibition tests based on antibacterial activity have been used to detect antibiotics [17]. A screening test battery, including the yeast oestrogen screen (YES), the bioluminescence inhibition test with *Vibrio fischeri*, and the chlorophyll fluorescence test with green algae, has been used to identify the pharmaceutical hazards of a mixture of PPs and to assess the efficiency of wastewater treatment [24]. It cannot, however, be used to determine the specific source of pollution from the contaminants present in samples. An alternative approach is bioassay-directed fractionation that, coupled with biological and chemical

analysis, may enable isolation and identification of the causative toxic agent in a mixture [25].

Immunochemically based techniques and, more generally, biological methods are alternatives or complements to standard chromatographic methods. Their specificity, sensitivity, and speed of analysis make them suitable candidates for PPs monitoring. Their ability to selectively analyse target analytes, or a family of compounds (RIA test) in complex matrices [18], their possibility of automation and of direct measurement in the field offer new opportunities to design monitoring strategies in the framework of an integrated approach. Some of these techniques are commercially available but data describing cross-reactivity of target analytes and matrix effects are missing, the availability of antibodies is limited, and multi-analyte analyses are difficult to perform.

Conclusion

“Pharmaceuticals in the Environment” is an issue which is receiving growing attention because of the increasing consumption of PPs, their occurrence/persistence in the environment, and their described effects. Implementation of control of these products cannot be achieved solely by use of classical analytical procedures. Information about the whole life-cycle of PPs must, moreover, be taken into account by using an integrated approach, to emphasize the main problems and to lead to proposal of relevant actions to limit their occurrence and impact in the environment. This approach must be supported by a set of screening tools.

LC–MS–MS and biological methods are of complementary interest in this approach. Although immunoassays are rapid, cost-effective and easy to use for identification of relevant PPs, they do not cover the whole wide range of PPs; they are, however, in constant development and improvement. LC–MS–MS can enable selective analysis of PPs in complex matrices and can be used to screen for the occurrence, behaviour, and fate of a wide spectrum of PPs and their metabolites. The method is, however, time consuming, costly, and requires an experienced user. Bioassays furnish information in the field about global toxicity and can also be used in laboratories for individual PPs.

The screening techniques described, by combining all the data, are essential for successful implementation of the proposed integrated approach. This approach should

emphasize the most important questions and issues related to PPs in the environment, enabling the design of more effective environmental risk assessment procedures.

References

1. EMEA (2006) The European agency for the evaluation of medicinal products (EMEA) London
2. Jones OAH, Voulvoulis N, Lester JN (2005) *Crit Rev Environ Sci Technol* 35:401–427
3. Kummerer K (ed) (2004) *Pharmaceuticals in the environment: sources, fate, effects and risks*. Springer, Berlin, Germany
4. Petrovic M, Hernando MD, Diaz-Cruz MS, Barcelo D (2005) *J Chromatogr A* 1067:1–14
5. Karthikeyan KG, Meyer MT (2006) *Sci Total Environ* 361: 196–207
6. Hao C, Lissemore L, Nguyen B, Kleywegt S, Yang P, Solomon K (2006) *Anal Bioanal Chem* 384:505–513
7. Gomez MJ, Petrovic M, Fernandez-Alba AR, Barcelo D (2006) *J Chromatogr A* 1114:224–233
8. Castiglioni S, Bagnati R, Calamari D, Fanelli R, Zuccato E (2005) *J Chromatogr A* 1092:206–215
9. Petrovic M, Gros M, Barcelo D (2006) *J Chromatogr A* 1124:68–81
10. Batt AL, Aga DS (2005) *Anal Chem* 77:2940–2947
11. Richardson SD, Ternes TA (2005) *Anal Chem* 77:3807–3838
12. Hernando MD, Heath E, Petrovic M, Barcelo D (2006) *Anal Bioanal Chem* 385:985–991
13. Stoob K, Singer HP, Goetz CW, Ruff M, Mueller SR (2005) *J Chromatogr A* 1097:138–147
14. Caro E, Marce RM, Borrull F, Cormack PAG, Sherrington DC (2006) *Trends Anal Chem* 25:143–154
15. Ferguson PL, Iden CR, McElroy AE, Brownawell BJ (2001) *Anal Chem* 73:3890–3895
16. Alvarez DA, Stackelberg PE, Petty JD, Huckins JN, Furlong ET, Zaugg SD, Meyer MT (2005) *Chemosphere* 61:610–622
17. Estévez MC, Font H, Nichkova M, Salvador JP, Varela B, Sánchez-Baeza F, Marco MP (2005) *Handb Environ Chem* 2:181–244
18. Campagnolo ER, Johnson KR, Karpati A, Rubin CS, Kolpin DW, Meyer MT, Esteban JE, Currier RW, Smith K, Thu KM, McGeehin M (2002) *Sci Total Environ* 299:89–95
19. Yang S, Carlson K (2004) *Water Res* 38:3155–3166
20. Tschmelak J, Kumpf M, Proll G, Gauglitz G (2004) *Anal Lett* 37:1701–1718
21. Aherne GW, English J, Marks V (1985) *Ecotoxicol Environ Safety* 9:79–83
22. Meulenberg EP, Peelen GOH, Lukkien E, Koopal K (2005) *Int J f Environ Anal Chem* 85:861–870
23. Deng A, Himmelsbach M, Zhu QZ, Frey S, Sengl M, Buchberger W, Niessner R, Knopp D (2003) *Environ Sci Technol* 37:3422–3429
24. Escher BI, Bramaz N, Maurer M, Richter M, Sutter D, von Kanel C, Zschokke M (2005) *Environ Toxicol Chem* 24:750–758
25. Brack W (2003) *Anal Bioanal Chem* 377:397–407



Discharge of pharmaceutical products (PPs) through a conventional biological sewage treatment plant: MECs vs PECs?

C.M. Coetsier*, S. Spinelli, L. Lin, B. Roig, E. Touraud

Ecole des Mines d'Alès-LGEI, 6 avenue de Clavières, 30319 Alès Cedex, France

ARTICLE INFO

Available online 7 February 2009

Keywords:

Pharmaceutical products
Sewage treatment plant effluent
Surface water
Predicted environmental concentration
Measured environmental concentration
Local scale

ABSTRACT

Pharmaceuticals for human use are consumed in significant quantities and their occurrence in aquatic systems has been reported by a number of authors. In the context of environmental risk assessment, there is an increasing interest in evaluating the discharge of pharmaceutical products to surface waters through sewage treatment plants (STP). This case study was carried out on a conventional biological treatment plant (Alès, France) and focused on a set of eleven drugs representing the main therapeutic classes. Measured environmental concentrations (MECs) range from the low ng L^{-1} to $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$ in effluent and up to few hundred ng L^{-1} in receiving surface waters. There is a good agreement between MEC and predicted environmental concentration (PEC) values for seven of the eleven investigated drugs in STP effluent. There is not such a good match between PEC and MEC values in surface waters, and this highlights the limits of this approach, at the local scale.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The presence of pharmaceuticals has been reported in many studies in Europe since the 1980s (Richardson and Bowron, 1985; Andreozzi et al., 2003; Kummerer, 2004; Nikolaou et al., 2007; Radjenovic et al., 2007). Recent works have demonstrated that elimination of many pharmaceuticals in sewage treatment plants (STP) is often incomplete (Ternes, 1998; Heberer, 2002; Jones et al., 2005; Joss et al., 2005; Ternes et al., 2005; Castiglioni et al., 2006; Paffoni et al., 2006; Gros et al., 2007). Consequently, variable concentrations of pharmaceuticals ranging from ng L^{-1} to $\mu\text{g L}^{-1}$ have been detected in surface waters (Gros et al., 2006; Paffoni et al., 2006; Roberts and Thomas, 2006; Togola and Budzinski, 2007) and groundwaters (Ellis, 2006; Rabiet et al., 2006). Moreover, some compounds have been found in drinking water (Ternes et al., 2002; Stackelberg et al., 2007).

This wide range of pharmaceuticals reaching the aquatic environment could impact on exposed organisms (Cleuvers, 2003; Webb, 2004; Williams, 2005; Crane et al., 2006; Fent et al., 2006). Consequently there is a need for environmental risk assessment of pharmaceutical products. In Europe, specific guidelines are recommended for the environmental assessment of medicinal products. Currently, the environmental risk assessment (ERA) of pharmaceuticals for human use is based on the guidelines of the European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA, 2006). A tiered approach is described for human medicines. The first tier consists of deriving a crude predicted environmental concentration (PEC) in surface waters. In this phase, the calculation is based on assumptions such as no metabolism, biodegradation or retention of

the drug which lead to worst case estimates of risk. If the predicted PEC is above 10 ng L^{-1} , aquatic fate and effect studies using OECD tests have to be conducted in higher tier risk assessment phases.

PEC values provide important information for the prioritization of PPs for environmental monitoring strategies. Nevertheless, assumptions made during the calculation of PEC values may introduce some uncertainty. Thus, the relevance of PEC vs MEC (measured environmental concentration) can be considered, especially at a local scale where the pattern of consumption could differ from the national one.

This paper presents the study of a conventional biological treatment plant, located in Alès (France) where an evaluation of the discharge of a set of 11 pharmaceutical products in the Gardon River has been carried out. In a first step, measured concentrations are reported for each investigated pharmaceutical product for Alès STP effluent (MEC_{eff}) and the related receiving medium (MEC_{sw}). Then, corresponding PEC values (PEC_{eff} and PEC_{sw}) were calculated using the equation described by Besse and Garric (2007), adapted from the EMA guideline (2006). Finally, PEC and MEC values are compared and the relevance of PEC values is assessed according to the PEC/MEC ratio.

2. Materials and methods

2.1. Sampling sites

Alès is located in Languedoc Roussillon region, in the south of France. Alès STP serves a population of 55,000 inhabitants. This low capacity conventional activated sludge process also collects effluents from hospital and industrial facilities (Table 1).

24-h averaged flow proportional STP effluents samples were collected between June 2007 and February 2008. Over the same period,

* Corresponding author. Tel.: +33 4 66 78 27 74; fax +33 4 66 78 27 01.
E-mail address: Clemence.Coetsier@ema.fr (C.M. Coetsier).

Table 1
Alès STP characteristics.

Capacity (Eq Hab)	90,000
Served population (Inhab)	55,000
Median flow rate (m ³ day ⁻¹)	11,000
Influent BOD ₅ (mg O ₂ L ⁻¹)	300
Received sewage	Domestic Industrial Hospital
Treatment processes	Primary settling Activated sludge with prolonged aeration; Nitrification/denitrification; Phosphate removal Low load
Receiving medium	Gardon River

spot samples were taken in the Gardon River, 10 m downstream of the discharge point.

All samples were stored at 4 °C prior to laboratory treatment on the same day.

2.2. Chemicals

Eleven pharmaceutical products were investigated. Standard products were purchased from Sigma-Aldrich (purity > 97% by weight, compound name abbreviations and CAS no. indicated): norfloxacin (NOR 70458-96-7), acebutolol (ACE 34381-68-5), propranolol (PROP 318-98-9), ifosfamide (IFO 3778-73-2), pravastatin (PRAV 81131-70-6), carbamazepine (CAR 298-46-4), lorazepam (LOR 846-49-1), tamoxifen (TAM 10540-29-1), diclofenac (DIC 15307-79-6), ibuprofen (IBU 15687-27-1) and fenofibrate (FEN 49562-28-9). The list of pharmaceuticals studied was selected on the basis of the leading medicinal products most frequently encountered in French STP effluents (Andreozzi et al., 2003) and widely consumed in France (CNAMTS – Direction de la stratégie des études et des statistiques (DSES-DEPP) (MEDICAM, 2006)). Some molecules such as anticancer drugs, that are dispensed only in hospitals, were added (Kummerer et al., 1997).

Solvents used for pre-treatment and chromatographic samples analysis (acetonitrile, methanol, ethyl acetate, acetone and 0.1% acetic acid water of gradient grade) were purchased from Chromasolv, Riedel-de-Haen. Standard solutions were made up in a mixture (50:50) of methanol:milliQ pure water.

2.3. Analytical method

2.3.1. Solid phase extraction

Solid phase extraction (SPE) was performed on GF/F glass-filtered HCl acidified samples (500 mL, pH 2) using STRATA™ X cartridges (200 mg/6 mL, Phenomenex, Inc). Analytes were eluted with 5 mL of ethyl acetate followed by 5 mL of a mixture (50:50 (v/v)) of ethyl acetate:acetone and finally 5 mL of a mixture (49:49:2 (v/v/v)) of ethyl acetate:acetone:ammonium hydroxide. Solvents were removed

Table 2
Gradient solvent program.

Time (min)	Solvent A	Solvent B
0	85	15
8	50	50
13	30	70
15	0	100
17	0	100
18	85	15
25	85	15

Table 3
Analytical method performances.

Compounds	SPE recovery (%)	Limits of detection (ng L ⁻¹)	Limits of quantification (ng L ⁻¹)
NOR	47 ± 5	5.2	12
ACE	73 ± 3	2.8	8.5
PROP	80 ± 8	2	9.6
IFO	94 ± 7	2.8	9.7
PRAV	38 ± 2	7.7	19
CAR	93 ± 12	0.4	0.8
LOR	84 ± 4	1.3	4
TAM	71 ± 4	5.8	14
DIC	80 ± 8	0.7	2
IBU	53 ± 4	0.3	0.5
FEN	71 ± 6	5.5	12

under nitrogen flow and the residue was brought to 0.5 mL using methanol.

Recovery rates from real water samples were determined by spiking samples with different known concentrations of a mixture of standards (60, 120, 250, 500 ng L⁻¹ of each compound). Extracts from unspiked ultra-pure grade water, concentrated and treated as described above, were used as blanks.

2.3.2. LC-MS/MS

Pharmaceuticals were analysed by LC-MS/MS. The LC system consists of a separation module Alliance HPLC Waters 2695 equipped with a quaternary pump, a vacuum degasser and an autosampler. Chromatographic separation was performed on Ascentis C₁₈ (50 mm × 2.1 mm, 3 μm) reversed-phase column (Supelco, UK). Chromatographic conditions were as follows:

- Solvents A (H₂O; 0.1% HCOOH) and B (CH₃CN),
- Flow rate 0.4 mL min⁻¹,
- Gradient program (Table 2).

Table 4
Reported data for calculation of PEC_{Eff}.

Compounds	Therapeutic class	Reimbursed amount ^a (kg)	Fexcreta	STP removal fraction	Fstp
Norfloxacin	Fluoroquinolone	8177	0.63 ^b	0.85 ^c	0.15
NOR	antibiotic				
Acebutolol	β-blockers	29862	0.57 ^d	0.2–0.8 ^e	0.5
ACE					
Propranolol		8892	0.24 ^d	0.22 ^d	0.78
PROP					
Ifosfamide	Antineoplastic	121	0.9 ^f	0 ^g	1
IFO					
Pravastatin	Statin lipid regulator	6533	0.5 ^d	0.62 ^h	0.38
PRAV					
Carbamazepine	Anti-convulsivant	22094	0.15 ^b	0.19 ^d	0.81
CAR					
Lorazepam	Anxiolytic	347	0.85 ^d	–	1
LOR					
Tamoxifen	Anticancer agent SERM	335	0.3 ^f	0 ^f	1
TAM					
Diclofenac	Antiflogistics	15610	0.15 ^d	0.27 ^d	0.73
DIC					
Ibuprofen		139605	0.25 ^d	0.96 ^d	0.04
IBU					
Fenofibrate	Fibrate lipid regulator	53775	0.01 ^d	<0.1 ^d	0.9
FEN					

– no data available.

^a MEDICAM (2006).

^b Lienert et al. (2007).

^c Watkinson et al. (2007).

^d Besse and Garric (2007).

^e Vieno et al. (2006), Lee et al. (2007).

^f Tauxe Würsch (2005).

^g Kummerer et al. (1997).

^h Radjenovic et al. (2007).

Table 5
Measured concentrations of PPs in effluent samples expressed in ng L⁻¹ (nd: not determined).

Sampling date	04 July 07	13 July 07	24 July 07	27 July 07	31 July 07	28 August 07	06 Feb. 08	08 Feb. 08	LR eff. from 2 STPs Rabiet et al. (2006)	HN eff. from 3 STPs Togola and Budzinski, (2007)	IF eff. STP Paffoni et al. (2006)	RA eff. from 2 STPs Andreozzi et al. (2003)
NOR	107 ± 5	129 ± 23	157 ± 9	247 ± 24	48 ± 7	<5.2	nd	nd	–	–	–	50–80
ACE	91 ± 10	115 ± 17	82 ± 3	92 ± 5	94 ± 3	94 ± 2	192 ± 2	145 ± 2	–	–	–	80–130
PROP	486 ± 26	560 ± 23	179 ± 4	187 ± 17	267 ± 14	160 ± 3	405 ± 4	291 ± 3	–	–	190	10–40
IFO	<3.8	<3.8	<3.8	<3.8	<3.8	<3.8	<3.8	<3.8	–	–	<50	–
PRAV	<7.7	<7.7	<7.7	<7.7	<7.7	<7.7	<7.7	<7.7	–	–	–	–
CAR	1492 ± 66	1519 ± 35	1106 ± 19	1097 ± 114	1573 ± 34	1075 ± 19	667 ± 10	326 ± 3	157–293	30–2520	1020	980–1200
LOR	130 ± 8	196 ± 7	86 ± 1	88 ± 6	114 ± 6	93 ± 2	39 ± 1	31 ± 1	–	–	–	–
TAM	53 ± 3	83 ± 44	102 ± 7	97 ± 2	<5.8	<5.8	<5.8	<5.8	–	–	–	–
DIC	388 ± 8	409 ± 14	148 ± 3	164 ± 19	161 ± 6	214 ± 4	399 ± 4	320 ± 4	211–486	25–920	810	250–410
IBU	45 ± 2	67 ± 9	61 ± 2	61 ± 1	23 ± 2	47 ± 1	67 ± 2	58 ± 2	18–219	<5.8–200	600	20–1820
FEN	23 ± 2	15 ± 2	24 ± 3	23 ± 0	<5.5	46 ± 1	<5.5	<5.5	–	–	310	20–120

LR Languedoc–Roussillon; HN Haute Normandie; IF Ile de France; RA Rhône-Alpes.

The mass-spectrometric detection was performed on a micromass Quattro micro™ (Waters) mass spectrometer equipped with electrospray, using multi-reaction monitoring (MRM) mode that detected the daughter ions of $m = z$.

The analytical method was characterized for the investigated pharmaceutical products. The detection using LC-MS/MS in MRM mode resulted in a low noise level and improved sensitivity (Andreozzi et al., 2003). This was particularly important for analysis of the pharmaceuticals in the real wastewater samples (Petrovic et al., 2005).

Table 3 gives the corresponding SPE recovery, limit of detection and limit of quantification.

For the majority of PPs, the absolute recoveries obtained in this study are sufficiently high (>60%) for the current purpose and are in agreement with published data (Hilton and Thomas, 2003). Recoveries for norfloxacin (47%), pravastatin (38%) and ibuprofen (53%), were reproducible (R.S.D. <10%) and sufficient for use in environmental monitoring.

2.4. Calculation of PECs

Besse and Garric (2007, 2008) have adapted the equation from the model proposed by the EMEA guideline (2006), with the aim of developing a prioritization approach to the identification of pharmaceuticals for human use that should be monitored in French surface waters. For surface waters the described equation is as follows:

$$PEC_{\text{surfacewater}} \left(\text{ng L}^{-1} \right) = \frac{\text{consumption} \times \text{Fexcreta} \times \text{Fstp}}{\text{WWinhab} \times \text{hab} \times \text{Dilution} \times 365}$$

With:

Consumption (ng year⁻¹) quantity of active molecule consumed over 1 year in a defined zone (generally a country);

Fexcreta excretion fraction of the unchanged active molecule;

Fstp fraction of the drug that enters surface waters (STP efficiency);

WWinhab volume of wastewater per person per day (default of 200 L inhab⁻¹ day⁻¹);

hab number of inhabitants in the defined zone;

Dilution dilution factor from WWTP effluents to surface water (default value of 10, (EMEA, 2006)).

In this study, PEC values (ng L⁻¹) were calculated for STP effluents (PEC_{Eff}) and surface waters (PEC_{Sw}), using the equation above. PEC_{Eff} was derived from PEC_{Sw} without dilution factor. Consumption was calculated from CNAMTS statistical data (MEDICAM, 2006). This set of data considers medicine paid for by the French social health care system (CPAM) and excludes over-the-counter products. It was assumed that the entire amount of each product sold was consumed

and that the predicted consumed amount was evenly distributed over the year and throughout the French population (62.9 millions inhabitants in 2006).

Fexcreta and Fstp were extracted from data based on an extensive literature review (Besse and Garric, 2007) and when data were not available in this source from others studies (Kummerer et al., 1997; Tauxe Würsch, 2005; Vieno et al., 2006; Lee et al., 2007; Lienert et al., 2007; Radjenovic et al., 2007; Watkinson et al., 2007). Fexcreta values are those determined by Besse and Garric (2007) when available for the studied drugs. They include the proportion of the unchanged active molecule excreted in urine and/or in faeces and the proportion of the parent molecule excreted as conjugates, assuming that they are cleaved in the environment to the parent drug (Ayscough et al., 2000).

Fstp is defined as (1-STP removal fraction). In the case of acebutolol for which a wide range of values of the fraction removed by STPs is available, Fstp was calculated as the average of these. For tamoxifen and lorazepam for which data were not reported in the literature, a default value of 1 (worse case scenario) was applied.

WWinhab was set at 200 L inhabitant⁻¹ day⁻¹. The dilution of the STP effluent to surface water depends on local conditions. In our study, it was calculated with reference to the concentrations of carbamazepine in water samples, assuming that no degradation of carbamazepine occurs in the environment (Clara et al., 2004).

Table 4 gathers all the data required for the PEC_{Eff} calculation.

3. Results and discussion

3.1. Occurrence of pharmaceuticals in Alès STP effluent and Gardon River

Concentrations of pharmaceuticals found in this study are presented in Table 5. Literature data for some other French STPs have been added for comparison.

3.1.1. Alès STP effluent

Data from this sampling campaign show that 4 compounds are predominant in Alès effluent – carbamazepine, diclofenac, acebutolol and propranolol. The range of concentrations varied from 100 ng L⁻¹ to 1500 ng L⁻¹. On the whole, these results are in accordance with concentrations in Rhône-Alpes STPs (Andreozzi et al., 2003), Ile

Table 6
PPs concentrations in the Gardon River (ng L⁻¹).

Sampling date	13 July 07	27 July 07	31 July 07	08 Feb. 08
NOR	17 ± 3	<5.2	11 ± 1	<5.2
ACE	12 ± 3	21 ± 3	36 ± 2	39 ± 2
PROP	96 ± 23	52 ± 6	113 ± 2	81 ± 4
IFO	<3.8	<3.8	<3.8	<3.8
PRAV	<7.7	<7.7	<7.7	<7.7
CAR	320 ± 54	372 ± 68	675 ± 15	105 ± 3
LOR	39 ± 8	29 ± 6	34 ± 1	9 ± 1
TAM	22 ± 10	25 ± 4	<5.8	<5.8
DIC	69 ± 20	45 ± 4	65 ± 2	107 ± 5
IBU	11 ± 5	14 ± 1	5 ± 1	26 ± 1
FEN	8 ± 3	16 ± 1	<5.5	<5.5

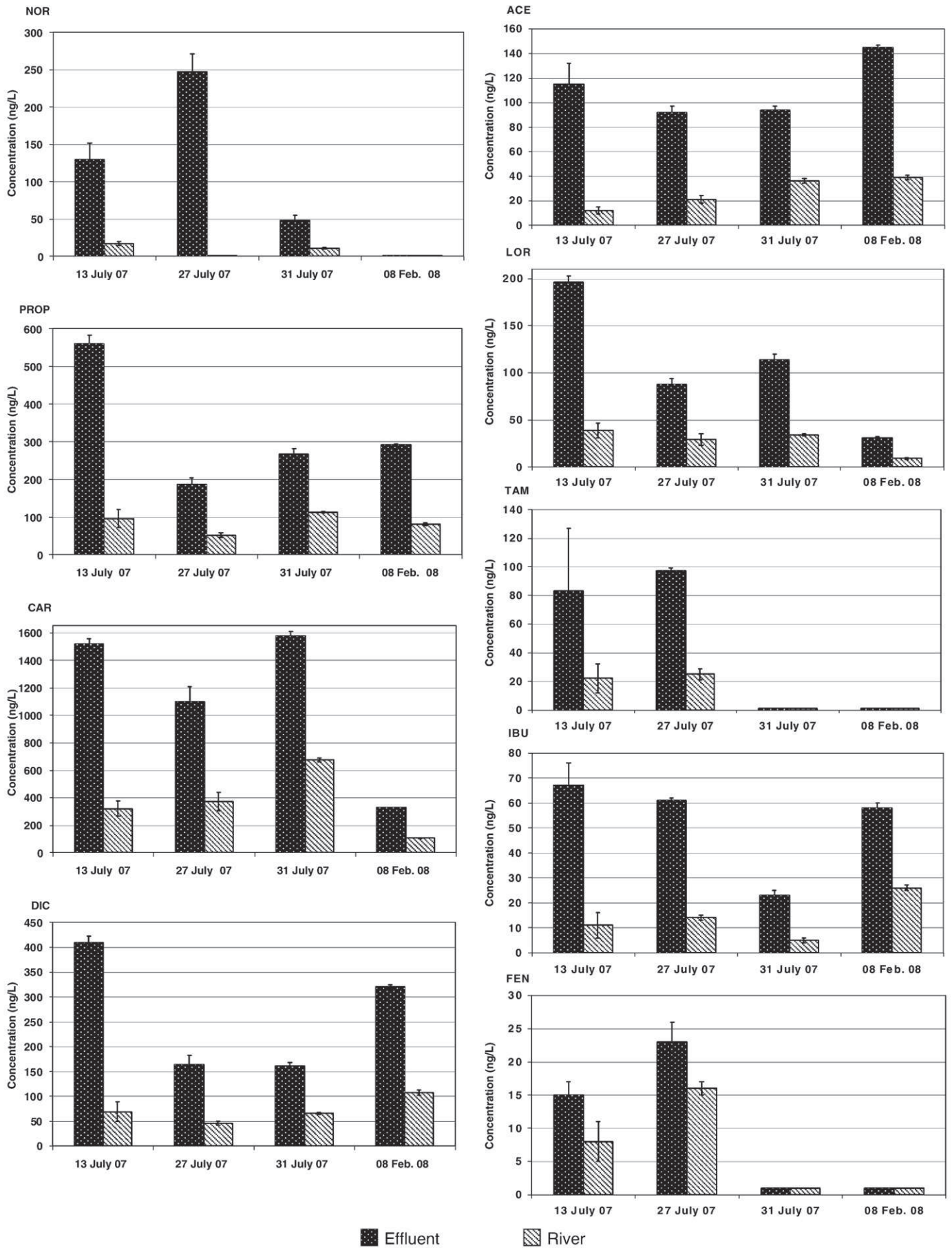


Fig. 1. Measured concentrations of PPs in effluent from the STP at Alès and in the Gardon River.

Table 7Calculated predicted concentrations in effluent, PEC_{Eff} (without dilution factor), in surface water PEC_{Sw} and MEC ($ng L^{-1}$).

	PEC_{Eff}	$PECEff$ Besse and Garric (2007)	MEC_{Eff} Median –maximum	PEC_{Sw}	PEC_{Sw}	PEC_{Sw}	PEC_{Sw}	Median PEC_{Sw}	Median MEC_{Sw}
				July 13 <i>DF=4.7</i>	July 27 <i>DF=2.9</i>	July 31 <i>DF=2.3</i>	Feb 08 <i>DF=3.1</i>		
NOR	168	–	77.5–247	36	58	73	54	56	6
ACE	1853	–	94–192	394	639	806	598	619	29
PROP	363	535	279–560	77	125	158	117	121	89
IFO	24	–	3.8	5	8	10	8	8	3.8
PRAV	270	–	7.7	58	93	118	87	90	7.7
CAR	585	–	1101.5–1519	124	202	254	189	156	346
LOR	64	–	90.5–196	14	22	28	21	21	32
TAM	22	–	26.5–102	5	7	9	7	7	11
DIC	372	250	267–409	79	128	162	120	72	67
IBU	304	550	59.5–67	65	105	132	98	101	13
FEN	105	<180	19–46	22	36	46	34	35	4

de France (Paffoni et al., 2006) and Haute-Normandie (Togola and Budzinski, 2007). Nevertheless, it can be seen that higher concentrations of ibuprofen (highly prescribed and widely used in France) have been found in STPs in the Rhône Alpes than that in Alès. A similar observation can be made for concentrations of carbamazepine in STPs in Haute Normandie compared with that in Alès.

Diclofenac and ibuprofen concentrations in other STPs in the Languedoc-Roussillon region (Rabiet et al., 2006) were of the same order of magnitude as those in the STP in Alès. On the other hand, Rabiet and co-workers found lower concentrations of carbamazepine than those found in the current study.

Some of the PPs studied in this work (lorazepam, tamoxifen) have not been reported previously in French STP effluents. Lorazepam was found in all samples at a maximum concentration of about $200 ng L^{-1}$ whereas tamoxifen was present sporadically and mostly at lower concentrations ($<100 ng L^{-1}$). This anti cancer drug has never been reported in French STP effluents but has been found on a few occasions in British STP effluents in the same range of concentrations as observed in this study (Hilton and Thomas, 2003; Ashton et al., 2004) and at concentrations higher than $100 ng L^{-1}$ (Roberts and Thomas, 2006).

Ifosfamide was not detected in Alès STP, and although it was searched for in the Ile de France region it was never found above the reported detection limit of $50 ng L^{-1}$ (Paffoni et al., 2006). This is not surprising as this product is selectively delivered in hospitals.

In order to detect potential seasonal variation, samples were collected in July–August (6 samples) and February (2 samples). No significant variation in concentrations was observed for acebutolol, propranolol, diclofenac, ibuprofen and fenofibrate between seasons. Concentrations of carbamazepine and lorazepam decreased in winter, especially that of lorazepam. However, Castiglioni et al. (2006) reported seasonal variations in ibuprofen concentrations in an Italian STP effluent due to the seasonal variability of the load of this compound in the influent and a higher removal rate observed during summer period. It seems that the variability of PP concentrations observed in the current study does not reflect a variation in the efficiency of the Alès STP, and is more likely to be due to variations in consumption through the year.

3.1.2. Gardon River

Almost all of the PPs detected in the effluent of the STP at Alès were found in the receiving water of the Gardon River (Table 6), with concentrations modified by the dilution factor. In particular, norfloxacin, tamoxifen, and fenofibrate, which are found at very low concentrations in effluent, were reduced below detection limits.

Fig. 1 shows that concentrations of PPs are in accord with those found in STP effluent at the same date. It can be seen that measured concentrations for propranolol, carbamazepine and diclofenac can exceed $100 ng L^{-1}$, the regulatory threshold value (as defined in the European water quality directives) for micro pollutants other than the priority pollutants in surface water (Paffoni et al., 2006).

3.2. Calculated PECs in Alès STP effluent and Gardon River

PEC values of the PPs in this study were calculated for the effluent (PEC_{Eff}) from the STP in Alès and for the Gardon River (PEC_{Sw}) in order to compare these with the measured concentration (MEC_{Eff} and MEC_{Sw}) for the respective compounds. PECs, and

Table 8PEC_{Eff} vs MEC_{Eff} for effluent from the STP in Alès.

$0.2 < PEC/MEC < 1$	$1 < PEC/MEC < 4$	$4 < PEC/MEC < 8$	$PEC/MEC > 8$
Carbamazepine	Propranolol	Ibuprofen	Acebutolol
Lorazepam	Diclofenac	Fenofibrate	Pravastatin
Tamoxifen	Norfloxacin		
Ifosfamide			

median and maximum MECs are reported in Table 7. According to the timing of the sampling event, the dilution factor of STP effluent in surface water varied between 2.3 and 4.7.

3.2.1. Effluent from the STP at Alès

The PEC was compared with the median MEC. Since ifosfamide and pravastatin were never detected in the STP effluent, median values were set to the detection limit. The ratio PEC/MEC was calculated in order to assess the relevance of PEC values (Sadezky et al., 2008). The scheme ranking is given below:

- $0.2 < PEC/MEC < 1$, PEC acceptable, slightly underestimated;
- $1 < PEC/MEC < 4$, PEC acceptable, slightly overestimated;
- $4 < PEC/MEC < 8$, PEC significantly overestimated;
- $PEC/MEC > 8$, PEC strongly overestimated.

Table 8 presents classification of the investigated compounds.

As consumption data were available only for prescribed medicines, the calculated PEC_{Eff} are likely to be underestimated, in comparison with PEC values given by Besse and Garric (2007) which take into account over the counter drugs. Nevertheless, a rather good agreement was observed between PEC_{Eff} and MEC_{Eff} for 2/3 of the PPs investigated. For the remaining compounds an overestimation is observed. It is very likely that in the case of ibuprofen, a proportion of the prescribed drug is not consumed and is therefore not introduced into the wastewater. In the cases of fenofibrate, acebutolol and pravastatin, that are markedly overestimated, the difference could be related to pattern consumption. These drugs are probably less prescribed in the studied region, with reference to the national average consumption. Moreover, it is known that cardiovascular diseases are less common in the south than in other regions of France (DREES, 2000).

3.2.2. Gardon River, surface water

Median PEC_{Sw} and MEC_{Sw} were compared using the same approach as was used for the STP effluent. Table 9 presents PEC vs MEC values.

As for effluent from the STP, PEC_{Sw} and MEC_{Sw} are in good agreement for carbamazepine, lorazepam, tamoxifen propranolol, diclofenac and ifosfamide. On the other hand, drugs for which $PEC_{Eff}/MEC_{Eff} > 4$ are strongly overestimated. Nevertheless, norfloxacin, a highly polar fluoroquinolone antibiotic (Ternes et al., 2004), shows a different behaviour. Indeed, despite a good agreement between PEC_{Eff} and MEC_{Eff} , the PEC_{Sw} differs greatly from the MEC_{Sw} . This result could be explained by an additional elimination occurring in the STP, possibly due to sorption phenomenon either in sludge during sewage treatment or in the river.

4. Conclusion

The main objective of this study was to compare PEC and MEC values in order to assess their relevance in STP effluent and surface water at a local scale in Alès, a city in Languedoc Roussillon region. The reliability of the PEC is a key point for the assessment of

Table 9PEC_{Sw} vs MEC_{Sw} for surface water from the Gardon River.

$0.2 < PEC/MEC < 1$	$1 < PEC/MEC < 4$	$PEC/MEC > 8$
Carbamazepine	Propranolol	Ibuprofen
Lorazepam	Diclofenac	Fenofibrate
Tamoxifen	Ifosfamide	Norfloxacin
		Acebutolol
		Pravastatin

environmental risk for aquatic systems. Eleven drugs representing the main therapeutic classes were investigated, and included lorazepam, pravastatin and tamoxifen for which no data are available in France. Lorazepam was detected in effluent from the Alès STP at concentrations up to 200 ng L⁻¹. Tamoxifen was found sporadically and pravastatin was not detected. All pharmaceuticals products occurring in the effluent were detected in the receiving water of the Gardon River. The dilution of the STP effluent in the receiving water body was set to roughly 3, a rather low value in comparison with the EMEA default value of 10, but more adapted to conditions in the south of France. Further calculation of the PEC is based on assumptions such as an evenly distributed usage over time and space, and this may not be appropriate depending on local conditions.

The predicted concentrations of PPs in STP effluent were found to be in good agreement with measured concentrations for seven of the eleven molecules investigated. For the others, an overestimation was observed, and this could be related to local patterns of consumption. The comparison of PEC with MEC for surface water highlights the differences between these and those found in the effluent from the STP. It may be that the mechanisms leading to lowered concentrations of PPs in surface waters could include transformation processes.

Many of the variables used in the calculation of PECs can be associated with poorly defined uncertainties. Differences can be particularly marked where local conditions are markedly different from assumed average values, and although PEC values can be used as a first approximation, MEC values, when available, should be preferred in ERAs.

References

- Andreozzi R, Marotta R, Paxéus N. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 2003;50:1319–30.
- Ashton D, Hilton M, Thomas KV. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci Total Environ* 2004;333:167–84.
- Ayscough NJ, Fawell J, Franklin G, Young W. Review of human pharmaceuticals in the environment. R&D technical report P390. Bristol: UK Environment Agency, Rio House; 2000. p. 110.
- Besse J-P, Garric J. Médicaments à usage humain: risque d'exposition et effets sur les milieux récepteurs. Proposition d'une liste de médicaments à usage humain à surveiller dans les eaux de surface continentales. Lyon: Agence de l'Eau R.M.C. 2007. p. 238.
- Besse JP, Garric J. Human pharmaceuticals in surface waters: implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. *Toxicol Lett* 2008;176:104–23.
- Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R, Pomati F, Calamari D, Zuccato E. Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environ Sci Technol* 2006;40:357–63.
- Clara M, Strenn B, Kreuzinger N. Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Res* 2004;38:947–54.
- Cleuvers M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicol Lett* 2003;142:185–94.
- Crane M, Watts C, Boucard T. Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals. *Sci Total Environ* 2006;367:23–41.
- DREES Direction de la recherche des études de l'évaluation et des statistiques. Les disparités spatiales de mortalité par causes de décès: l'exemple des cancers de l'appareil digestif. In: Michel E, Salem G, Rican S, Jouglu E, editors. *Etudes et résultats* 2000.
- Ellis JB. Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in urban receiving waters. *Environ Pollut* 2006;144:184–9.
- EMEA. Note for guidance on environmental risk assessment of medicinal products for human use, CMPC/SWP/4447/draft. London: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMEA); 2006.
- Fent K, Weston AA, Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat Toxicol* 2006;76:122–59.
- Gros M, Petrovic M, Barcelo D. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 2006;70:678–90.
- Gros M, Petrovic M, Barcelo D. Wastewater treatment plants as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the Ebro river basin (northeast Spain). *Environmental toxicology and chemistry/SETAC*; 2007. p. 1553–62.
- Heberer T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol Lett* 2002;131:5–17.
- Hilton MJ, Thomas KV. Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2003;1015:129–41.
- Jones OA, Voulvoulis N, Lester JN. Human pharmaceuticals in wastewater treatment processes. *Crit Rev Environ Sci Technol* 2005;35:401–27.
- Joss A, Keller E, Alder AC, Gobel A, McArdell CS, Ternes T, et al. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Res* 2005;39:3139–52.
- Kummerer K. *Pharmaceuticals in the environment: sources, fate, effects and risks*. Second edn. Berlin, Germany: Springer Verlag; 2004.
- Kummerer K, Steger-Hartmann T, Meyer MT. Biodegradability of the anti-tumour agent ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage. *Water Res* 1997;31:2705–10.
- Lee HB, Sarafin K, Peart TE. Determination of beta-blockers and beta2-agonists in sewage by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2007;1148:158–67.
- Lienert J, Gudel K, Escher BI. Screening method for ecotoxicological hazard assessment of 42 pharmaceuticals considering human metabolism and excretory routes. *Environ Sci Technol* 2007;41:4471–8.
- MEDICAM. Médicaments remboursables par le Régime Général en France. CNAMTS – Direction de la stratégie, des études et des statistiques (DSES-DEPP); 2006.
- Nikolaou A, Meric S, Fatta D. Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal Bioanal Chem* 2007;387:1225–34.
- Paffoni C, Welte B, Gousailles M, Montiel A. New molecules involved by the european directives: from wastewater to drinking water treatment plants. *Eur J Water Qual* 2006;37:21–38.
- Petrovic M, Hernando MD, Diaz-Cruz MS, Barcelo D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *J Chromatogr A* 2005;1067:1–14.
- Rabiet M, Togola A, Brissaud F, Seidel JL, Budzinski H, Elbaz-Poulichet F. Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment. *Environ Sci Technol* 2006;40:5282–8.
- Radjenovic J, Petrovic M, Barcelo D. Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. *Anal Bioanal Chem* 2007;387:1365–77.
- Richardson ML, Bowron JM. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *J Pharm Pharmacol* 1985;37:1–12.
- Roberts PH, Thomas KV. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Sci Total Environ* 2006;356:143–53.
- Sadezky A, Loeffler D, Ternes T. KNAPPE deliverable 1.2. 2008. www.knappe-eu.org.
- Stackelberg PE, Gibs J, Furlong ET, Meyer MT, Zaugg SD, Lippincott RL. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. *Sci Total Environ* 2007;377:255–72.
- Tauxe Würsch, A. Wastewaters: Occurrence of pharmaceutical substances and genotoxicity. (Lausanne, Federal polytechnic school of Lausanne, thesis no. 3280) 2005.
- Ternes TA. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res* 1998;32:3245–60.
- Ternes TA, Joss A, Siegrist H. Scrutinizing pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment. *Environ Sci Technol* 2004;38:392A–9A.
- Ternes TA, Meisenheimer M, McDowell D, Sacher F, Brauch HJ, Haist-Gulde B, et al. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ Sci Technol* 2002;36:3855–63.
- Ternes T, Joss A, Kreuzinger N, Miksch K, Lema JM, von Gunten U, et al. Removal of pharmaceuticals and personal care products: results of the POSEIDON project. *WEFTEC* 2005. p. 227–43.
- Togola A, Budzinski H. Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE and GC-MS. *Anal Bioanal Chem* 2007;388(3):627–35.
- Vieno NM, Tuhkanen T, Kronberg L. Analysis of neutral and basic pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection. *J Chromatogr A* 2006;1134:101–11.
- Watkinson AJ, Murby EJ, Costanzo SD. Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Res* 2007;41:4164–76.
- Webb S. A data-based perspective on the environmental risk assessment of human pharmaceuticals I – collation of available ecotoxicity data. In: Kummerer K, editor. *Pharmaceuticals in the environment*. Berlin: Springer-Verlag; 2004. p. 317–43.
- Williams RT. *Human pharmaceuticals: assessing the impacts on aquatic ecosystems*. Pensacola, Florida, USA: Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC); 2005.

RESUME en français

Les produits pharmaceutiques (PPs), largement consommés par la population et continuellement rejetés dans l'environnement via les stations d'épuration des eaux usées (STEP) constituent une source de contamination du milieu aquatique. L'évaluation du risque environnemental de ces composés implique la quantification précise de leurs concentrations et l'estimation de leur toxicité vis-à-vis des espèces exposées. Notre étude portant sur une douzaine de composés pharmaceutiques représentatifs a été réalisée dans le Sud Est de la France.

Après la mise au point d'une méthode de détection par LC-MS/MS, une campagne d'échantillonnage ciblée sur 7 stations d'épuration urbaines et les eaux naturelles dans lesquelles leurs effluents se déversent (rivières gardoises et lagune) a été effectuée afin d'évaluer le niveau de contamination par les PPs. La toxicité des PPs a été évaluée à l'aide de tests de bioluminescence et d'inhibition de croissance (Microtox, ToxScreen et Protoxkit). En parallèle, des expériences ont été effectuées afin d'évaluer le potentiel de la photolyse UV et de l'adsorption sur charbon actif pour éliminer ces composés.

La campagne de mesure met en évidence la présence de PPs dans les effluents de STEP de la région Sud-Est à des concentrations comprises entre 10 et 1000 ng L⁻¹ et atteignant quelques centaines de ng L⁻¹ dans le milieu récepteur situé en aval. La comparaison des niveaux d'exposition aux valeurs de toxicité obtenues expérimentalement et complétées des données de la littérature suggère que seuls 3 composés pharmaceutiques (propranolol, ibuprofène et diclofénac) sont susceptibles d'induire un risque faible à l'échelle locale (rivières gardoises). Le traitement complémentaire des effluents de STEP par photolyse UV et adsorption sur charbon actif s'avère être efficace pour éliminer la majorité des 12 composés étudiés et peuvent être envisagés pour limiter la présence et l'impact des produits pharmaceutiques dans l'environnement.

TITRE en anglais

INTEGRATED APPROACH FOR THE ENVIRONMENTAL MANAGEMENT OF PHARMACEUTICAL PRODUCTS IN EFFLUENTS FROM URBAN WASTEWATER TREATMENT PLANTS AND RECEIVING WATER : OCCURRENCE, IMPACT AND TERTIAIRY TREATMENTS

RESUME en anglais

Pharmaceutical products (PPs), widely consumed by population and discharged in the environment through wastewater treatment process (WTP), are sources of aquatic ecosystems contamination. Environmental risk assessment for these substances involves the accurate quantification of their concentrations and the evaluation of their toxicity for exposed species. Our study dealing with a dozen of representative pharmaceutical compounds was conducted in Southeast France.

A LC-MS/MS detection method was developed and a sampling campaign was carried out on 7 urban WTP and the natural waters where they discharge (rivers of the Gard and pond) in order to assess PPs contamination level. Toxicity of PPs was estimated using bioluminescent and growth inhibition tests (Microtox, ToxScreen and Protoxkit). Experiments were conducted to evaluate UV photolysis and activated carbon adsorption capacities for the removal of these compounds.

Measurements for samples collected highlight the occurrence of PPs in WTP effluent of Southeast region at concentrations ranging from 10 to 1000 ng L⁻¹ and reaching hundreds of ng L⁻¹ in the downstream surface waters. Comparison between the level of exposure and experimental toxicity values completed by literature data suggests that only 3 compounds (propranolol, ibuprofen and diclofénac) may induce a low risk at a local scale (rivers of Gard). Complementary treatments of the STP effluents by UV photolysis and activated carbon adsorption prove to be efficient to remove most of the 12 studied PPs and should be considered to reduce the presence and the impact of pharmaceutical products in the environment.

DISCIPLINE

Génie des Procédés

MOTS-CLES

Produits pharmaceutiques, occurrence, effluent de STEP, eau de surface, risque environnemental, traitement tertiaire

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE :

Laboratoire Génie de l'Environnement Industriel de l'Ecole des Mines d'Alès
6 avenue de Clavières
F. 30319 Alès Cedex
FRANCE