

2012 – Domaine 12.4 - Action 11



# Stabilité des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eaux naturelles

**I- Synthèse sur l'impact du  
prétraitement  
et du stockage**

**II- Recommandations  
opérationnelles pour la  
conservation des  
échantillons**

rapport final

**Sophie MOMPÉLAT, Anne JAFFREZIC (UMR SAS  
INRA AGROCAMPUS OUEST 1069, Sol Agro et  
hydrosystèmes, spatialisation), Emilie JARDE (UMR  
6118 Géosciences Rennes), Barbara LE BOT  
(EHESP-Leres/Inserm U1085-IRSET)**

**Juin 2013**



---

- **AUTEURS**

**Sophie MOMPÉLAT**, Chargé de mission UMR SAS convention INRA ONEMA, adresse actuelle (ANSES), [sophie.mompelat@anses.fr](mailto:sophie.mompelat@anses.fr)

**Anne JAFFREZIC**, enseignant-chercheur UMR 1069 Sol Agro et hydrosystèmes Spatialisation INRA Agrocampus Ouest [anne.jaffrezic@agrocampus-ouest.fr](mailto:anne.jaffrezic@agrocampus-ouest.fr)

**Emilie JARDE**, chercheur (CNRS) UMR 6118 Géosciences Rennes , [emilie.jarde@univ-rennes1.fr](mailto:emilie.jarde@univ-rennes1.fr)

**Barbara LE BOT**, enseignant chercheur EHESP-Leres/Inserm U1085 (IRSET), [barbara.lebot@ehesp.fr](mailto:barbara.lebot@ehesp.fr)

- **CORRESPONDANTS**

Onema : Pierre-François STAUB, [pierre-francois.staub@onema.fr](mailto:pierre-francois.staub@onema.fr)

- **AUTRES CONTRIBUTEURS**

**Droits d'usage** : libre

**Niveau géographique** : mondial

**Couverture géographique** : pas de référence à une couverture géographique

**Niveau de lecture** : professionnels, experts.



- **RESUME**

- Afin d'évaluer les risques pour les écosystèmes ou pour la santé publique liés à la présence de résidus pharmaceutiques (RP) dans les eaux naturelles, il est nécessaire de quantifier une grande diversité de produits à des concentrations parfois très faibles (ng.L<sup>-1</sup>). Les méthodes analytiques pour la quantification de ces RP sont aujourd'hui très développées et font l'objet de nombreuses publications. Cependant, peu de travaux traitent de la préservation ou de la stabilité des résidus durant la période de prélèvement et de stockage des échantillons d'eaux naturelles. Ce rapport est la première synthèse sur la stabilité des RP dans les eaux naturelles de surface ou souterraines. Les eaux de rejets de station d'épuration n'ont pas fait l'objet de cette étude. Les performances de plusieurs techniques de préservation (choix du flaconnage, filtration, température de stockage, ajout d'agent stabilisant acide ou non acide) ont été évaluées sur 58 molécules à usage humain ou vétérinaire. Le critère de stabilité retenu est un taux de recouvrement compris entre 80 et 120%. Toutes les molécules étudiées sont stables au moins 7 jours dans les eaux de surface par l'utilisation d'au moins une technique de préservation (température, agents stabilisant acide ou non acide). Lorsque la température ne suffit pas à préserver les molécules (particulièrement les hormones et la fluoxétine, un antidépresseur), l'ajout d'agent chimiques permet d'améliorer la stabilisation. Très peu d'études ont été réalisées sur des eaux naturelles, la plupart ont, en effet, été réalisées dans des matrices d'eau déionisée. Cette étude montre la nécessité d'élaborer un protocole standard pour évaluer et comparer la stabilité des RP dans les matrices environnementales durant le stockage mais aussi durant la phase de préparation ou d'analyse (European criteria 2002/657/EC). Ce rapport propose un tableau de synthèse recensant l'effet de la température et des agents stabilisants sur la conservation des 58 molécules couvrant 8 classes thérapeutiques (hormones, antibiotiques, AINS, antidépresseur, agent de contraste, bêta-bloquant, régulateur lipidique, anticonvulsif.)

- **MOTS CLES (THEMATIQUE ET GEOGRAPHIQUE) : PHARMACEUTIQUES, VETERINAIRE, HUMAIN, RESIDUS MEDICAMENTEUX, STABILITE, PROTOCOLE, PRESERVATION, CONDITIONNEMENT, FILTRATION, ECHANTILLON, EAU, SURFACE, ACIDIFICATION**



- **PHARMACEUTICAL PRODUCT STABILITY IN NATURAL WATER : IMPACT OF PRETREATMENT AND STORAGE**

- **ABSTRACT**

- In order to perform a human and ecological risk assessment of pharmaceutical products (PPs) in natural waters, it is necessary to accurately quantify a broad variety of PPs at low concentrations. Although this issue is well perceived and monitored as regards the numerous currently implemented analytical methodologies, less is known about the preservation of PPs in natural water samples within the period before analysis (holding time, storage conditions). This report is the first literature review about the stability of PPs in natural waters (surface and groundwaters) during sample storage and further researches is still needed to fill the knowledge gap. The current work focuses on a comparison of the performances of the available preservation techniques (filtration, container materials, storage temperature, preservative agents, etc.) for PPs in samples. All 58 reviewed PPs in this article may be successfully stabilized during 7 days in surface waters by at least one appropriate methodology regarding temperature, acidic and non-acidic preservatives. When temperature is not a sufficient preservation parameter for some PPs (especially hormones, and fluoxetine (an antidepressant)), its combination with the addition of chemical agents into the samples may prolong the integrity of the PPs during storage in surface water. With regards to the methodology used in stability studies, there is a strong need to use standard protocols to assess and compare the stability of PPs in environmental water matrices during storage as well as during analytical preparation or analysis (European criteria 2002/657/EC). Since the stability of PPs during sample storage is a critical parameter that could call into question the quality of the data provided for the concentrations, the design of stability studies should rigorously take into account all critical parameters that could impact the concentrations of the PPs with time.

**KEY WORDS (THEMATIC AND GEOGRAPHICAL AREA) :** pharmaceutical product, storage, natural water, acidification

-



- **SYNTHESE POUR L'ACTION OPERATIONNELLE**

Plusieurs processus (adsorption, biodégradation, hydrolyse,...) peuvent modifier la concentration des résidus pharmaceutiques (RP) dans les échantillons d'eaux naturelles. L'effet est d'autant plus marqué que les concentrations sont généralement très faibles, de l'ordre du nanogramme par litre. Ce rapport bibliographique est un travail préalable à une étude sur le suivi de produits pharmaceutiques vétérinaires dans les bassins versants agricoles. Afin de garantir des résultats fiables sur les campagnes de mesures et de s'assurer du protocole de prélèvement et de stockage des échantillons d'eaux naturelles, l'UMR SAS a donc produit une synthèse réalisée à partir de rapports et publications scientifiques internationales récents. Cette synthèse se veut opérationnelle et débouche sur un tableau synthétique présentant, pour l'ensemble des 58 molécules étudiées (tableau 1), les conditions de préservations des échantillons d'eaux naturelles pour une stabilité de 7 jours (tableau 2). Dans le cadre de la directive européenne cadre sur l'eau, trois substances pharmaceutiques (i.e. 17 alpha-éthinyloestradiol, 17 beta-oestradiol (E2), et diclofénac), ont été ajoutées à la liste de 33 polluants régit par la réglementation européenne. La principale difficulté a été de comparer des protocoles d'étude très divers de la stabilité des PP dans les eaux naturelles. En effet, les critères étudiés (influence de la lumière, flaconnage, filtration) les instruments analytiques utilisés (chromatographie gazeuse MS/MS ou chromatographie liquide MS/MS), la correction des concentrations avec ou sans utilisation de standard isotopiques, etc...), les tests statistiques mis en œuvre sont parfois très différents d'une étude à l'autre.

L'objectif principal de cette synthèse est d'identifier les techniques de préservation des PP dans les eaux naturelles depuis le transport jusqu'à l'analyse de l'échantillon. Pour l'ensemble de cette synthèse, le critère de stabilité retenu est celui défini dans l'américain standard guide ASTM D4841 et correspond à une différence de concentration en PP inférieure à 20% dans les échantillons avant et après stockage.

In fine, ce rapport propose des recommandations opérationnelles pour la conservation des produits pharmaceutiques dans les eaux naturelles.

Tableau 1 : Liste des 58 molécules pharmaceutiques étudiées et de leur usage (Vétérinaire (V gris foncé), Humain (H, blanc), usage mixte gris clair).

Classe thérapeutique	Molécules	Usage	
Antibiotiques	Azithromycine	H	
	Ciprofloxacine	H	
	Clarithromycine	H	
	Erythromycine	H, V	
	Erythromycine-H2O	H, V	
	Florfenicol	V (porc)	
	Ofloxacine	H	
	Acide oxolinique	V(porc; volaille)	
	Roxithromycine	H	
	Sulfadiazine	H, V	
	Sulfadiméthoxine	V	
	Sulfamerazine	H	
	Sulfaméthazine	H, V	
	Sulfaméthizole	H	
	Sulfaméthoxazole	H, V	
	Sulfapyridine	H	
	Sulfathiazole	H	
	Triméthoprime	H	
	Anticonvulsifs	Carbamazépine	H
		Phénytoïne	H
Primidone		H, V	
Agents antimicrobien	Triclosan	H	
Anxiolytiques- Antidépresseurs	Diazépam	H	
	Fluoxétine	H	
	Méprobamate	H	
Agent contrastant	Iopromide	H	
Hormones	17 $\alpha$ -Oestradiol	H	
	17 $\alpha$ -Éthinylœstradiol	H	
	17 $\beta$ -Oestradiol	H	
Hormones	17,20-Dihydroxyprogesterone	H	

	17 $\alpha$ -Trenbolone	H
	17 $\beta$ -Trenbolone	H
	19-norethindrone	H
	4-Androstène-3,17-dione	H
	5 $\alpha$ -androstane-17 $\beta$ -ol-3-one	H
	5 $\alpha$ -androstane-3,17-dione	H
	Androsterone	H
	Boldenone	H
	Oestrilol	H, V
	Oestrone	H
	Médroxyprogesterone	H, V
	Mélangestrol	V
	Mélangestrol acetate	V
	Nandrolone	V
	Norgestrel/levonorgestrel	H
	Progesterone	H, V
	Testostérone	H
	Zearalénol	V
	Zearalanone	H
	Zearalénone	H
Régulateur de lipides	Gemfibrozil	H
AINS	Acétaminophène	H
	Diclofénaç	H
	Ibuprofène	H
	Kétoprofène	H, V
	Naproxène	H
Psychostimulant	Caféine	H
$\beta$ -Bloquants	Aténolol	H

Les principaux résultats issus de cette synthèse sont :

- L'ensemble des 58 résidus pharmaceutiques étudiés peut être stabilisé pendant 7 jours dans les eaux de surface par au moins une des techniques de préservation (température, stabilisant acide ou non acide). 27 résidus sur 31 peuvent être préservés dans les eaux souterraines pendant 6 à 7 jours.
- Les échantillons d'eaux naturelles doivent être collectés dans des bouteilles ambrées et transportés dans l'obscurité pour empêcher la photodégradation. L'impact de la filtration n'a été testé que sur des eaux usées, cependant il est conseillé de filtrer les échantillons dans les 24h pour éviter la biodégradation. Tous les types de filtre (matériau et porosité) semblent convenir pour éliminer les matières en suspension sans risque d'éliminer les résidus médicamenteux en solution.
- Bien que l'effet du flaconnage sur la stabilité des résidus n'ait été testé que sur des matrices d'eaux déionisées et jamais sur des eaux de surface, l'utilisation du verre non silanisé semble être le meilleur compromis valable pour toutes les familles thérapeutiques **excepté les antibiotiques qui sont mieux conservés dans le verre silanisé ou les flacons en PEHD** (polyéthylène haute densité).
- La température est le paramètre qui a été le plus étudié. La congélation, la réfrigération à 4°C ou le stockage à température ambiante (25°C) permet tent de préserver la majorité des résidus pendant au moins 7 jours. Cependant, il paraît impossible de préconiser une seule température pour la préservation de tous les PP. Le tableau 2 fournit les températures de stockage idéales pour chacune des molécules. Le stockage des RP dans les solvants organiques après une extraction réalisée dans les plus brefs délais après l'échantillonnage a été proposé comme une solution alternative pour la préservation des résidus. Cependant, peu de données sont aujourd'hui disponibles dans la littérature.

Lorsque la réfrigération ou la congélation ne permettent pas de stabiliser les résidus (particulièrement les hormones et le fluoxétine un antidépresseur), l'ajout de stabilisants peut améliorer la préservation des molécules durant le stockage des eaux naturelles. L'azoture de sodium et le formaldéhyde améliore la stabilité de quelques hormones sans modifier la conservation de la plupart des autres produits. **L'acidification des échantillons a pH 2 par de l'acide chlorhydrique ou sulfurique améliore encore la stabilisation des hormones en agissant sur l'activité microbienne principale responsable de la dégradation des résidus médicamenteux.** Par ailleurs, l'ajout de stabilisant peut altérer la stabilité de certains produits en activant l'hydrolyse par exemple.

Ainsi, en cas d'analyse multirésidus, il paraît complexe de trouver le meilleur compromis pour préserver une grande variété de résidus médicamenteux.



**Tableau 2 : Stabilité des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eaux naturelles destinés à l'analyse.**

"✓": conditions pour lesquelles la molécule est stable pendant au moins 7 jours, "0": molécule instable sur la durée du test, "-": pas de données.

Classe thérapeutique	Molécules	Sans additif			Avec additif							
		-20°C	4°C	25°C	Azoture de sodium, 4°C	Azoure de sodium, RT	Formaldehyde, 4°C	MeOH, 4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH2, 4°C	HCl, pH2, 4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH<2, 4°C ou RT	
Antibiotiques	Azithromycine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ciprofloxacine	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Clarithromycine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Erythromycine	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Erythromycine-H2O	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	✓
	Florfenicol	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ofloxacine	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Acide axolinique	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Roxithromycine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfadiazine	✓	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfadiméthoxine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfamerazine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfaméthazine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfaméthizole	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfaméthoxazole	0	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	0
	Sulfapyridine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfathiazole	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Triméthoprim	✓	*	✓	✓	✓	-	✓	✓	-	-	✓
	Anticonvulsifs	Carbamazépine	0	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	-	✓
Phénytoïn		✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓	
Primidone		✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓	
Agents antimicrobien	Triclosan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	
Anxiolytique-Antidépresseurs	Diazépam	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	0	-	✓	
	Fluoxétine	0	✓ (3jours)	0	0	0	-	-	✓	-	✓	
	Méprobamate	0	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓	
Agent de contraste	Iopromide	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	0	

**Tableau 2 (suite): Stabilité des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eaux naturelles destinés à l'analyse.**

"✓": conditions pour lesquelles la molécule est stable pendant au moins 7 jours, "0": molécule instable sur la durée du test, "-": pas de données

Classe thérapeutique	Molécules	Sans additif			Avec additifs						
		-20°C	+4°C	+25°C	Azoture de sodium, 4°C	Azoture de sodium, RT	Formaldéhyde, +4°C	MeOH, +4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH2, +4°C	HCl, pH2, +4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH<2, +4°C ou RT
Hormones	17 α-Oestradiol	-	0	-	-	0	-	0 (<3jours)	✓	✓	-
	17 α-Ethynyloestradiol	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ (3j)	✓	-	✓
	17 β-Oestradiol	✓	0	0	*	0	✓	0 (<3j)	✓	✓	✓
	17,20-Dihydroxyprogesterone	-	0	-	0	-	-	-	0	0	-
	17α-Trenbolone	-	0	-	0	-	-	-	✓	-	-
	17β-Trenbolone	-	0	-	0	-	-	-	✓	✓	-
	19-norethindrone	-	-	-	-	-	-	✓ (3j)	-	-	-
	4-Androstene-3,17-dione	-	0	-	0	-	-	-	✓	✓	-
	5α-androstan-17β-ol-3-one	-	-	-	0	-	-	-	0	✓	-
	5α-androstane-3,17-dione	-	0	-	✓	-	-	-	0	✓	-
	Androsterone	-	0	-	0	-	-	-	✓	✓	-
	Boldenone	-	0	-	0	-	-	-	0	0	-
	Oestriol	-	0	-	0	-	✓	✓ (3j)	✓	✓	-
	Oestrone	✓	*	0	*	✓	✓	✓ (3j)	✓	✓	✓
	Medroxyprogesterone	-	-	-	-	-	-	✓ (3j)	-	-	-
	Melengestrol	-	✓	-	✓	-	-	-	✓	✓	-
	Melengestrol acetate	-	✓	-	✓	-	-	-	✓	✓	-
	Nandrolone	-	0	-	0	-	-	-	✓	✓	-
	Norgestrel/levonorgestrel	-	-	-	-	-	-	✓ (3j)	-	-	-
	Progesterone	0	0 (<3j)	0	*	✓	-	✓ (3j)	✓	✓	✓
Testosterone	✓	0 (<3j)	0	*	0	-	-	✓	✓	✓	
Zearalenol	-	0	-	✓	-	-	-	0	0	-	
Zearalanone	-	0	-	✓	-	-	-	✓	✓	-	
Zearalenone	-	0	-	✓	-	-	-	✓	✓	-	
Régulateurs lipidiques	Gemfibrozil	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	✓
AINS	Acetaminophene	-	-	-	-	-	-	-	0	-	✓
	Diclofenac	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	0
	Ibuprofene	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	0	-	✓
	Ketoprofene	-	✓	-	-	-	✓	✓	-	-	-
	Naproxene	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	-	-
Psychostimulant	Cafeine	-	-	-	-	-	-	✓	0	-	✓
β-Bloquant	Atenolol	0	✓	0	0	0	-	-	-	-	0

- **SOMMAIRE**

<b>1. Introduction</b> .....	<b>12</b>
<b>2. Molécules étudiés</b> .....	<b>14</b>
<b>3. Processus affectant la stabilité des produits pharmaceutiques dans les eaux naturelles du prélèvement à l'analyse</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1 L'adsorption</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2 Dégradation (photo, bio-dégradation et hydrolyse)</b> .....	<b>17</b>
<b>3.3 Autres transformations chimiques et abiotiques</b> .....	<b>18</b>
<b>3.4 Contamination croisée</b> .....	<b>18</b>
<b>4. Conditions lors du transport et du stockage</b> .....	<b>19</b>
<b>4.1 Transport de l'échantillon</b> .....	<b>19</b>
<b>4.2 Conditions de stockage</b> .....	<b>19</b>
4.2.1 Influence de l'exposition à la lumière .....	19
4.1.2 Influence du type de flaconnage .....	20
4.1.3 Influence de la température lors du stockage .....	21
<b>5. Techniques de prétraitement</b> .....	<b>26</b>
<b>5.1 Filtration</b> .....	<b>26</b>
<b>5.2 Les stabilisants non acides</b> .....	<b>27</b>
<b>5.2 Les stabilisants acides</b> .....	<b>32</b>
<b>6 Conclusion : recommandations opérationnelles pour la conservation des échantillons</b> .....	<b>38</b>
<b>7 Glossaire</b> .....	<b>40</b>
<b>8 Sigles &amp; Abréviations</b> .....	<b>41</b>
<b>9 Bibliographie</b> .....	<b>42</b>
<b>10 Table des illustrations</b> .....	<b>45</b>

## 1. Introduction

Depuis une décennie, les scientifiques et le grand public commencent à se préoccuper des risques liés à la présence de produits pharmaceutiques (RP) humains ou vétérinaires dans les eaux naturelles pour la santé humaine ou la santé des écosystèmes. Il existe beaucoup de voies de contamination possible dans les milieux aquatiques [1-3], cependant la source principale de contamination est liée aux rejets d'assainissement ou aux effluents animaux, par rejet direct vers la rivière ou via l'épandage sur les sols. Le résidu pharmaceutique est un composé bioactif qui peut être retrouvé dans les milieux aquatiques sous sa forme de molécule mère mais également sous forme de métabolites, ou de molécules ayant subi des transformations lors des procédés de traitement des eaux usées ou des effluents d'élevage (par voie abiotique ou par biodégradation). Une grande diversité de RP a été détectée, généralement à faible concentration (i.e ng/L), dans les eaux de surface et les eaux souterraines dans le monde [4-12]. Dans le cadre de la directive européenne cadre sur l'eau, trois substances pharmaceutiques (i.e. 17 alpha-éthinyloestradiol, 17 beta-œstradiol (E2), and diclofénac), ont été ajoutées à la liste de 33 polluants régis par la réglementation européenne [13]. Dans le but d'évaluer les risques de transfert de RP dans les eaux et leur impact sur la santé des écosystèmes, il est nécessaire de disposer de protocole d'échantillonnage et de stockage des échantillons d'eaux naturelles garantissant la stabilité des produits entre le prélèvement et l'analyse.

Des efforts considérables sont réalisés en chimie analytique pour améliorer l'identification et la quantification des RP dans les eaux naturelles à des niveaux parfois inférieurs au ng/L. De plus, des efforts sont réalisés pour mettre en place des protocoles standard à l'échelle nationale pour surveiller les teneurs en PP dans les eaux naturelles [14,15]. Alors que de très nombreuses études traitent des performances analytiques ou des données d'occurrence de ces produits dans l'environnement [16-20], il est étonnant de constater qu'un faible nombre d'études scientifiques traitent de la stabilité et de la préservation des échantillons pour la quantification des PP.

Un des pré-requis pour la surveillance et l'estimation des risques est pourtant de pouvoir quantifier les concentrations dans différentes matrices environnementales. L'évaluation des durées et des conditions de stockage des échantillons d'eaux naturelles sur la stabilité des PP est donc indispensable. Idéalement, le prélèvement et l'analyse dans les 24h doivent garantir la stabilité des PP. Néanmoins, il existe parfois des freins liés à la logistique de prélèvement ou de traitement des analyses qui obligent les laboratoires à conserver les échantillons pendant de plus longues périodes.

Bien que de nouvelles méthodes telles que l'échantillonnage passif ou l'extraction in situ (micro extraction sur phase solide, extraction sur phase solide par agitation d'un barreau adsorbant) permettent d'extraire les PP des matrices et peut-être de limiter les causes de dégradation liées à la lumière ou à l'activité biologique. La préservation des PP dans les solvants [21-24] peut pourtant générer d'autres problèmes de stabilité qui ne seront pas présentés dans cette synthèse.

Cette synthèse bibliographique a été élaborée à partir d'une étude bibliographique exhaustive portant sur les articles publiés dans des revues et des rapports internationaux parus depuis 2000. La principale difficulté a été de comparer des protocoles d'étude très divers de la stabilité des RP dans les eaux naturelles. En effet, les critères étudiés (influence de la lumière, flaconnage, filtration) les instruments analytiques utilisés (chromatographie gazeuse MS/MS ou chromatographie liquide MS/MS), la correction des concentrations avec ou sans utilisation de standard isotopiques, ainsi que les tests statistiques mis en œuvre sont parfois très différents d'une étude à l'autre.

Un critère de stabilité a été utilisé pour comparer les résultats de la littérature. Une différence de concentration en RP inférieure à 20% dans les échantillons avant et après stockage a été choisie comme critère de stabilité comme cela est défini dans l'American Standard Guide ASTM D4841 [25].

Ainsi, l'objectif principal de cette synthèse est d'identifier les techniques de préservation des RP dans les eaux naturelles depuis le transport jusqu'à l'analyse de l'échantillon. Les processus affectant la stabilité des RP dans les eaux naturelles ainsi que les paramètres influençant ces processus seront présentés dans une première partie. Puis, chacun des paramètres influençant la stabilité des RP dans des eaux naturelles sera étudié (impact de la lumière, flaconnage, filtration, température, ajouts de stabilisants) et les performances sur la stabilité seront synthétisées et discutées pour chaque famille thérapeutique ou chaque molécule.

Dans la perspective de réaliser des analyses multirésidus, proposer des protocoles de traitement des échantillons d'eaux naturelles garantissant la stabilité des PP est un vrai challenge. L'objectif est de savoir s'il existe un protocole universel pour la préservation des PP dans les eaux naturelles, ou s'il faut proposer des protocoles par famille thérapeutique ou parfois spécifiquement pour certaines molécules. Ce rapport propose des recommandations opérationnelles pour la conservation des produits pharmaceutiques dans les eaux naturelles.

## 2. Molécules étudiés

Ce rapport a été élaboré à partir d'une synthèse bibliographique exhaustive portant sur les articles publiés dans des revues et des rapports internationaux parus depuis 2000. Les études ont porté sur 81 molécules dont 58 molécules (tableau 1) appartenant à 15 classes thérapeutiques (usage humain et vétérinaire) ayant fait l'objet de test de stabilité dans les eaux de surface et les eaux souterraines ont été retenues. Les molécules présentes dans des matrices environnementales de station d'épuration ne sont pas traitées dans cette synthèse. 70% de ces PP appartiennent à trois familles i) les hormones stéroïdiennes (36%, oestrogènes% : estrogènes, progestogènes et androgènes), ii) les antibiotiques (24% : macrolides, pyrimidines,  $\beta$ -lactamines, quinolones, sulfonamides, etc.) et iii) les antidépresseurs et les anxiolytiques (10%). Les 30% restants couvrent 12 classes thérapeutiques tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les anticonvulsifs, les régulateurs lipidiques et les  $\beta$ -bloquants.

Seulement 31% (18 PP) de ces molécules étudiées ont un usage vétérinaire. Parmi ces molécules, 10 PP sont à la fois destinés à des usages humains et vétérinaires et 8 sont d'un usage exclusivement vétérinaire (florfenicol, mélangestrol, mélangestrol acetate, nandrolone, acide oxolinique, sulfadiméthoxine, zéaralanol) [26].

Ce projet s'intéresse à l'étude des résidus médicamenteux à usages vétérinaires dans les eaux naturelles de surface. Etant donné le manque de données existantes ou disponibles concernant la conservation des résidus médicamenteux tous usages confondus et à plus forte raison les résidus vétérinaires, il sera question dans ce rapport de l'état des connaissances actuelles en matière de conservation dans les échantillons d'eaux naturelles des résidus médicamenteux couvrant les usages humains et les usages vétérinaires. D'autant plus que l'élargissement de l'état des connaissances à l'ensemble des résidus tous usages confondus pourra être utilisé par un plus large public que celui visé initialement. Car, dans l'ensemble les recherches actuelles sont menées par le moyen de méthodologies analytiques dites "multirésidus" qui couvrent généralement l'analyse de plusieurs familles de molécules médicamenteuses à la fois ( i.e. aussi bien des résidus médicamenteux à usages humains que vétérinaires.)

**Tableau 1 :** Liste des 58 molécules étudiées dans les eaux de surface étudiées à usage vétérinaire (en gris foncé), humain (blanc) ou mixte humain/vétérinaire (gris clair).

Classe thérapeutique	Molécules	Usage
Antibiotiques	Azithromycine	H
	Ciprofloxacine	H
	Clarithromycine	H
	Erythromycine	H, V
	Erythromycine-H2O	H, V
	Florfenicol	V (porc)
	Ofloxacine	H
	Acide oxolinique	V (porc; volaille)
	Roxithromycine	H
	Sulfadiazine	H, V
	Sulfadiméthoxine	V
	Sulfamerazine	H
	Sulfaméthazine	H, V
	Sulfaméthizole	H
	Sulfaméthoxazole	H, V
Sulfapyridine	H	
Sulfathiazole	H	
Triméthoprime	H	
Anticonvulsifs	Carbamazépine	H
	Phénytoïne	H
	Primidone	H, V
Agents antimicrobien	Triclosan	H
Anxiolytiques- Antidépresseurs	Diazépam	H
	Fluoxétine	H
	Méprobamate	H
Agent contrastant	Iopromide	H
Hormones	17 $\alpha$ -Oestradiol	H
	17 $\alpha$ -Éthinylœstradiol	H
	17 $\beta$ -Oestradiol	H

Hormones	17,20-Dihydroxyprogestérone	H
	17 $\alpha$ -Trenbolone	H
	17 $\beta$ -Trenbolone	H
	19-norethindrone	H
	4-Androstène-3,17-dione	H
	5 $\alpha$ -androstane-17 $\beta$ -ol-3-one	H
	5 $\alpha$ -androstane-3,17-dione	H
	Androsterone	H
	Boldenone	H
	Oestrilol	H, V
	Oestrone	H
	Médroxyprogestérone	H, V
	Mélangestrol	V
	Mélangestrol acétate	V
	Nandrolone	V
Norgestrel/levonorgestrel	H	
Progesterone	H, V	
Testostérone	H	
Zearalénol	V	
Zearalanone	H	
Zearalénone	H	
Régulateur de lipides	Gemfibrozil	H
AINS	Acétaminophen	H
	Diclofenac	H
	Ibuprofène	H
	Ketoprofène	H
	Naproxène	H
Psychostimulant	Caféine	H
$\beta$ -Bloquants	Aténolol	H

### 3 Processus affectant la stabilité des produits pharmaceutiques dans les eaux naturelles du prélèvement à l'analyse

Selon l'activité thérapeutique recherchée, les RP possèdent des structures chimiques et donc des propriétés physico chimiques différentes (constante de dissociation acido-basique, solubilité, polarité, ...). Ces propriétés peuvent contrôler un certain nombre de processus à l'origine de la diminution de la concentration en RP dans des matrices aqueuses au cours du stockage des échantillons.

Bien que les RP soient décrits comme des polluants persistants dans les milieux aquatiques, des études ont montré des phénomènes d'atténuation [2,27-29]. Pour développer un protocole de test de stabilité, il est important d'identifier tous les processus (Figure 1) qui peuvent diminuer la concentration en PP dans les eaux naturelles. L'évaporation des RP est peu probable car les RP sont majoritairement des molécules polaires.

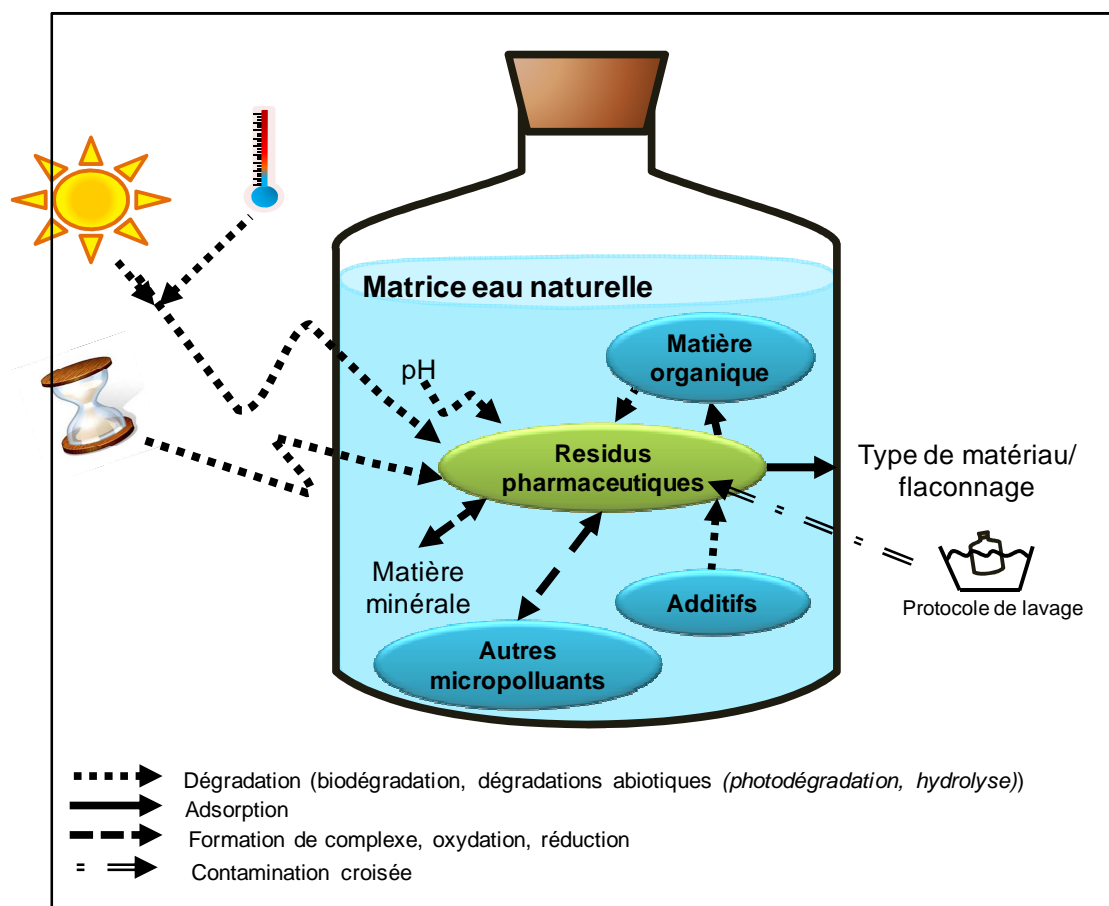


Figure 1 : processus affectant la stabilité des résidus pharmaceutiques dans les eaux naturelles



### **3.1 L'adsorption**

Les résidus pharmaceutiques peuvent être adsorbés sur la matière organique dans les eaux naturelles mais peuvent également s'adsorber sur les surfaces des flacons d'échantillonnage et entraîner ainsi un biais dans la quantification.

Dans les deux cas, l'adsorption dépend des propriétés de surface du matériau de la bouteille ou de la nature de la matière organique et de l'hydrophobicité des RP, mais également des caractéristiques physico-chimiques des molécules (structure, pKa, solubilité, ...), de leurs concentrations, de la composition de la matrice (salinité, pH, etc.), de la température, du rapport entre le volume et la surface de contact et du temps de contact. Les RP fortement hydrophobes ( $\log K_{ow} > 4$ , e.g hormones stéroïdiennes) sont particulièrement sensibles à l'adsorption sur la matière organique ou les surfaces des flacons. La grande majorité des RP sont des molécules hydrophiles possédant un faible coefficient de distribution n-octanol/eau ( $\log K_{ow} < 4$ ) [1]. Cependant les facteurs cités ci-dessus peuvent contrôler l'adsorption des RP, comme la spéciation qui dépend du pH des eaux et qui en modifiant la charge de la molécule peut entraîner des interactions entre la molécule et la matière organique [1,32-34], ou avec les terminaisons faiblement acides des groupements silicates et silanols sur les surfaces des flacons en verre non traités [35].

La désorption des RP naturellement adsorbés sur la matière organique suite à une modification du pH, par exemple lors d'ajout d'agent acidifiant, peut provoquer une surestimation de la concentration des RP dans la phase dissoute des échantillons d'eaux.

Une attention particulière doit donc être portée à la phase de stockage pour éviter la sorption des RP sur les surfaces des flacons ainsi que les processus de sorption/désorption sur la matière organique présente dans les eaux naturelles.

### **3.2 Dégradation (photo, bio-dégradation et hydrolyse)**

La biodégradation des RP par des processus catabolique stéréo-sélectifs dépend de la composition et de la température de la matrice aqueuse, de la nature et de la teneur en microorganismes (bactéries, champignons, virus, algues, etc.). Il existe aujourd'hui très peu d'information sur les biotransformations et les sous produits formés alors que ces informations seraient très utiles pour la préservation des échantillons d'eaux naturelles. [1,36,37].

L'activité microbienne dans des échantillons d'eaux est la principale raison de la dégradation d'hormones durant le stockage [38-40]. Alors que l'élimination des RP par les microorganismes dans les stations de traitement de l'eau est une technique en plein essor pour réduire les risques de contamination environnementale par les RP [41], l'impact de la biodégradation sur la teneur en RP dans les eaux constitue encore aujourd'hui un obstacle à une quantification fiable des concentrations.

L'irradiation solaire des RP dans les échantillons d'eaux durant le transport et le stockage peut également entraîner des transformations abiotiques et diminuer la concentration. La

photodégradation dépend de l'intensité de la lumière, de la durée et de la fréquence d'exposition, de la composition de la matrice, notamment de la concentration et de la nature des matières organiques [1,2]. Les RP peuvent être transformés par l'absorption directe de la lumière ambiante mais une photodégradation indirecte induite par la présence de macromolécules organiques ou de nitrates peut également se produire. La lumière excite les molécules photosensibles créant des radicaux qui peuvent interagir avec les RP [1,42-44].

L'hydrolyse, autre possibilité de dégradation, dépend de la structure moléculaire des RP qui est déterminante sur la stabilité et la réactivité des RP dans l'eau face aux clivages possible en sous-produits. Jiang *et al.* montre par exemple que la liaison amide constitutive du noyau  $\beta$ -lactame des céphalosporines est particulièrement instable par rapport au processus d'hydrolyse qui dépend du pH de la matrice aqueuse [45].

### **3.3 Autres transformations chimiques et abiotiques**

De part leur caractère amphotère, plusieurs RP (quinolones, AINS) peuvent former des complexes organo-minéraux avec différents cations tels que  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  dans les matrices aqueuses [46-48]. La formation de ces complexes peut favoriser l'adsorption des RP sur les surfaces des flacons en verre. D'autres types d'interactions (liaison électrostatique, liaison hydrogène, etc.) entre RP ou avec d'autres micropolluants ou agents ajoutés pour la procédure analytique peuvent altérer le recouvrement des RP. Par exemple, les agents surfactants présents dans les détergents et contaminant les eaux naturelles peuvent modifier les équilibres d'adsorption/désorption sur la matière organique [32]. Des pertes de RP peuvent également être dues à des réactions d'oxydation/réduction. Très peu d'études s'intéressent au processus stéréospécifiques tels que la racémisation, l'interconversion de RP chirales ou la déconjugaison. Or ces réactions peuvent également altérer la quantification des RP dans les eaux naturelles [36,39,49,50].

### **3.4 Contamination croisée**

Un nettoyage insuffisant des flacons avant échantillonnage peut être une source de surestimation des concentrations en RP due à des contaminations croisées d'une campagne d'échantillonnage à une autre. L'analyse de « blanc », flacons remplis d'eau ultrapure, permettrait de montrer l'absence de contamination durant l'échantillonnage et le transport au laboratoire [51].

## 4. Conditions lors du transport et du stockage

### 4.1 Transport de l'échantillon

Selon les indications de la norme ISO 5667-3 sur la manipulation des échantillons d'eau, les échantillons doivent être placés dans des flacons étanches à l'eau et à l'air pour éviter toute altération, fuite ou contamination externe [15]. Immédiatement après la collecte, les échantillons sont transportés dans les plus brefs délais dans des glacières en évitant toute source de lumière afin de minimiser la dégradation et l'adsorption jusqu'à l'arrivée au laboratoire.

### 4.2 Conditions de stockage

#### 4.2.1 Influence de l'exposition à la lumière

Plusieurs RP sont photosensibles dans les eaux naturelles comme le diazépam, les antibiotiques de la famille des sulfonamides, tétracyclines, nitrofuranes et fluoroquinolones, la fluoxétine, le diclofénac, le triclosan, l'albuterol, le fénofibrate, l'iodoarene, la tylosine, le 17- $\beta$  estradiol, etc. [52-56]. Cependant, certains RP comme l'acide oxolonique ne sont pas sensibles à la lumière du soleil dans les eaux de surfaces [57]. Des informations sur la photostabilité des RP sont disponibles dans la littérature médicale et pharmacologique. Cependant ces informations peuvent difficilement être extrapolées à des matrices complexes telles que les eaux de surface [58].

L'évaluation de l'impact de l'exposition à la lumière sur la stabilité des RP n'a pas été réalisée dans des matrices d'eaux naturelles [39,49]. Vanderford *et al.* [39] comparent les résultats obtenus sur six réplicats d'eau déionisée dopés avec 19 RP et placés dans des flacons en verre non silanisés clairs ou ambrés. Après 14 jours de stockage à 4°C, les variations de concentrations mesurées dans les deux flacons sont inférieures à 20%, ce qui reflète une stabilité significative de ces RP dans ces conditions. A l'inverse, les concentrations de 8 estrogènes et 2 progestérones dans des flacons exposés à la lumière et à la température ambiante varient de 20 à 100% (avec une médiane autour de 34%) après une semaine de stockage [49]. L'impact de la température sur la dégradation n'a pas été évalué dans cette étude alors que les échantillons contrôles étaient stockés à 4°C et les échantillons exposés à la lumière étaient stockés à température ambiante. Ces deux dernières études démontrent l'importance d'évaluer l'influence de la lumière sur la stabilité des RP dans les échantillons d'eaux naturelles en parallèle du développement analytique. L'approche multirésidus étant souvent privilégiée dans les études environnementales, des matériaux opaques devraient systématiquement être utilisés dans toutes les étapes de l'échantillonnage à l'analyse comme c'est d'ailleurs le cas pour la plupart des polluants organiques.

#### 4.1.2 Influence du type de flaconnage

Le matériau du flacon influence l'adsorption des RP sur la surface du flacon et peut conduire à un biais dans la quantification. Les bouteilles sont couramment utilisées pour l'échantillonnage des eaux naturelles. Elles doivent être propres et inertes pour empêcher la perte de RP et la modification de la composition des échantillons. Une gamme variée de matériau est décrite dans la littérature: flacons en verre (ambré) silanisé ou non silanisés, flacon en polyéthylène haute densité (PEHD), ou en polyéthylène basse densité, flacons en polypropylène, et d'autres flacons dont le type n'est pas précisé dans les études recensées [38,59,60]. L'agent silanisant crée un film non polaire sur le verre en recouvrant les groupements silanols libres et empêche ainsi des interactions avec certains résidus. Seulement trois études décrivent l'impact des matériaux sur le taux de recouvrement des RP en fonction du temps (7, 14 et 28 jours) [39,49,61]. Il apparaît i) qu'aucune étude de l'impact du matériau sur la stabilité des RP n'ait été réalisée dans des matrices d'eaux de surface, ii) que le matériau affecte le recouvrement des RP dans des matrices eaux déionisées [39,49,61]. Il n'existe pas de matériau unique permettant de limiter les pertes de RP par adsorption à des niveaux non significatifs. Le choix du matériau de la bouteille dépend clairement des molécules ciblées.

L'Agence de Protection Environnementale des Etats-Unis d'Amérique a revu les conditions de stockage pour préserver les RP dans les eaux naturelles dans les méthodes 1698 et 1694 [14,62] en s'appuyant sur une étude de 87 RP appartenant à 19 classes thérapeutiques pour différents matériaux de bouteilles dans de l'eau déionisée. Malgré les différences observées entre RP, les bouteilles en verre simple, c'est-à-dire non silanisé, (stockées à 4°C) permettent d'offrir le meilleur compromis de recouvrement pour la plupart des RP (entre 7 et 28 jours) [61].

Néanmoins, le choix du matériau spécifique dépend de la famille chimique des RP [39,49,61]. Pour les antibiotiques, le verre non silanisé ou le PEHD, permettent de conserver les tétracyclines sans changement significatif de concentration (recouvrement de 93 à 86% après 7 jours) [61]. Des taux satisfaisants de recouvrement (71% et 100%) après 7 jours sont obtenus pour des  $\beta$ -lactamines cibles et des sulfonamides/quinolones dans des bouteilles en verre silanisé [61]. Des résultats comparables sont obtenus pour les sulfonamides avec des bouteilles en PEHD. Les macrolides sont les plus affectés par l'adsorption sur les surfaces des bouteilles quelque soit le matériau. Seulement 50 à 57% des analytes de la famille des macrolides sont conservés après 7 jours dans du verre silanisé et des bouteilles en PEHD [61].

Les matériaux plastiques comme le PEHD peuvent contenir des additifs qui peuvent être libérés dans la solution et causer des interférences pendant l'analyse. Cela fut observé par Vanderford *et al.* 2011 avec le sulfaméthoxazole marqué utilisé pour corriger l'effet de la matrice [39]. De plus, ces matériaux polymères favorisent la formation de biofilms en surface de la bouteille susceptibles de dégrader les RP [63]. 94% des hormones et des stéroïdes sont préservés dans des bouteilles en verre silanisé alors que 100% de ces analytes sont conservés sans changement significatif dans du verre non silanisé et du PEHD [61].

Par contre, une autre étude a montré que 10 estrogènes en solution aqueuse (la nature de la matrice n'est pas précisée) sont mieux préservés par ordre dans le verre silanisé, le PEHD et enfin le verre non silanisé [49].

Le processus de silanisation peut représenter un avantage sur le long terme. En effet, Suri *et al.* a comparé le recouvrement de 10 hormones estrogènes dans des flacons en verre dont la surface a été préalablement activée au papier de verre pour simuler le vieillissement naturel et dans des bouteilles en verre silanisé [49]. Un gain de 13% et des pertes de 33% ont été mesurés selon les flacons avec des pertes de plus de 20% pour l'estrone, l'équiline et le gestodène après 7 jours. L'agent silanisant crée un film non polaire sur le verre en recouvrant les groupements silanols libres et empêche ainsi des interactions avec certains estrogènes. L'étude publiée par l'EPA montre que 26 RP appartenant à 14 classes thérapeutiques, hormis les antibiotiques et les hormones, sont préservés dans des bouteilles en verre après 7 jours de stockage [61]. Ces résultats sont en accord avec une autre étude qui montre que les meilleurs recouvrements sont obtenus dans des bouteilles en verre non silanisé pour les 19 RP appartenant à 8 familles thérapeutiques après 14 jours de stockage [39].

Ainsi, ces trois études ont mis en évidence que le type de matériau de la bouteille ou du flacon peut affecter le recouvrement des RP. Le meilleur choix du matériau dépend clairement des molécules visées. Cependant, il ressort que pour la plupart des RP (toutes familles confondues), le verre non silanisé semble offrir les meilleures performances et être le meilleur compromis pour préserver les RP dans les eaux naturelles, à l'exception des antibiotiques (macrolides et quinolones) qui seront mieux préservés dans le verre silanisé ou les bouteilles en PEHD.

Pour chaque liste spécifique de RP, il est nécessaire de réaliser des tests durant la procédure analytique pour s'assurer de l'innocuité du matériau choisi pour le stockage sur la concentration en RP dans les eaux naturelles. De plus, la présence de matière organique dans les matrices d'eaux naturelles peut diminuer l'adsorption des RP sur les surfaces des flacons par rapport à des matrices d'eaux déionisées grâce à la compétition entre la matière organique et la surface [61]. Des études complémentaires réalisées dans des matrices d'eaux naturelles seraient nécessaires pour confirmer l'impact du matériau de la bouteille sur la préservation des RP.

#### 4.1.3 Influence de la température lors du stockage

La maîtrise de la température est une technique physique de conservation efficace pour stabiliser certain RP dans les eaux naturelles. La durée et la température sont les deux paramètres à évaluer pour une bonne quantification des différents RP. La température de stockage peut affecter les processus de dégradation des RP (biodégradation et transformations chimiques) en influençant la croissance bactérienne et la cinétique des réactions chimiques (hydrolyse, photodégradation, etc.). Les équilibres adsorption/désorption des RP avec la matière organique ou la surface du matériau peuvent également être modifiés et devenir irréversibles dans le temps.

**Tableau 2** synthèse des protocoles pour tester l'influence de la température sur la stabilité des résidus pharmaceutiques

Analyses	Nombre de répliqués(n)	Matériau du flacon	Concentration dopage(ng/L)	Prétraitement avant stockage	Condition stockage	Durée du test	Température testée	Remarque	Ref.
Ketoprofene, Acide Salicylique, Diclofenac, Gemfibrozil	n.m.	Verre ambré	1 000	Aucun	n.m.	8 jours	+4°C, RT	-	[67]
Acide Oxolinique , Trimethoprim Florfenicol, Sulfadiazine	6	Polyethylene	10 et 100	aucun	n.m.	56 jours	-20°C, +5-7°C	Données pas montrées	[86]
Ibuprofene, Naproxene, Ketoprofene, Diclofenac	3	Polyethylene	Entre 83 et 1124	Filtration 2,7 µm et 0,45 µm filtre fibre de verre	n.m.	7 jours, 10 jours	+4°C, RT	<ul style="list-style-type: none"> <li>• godet polyéthylène puis dans verre pyrex borosilicate</li> <li>•Données pas montrées</li> </ul>	[87]
Erythromycine, Trimethoprime, Ciprofloxacine, Ofloxacine, Sulfamethoxazole	3	Verre ambré	Entre 100 et 200	Aucun	Obscurité	2, 7, 10 jours	+4°C, RT	Chaque répliquat analysé en duplicat	[88]
Ciprofloxacine, acide oxolonique	3	Polyéthylène basse densité	1 000	Aucun	Obscurité	124 jours	-18°C, +4°C, RT	-	[57]
Trimethoprime, Sulfamethoxazole, Ibuprofene, Naproxene, Diclofenac, Carbamazépine, Phénytoïne, Primidone, Fluoxetine, Diazepam, Meprobamate, Gemfibrozil, Iopromide, 17 beta-Oestradiol, Progesterone, Testosterone, Oestrone, 17 α-Ethynloestradiol, Atenolol	6	Verre ambré	n.m.	Aucun		72h, 28-35 jours	-20°C, +4°C, RT	-	[39]
Azithromycine Clarithromycine, Erythromycine-H2O, Roxithromycine, Trimethoprime, Sulfadimethoxine, Sulfamerazine, Sulfamethazine, Sulfamethizole, Sulfamethoxazole, Sulfapyridine, Sulfathiazole	n.m.	Verre ambré	n.m.	Filtration (filtre fibre de verre, 90 mm diametre (GF/F, Whatman)	Obscurité	7 jours	RT	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Echantillonné avec sceau en acier inoxydable puis transféré dans bouteille verre ambré</li> <li>• Données pas montrées</li> </ul>	[68]
17β-oestradiol, Oestrone, Oestriol, Zearalanol, Zearalenone, Zearalanone , Testosterone, 5α-androstan-17β-ol-3-one, Androsterone, 5α-androstane-3,17-dione, 4-androstene-3,17-dione, Boldenone, Nandrolone, 17β-trenbolone, 17α-trenbolone, Progesterone, 17,20 dihydroxyprogesterone, Melengestrol, acetate de Melengestrol	3	Verre ambré silanisé	1 000	Aucun	Obscurité	14 jours	+4°C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Echantillons d'eau de surface stockés 4 mois avant dopage pour étude de stabilité</li> </ul>	[64]

La chaîne du froid doit être maintenue sans interruption (pas de décongélation/congélation). La décongélation des échantillons peut, en effet, entraîner une floculation de colloïdes organo-minéraux et une "insolubilisation" des RP adsorbés sur ces colloïdes qui seront ensuite retenus sur les filtres. Ce processus est une des raisons possible de perte de RP [39].

Huit articles traitent de la conservation des RP dans les eaux naturelles sans ajouts de stabilisant. L'influence de la température a été étudiée sur 51 RP et métabolites appartenant à 7 classes thérapeutiques pour des échantillons stockés à différentes températures (-20°C/-18°C, +4°C, et 20°C/25°C (i.e. température ambiante (RT))) sur des périodes de 3 à 124 jours. Les produits étudiés et les conditions testées sont synthétisés dans le tableau 2.

Cette comparaison fait ressortir plusieurs points (Figure 2):

- 70% des RP (36 résidus) sont stables dans les eaux de surface pendant au moins 7 jours pour au moins une température de conservation;
- Sur ces 36 RP, 12 résidus (diazépam, phénytoïne, primidone, triméthoprim, ciprofloxacine, acide oxolonique, iopromide, 17  $\alpha$ -Ethinylestradiol, gemfibrozil, diclofénac, ibuprofène, et naproxène) sont stables pendant au moins 7 jours stockés à -20°C, 4°C ou à température ambiante ;
- 27 RP sont stables à température ambiante sur des durées de 7 à 90 jours.

Ces résultats montrent que l'échantillonnage et le stockage d'échantillons dans des conditions non réfrigérées (température ambiante, i.e. 20-25°C) du rant des campagnes de terrain peuvent se faire sans perturber la concentration de certains RP.

La progesterone et testosterone ne peuvent être conservées à 4°C plus de trois jours [39]. Une autre étude [64] a montré que les hormones dans des échantillons d'eaux de surface non préservés (sans ajout d'agent), protégés de la lumière et conservés à 25°C étaient particulièrement instables à cause de processus de biodégradation.

Sur 5 produits testés (17  $\beta$ -Oestradiol, Progestérone, Testostérone, Oestrone, 17  $\alpha$ -éthynylestradiol) seule l'hormone de synthèse 17  $\alpha$ -éthynylestradiol a résisté à la dégradation pendant 35 jours de stockage à température ambiante [39] (confirmé par Baronti *et al.* [40], données non montrées). La présence d'un groupement 17-éthynyl substitué dans le 17  $\alpha$ -éthynylestradiol (à l'inverse des autres estrogènes) pourrait être à l'origine de cette stabilité. Plusieurs stéroïdes peuvent subir des réactions d'interconversion entre résidus comme le suggère Vanderford *et al.* 2011 pour la conversion de l'estradiol en estrone ce qui altère la quantification [39,64].

La congélation semble être plus adaptée pour la préservation des hormones. Seule la progestérone subit une perte sévère de concentration après 35 jours de stockage à -20°C comme à 4°C ou à température ambiante.

La réfrigération à 4°C ne permet pas la conservation de 15 hormones (androgènes, estrogènes, progestogènes) sur deux semaines mais permet la conservation du mélangestrol et de l'acétate de mélangestrol Havens *et al.* 2010 [64]. La double liaison en position 6,7 et le groupement fonctionnel 16-méthylène du mélangestrol expliquerait la stabilité particulière de ces produits car ces substituants ne sont pas présents dans les structures des autres progestogènes.

Les résultats sur le 17  $\beta$ -estradiol et l'estrone (estrogènes) sont controversés. Ces produits sont stables pendant 28-35 jours dans l'étude publiée par Vanderford *et al.* 2011 [39] alors qu'ils sont significativement dégradés au bout de 14 jours dans Haven *et al.* 2010 [39,64]. Cette différence suggère que la composition de la matrice eau de surface (microflore, pH, matière organique, présence de composés minéraux, etc.) ainsi que l'ajout d'agent (azoture de sodium, acide sulfurique) pourraient influencer la cinétique de dégradation en plus des différences trouvées entre les protocoles de stabilité (tableau 2) [64].

Seules deux études sur des matrices d'eau souterraine (dont les eaux minérales) s'intéressent à la stabilité de 31 RP à 4°C pendant 7 jours (19,20). Tous les RP peuvent être stockés à +4°C pendant 6 à 7 jours, excepté le furosémide (diurétique), et le clotrimazole (antifongique) qui ne sont stables que durant 4 jours, et le fénofibrate (régulateur lipidique), et le bromazepam (anxiolytique) stables pendant seulement deux jours dans les eaux souterraines [65,66]. On peut noter que le kétoprofène (AINS) et le gemfibrozil (régulateur lipidique) sont stables pendant 6 jours dans des eaux souterraines alors qu'ils sont stables pendant 28-35 jours dans les eaux de surface [39]. La minéralité des eaux souterraines étant plus forte que celle des eaux de surface, [39,65] les molécules possédant des groupes carbonyl ou carboxyl (e.g. kétoprofène, gemfibrozil, ou les antibiotiques de la famille des quinolones, tétracyclines, etc.) pourraient avoir plus de facilité à former des complexes avec les cations ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , etc.), qui pourraient s'adsorber sur la surface en verre des flacons. Ce résultat renforce l'idée qu'au lieu d'extrapoler des données de stabilité d'eau déionisée à des matrices d'eaux de surface [67] comme cela est couramment réalisé, il vaudrait mieux entreprendre des études de stabilité sur des matrices d'eaux naturelles, dans l'idéal, de composition proche de celles des stations d'échantillonnage sélectionnées.



Figure 2 : Durée de stabilité des RP dans les eaux de surface en fonction de la température de stockage



La réfrigération ou la congélation des extraits dans des solvants organiques ou des cartouches d'extraction en phase solide réalisés rapidement après l'échantillonnage est une autre technique de conservation. Cette technique permet d'économiser de la place, et des manipulations pendant les campagnes d'analyses lorsque la stabilité des RP dans les extraits a pu être vérifiée durant le développement analytique.

Quatre études seulement s'intéressent à la stabilité de certains RP (sulfonamides, AINS, hormones) dans les solvants, ou sur les phases solides des cartouches d'extraction obtenus après extraction d'eaux naturelles [57,68-70]. La durée de stabilité des RP varie de 7 à 90 jours mais cette technique de conservation ne sera pas détaillée dans cette synthèse. Il apparaît très important d'étudier cette technique car beaucoup d'expériences ont une étape de stockage par congélation des extraits dans les solvants (y compris des études de l'impact du flaconnage sur la stabilité des RP dans les eaux naturelles recensées dans ce rapport) sans avoir étudié la stabilité des RP durant cette étape [5,39,71,72].

## 5. Techniques de prétraitement

### 5.1 Filtration

Les RP sont principalement présents dans la phase dissoute des eaux naturelles. Cependant, selon leurs propriétés physico-chimiques (pKa, log Kow) et la composition de la matrice (pH, salinité, température, force ionique, présence de matière organique) les RP peuvent également être adsorbés sur les matières en suspensions ou les phases colloïdales [1,58,65].

Ferreira de Silva *et al.* 2011 montre qu'environ 70 % des 30 résidus pharmaceutiques étudiés sont principalement sous forme dissoute avec 5% présent sur la phase particulaire [73,74]. Par contre, 10 RP sur ces 30 sont parfois présent à plus de 50% sur la phase particulaire de l'eau de rivière [74]. La filtration doit donc être recommandée lorsqu'on s'intéresse à la détermination des RP dans la phase dissoute. Outre la réduction des interférences dues aux effets de matrice durant l'analyse en LC-MS, l'élimination de la matière organique par filtration apparaît nécessaire pour [70]:

- éviter les biais possible dus aux processus d'adsorption/désorption des RP;
- réduire les risques de biodégradation.

Dans le cadre d'une étude interlaboratoire sur 4 AINS dans des eaux naturelles, Heath *et al.* 2010 ont testé l'impact de la filtration sur la teneur en RP en comparant les résultats de solutions non filtrées/filtrées à diverses porosité (mais taille de pore non précisée) [70]. La filtration n'a pas d'impact sur les quatre produits. Ces résultats sont en accord avec une autre étude sur la répartition des RP entre la fraction particulaire et la fraction dissoute. Les RP ont été quantifiés sur des solutions filtrées/non filtrées (fibre de verre, 0,7 µm) dopées à 100 ng/L par 26 produits de 8 familles

thérapeutiques différentes (log Kow de -2,3 à 6,3, RP acides, basiques, neutres et amphotères) et comportant des teneurs en matière en suspension de 5 à 85 mg/L [65]. Les 26 RP sont retrouvés dans la fraction dissoute, même le plus hydrophobe des produits (e.g. clotrimazole, pKa 6,3).

Quelques études montrent que le type de filtre n'a pas d'effet sur la quantification des RP dans les eaux naturelles [35,65,70]. Les filtres en fibre de verre sont principalement utilisés pour la filtration mais d'autres types de filtres comme les membranes en acétate de cellulose [17], les membranes nylon [76,77], et des filtres de nature non spécifiée sont également utilisés [78]. La porosité ne semble pas avoir d'effet sur la quantification des RP dans les eaux usées au regard des bons taux de recouvrement obtenus après filtration sur fibre de verre pour trois seuils (0,7µm, 1,2µm and 2,7µm) in Baker *et al.* 2011 [35]. L'influence de seuil de porosité plus faible (< 0,7µm) pour les échantillons d'eaux naturelles n'est pas étudiée alors que le seuil de 0.45 µm est utilisé pour la distinction entre la phase particulaire et la phase dissoute.

La filtration, si elle ne semble pas perturber la quantification des RP dans les eaux naturelles pour des seuils de porosité des filtres supérieurs à 0,7 µm (dans les eaux usées) semble cependant importante pour limiter la biodégradation et l'adsorption sur la matière organique. La filtration sur le site d'échantillonnage étant difficile à réaliser pour des volumes proches de un litre, la filtration au laboratoire est conseillée. [5,77]. Sur 35 RP dans des eaux usées, 11 RP sont mieux préservés sur solution filtrée et stockée à 19°C, et 5 RP sur 35 sont mieux préservés lorsque les solutions sont à 5°C [35]

## 5.2 Les stabilisants non acides

L'ajout d'additifs ou d'agents chimiques pour améliorer la stabilité des RP à toutes les températures est une technique courante, et représente une alternative ou un complément à la réfrigération ou la congélation. Selon sa nature, sa concentration et la nature de la microflore, les additifs peuvent inhiber la croissance bactérienne dans les eaux naturelles et prévenir ainsi la biodégradation des RP [39,64]. Certains laboratoires utilisent couramment ces agents soit dans des flacons contenant déjà l'additif, soit par ajout rapidement après l'échantillonnage afin d'améliorer la durée de stabilité des RP.

L'azoture de sodium, le formaldéhyde et le méthanol sont les agents chimiques cités pour la préservation des RP dans les eaux naturelles [40,79-81]. L'azoture de sodium interagit avec les ions métalliques des enzymes des bactéries et inhibe l'activité bactérienne. La solution aqueuse de formaldéhyde (formaline), aux propriétés biocides (bactéricide, fongicide, antivirus et antispore) inactive les microorganismes en alkylant les groupements amino- et sulfhydryl- des protéines et des acides ribo- et deoxyribonucléique [82]. Le méthanol est un alcool qui possède une action bactéricide dans les eaux naturelles bien qu'il soit rapidement décomposé du fait de sa durée de demi-vie de quelques jours dans les eaux de surface [63]. L'ajout de faibles quantités de méthanol est également réalisé pour empêcher l'adsorption des RP sur le verre même si aucune donnée ne vérifie cette hypothèse [83].

L'utilisation d'agent stabilisant doit également avoir été testée au niveau de la méthode d'analyses utilisée par la suite afin de vérifier qu'il n'y a pas d'incompatibilité (par exemple création d'interférences).

Le tableau 3 synthétise les quelques études portant sur l'influence des stabilisants sur le recouvrement des RP dans les eaux naturelles. 39 RP couvrant 10 groupes thérapeutiques ont ainsi été étudiés (AINS, hormones, anticonvulsifs, anxiolytiques, etc.). Les hormones ont été particulièrement étudiées alors que d'autres groupes comme les antibiotiques ou les bêtabloquants ne sont que peu ou pas du tout étudiés. De plus, aucune étude sur les eaux souterraines n'a été relevée dans la littérature. Le nombre de jours pendant lesquels les résidus médicamenteux sont stables à 4°C en présence d'azoture de sodium, de formaldéhyde ou de méthanol ou à température ambiante en présence d'azoture de sodium est présenté sur la figure 3 (la durée minimum testée est de trois jours). 29 RP sur 39 sont stables au moins trois jours avec ajout de formaldéhyde, azoture de sodium ou méthanol. Pour les 10 RP restants, principalement des œstrogènes, androgènes, aténolol (bêtabloquant), et fluoxétine (antidépresseur), la concentration diminue significativement pendant la période testée (tableau 4). En revanche leur durée maximale de conservation durant la période testée n'est pas mentionnée dans les études concernées. Sur la base de ces résultats, les additifs non acidifiant sont donc considérés comme inappropriés pour la conservation de ces 10 RP. Il faut cependant garder en tête que les périodes testées diffèrent entre les études (Tableau 3).

**Tableau 3** : description des conditions des tests de stabilité avec ajout d'additifs acidifiant/non acidifiant

Analytes	répétitions (n)	Matériau bouteille	Concentration dopage (ng/L)	Prétraitement avant stockage	Temperature stockage	Durée test (jour)	Remarque	Ref.
<b>Additifs non acides</b>								
Oestrinol, Oestradiol, 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol, Oestrone	2	Verre	10	Formaldehyde 1% v/v	+4°C	28	-	[40]
Trimethoprim, Sulfamethoxazole, Ibuprofene, Naproxene, Diclofénac, Carbamazepine, Phenytoin, Primidone, Fluoxetine, Diazepam, Meprobamate, Gemfibrozil, Iopromide, 17 beta-Oestradiol, Progesterone, Testosterone, Oestrone, 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol, Atenolol	6	Verre amber non silanisé	n.m.	Filtration, azoture sodium (1g/L)	+4°C, +25°C	28-35	-	[39]
Diclofenac, Ketoprofene, Gemfibrozil	n.m.	Verre ambré	absence	<ul style="list-style-type: none"> <li>MeOH (5%, v/v)</li> <li>Formaldehyde (5%, v/v)</li> </ul>	+4°C	8	-	[67]
Trimethoprim, Naproxene, Cafeine, Carbamazepine, Gemfibrozil, 17 beta-Oestradiol, Oestrinol, Oestrone, 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol, Norgestrel, Medroxyprogesterone, 19-Norethindrone, Progesterone	3	Verre ambré	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>Filtration (0.45 <math>\mu</math>m membrane PTFE), acidification (pH 2.6) par acide formique, methanol 2.5 % (v/v)</li> </ul>	+4°C	21	-	[89]
17 $\beta$ -oestradiol, Oestrone, Oestrinol, Zearalanol, Zearalenone, Zearalanone, Testosterone, 5 $\alpha$ -androstane-17 $\beta$ -ol-3-one, Androsterone, 5 $\alpha$ -androstane-3,17-dione, 4-androstene-3,17-dione, Boldenone, Nandrolone, 17 $\beta$ -trenbolone, 17 $\alpha$ -trenbolone, Progesterone, 17,20-dihydroxyprogesterone, Melengestrol, Melengestrol acetate	3	Verre ambré silanisé	1000	Filtration, azoture sodium (1g/L)	+4°C	14	-	[64]
<b>Agents acidifiants</b>								
Erythromycin-H2O, Trimethoprim, Sulfamethoxazole, Triclosan, Pentoxifylline, Acetaminophen, Ibuprofen, Naproxen, Diclofenac, Cafeine, Carbamazepine, Dilantin, Hydrocodone, Fluoxetine, Diazepam, Meprobamate, Gemfibrozil, Iopromide, Progesterone, Testosterone, Oestradiol, 17 alpha-Oestradiol, Androstenedione	4	Verre ambré silanisé	100	Acide sulfurique (pH 2)	+4°C	14	filtration n.m.	[38]
Trimethoprim, Sulfamethoxazole, Ibuprofene, Naproxene, Diclofénac, Carbamazepine, Phenytoin, Primidone, Fluoxetine, Diazepam, Meprobamate, Gemfibrozil, Iopromide, 17 beta-Oestradiol, Progesterone, Testosterone, Oestrone, 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol, Atenolol	6	Verre ambré non silanisé	n.m.	Acide sulfurique (pH<2)	+4°C, -20°C, 25°C	28-35	filtration avant extraction	[39]
17 $\alpha$ -Ethinylestradiol, 17 beta-Oestradiol, Oestrone	2	n.m.	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>Filtration (0.45 <math>\mu</math>m fibre de verre), tampon phosphate (pH 2.5–3.0)</li> </ul>	+4°C	7	Données pas montrées	[84]
17 $\beta$ -oestradiol, Oestrone, Oestrinol, Zearalanol, Zearalenone, Zearalanone, Testosterone, 5 $\alpha$ -androstane-17 $\beta$ -ol-3-one, Androsterone, 5 $\alpha$ -androstane-3,17-dione, 4-androstene-3,17-dione, Boldenone, Nandrolone, 17 $\beta$ -trenbolone, 17 $\alpha$ -trenbolone, Progesterone, 17,20-dihydroxyprogesterone, Melengestrol, Melengestrol acetate	3	Verre ambré silanisé	1000	<ul style="list-style-type: none"> <li>Acide sulfurique (pH2)</li> <li>HCl (pH2)</li> </ul>	+4°C	14	-	[64]

1 "n.m.": non mentionné  
2

Si toutes les études de stabilité montrent que l'ajout d'additifs n'a pas d'impact sur la majorité des RP en comparaison avec leur stabilité dans les eaux de surface sans agent, il existe cependant un impact positif sur la conservation des hormones (Tableau 4). Il s'avère également que l'ajout d'additifs non acidifiant peut conduire à des réactions de dégradation des RP.

L'azoture de sodium et le formaldéhyde semblent être des additifs efficaces pour stabiliser la majorité des RP à l'exception de quelques produits dans le groupe des hormones. L'azoture de sodium est aussi efficace à 4°C qu'à température ambiante, avec une seule exception pour l'estradiol qui n'est pas stable à température ambiante après 28-35 jours de stockage [39]. Ces résultats sont dus à l'incapacité de l'azoture de sodium d'inhiber les microorganismes responsables de la dégradation des hormones comme cela a été montré dans deux études qui ont mesuré l'activité microbienne [39,64].

Des résultats controversés sont trouvés pour quelques hormones (progestérone, testostérone, 17 beta-œstradiol and estrone) qui ne sont pas stables après 14 jours dans Havens *et al.* mais qui sont préservées dans Vanderford *et al.* [39,64]. Les différences entre protocoles expérimentaux (tableau) peuvent expliquer les différences et cela mériterait donc d'être confirmé.

L'apport d'azoture de sodium à température ambiante n'améliore pas la stabilité des RP car les produits étudiés apparaissent déjà stables sans additifs (figure 2). Cependant, il semble que cela prolonge la stabilité de la progestérone et de l'estrone dans les eaux de surface (tableau 4, figure 3).

L'azoture de sodium et le stockage à 4 °C semble améliorer fortement la stabilité de certains œstrogènes (zéaralanol, zéaralenone, zéaralanone) et d'un androgène (5 $\alpha$ -androstande-3,17-dione) jusque 14 jours et être sans effet sur d'autres RP qui sont aussi stables (ou aussi dégradés) dans les eaux sans ajout d'azoture de sodium stockées à 4°C.

Le formaldéhyde et le méthanol, relativement peu étudiés, sont performants pour la stabilisation de l'estriol car ce produit est très peu stable sans ajout d'additif et l'azoture de sodium à un impact négatif sur la stabilité de ce produit (tableau 4).

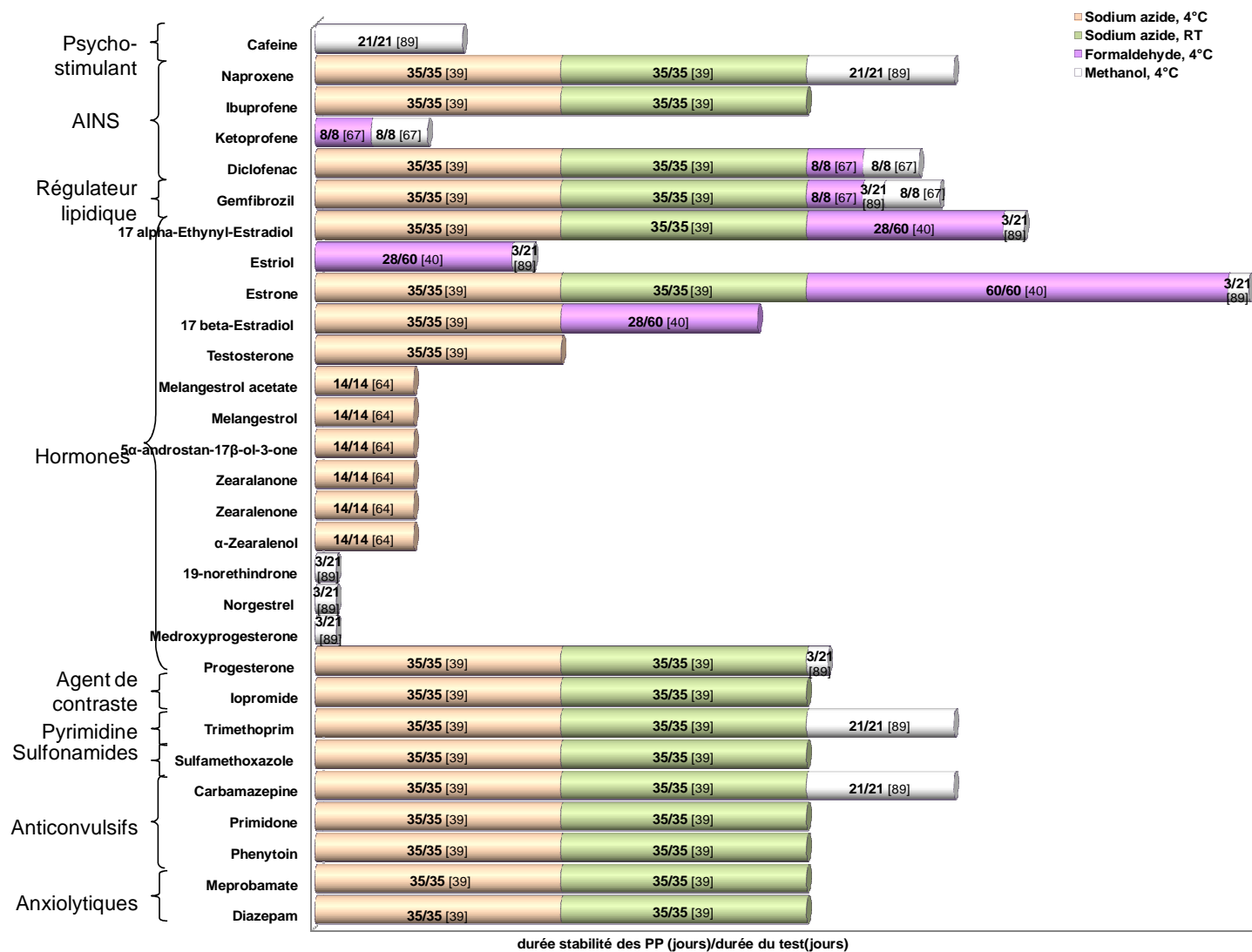
Togola *et al.* (2007) montrent qu'en plus de n'avoir aucun effet significatif du formaldéhyde et du méthanol sur la stabilisation des RP, l'ajout de ces additifs augmenterait la variabilité des résultats sur toutes les durées d'expérimentations. [67].

Le méthanol permet la stabilisation des AINS, de la caféine, du triméthoprim et du sulfaméthoxazole de 8 à 21 jours. L'agent permettant une durée optimale de conservation pour ces trois résidus ne peut cependant pas être mis en évidence car les durées testées diffèrent selon les agents étudiés.

Le méthanol a un impact négatif sur le gemfibrozil (régulateur de lipides) et n'est pas recommandé pour certaines hormones (17 beta-Estradiol, Estriol, Estrone, 17-alpha-EE2, Norgestrel, Medroxyprogesterone, 19-Norethindrone, progesterone) alors que ces résidus sont stables pendant 35 jours pour toutes les autres conditions de stockage (Figure 2 and 3). Des études complémentaires seraient nécessaires pour évaluer l'efficacité du méthanol sur la conservation des RP dans les eaux de surface.

Des agents chélatant comme l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) se complexent avec les métaux dans la solution et permettent d'éviter la formation de complexes entre les RP et ces métaux qui s'adsorbent sur les groupements silanols libres des bouteilles en verre [46,47]. L'ajout d'EDTA augmente les taux de recouvrement des extractions en phase solide des tétracyclines, macrolides et fluoroquinolones [16].

Figure 3 : durée de stabilité des RP dans les eaux naturelles de surface avec ajout d'additifs



## 5.2 Les stabilisants acides

Le pH de l'échantillon influence les cinétiques de réactions. La microflore croit de manière optimale pour des pH compris entre 5 et 9. La réduction du pH dans les échantillons d'eau peut inhiber l'activité biologique [64]. On peut donc penser que l'ajout d'agent acidifiant va ralentir la biodégradation des RP durant le stockage et stabiliser les résidus médicamenteux. De plus, un pH inférieur à 2 permet de prévenir l'adsorption de certains RP sur la matière organique ou la surface du flacon. Selon les propriétés acido-basique (pKa), les conditions acides (pH < pKa) peuvent favoriser la protonation des espèces anioniques et diminuer les interactions potentielles ioniques entre RP et matière organique [34] et probablement sur la surface des flacons. De même, l'acidification peut également engendrer le clivage des formes conjuguées des hormones en hormones déconjuguées (c'est-à-dire sous leur forme libre) [64]. Environ 40 RP ont fait l'objet d'une étude de stabilité dans les eaux de surface avec ajout d'agent acidifiant sur des durées de 7 à 28-35 jours et la moitié de ces RP représente des hormones stéroïdiennes [38-40,64]. Cependant, aucune étude ne montre des résultats de stabilité mesurés sur des eaux souterraines acidifiées. L'impact combiné de la température et de l'ajout d'acides forts comme l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique ou de tampons phosphate sur la conservation des RP dans les eaux de surface est étudié dans quatre articles [38-40,64] et les résultats sont compilés dans le tableau 4. Deux informations sont synthétisées :

- Une différence de  $\pm 20\%$  max de concentration pendant la durée de stockage est retenue comme critère de stabilité (concentration en RP stable en vert et non stable en rouge). La perte de concentration en RPs au bout d'un temps t par rapport à t<sub>0</sub> lorsque l'on acidifie est indiquée dans l'étude.
- L'impact de l'acidification indiqué par trois signes =, +, -, nd (non déterminé). Les signes =, +, -, sont des indicateurs de comparaison des conditions avec/sans agent acidifiant, de sorte que l'on peut conclure sur l'avantage/inconvénient d'utiliser un acide pour conserver par rapport à un échantillon conservé sans agent (i.e. effet positif, nul ou négatif sur la stabilité d'un échantillon acidifié par rapport à un échantillon non acidifié).

Ces deux indications sont indépendantes, il peut être indiqué « = » sans couleur lorsqu'il est indiqué dans l'étude que l'ajout d'acide donne des résultats similaires aux échantillons sans ajout (i.e. pas d'effet de l'acide, =), sans pour autant connaître le rendement obtenu sur la durée de l'expérience dans l'échantillon avec ajout, ou sans ajout. La stabilité peut-être dans ce cas (avec **et** sans ajout) mauvaise en rouge (>20% de perte), ou bonne en vert (< 20% donc perte négligeable).

Globalement, l'acidification à un pH de 2 et le stockage des solutions d'eaux de surface à 4°C semble appropriés pour la majorité des RP. Cependant, les données manquent pour certaines familles thérapeutiques, notamment les antibiotiques. L'utilisation de l'acide chlorhydrique et sulfurique stabilise les hormones, le fluotéxine (antidépresseur) et le triméthoprime (antibiotique). Cela est important car ces molécules n'étaient pas préservées dans les eaux non acidifiées avec ou sans ajout d'azote de sodium à 1g/L, et ce malgré un stockage à 4°C [38-40].



**Tableau 4:** influence de l'acidification sur la stabilité des produits pharmaceutiques (eaux de surface)



Classe	Molécules	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH2, 4°C	HCl, pH2, 4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH<2, 4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH<2, 25°C	Tampon phosphate, pH 2.5-3.0, 4°C
		7 ou 14 jours (n.m.) [38,64]	14 jours [64]	28-35 jours [39]	28-35 jours [39]	7 jours [84]
Anticoagulant	Pentoxifylline	=	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Anticonvulsif	Carbamazepine	=	n.d.	+	=	n.d.
	Dilantin	=	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Phenytoin	n.d.	n.d.	=	=	n.d.
	Primidone	n.d.	n.d.	=	=	n.d.
	Diazepam	=	n.d.	=	-	n.d.
Antidépresseur, anxyolitique	Fluoxétine	+	n.d.	=	+	n.d.
	Meprobamate	=	n.d.	=	+	n.d.
Agent antimicrobien	Triclosan	=	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Agent contrastant	Iopromide	=	n.d.	-	-	n.d.
Hormones	Testostérone	+	+	n.d.	=	n.d.
	5α-Androstane-3,17-dione	+	+	n.d.	n.d.	n.d.
	Androsterone	+	+	n.d.	n.d.	n.d.
	4-Androstène-3,17-dione	+	+	n.d.	n.d.	n.d.
	Boldenone	+	+	n.d.	n.d.	n.d.
	Nandrolone	+	+	n.d.	n.d.	n.d.
	17-β-Trenbolone	+	+	n.d.	n.d.	n.d.
	Ehtynloestradiol	=	n.d.	=	=	n.d.
	Oestradiol	= [38] + [64]	+	=	n.d.	n.d.
	Oestrone	n.d. [38] + [64]	+	=	n.d.	n.d.
	Progesterone	+	+	+	+	n.d.
	17,20-Dihydroxyprogesterone	=	+	n.d.	n.d.	n.d.
	Melangestrol	+	+	n.d.	n.d.	n.d.
	acetate de Melangestrol	+	+	n.d.	n.d.	n.d.
	Stabilité des RP dans échantillons acidifiés		Impact de l'acidification (différence entre taux de recouvrement de RP dans échantillons acidifiés et non acidifiés)			
Perte > ± 20%		=	+	-	n.d.	
Perte entre ± 20%		Pas d'impact (différence < +/-20%)	Impact positif significatif (différence ≥ +20%)	Impact négatif significatif (différence ≥ -20%)	Non déterminé	
Pas de données						

**Tableau 4 (suite)**

Classe	Molécules	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH2, 4°C	HCl, pH2, 4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH<2, 4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH<2, 25°C	Tampon phosphate, pH 2.5-3.0, 4°C
		7 ou 14 jours (n.m.) [38,64]	14 jours [64]	28-35 jours [39]	28-35 jours [39]	7 jours [84]
Régulateur lipidique	Gemfibrozil	=	n.d.	-	=	n.d.
Macrolide	Erythromycin-H <sub>2</sub> O	=	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
AINS	Acetaminophene	=	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Diclofenac	=	n.d.	-	-	n.d.
	Ibuprofene	=	n.d.	-	=	n.d.
	Naproxene	=	n.d.	-	=	n.d.
Opioidanalgesics	Hydrocodone	=	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Psycho-stimulant	Caféine	=	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Pyrimidine	Trimethoprim	+	n.d.	=	=	n.d.
Sulfonamide	Sulfamethoxazole	=	n.d.	-	-	n.d.
β-bloquant	Atenolol	n.d.	n.d.	=	=	n.d.

**Légende:**

Stabilité des RP dans les échantillons acidifiés      Impact de l'acidification ((différence entre taux de recouvrement de RP dans échantillons acidifiés et non acidifiés))

		No data	=	+	-	n.d.
Perte > ± 20%	Perte entre ± 20%	No data	Pas d'impact significatif (différence < +/-20%)	Impact positif significatif (différence ≥ +20%)	Impact négatif significatif (différence ≥ -20%)	Non déterminé

L'acidification à pH 2 semble appropriée pour empêcher la dégradation des hormones, fluoxétine et triméthoprim sans altérer en retour d'autres RP (gain de taux de recouvrement de 31 à 71%) [38,64]. Boldenone, 5 $\alpha$ -androstane-3,17-dione, 17,20-dihydroxyprogesterone et diazépam sont mieux stabilisés à pH<2 que dans des échantillons non acidifiés. Cependant le temps de stabilité ne dépasse pas 14 jours.

L'acidification à pH 2.5-3 par le tampon phosphate et le stockage à 4°C permettent de préserver l'estrone, le 17- $\alpha$ -ethynylestradiol et l'estradiol pendant 7 jours. L'influence de l'acidification par rapport à des échantillons non acidifiés n'a pas été évaluée pour cet agent acidifiant [84].

Par contre, l'acidification à des pH inférieurs à 2 n'améliore pas beaucoup la stabilité. En effet, elle n'a pas d'impact sur la moitié des résidus testés et augmente uniquement la stabilité du carbamazépine et de la progestérone par rapport à des échantillons non préservés.

L'acidification peut être néfaste dans certains cas car elle provoque la dégradation de 6 produits pharmaceutiques (pertes de 20 à 50% du diclofénac, ibuprofène, sulfaméthoxazole, iopromide, diazépam, aténolol) qui étaient stables à 4°C sans additif pendant la même durée (Tableau 4 et figure 2).

L'hydrolyse des acides faibles (diclofénac, ibuprofène, naproxène, gemfibrozil, pKa 4,1-4,9), excepté le sulfaméthoxazole (pKa 1,7 et 5,6) semble être favorisée à pH inférieur à 2. Le sulfaméthoxazole est une molécule amphotère se comportant comme un acide faible mais qui a la propriété de produire des sels en conditions très acides [85]. Cela pourrait expliquer la diminution de la concentration durant le stockage à pH<2. L'ajout de stabilisant acide ou non acide diminue la stabilité de l'aténolol (tableau4). Cependant, il peut être stabilisé par réfrigération à 4°C.

**Tableau 5:** conditions de stabilité des produits pharmaceutiques dans les échantillons d'eaux naturelles (eaux de surface) destinés à l'analyse.

Classe thérapeutique	Molécules	Sans additif			Avec additif							
		-20°C	4°C	25°C	Azoture de sodium, 4°C	Azoure de sodium, RT	Formaldehyde, 4°C	MeOH, 4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH2, 4°C	HCl, pH2, 4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH<2, 4°C ou RT	
Antibiotiques	Azithromycine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ciprofloxacine	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Clarithromycine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Erythromycine	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Erythromycine-H2O	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	✓
	Florfenicol	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ofloxacin	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Acide axolinique	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Roxithromycine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfadiazine	✓	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfadiméthoxine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfamerazine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfaméthazine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfaméthizole	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfaméthoxazole	0	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	0
	Sulfapyridine	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfathiazole	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
	Triméthoprim	✓	*	✓	✓	✓	-	✓	✓	-	-	✓
	Anticonvulsifs	Carbamazépine	0	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	-	-
Phénytoin		✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	✓
Primidone		✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	✓
Agents antimicrobiens	Triclosan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
Anxiolytique-Antidépresseurs	Diazépam	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	0	-	-	✓
	Fluoxétine	0	✓ (3jours)	0	0	0	-	-	✓	-	-	✓
	Méprobamate	0	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	✓
Agent de contraste	Iopromide	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	0

"✓": conditions pour lesquelles la molécule est stable pendant au moins 7 jours. (RT température ambiante)

"0": molécule instable sur la durée du test,

"-": pas déterminé

"\*": données controversées

**Tableau 5 (suite):** conditions de stabilité des produits pharmaceutiques dans les échantillons d'eaux naturelles (eaux de surface) destinés à l'analyse.

"✓": conditions pour lesquelles la molécule est stable pendant au moins 7 jours, "0": molécule instable sur la durée du test, "-": pas déterminé (RT température ambiante)

Classe thérapeutique	Molécules	Sans additif			Avec additifs						
		-20°C	+4°C	+25°C	Azoture de sodium, 4°C	Azoture de sodium, RT	Formaldéhyde, +4°C	MeOH, +4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH2, +4°C	HCl, pH2, +4°C	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH<2, +4°C ou RT
Hormones	17 α-Oestradiol	-	0	-	-	0	-	0 (<3jours)	✓	✓	-
	17 α-Ethynylœstradiol	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ (3j)	✓	-	✓
	17 β-Oestradiol	✓	0	0	*	0	✓	0 (<3j)	✓	✓	✓
	17,20-Dihydroxyprogesterone	-	0	-	0	-	-	-	0	0	-
	17α-Trenbolone	-	0	-	0	-	-	-	✓	-	-
	17β-Trenbolone	-	0	-	0	-	-	-	✓	✓	-
	19-norethindrone	-	-	-	-	-	-	✓ (3j)	-	-	-
	4-Androstene-3,17-dione	-	0	-	0	-	-	-	✓	✓	-
	5α-androstan-17β-ol-3-one	-	-	-	0	-	-	-	0	✓	-
	5α-androstane-3,17-dione	-	0	-	✓	-	-	-	0	✓	-
	Androsterone	-	0	-	0	-	-	-	✓	✓	-
	Boldenone	-	0	-	0	-	-	-	0	0	-
	Oestriol	-	0	-	0	-	✓	✓ (3j)	✓	✓	-
	Oestrone	✓	*	0	*	✓	✓	✓ (3j)	✓	✓	✓
	Medroxyprogesterone	-	-	-	-	-	-	✓ (3j)	-	-	-
	Melengestrol	-	✓	-	✓	-	-	-	✓	✓	-
	Melengestrol acetate	-	✓	-	✓	-	-	-	✓	✓	-
	Nandrolone	-	0	-	0	-	-	-	✓	✓	-
	Norgestrel/levonorgestrel	-	-	-	-	-	-	✓ (3j)	-	-	-
	Progesterone	0	0 (<3j)	0	*	✓	-	✓ (3j)	✓	✓	✓
	Testosterone	✓	0 (<3j)	0	*	0	-	-	✓	✓	✓
	Zearalenol	-	0	-	✓	-	-	-	0	0	-
	Zearalanone	-	0	-	✓	-	-	-	✓	✓	-
	Zearalenone	-	0	-	✓	-	-	-	✓	✓	-
Régulateurs lipidiques	Gemfibrozil	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	✓	
AINS	Acetaminophene	-	-	-	-	-	-	0	-	✓	
	Diclofenac	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	0	
	Ibuprofene	✓	✓	✓	✓	✓	-	0	-	✓	
	Ketoprofene	-	✓	-	-	-	✓	✓	-	-	-
	Naproxene	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	-	-
Psychostimulant	Cafeine	-	-	-	-	-	✓	0	-	✓	
β-Bloquant	Atenolol	0	✓	0	0	37 / 46	0	-	-	0	

## 6 Conclusion : recommandations opérationnelles pour la conservation des échantillons

Plusieurs processus (adsorption, biodégradation, hydrolyse,...) peuvent modifier la concentration des résidus médicamenteux dans les échantillons d'eaux naturelles. L'effet est d'autant plus marqué que les concentrations sont bien souvent très faibles, de l'ordre du nanogramme par litre. Cette synthèse bibliographique a présenté les principaux paramètres critiques qui affectent la stabilité des résidus médicamenteux dans les eaux naturelles : la composition de la matrice, la lumière, la température, le flaconnage et l'ajout de stabilisants. La dégradation des résidus médicamenteux varie selon les molécules. Il n'y a pas forcément d'homogénéité de stabilité dans une même famille thérapeutique. Un protocole unique de conservation des résidus médicamenteux pour la quantification dans les eaux naturelles n'est donc pas envisageable. Il faut le décliner par molécule.

L'analyse des échantillons dans les 24h suivant l'échantillonnage est très souvent difficile à réaliser. Aussi, des techniques de préservation des échantillons d'eaux naturelles ont été proposées et testées dans la littérature.

L'ensemble des 58 résidus médicamenteux étudiés (eaux de surface) peut être stabilisé pendant 7 jours dans les eaux de surface par au moins une des techniques de préservation (température, stabilisant acide ou non acide). 27 résidus sur 31 peuvent être préservés dans les eaux souterraines pendant 6 à 7 jours.

Les échantillons d'eaux naturelles doivent être collectés dans des bouteilles ambrées et transportées dans l'obscurité pour empêcher la photodégradation. L'impact de la filtration n'a été testé que sur des eaux usées, cependant il est conseillé de filtrer les échantillons dans les 24h pour éviter la biodégradation. Tous les types de filtre (matériau et porosité) semblent convenir pour éliminer les matières en suspension sans risque d'éliminer les résidus médicamenteux en solution.

Bien que l'effet du flaconnage sur la stabilité des résidus n'ait été testé que sur des matrices d'eaux déionisées et jamais sur des eaux de surface, l'utilisation du verre non silanisé semble être le meilleur compromis valable pour toutes les familles thérapeutiques excepté les antibiotiques qui sont mieux conservés dans le verre silanisé ou les flacons en PEHD.

La température est le paramètre qui a été le plus étudié. La congélation, la réfrigération à 4°C ou le stockage à température ambiante (25°C) permettent de préserver la majorité des résidus pendant au moins une semaine. Cependant, il paraît impossible de préconiser une seule température pour la préservation de tous les RP. Le tableau 5 fournit les températures de stockage idéales pour chacune des molécules (eaux de surface). Le stockage des RP dans les solvants organiques après une extraction réalisée dans les plus brefs délais après l'échantillonnage a été proposé comme une solution alternative pour la préservation des résidus. Cependant, peu de données sont aujourd'hui disponibles dans la littérature.

Lorsque la réfrigération ou la congélation ne permettent pas de stabiliser les résidus (particulièrement les hormones et le fluoxétine), l'ajout de stabilisants peut améliorer la préservation des molécules durant le stockage des eaux naturelles. L'azoture de sodium et le formaldéhyde améliore la stabilité de quelques hormones sans modifier la conservation de la plupart des autres produits.

L'acidification des échantillons à pH 2 par de l'acide chlorhydrique ou sulfurique améliore la stabilisation des hormones en agissant sur l'activité microbienne principale responsable de la

dégradation des résidus médicamenteux. Par ailleurs, l'ajout de stabilisant peut altérer la stabilité de certains produits en activant l'hydrolyse par exemple.

Ainsi, en cas d'analyse multirésidus, il paraît complexe de trouver le meilleur compromis pour préserver une grande variété de résidus médicamenteux.

Cette synthèse souligne le besoin crucial d'évaluer la stabilité des RP et de définir les techniques disponibles pour préserver les résidus sur des échantillons d'eaux naturelles et non sur des matrices d'eaux déionisées comme c'est le cas aujourd'hui. De plus, il faudrait également s'intéresser à un panel de produits plus large, en intégrant notamment les molécules d'usage vétérinaires pour lesquelles les données sont très rares.

Aujourd'hui, il semble y avoir un effort pour hiérarchiser les molécules en fonction de leur risque potentiel pour la santé humaine ou des écosystèmes. Il serait plus facile de focaliser les recherches sur la stabilité de quelques résidus prioritaires. De plus, il faudrait investiguer les matrices d'eaux souterraines encore très peu étudiées.

Il faut établir des protocoles standards pour évaluer et comparer la stabilité des RP dans les échantillons d'eaux naturelles durant le stockage mais aussi durant le traitement des échantillons (extraction, ...) et l'analyse (European criteria 2002/657/EC). Comme des tests systématiques de stabilité sont requis pour déterminer la date d'expiration d'une molécule pharmaceutique avant sa mise sur le marché, la réalisation d'études de stabilité devrait rigoureusement prendre en considération tous les paramètres influençant la stabilité des résidus dans les eaux naturelles.

Ainsi, le développement de techniques de conservation optimisant la stabilité des résidus médicamenteux dans les eaux naturelles serait nécessaire et complémentaire aux progrès réalisés sur les techniques analytiques pour garantir l'intégrité des résidus médicamenteux dans les matrices environnementales.

## 7 Glossaire

**AINS:** Anti-inflammatoire non stéroïdien



## **8 Sigles & Abréviations**

**RP** : résidu pharmaceutique

**RT** : température ambiante

**PEHD** : polyéthylène haute densité

**EDTA** : acide éthylène diamine tétraacétique

## 9 Bibliographie

- [1] S. Mompelat, B. Le Bot, O. Thomas, *Environ. Int.* 35 (2009) 803-814.
- [2] K. Kummerer, *J. Environ. Manage.* 90 (2009) 2354-2366.
- [3] T. Heberer, *Toxicology Letters* 131 (2002) 5-17.
- [4] D.J. Lapworth, N. Baran, M.E. Stuart, R.S. Ward, *Environ. Pollut.* 163 (2012) 287-303.
- [5] S. Mompelat, O. Thomas, B. Le Bot, *J. Environ. Monit.* 13 (2011) 2929-2939.
- [6] V. Calisto, V.I. Esteves, *Chemosphere* 77 (2009) 1257-1274.
- [7] N. Kemper, *Ecological Indicators* 8 (2008) 1-13.
- [8] K.K. Barnes, D.W. Kolpin, E.T. Furlong, S.D. Zaugg, M.T. Meyer, L.B. Barber, *Science of The Total Environment* In Press, Corrected Proof
- [9] M.J. Focazio, D.W. Kolpin, K.K. Barnes, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, L.B. Barber, M.E. Thurman, *Science of The Total Environment* In Press, Corrected Proof
- [10] D.W. Kolpin, E.T. Furlong, M.T. Meyer, E.M. Thurman, S.D. Zaugg, L.B. Barber, H.T. Buxton, *Environmental Science & Technology* 36 (2002) 1202-1211.
- [11] T. Kosjek, E. Heath, *Trac-Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 1065-1087.
- [12] C.M. de Jongh, P.J.F. Kooij, P. de Voogt, T.L. ter Laak, *Science of The Total Environment* 427-428 (2012) 70-77.
- [13] European Commission.COM(2011) 876 final <[http://ec.europa.eu/environment/water/water-dangersub/pdf/com\\_2011\\_876.pdf](http://ec.europa.eu/environment/water/water-dangersub/pdf/com_2011_876.pdf)>.
- [14] U. S. E. P. Agency.EPA Method 1698: Steroids and hormones in water, soil, sediment, and biosolids by HRGC/HRMS (2007)  
<[http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2008\\_01\\_03\\_methods\\_method\\_1698.pdf](http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2008_01_03_methods_method_1698.pdf)>
- [16] M. Gros, M. Petrovic, D. Barcelo, *Anal. Chem.* 81 (2009) 898-912.
- [17] H. Shaaban, T. Gorecki, *Journal of Separation Science* 35 (2012) 216-224.
- [18] A.L. Batt, M.S. Kostich, J.M. Lazorchak, *Anal. Chem.* 80 (2008) 5021-5030.
- [19] M. Huerta-Fontela, M.T. Galceran, F. Ventura, *Journal of Chromatography A* 1217 (2010) 4212-4222.
- [20] F. Tamtam, F. Mercier, J. Eurin, M. Chevreuil, B. Le Bot, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 393 (2009) 1709-1718.
- [21] X. Zhang, K.D. Oakes, D. Luong, C.D. Metcalfe, M.R. Servos, *Anal. Chem.* 83 (2011) 6532-6538.
- [22] J.B. Quintana, R. Rodil, S. Muniategui-Lorenzo, P. Lopez-Mahia, D. Prada-Rodriguez, *Journal of Chromatography A* 1174 (2007) 27-39.
- [23] R. Jacquet, C. Miege, P. Bados, S. Schiavone, M. Coquery, *Environmental Toxicology and Chemistry* 31 (2012) 279-288.
- [24] H.X. Li, P.A. Helm, C.D. Metcalfe, *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (2010) 751-762.
- [26] <<http://www.ircp.anmv.anses.fr/>>.
- [27] M. Radke, H. Ulrich, C. Wurm, U. Kunkel, *Environmental Science & Technology* 44 (2010) 2968-2974.
- [28] B.V. Laws, E.R.V. Dickenson, T.A. Johnson, S.A. Snyder, J.E. Drewes, *Science of the Total Environment* 409 (2011) 1087-1094.
- [29] F. Tamtam, F. Mercier, B. Le Bot, J. Eurin, Q.T. Dinh, M. Clement, M. Chevreuil, *Science of the Total Environment* 393 (2008) 84-95.
- [30] K. Maskaoui, J.L. Zhou, *Environmental Science and Pollution Research* 17 (2010) 898-907.
- [31] Y. Yang, J. Fu, H. Peng, L. Hou, M. Liu, J.L. Zhou, *Journal of Hazardous Materials* 190 (2011) 588-596.
- [32] A.C. Hari, R.A. Paruchuri, D.A. Sabatini, T.C.G. Kibbey, *Environmental Science & Technology* 39 (2005) 2592-2598.
- [33] O. Lorphensri, D.A. Sabatini, T.C.G. Kibbey, K. Osathaphan, C. Saiwan, *Water Research* 41 (2007) 2180-2188.
- [34] P.A. Neale, B.I. Escher, A.I. Schafer, *Science of the Total Environment* 407 (2009) 1164-1173.
- [35] D.R. Baker, B. Kasprzyk-Hordern, *Journal of Chromatography A* 1218 (2011) 8036-8059.
- [36] B. Kasprzyk-Hordern, *Chemical Society Reviews* 39 (2010) 4466-4503.
- [37] J.B. Quintana, S. Weiss, T. Reemtsma, *Water Research* 39 (2005) 2654-2664.
- [38] B.J. Vanderford, R.A. Pearson, D.J. Rexing, S.A. Snyder, *Anal. Chem.* 75 (2003) 6265-6274.
- [39] B.J. Vanderford, D.B. Mawhinney, R.A. Trenholm, J.C. Zeigler-Holady, S.A. Snyder, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 399 (2011) 2227-2234.
- [40] C. Baronti, R. Curini, G. D'Ascenzo, A. Di Corcia, A. Gentili, R. Samperi, *Environmental Science & Technology* 34 (2000) 5059-5066.

- [41] C. Pieper, D. Risse, B. Schmidt, B. Braun, U. Szewzyk, W. Rotard, *Water Research* 44 (2010) 4559-4569.
- [42] D.E. Latch, B.L. Stender, J.L. Packer, W.A. Arnold, K. McNeill, *Environmental Science & Technology* 37 (2003) 3342-3350.
- [43] J.L. Packer, J.J. Werner, D.E. Latch, K. McNeill, W.A. Arnold, *Aquatic Sciences* 65 (2003) 342-351.
- [44] I.J. Buerge, H.R. Buser, T. Poiger, M.D. Muller, *Environmental Science & Technology* 40 (2006) 7242-7250.
- [45] M.X. Jiang, L.H. Wang, R. Ji, *Chemosphere* 80 (2010) 1399-1405.
- [46] H.R. Park, K.Y. Chung, H.C. Lee, J.K. Lee, K.M. Bark, *Bulletin of the Korean Chemical Society* 21 (2000) 849-854.
- [47] H.R. Park, T.H. Kim, K.M. Bark, *European Journal of Medicinal Chemistry* 37 (2002) 443-460.
- [48] B.T. Lunestad, J. Goksoyr, *Diseases of Aquatic Organisms* 9 (1990) 67-72.
- [49] R.P.S. Suri, T.S. Singh, R.F. Chimchirian, *Environmental Monitoring and Assessment* 184 (2012) 1657-1669.
- [50] C. Miege, P. Bados, C. Brosse, M. Coquery, *Trac-Trends Anal. Chem.* 28 (2009) 237-244.
- [51] M.J. Capdeville, H. Budzinski, *Trac-Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 586-606.
- [52] T. Kosjek, S. Perko, M. Zupanc, M.Z. Hren, T.L. Dragicevic, D. Zigon, B. Kompare, E. Heath, *Water Research* 46 (2012) 355-368.
- [53] A.L. Boreen, W.A. Arnold, K. McNeill, *Aquatic Sciences* 65 (2003) 320-341.
- [54] A.L. Boreen, W.A. Arnold, K. McNeill, *Environmental Science & Technology* 38 (2004) 3933-3940.
- [55] A.L. Boreen, W.A. Arnold, K. McNeill, *Environmental Science & Technology* 39 (2005) 3630-3638.
- [56] R.R. Chowdhury, P.A. Charpentier, M.B. Ray, *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* 219 (2011) 67-75.
- [57] E. Turiel, A. Martin-Esteban, G. Bordin, A.R. Rodriguez, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 380 (2004) 123-128.
- [58] K. Kummerer, *Chemosphere* 75 (2009) 417-434.
- [59] M.J. Hilton, K.V. Thomas, *Journal of Chromatography A* 1015 (2003) 129-141.
- [60] B. Kasprzyk-Hordern, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, *Water Research* 42 (2008) 3498-3518.
- [61] US Environmental Protection Agency : Stability of pharmaceuticals, personal care products, steroids, and hormones in aqueous samples, POTW effluents, and biosolids (2010)  
<http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/upload/methodspcp.pdf>
- [62] U. S. E. P. Agency. EPA Method 1694: Pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS (2007)  
<[http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2008\\_01\\_03\\_methods\\_method\\_1694.pdf](http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2008_01_03_methods_method_1694.pdf)>
- [63] A. Hildebrandt, S. Lacorte, D. Barcelo, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386 (2006) 1075-1088.
- [64] S.M. Havens, C.J. Hedman, J.D.C. Hemming, M.G. Mieritz, M.M. Shafer, J.J. Schauer, *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (2010) 2481-2490.
- [65] Surveillance des résidus de médicaments dans les eaux - stabilité dans les échantillons entre phase dissoute et particulaire. Rapport final (2011)  
<[http://www.aquaref.fr/system/files/stabilit%C3%A9+pharma\\_brgm\\_IIA01\\_V0.pdf](http://www.aquaref.fr/system/files/stabilit%C3%A9+pharma_brgm_IIA01_V0.pdf)>
- [66] Rapport de synthèse de l'essai inter-laboratoire : « résidus médicamenteux dans l'eau destinée à la consommation humaine », AFSSA – Laboratoire d'Études et de Recherches en Hydrologie, 35p. (2009)
- [67] A. Togola, H. Budzinski, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 388 (2007) 627-635.
- [68] S. Managaki, A. Murata, H. Takada, B.C. Tuyen, N.H. Chiem, *Environmental Science & Technology* 41 (2007) 8004-8010.
- [69] T. Benijts, W. Lambert, A. De Leenheer, *Anal. Chem.* 76 (2004) 704-711.
- [70] E. Heath, T. Kosjek, M. Farre, J.B. Quintana, L.F. de Alencastro, S. Castiglioni, O. Gans, K. Langford, R. Loos, J. Radjenovic, L.M. Rocca, H. Budzinski, D. Tsiipi, M. Petrovic, D. Barcelo, *Talanta* 81 (2010) 1189-1196.
- [71] J.M. Conley, S.J. Symes, S.A. Kindelberger, S.A. Richards, *Journal of Chromatography A* 1185 (2008) 206-215.
- [72] A.L. Spongberg, J.D. Witter, J. Acuna, J. Vargas, M. Murillo, G. Umana, E. Gomez, G. Perez, *Water Research* 45 (2011) 6709-6717.
- [73] W.W. Buchberger, *Journal of Chromatography A* 1218 (2011) 603-618.
- [74] B.F. da Silva, A. Jelic, R. Lopez-Serna, A.A. Mozeto, M. Petrovic, D. Barcelo, *Chemosphere* 85 (2011) 1331-1339.
- [75] E. Zuccato, S. Castiglioni, R. Fanelli, *Journal of Hazardous Materials* 122 (2005) 205-209.

- [76] F. Ingerslev, L. Torang, M.L. Loke, B. Halling-Sorensen, N. Nyholm, *Chemosphere* 44 (2001) 865-872.
- [77] M.J. Garcia-Galan, T. Garrido, J. Fraile, A. Ginebreda, M.S. Diaz-Cruz, D. Barcelo, *Journal of Hydrology* 383 (2010) 93-101.
- [78] T. Kosjek, E. Heath, A. Krbavcic, *Environ. Int.* 31 (2005) 679-685.
- [79] M.J. Benotti, R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, B.D. Stanford, S.A. Snyder, *Environmental Science & Technology* 43 (2009) 597-603.
- [80] X.Z. Peng, Y.J. Yu, C.M. Tang, J.H. Tan, Q.X. Huang, Z.D. Wang, *Science of the Total Environment* 397 (2008) 158-166.
- [81] L. Tong, P. Li, Y.X. Wang, K.Z. Zhu, *Chemosphere* 74 (2009) 1090-1097.
- [82] G. McDonnell, A.D. Russell, *Clinical Microbiology Reviews* 12 (1999) 147-+.
- [83] A. Daneshvar, K. Aboufadi, L. Viglino, R. Broseus, S. Sauve, A.S. Madoux-Humery, G.A. Weyhenmeyer, M. Prevost, *Chemosphere* 88 (2012) 131-139.
- [84] E. Heath, T. Kosjek, H.R. Andersen, H.C.H. Lutzhoft, M.A. Erci, M. Coquery, R.A. Doring, O. Gans, C. Guignard, P. Karlsson, F. Manciot, Z. Moldovan, D. Patureau, L. Crucecu, F. Sacher, A. Ledin, *Environ. Pollut.* 158 (2010) 658-662.
- [85] S. Thiele-Bruhn, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 166 (2003) 546-546.
- [86] L.K. Sorensen, T.H. Elbaek, *Chromatographia* 60 (2004) 287-291.
- [87] M. Farre, M. Petrovic, M. Gros, T. Kosjek, E. Martinez, E. Heath, P. Osvald, R. Loos, K. Le Menach, H. Budzinski, F. De Alencastro, J. Mueller, T. Knepper, G. Fink, T.A. Ternes, E. Zuccato, P. Kormali, O. Gans, R. Rodil, J.B. Quintana, F. Pastori, A. Gentili, D. Barcelo, *Talanta* 76 (2008) 580-590.
- [88] B. Roig, M. Brogat, S. Mompelat, J. Leveque, A. Cadiere, O. Thomas, *Talanta*, submitted, (2012)
- [89] K. Aboufadi, C. De Potter, M. Prevost, S. Sauve, *Chem. Cent. J.* 4 (2010)

## 10 Table des illustrations

<i>Figure 1</i> : Processus affectant la stabilité des résidus pharmaceutiques dans les eaux naturelles .....	16
<i>Figure 2</i> : Durée de stabilité des RP dans les eaux de surface en fonction des conditions de la température de stockage.....	25
<i>Figure 3</i> : Durée de stabilité des RP dans les eaux naturelles avec ajout d'additifs	
<i>Tableau 1</i> : : Liste des 58 molécules étudiés à usage vétérinaire (en gris foncé) et (gris clair)/ou (blanc) humain.....	15
<i>Tableau 2</i> : Synthèse des protocoles pour tester l'influence de la température sur la stabilité des produits pharmaceutiques .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>Tableau 3</i> : Description des conditions des tests de stabilité avec ajout d'additifs acidifiant/non acidifiant.....	29
<i>Tableau 4</i> : Influence de l'acidification sur la stabilité des produits pharmaceutiques.....	33
<i>Tableau 5</i> : Conditions de stabilité des produits pharmaceutiques dans les échantillons d'eaux naturelles destinés à l'analyse. ....	36

Onema  
Hall C – Le Nadar  
5, square Félix Nadar  
94300 Vincennes  
01 45 14 36 00  
[www.onema.fr](http://www.onema.fr)

INRA  
UMR SAS 1069 INRA  
AGROCAMPUS OUEST  
RENNES  
02.23.;48.54.20