



- **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 α -Oestradiol	H	
	17 α -Éthinylestradiol	H	
	17 β -Oestradiol	H	
Hormones	17,20-Dihydroxyprogesterone	H	

	17 α -Trenbolone	H
	17 β -Trenbolone	H
	19-norethindrone	H
	4-Androstène-3,17-dione	H
	5 α -androstane-17 β -ol-3-one	H
	5 α -androstane-3,17-dione	H
	Androsterone	H
	Boldenone	H
	Oestril	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
β -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 ₂ SO ₄ , pH2, 4°C	HCl, pH2, 4°C	H ₂ SO ₄ , 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 ₂ SO ₄ , pH2, +4°C	HCl, pH2, +4°C	H ₂ SO ₄ , 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