THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par Salima IDDER

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : CHIMIE ANALYTIQUE ET ENVIRONNEMENT

ÉTAT DE LA CONTAMINATION DES EAUX DU DÉPARTEMENT DE LA DORDOGNE PAR LES RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS

Soutenue le 11 décembre 2012

Devant la commission d'examen formée de :

M. GUIBAUD Gilles	Professeur, Université de Limoges	Rapporteur
Mme MIÈGE Cécile	Ingénieur de Recherche, IRSTEA Lyon	Rapporteur
M. VILLENAVE Éric	Professeur, Université Bordeaux 1	Président
M. REBILLARD Jean-Pierre	Docteur, Agence de l'Eau Adour Garonne	Examinateur
M. FROCHEN Jean-Claude	Ingénieur du Génie Sanitaire, ARS Aquitaine	Examinateur
Mme BUDZINSKI Hélène	Directrice de recherche CNRS, Université Bordeaux 1	Directrice de thèse
M. MAZELLIER Patrick	Professeur, Université Bordeaux IV	Directeur de thèse
M. LEY Laurent	Docteur, Laboratoire départemental de la Dordogne	Directeur scientifique

REMERCIEMENTS

Ce manuscrit est le fruit d'un travail qui aura duré un peu plus de trois ans. Il n'aurait pu être ce qu'il est sans la contribution directe et indirecte de nombreuses personnes.

Je remercie Madame Cécile Miège, Ingénieur de Recherche à l'Irstea, et Monsieur Gilles Guibaud, Professeur à l'Université de Limoges, pour avoir accepté d'évaluer mon travail en tant que rapporteurs de thèse ainsi que pour leurs remarques constructives apportées sur ce manuscrit.

J'exprime ma gratitude à Monsieur Jean-Pierre Rebillard, Chef de service « Connaissance et Valorisation » à l'Agence de l'Eau Adour Garonne, à Monsieur Éric Villenave, Professeur à l'Université Bordeaux 1, et à Monsieur Jean-Claude Frochen, Ingénieur du Génie Sanitaire à l'ARS Aquitaine, pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Ce travail de thèse a été réalisé au Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de la Dordogne (LDAR 24) en partenariat avec le Laboratoire de Physico et Toxico Chimie de l'environnement (LPTC) de l'Université de Bordeaux 1 pour l'appui scientifique. J'adresse mes sincères remerciements à Hélène Budzinski et Patrick Mazellier, directeurs de thèse, pour leur encadrement, leur rigueur et leurs conseils éclairés. Je souhaite également adresser tous mes remerciements à Laurent Ley, directeur scientifique de cette thèse, pour sa disponibilité et son encadrement, pour m'avoir aussi confié l'encadrement de plusieurs stagiaires et surtout pour avoir mis à disposition les moyens techniques nécessaires afin de mener à bien ces travaux. Finalement, cette aventure n'aurait pas été celle qu'elle a été sans l'association de ces trois encadrants, encore merci !

J'adresse mes remerciements au Conseil Général de la Dordogne sans qui cette thèse n'aurait pu être réalisée. Je remercie également Monsieur Jean-Louis Moyen, directeur du LDAR 24, pour son accueil au sein du laboratoire ainsi que l'ensemble du personnel. Je tiens à remercier plus particulièrement chaque membre du Service Analyses Eau et Environnement : Frédérique, Jérôme, Annabelle, Gérald, Aurélie, Carole, Marie-Claire, Pauline, Coralie, Mickaël, Félix, Cindy, Karine, Christophe, Denis, Olivier, Jean-Michel et Mathieu. Leur gentillesse et leur aide qui s'est étendue du prélèvement de l'échantillon jusqu'à l'analyse de certains paramètres physico-chimiques, m'ont permis de mener à bien ce projet.

Mes remerciements vont également aux membres du LPTC que j'ai eu l'opportunité de côtoyer et notamment à Nathalie Tapie et Jean-Luc Giraudel pour son aide concernant le traitement statistique des données issues de ces travaux.

Différents acteurs ont contribué de près ou de loin à la réussite de ce projet. Parmi ces personnes, je tiens à remercier le personnel de la Lyonnaise des Eaux et en particulier Jean-Christophe Studer pour sa disponibilité et son intérêt pour cette étude ainsi que Jean-Philippe Couloumy et Frédéric Gréziak pour m'avoir accompagné lors des différentes campagnes de prélèvement organisées au niveau de l'agglomération de Périgueux. Mes remerciements s'adressent également au personnel de l'Agence de l'Eau Adour Garonne et particulièrement à Jean-Pierre Rebillard pour ses conseils et ses remarques sur ce travail de thèse ainsi que Philippe Thiebaud pour les nombreuses cartes qu'il a réalisées et sa rapidité d'action. Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au personnel du laboratoire d'hydrologie de Nancy (Anses) et en particulier à Christophe Rosin. Mes remerciements vont aussi aux techniciens du Satese pour

leurs précieuses informations concernant le réseau d'assainissement en Dordogne ainsi qu'à la Communauté d'Agglomération Périgourdine pour nous avoir donné l'accès aux stations d'épuration de Saltgourde et Trélissac.

De nombreux partenaires ont soutenu financièrement ces travaux de thèse et ont permis de mener à bien ce projet. Aussi, je souhaite remercier :

- l'Agence de l'Eau Adour Garonne ;
- la région Aquitaine qui a financé cette étude par l'intermédiaire du Fonds européen de développement régional (n° Présage 33086) ;
- l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie pour le financement de ma bourse de thèse ;
- la société Thermo Fisher Scientific (en particulier Monsieur Christophe Dabadie) pour leur support technique et financier sur l'aspect analytique du projet ;
- et la Lyonnaise des Eaux.

Un grand merci à Amélie, Sophie, Thibaud, Brice, Ahmed, Sandy, Montaha, Pauline et Sébastien pour les bons moments passés à leurs côtés !

Enfin, mes derniers remerciements s'adressent à ma famille et tout particulièrement à mes parents que je ne remercierai jamais assez pour tout ce qu'ils m'ont apporté. Un grand merci également à Nora et Bilal pour leur soutien et leurs encouragements ainsi qu'à mes grands parents et en particulier ma grand-mère, à qui je pense chaque jour.

Merci à tous.

RÉSUMÉ

Le début du 21e siècle a vu naître un intérêt croissant pour la problématique des résidus de médicaments dans les milieux aquatiques. L'apparition de nouvelles technologies analytiques permettant la détection et la quantification de molécules à l'état d'ultra-traces a fortement contribué à cette expansion. Ces améliorations technologiques ont permis la recherche et la quantification de nombreux xénobiotiques dans les différents compartiments aquatiques. Depuis une quinzaine d'années, l'attention des équipes de recherche s'est ainsi portée sur les résidus de médicaments à usage humain ou vétérinaire. La faune et la flore aquatiques sont ainsi exposées à des mélanges de composés certes à très faibles doses (souvent de l'ordre de quelques ng à quelques centaines de ng) mais en continu et les effets de cette exposition sont très peu documentés. Ces contaminants font partie des polluants émergents et il n'existe actuellement pas de réglementation en Europe concernant leur présence dans l'environnement. La contamination des milieux aquatiques par les résidus de médicaments à usage humain est souvent le signe d'une urbanisation importante et les cours d'eau soumis à de fortes pressions domestiques sont des sites d'étude privilégiés. Néanmoins, les données concernant les milieux ruraux sont encore parcellaires bien qu'ils représentent les quatre cinquièmes du territoire français.

Les travaux de cette thèse ont pour objectif premier d'établir un état des lieux des ressources en eau d'un territoire à dominante rurale, le département de la Dordogne. Pour répondre à cette problématique, la recherche de résidus de médicaments s'est orientée sur une liste de 40 molécules comprenant des hypolipidémiants, des antibiotiques, des béta-bloquants, des anti-inflammatoires non stéroïdiens, des anticancéreux, etc. Une méthode chromatographique multi-résidus (pré-concentration en ligne - LC-MS/MS) a été développée et validée pour les eaux de surface.

En accord avec la Directive européenne Cadre sur l'Eau (DCE), des sites ont été échantillonnés tous les mois pendant un an (2011) sur six cours d'eau majeurs du département de la Dordogne de manière à déterminer leur état écologique (physico-chimique et biologique). Parallèlement, la caractérisation des résidus de médicaments a été réalisée sur ces mêmes échantillons. Les différentes campagnes de mesure ont permis d'identifier les principales zones impactées par les composés pharmaceutiques et ont également montré des corrélations linéaires avec d'autres paramètres (ions ammonium, phosphore, etc.).

Suite aux premiers résultats obtenus lors de l'état des lieux du département de la Dordogne, une étude complémentaire focalisée sur la présence des résidus de médicaments dans l'Isle a été menée en parallèle. Elle a permis de caractériser les voies d'introduction des résidus de médicaments et mieux comprendre l'impact de la ville de Périgueux sur l'Isle. Ainsi, un des objectifs a été de caractériser la présence de composés pharmaceutiques dans cette rivière et de comprendre l'origine de ces molécules par l'identification des effluents domestiques des stations d'épuration présentes dans la zone urbaine.

Mots clés : pré-concentration en ligne, LC-MS/MS, multi-résidus, milieu aquatique, résidus de médicaments, environnement, ressources superficielles

ABSTRACT

The beginning of the 21th century saw a growing interest for pharmaceuticals in aquatic systems. The development of new analytical technologies allowing detection and quantification of compounds at ultra-trace levels mostly contributed to this expansion. These technological improvements allowed to evidence and quantify many xenobiotics in various aquatic compartments. Since about fifteen years, research teams focused their attention to human or veterinary pharmaceuticals. These contaminants are among emerging pollutants and no regulation exists in Europe concerning their presence in the environment. The presence of few tenths of pharmaceuticals has been demonstrated. Living organisms in aquatic bodies are therefore exposed to mixtures of compounds certainly at low doses (often between few ng and few hundreds of ng) but continuously and the effects of this exposure are few documented. The contamination of aquatic systems by pharmaceuticals is usually the sign of an important urbanization and streams with strong domestic pressures are often chosen as sampling sites in scientific studies. Nevertheless, the data concerning rural areas are still scarce although they represent four fifth of the French territory.

This work aims to establish a current situation of water resources of a rural territory, the Dordogne administrative department. The occurrence of 40 pharmaceuticals including lipid regulators, antibiotics, β-blockers, non-steroidal anti-inflammatories, anticancer drugs, etc in several streams has studied with a multi-residue analytical method involving an on-line preconcentration, a chromatographic separation followed by tandem MS/MS detection. The method has been validated for surface waters according to COFRAC requirements.

Many sites were sampled every month during one year (2011) on six major streams of the Dordogne department. The various campaigns allowed identifying the main areas contaminated by pharmaceuticals and some linear correlations with other parameters (ammonium ion, phosphorus, etc.) have been evidenced.

Beside the results obtained over all the Dordogne department, a focus on the presence of pharmaceuticals in Isle river, around Périgueux, the main urban area of Dordogne, was led. This survey allowed characterizing the introduction ways of pharmaceuticals and better understanding the impact of the city of Périgueux on the river Isle.

Keywords : on-line preconcentration, LC-MS/MS, multi-residue, pharmaceuticals, environment, surface water

TABLE DES MATIÈRES

Introduction générale **1**

I Contexte scientifique et bibliographique **3**

I.1. Les résidus de médicaments dans l'environnement **3**

I.1.1. Généralités 3

I.1.1.1. Caractéristiques du médicament 4

I.1.1.2. Consommation sur le territoire français 4

I.1.1.2.1. Médicaments à usage humain 4

I.1.1.2.2. Médicaments à usage vétérinaire 7

I.1.1.3. Classes pharmacologiques d'intérêt 8

I.1.1.3.1. Analgésiques ou antalgiques 8

I.1.1.3.2. Antibiotiques 9

I.1.1.3.3. Antiépileptiques 9

I.1.1.3.4. Anxiolytiques 9

I.1.1.3.5. Hypolipidémiants 9

I.1.1.3.6. Autres composés pharmaceutiques 10

I.1.2. Les différentes sources et voies d'introduction des résidus de médicaments dans le milieu environnemental 10

I.1.2.1. Principales voies d'introduction liées à l'usage humain 11

I.1.2.1.1. Les stations d'épuration urbaines 11

I.1.2.1.2. Les centres de soins 12

I.1.2.1.3. L'assainissement non collectif 12

I.1.2.2. Principales voies d'introduction liées à l'usage vétérinaire 13

I.1.2.3. Voies d'introduction communes 13

I.1.2.3.1. Les unités de production 13

I.1.2.3.2. Les centres de stockage 14

I.1.3. Devenir dans l'environnement aquatique 14

I.1.3.1. Le milieu naturel 14

I.1.3.1.1. Dégradation abiotique 14

I.1.3.1.2. Dégradation biotique 16

I.1.3.1.3. Sorption sur la matière solide 16

I.1.3.2. Les filières de traitement 16

I.1.3.2.1. Eaux résiduaires 16

I.1.3.2.2. Eaux destinées à la consommation humaine 20

I.1.4. Présence dans l'environnement aquatique 21

I.1.4.1. Les eaux résiduaires 21

I.1.4.2. Les eaux naturelles 23

I.1.4.3. Les eaux potables 26

I.1.4.4. Les sédiments 27

I.1.5. Impacts sur l'environnement 28

I.1.5.1. Écotoxicologie 28

I.1.5.1.1. Toxicité aiguë 28

I.1.5.1.2. Toxicité chronique 28

I.1.5.1.3. Les mélanges binaires et multi-composants 28

I.1.5.2. Les effets potentiels 29

I.1.5.2.1. La perturbation endocrinienne 29

I.1.5.2.2. L'antibiorésistance 29

I.1.5.2.3. La génotoxicité 29

I.1.6. Aspects réglementaires 30

I.1.6.1. La qualité des eaux (www.legifrance.gouv.fr) 30

I.1.6.2. Les autorisations de mise sur le marché 31

I.2. Méthodologies associées aux dosages des résidus de médicaments dans la phase dissoute des compartiments aquatiques....32
I.2.1. Pré-concentration et extraction des résidus de médicaments....33
I.2.1.1. Extraction sur phase solide....33
I.2.1.1.1. Extraction hors ligne....33
I.2.1.1.2. Extraction en ligne....34
I.2.1.2. Autres techniques d'extraction....35
I.2.2. Analyse des résidus de médicaments....36
I.2.2.1. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse....36
I.2.2.2. La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse....37
I.2.3. Difficultés liées à l'étape d'ionisation....38
I.2.3.1. L'étalonnage interne....38
I.2.3.2. Les ajouts dosés....39
I.2.3.3. La dilution....39

I.3. Problématique et méthodologie....40

II Analyse quantitative de résidus de médicaments par pré - concentration en ligne CL-SM/SM....43

II.1. Élaboration de la liste des molécules d'intérêt....44
II.1.1. Liste initiale....44
II.1.2. Liste Anses....44
II.1.3. Liste finale....45
II.1.4. Critères de sélection....45
II.1.4.1. Consommations locales et élevages....45
II.1.4.2. Occurrence des résidus de médicaments....46
II.1.4.3. Métabolisme et élimination des résidus de médicaments....46
II.1.4.4. Faisabilités analytiques et économiques....47
II.1.5. Molécules retenues et propriétés physico-chimiques....48

II.2. Matériels et méthodes....49
II.2.1. Réactifs, consommables et matériels courants de laboratoire....49
II.2.2. Solutions de travail....50
II.2.3. Utilisation d'une eau minérale de référence....50
II.2.4. Contrôles qualité....51
II.2.5. Échantillons....51
II.2.6. Instrumentation....52
II.2.6.1. Pré-concentration en ligne et chromatographie liquide....52
II.2.6.2. Spectrométrie de masse en tandem....54

II.3. Développement analytique....55
II.3.1. Conditions de détection....55
II.3.1.1. Paramètres du spectromètre de masse....55
II.3.1.1.1. Infusion des molécules cibles....55
II.3.1.1.2. Réglage de la source d'ionisation....56
II.3.1.1.3. Transitions ion parent > ion fils et optique ionique....57
II.3.1.2. Nature de la phase mobile....59
II.3.2. Séparation chromatographique....62
II.3.3. Extraction des composés par pré-concentration en ligne....63
II.3.3.1. Sélection des colonnes de pré-concentration en ligne....63
II.3.3.2. Solvant de chargement....65
II.3.3.3. Temps de chargement et débits....65
II.3.4. Effets de matrice....66
II.3.5. Rémanence des analytes associée au système analytique....70
II.3.6. Prétraitement de l'échantillon et conservation....71
II.3.6.1. Ajouts d'additifs....71
II.3.6.1.1. Acidification de l'échantillon....71
II.3.6.1.2. Ajout d'un agent complexant....74
II.3.6.2. Conservation de l'échantillon....74

II.4. Performances analytiques et validation de la méthode....76
II.4.1. Linéarité....76
II.4.1.1. Définition....76
II.4.1.2. Résultats....76
II.4.2. Limites de détection et de quantification....78

II.4.2.1. Définition ... 78
II.4.2.2. Résultats ... 78
II.4.3. Exactitude de la méthode ... 80
II.4.3.1. Définition ... 80
II.4.3.2. Résultats ... 81
II.4.4. Mesure de l'incertitude ... 83
II.4.4.1. Définition ... 83
II.4.4.2. Validation de la méthode ... 83
II.4.4.3. Cartes de contrôles ... 84

II.5. Assurance qualité ... 85
II.5.1. Qualité des résultats ... 86
II.5.1.1. Contrôles internes ... 86
II.5.1.2. Contrôles externes ... 86
II.5.2. Anomalies et fiches d'actions ... 86
II.5.3. Audits qualité ... 86

III Les résidus de médicaments et le département de la Dordogne : état des lieux de la contamination des ressources en eau ... 89

III.1. Matériels et méthodes ... 90
III.1.1. Caractéristiques du département ... 90
III.1.1.1. Densité de population ... 90
III.1.1.2. Élevage ... 91
III.1.1.3. Climatologie ... 92
III.1.1.4. Géologie ... 93
III.1.2. Les sites d'échantillonnage ... 93
III.1.3. Description des différents bassins versants ... 95
III.1.3.1. Le bassin de la Dordogne ... 95
III.1.3.2. Le bassin de la Vézère ... 96
III.1.3.3. Le bassin de la Dronne ... 97
III.1.3.4. Le bassin de l'Isle ... 98
III.1.4. Techniques de prélèvement de l'échantillon ... 101
III.1.4.1. Matériels ... 101
III.1.4.2. Le prélèvement d'échantillons ... 101
III.1.4.3. Conditions de prélèvement et paramètres mesurés sur le terrain ... 102
III.1.4.4. Conditionnement des échantillons ... 102
III.1.5. Paramètres supplémentaires ... 102
III.1.6. Qualité des cours d'eau ... 102
III.1.7. Caractérisation de l'année 2011 ... 103
III.1.7.1. Précipitations ... 103
III.1.7.2. Températures ... 104
III.1.7.3. Ensoleillement ... 105
III.1.7.4. Débits ... 106
III.1.7.5. Conclusion ... 108
III.1.8. Calcul des flux ... 108
III.1.9. Traitement statistique des données ... 108

III.2. Données générales obtenues sur l'ensemble des campagnes de mesure ... 109
III.2.1. Fréquence de détection ... 109
III.2.2. Contamination des bassins étudiés et traitements statistiques ... 112
III.2.2.1. Principales classes pharmacologiques retrouvées ... 112
III.2.2.2. Corrélations linéaires ... 115
III.2.2.3. Régression linéaire simple ... 118
III.2.2.4. Données brutes ... 119
III.2.3. Paramètres physico-chimiques ... 122

III.3. Présence et devenir des résidus de médicaments ... 127
III.3.1. La Dronne et son affluent la Lizonne ... 127
III.3.1.1. Localisation des stations de mesure du bassin ... 127
III.3.1.2. Contamination du bassin de la Dronne ... 127
III.3.2. L'Isle et ses principaux affluents ... 129
III.3.2.1. Localisation des stations de mesure du bassin ... 129
III.3.2.2. Contamination de l'Isle ... 129
III.3.2.3. Contamination des principaux affluents de l'Isle ... 131

III.3.2.4. Campagne supplémentaire ... 132
III.3.2.5. Variation saisonnière ... 133
III.3.3. La Dordogne et son affluent la Vézère ... 135
III.3.3.1. Localisation des stations de mesure du bassin ... 135
III.3.3.2. Contamination de la Dordogne et de la Vézère ... 135
III.3.3.3. Campagnes supplémentaires ... 137
III.3.3.4. Variation saisonnière ... 139
III.4. Synthèse ... **141**
IV Introduction des résidus de médicaments dans l'Isle autour de l'agglomération de Périgueux ... **145**
IV.1. Matériels et méthodes ... **146**
IV.1.1. Sites d'échantillonnage ... 146
IV.1.2. Caractéristiques de l'agglomération périgourdine ... 148
IV.1.2.1. Agglomération ... 148
IV.1.2.2. Démographie ... 148
IV.1.2.3. Qualité des cours d'eau ... 150
IV.1.3. Techniques de prélèvement de l'échantillon et caractérisation de l'année 2011 ... 150
IV.1.4. Paramètres supplémentaires ... 151
IV.1.5. Analyse des eaux résiduaires ... 152
IV.1.6. Traitement statistique des données ... 153
IV.1.7. Calcul des flux ... 153
IV.1.7.1. L'Isle ... 153
IV.1.7.2. Les stations d'épuration ... 154
IV.2. Données générales sur l'ensemble des prélèvements ... **154**
IV.2.1. Fréquence de détection ... 154
IV.2.1.1. L'Isle ... 154
IV.2.1.2. Les stations d'épuration ... 155
IV.2.2. Classes pharmacologiques ... 156
IV.2.2.1. L'Isle ... 156
IV.2.2.2. Les stations d'épuration ... 158
IV.2.3. Application du modèle linéaire ... 161
IV.2.4. Données brutes ... 162
IV.2.4.1. L'Isle ... 162
IV.2.4.2. Les stations d'épuration ... 162
IV.2.5. Paramètres physico-chimiques ... 166
IV.2.5.1. L'Isle ... 166
IV.2.5.2. Les stations d'épuration ... 167
IV.3. Identification des sources d'introduction ... **168**
IV.3.1. Caractérisation de l'Isle ... 169
IV.3.1.1. Suivi longitudinal ... 169
IV.3.1.2. Focus sur le paracétamol et la carbamazépine ... 172
IV.3.1.3. Variation saisonnière ... 174
IV.3.2. Caractérisation des affluents ... 175
IV.3.3. Caractérisation des eaux résiduaires traitées ... 176
IV.3.4. Bilan des apports ... 179
Conclusion et perspectives ... **183**
Références bibliographiques ... **187**
Annexes ... **201**

LISTE DES FIGURES

Figure I-1 Répartition du marché officinal par classe thérapeutique (classification EphMra) selon le nombre d'unités en 2011 (d'après www.leem.org/article/marche-interieur ; source GERS). 5
Figure I-2 Niveaux de consommation des anxiolytiques (DDJ/1 000 habitants/jour) calculés dans certains pays européens en 2009 [d'après Afssaps, 2012]. 6
Figure I-3 Niveaux de consommation des antibiotiques (DDJ/1 000 hab./J) calculés dans certains pays [Locatelli et al., 2011]. 6
Figure I-4 Répartition du marché français par classes thérapeutiques en 2011 (d'après AIEMV, 2011). 7
Figure I-5 Répartition des ventes entre les différentes espèces selon la quantité pondérale de matière active (Wacti) en 2010 (d'après Chevance et Moulin, Anses - ANMV, 2011). 8
Figure I-6 Origines et principales voies d'introduction des résidus de médicaments dans le milieu aquatique. 11
Figure I-7 Flux journaliers d'antibiotiques (moyenne par semaine et écart-type) mesurés dans la station de Kloten-Opfikon (Suisse) en été 2000 et hiver 2001 [d'après McArdell et al., 2003]. 12
Figure I-8 Devenir du métoprolol par unité utilisée après utilisation dans des ménages anglais [d'après Bound et Voulvoulis, 2005]. 14
Figure I-9 Préparation de l'échantillon classique et analyse des résidus de médicaments dans les matrices aqueuses (d'après Fatta et al., 2007). 33
Figure I-10 Principe de la SPE (d'après www.silicycle.com). 34
Figure I-11 Schéma de formation des ions par ESI [Manisali et al., 2006]. 37
Figure I-12 Impact de la dilution sur l'effet de matrice du bézafibrate dans les extraits (A1) d'une eau résiduaire traitée et (A2) d'une eau résiduaire brute [Gros et al., 2006]. 40

Figure II-1 Méthodologie développée par Besse et Garric pour la détermination des Fexcreta [Besse et Garric, 2007]. 47
Figure II-2 Système de pré-concentration en ligne et chromatographe liquide couplé à un spectromètre de masse en tandem (modèle Equan MAX). 52
Figure II-3 Passeur d'échantillon Accela et système de pré-concentration en ligne. 53
Figure II-4 Schéma des deux principales étapes qui composent le système de pré-concentration en ligne: (a.) le chargement de l'échantillon et (b.) l'élution des analytes (d'après Thermo Fisher Scientific). 54
Figure II-5 Système d'infusion à l'aide d'un « T ». 56
Figure II-6 Transitions du furosémide dans (a.) l'eau ultra-pure et dans (b.) une eau de rivière supplémentées à 20 $ng.L^{-1}$. 57
Figure II-7 Exemple de l'influence de l'acide formique sur la réponse des molécules analysées en (a.) ESI- et (b.) ESI+ lors de l'injection d'une solution de 10 $\mu g.L^{-1}$ (r = 3). 61
Figure II-8 Exemple de l'influence de l'acétate d'ammonium sur la réponse des molécules analysées en (a.) ESI- et (b.) ESI+ lors de l'injection d'une solution de 10 $\mu g.L^{-1}$ (r = 3). 62
Figure II-9 Réponse de l'ofloxacine (100 $ng.L^{-1}$) dans l'eau purifiée, l'eau Evian® et une eau de surface. 63
Figure II-10 Rendements d'extraction obtenus par pré-concentration en ligne à (a.) 50 pg et (b.) 150 pg dans l'eau Evian® (n = 3) pour le mode d'ionisation négatif. 64

Figure II-11 Rendements d'extraction obtenus par pré-concentration en ligne à 50 pg et 150 pg dans l'eau Evian® (n = 3) pour le mode d'ionisation positif (colonne styrène divinylbenzène). 65
Figure II-12 Impact du débit de chargement de l'échantillon sur la réponse de l'analyte pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) le mode d'ionisation positif d'une eau de surface supplémentée à 100 ng.L^{-1} (n = 3). 66
Figure II-13 Effets de matrice observés à 50 et 150 ng.L^{-1} (n = 3) dans les eaux du réseau pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) positif. 68
Figure II-14 Effets de matrice observés à 50 et 150 ng.L^{-1} (n = 3) dans les eaux de surface pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) positif. 69
Figure II-15 Détermination de l'effet mémoire des composés étudiés après injection de 1 µg.L^{-1} suivi de quatre blancs pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) le mode d'ionisation positif. Seul l'effet mémoire calculé après l'injection du 1er blanc et du 4^{e} blanc est représenté sur cette figure. 71
Figure II-16 Réponses des composés obtenues après ajustement du pH à 7 et 3 d'une eau de surface supplémentée à 200 ng.L^{-1} pour le mode d'ionisation négatif. 72
Figure II-17 Chromatogramme représentant l'acide 4-chlorobenzoïque à 200 ng.L^{-1} préparé dans une eau de surface non acidifiée (pH 7) et acidifié (pH 3). 72
Figure II-18 Réponses des composés après ajustement du pH à 7 et 3 d'une eau de surface supplémentée à 200 ng.L^{-1} pour le mode d'ionisation positif. 73
Figure II-19 Réponses des composés obtenues après ajustement du pH à 9 et 5 d'une eau de surface supplémentée à 200 ng.L^{-1} pour le mode d'ionisation positif. 73
Figure II-20 Réponses des composés obtenues avant et après ajout de 0,1 % Na_2EDTA dans une eau de surface supplémentée à 200 ng.L^{-1} pour le mode d'ionisation positif (n = 1). 74
Figure II-21 Domaine de linéarité (n = 5) de (a.) l'ibuprofène et (b.) le bézafibrate. 77
Figure II-22 Répartition des biais relatifs en fonction des niveaux de concentration du furosémide selon les EMA définis par le laboratoire. 77
Figure II-23 Propanolol quantifié dans une eau de surface dopée à 5 ng.L^{-1} (LQ). Le bruit a été multiplié par 10. 80
Figure II-24 Carte de contrôle du contrôle qualité de l'ibuprofène à 126 ng.L^{-1} où m représente la valeur de l'analyte, val. théo. la valeur théorique, m±2s la valeur théorique ± 2 écarts-types et m±3s la valeur théorique ± 3 écarts-types (bornes définies lors de la validation). 84
Figure II-25 Comparaison des incertitudes déterminées lors de la validation de la méthode et lors de la réalisation de cartes de contrôle pour (a.) le mode négatif et (b.) le mode positif. 85

Figure III-1 Densité de population des bassins versants localisés sur le département de la Dordogne (hab./km²). 91
Figure III-2 Densité du bétail des bassins versants du département de la Dordogne en unité de gros bétail (UGB). 92
Figure III-3 Carte géologique simplifiée du département de la Dordogne (d'après BRGM). 93
Figure III-4 Localisation des stations de mesure avec les fréquences de prélèvement dans les différents bassins étudiés (bassin de la Dordogne, de la Vézère, de la Dronne et de l'Isle). 94
Figure III-5 Précipitations totales par mois de l'année 2011 et de la moyenne obtenue entre 1981 et 2010 relevées à la station de Bergerac (Dordogne). 104
Figure III-6 Pluviométrie sur 24 heures mesurée à la station météorologique de Bergerac et période de prélèvement des stations définies par l'Agence de l'Eau Adour-Garonne. 104
Figure III-7 Températures moyennes (a.) minimales et (b.) maximales par mois de l'année 2011 et de la moyenne obtenue entre 1981 et 2010. Les données ont été relevées à la station de Bergerac (Dordogne). 105
Figure III-8 Ensoleillement total par mois de l'année 2011 et de la moyenne obtenue entre 1981 et 2010. Les données ont été relevées à la station de Bergerac (Dordogne). 106
Figure III-9 Débits mensuels moyens mesurés en 2011 et débits mensuels moyens interannuels relevés sur les stations de mesure hydrométriques de (a.) la Dordogne à

Lamonzie-Saint-Martin, (b.) la Vézère à Campagne, (c.) la Dronne à Villetouraix et (d.) l'Isle à Saint-Laurent-des-Hommes. 107
Figure III-10 Représentation graphique en boîte à moustaches. 109
Figure III-11 Fréquence de détection des molécules recherchées lors des différentes campagnes de mesure organisées en 2011. La concentration minimale (7 $ng.L^{-1}$) correspond à la plus haute limite de détection (hors paracétamol qui a une limite de détection de 16 $ng.L^{-1}$). 110
Figure III-12 Concentrations ($ng.L^{-1}$) des classes pharmacologiques les plus fréquemment détectées par bassin. 113
Figure III-13 Concentrations du paracétamol (analgésique) pour chaque bassin étudié. La valeur maximale (12 351 $ng.L^{-1}$) mesurée dans le bassin de la Dordogne a été retirée afin d'améliorer la lisibilité du graphique. 115
Figure III-14 Corrélation entre la carbamazépine et l'oxazépam présents dans l'ensemble des eaux de surface des bassins étudiés ($n = 209$; $p < 2{,}2.10^{-16}$). La valeur atypique indiquée par la flèche rouge correspond à l'échantillon « la Vézère à Aubas » prélevé en novembre 2011 et qui a fait l'objet d'une remarque dans la partie « III.2.2.1 Principales classes pharmacologiques retrouvées ». 116
Figure III-15 Corrélations entre (a.) carbamazépine/bézafibrate et oxazépam/bézafibrate, (b.) carbamazépine/diclofénac et oxazépam/diclofénac et (c.) carbamazépine/sulfaméthoxazole et oxazépam/sulfaméthoxazole ($n = 209$). 117
Figure III-16 Distribution des résidus du modèle prédictif reliant la concentration d'oxazépam à la concentration de carbamazépine. 118
Figure III-17 Variations des différents paramètres physico-chimiques mesurés dans les bassins de la Dronne, de l'Isle et de la Dordogne entre janvier 2011 et décembre 2011 (209 mesures sauf pour la chlorophylle a où $n = 65$). 124
Figure III-18 Localisation des stations de prélèvement et des stations hydrométriques présentes sur le bassin de la Dronne. 127
Figure III-19 Concentrations cumulées retrouvées en janvier 2011 aux différentes stations du bassin de la Dronne. 128
Figure III-20 Concentrations en paracétamol retrouvées dans le bassin de la Dronne suite aux différentes campagnes de mesure réalisées entre janvier et décembre 2011. 128
Figure III-21 Localisation des stations de prélèvement et des stations hydrométriques présentes dans le bassin de l'Isle. 129
Figure III-22 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées dans l'Isle en (a.) août 2011 et (b.) octobre 2011. 130
Figure III-23 Concentrations en paracétamol retrouvées dans le l'Isle suite aux différentes campagnes de mesure réalisées entre janvier et décembre 2011. 131
Figure III-24 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées en octobre 2011 des différents affluents de l'Isle. 131
Figure III-25 Concentrations en paracétamol retrouvées dans plusieurs affluents de l'Isle suite aux différentes campagnes de mesure réalisées entre janvier et décembre 2011. 132
Figure III-26 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées lors de la campagne supplémentaire réalisée sur la partie amont du bassin de l'Isle. 133
Figure III-27 Variation saisonnière des flux ($g.j^{-1}$) de résidus de médicaments calculés et températures de l'eau mesurées pour la station « l'Isle à Bénévent » en 2011. 134
Figure III-28 Variation saisonnière des flux ($g.j^{-1}$) de paracétamol calculés et débits relevés pour la station « l'Isle à Bénévent » en 2011. 134
Figure III-29 Localisation des stations de prélèvement et des stations hydrométriques présentes dans les bassins de la Vézère et de la Dordogne. 135
Figure III-30 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées dans le bassin de la Dordogne en (a.) août 2011 et (b.) octobre 2011. 136
Figure III-31 Concentrations en paracétamol retrouvées dans (a.) la Vézère et (b.) la Dordogne suite aux différentes campagnes de mesure réalisées entre janvier et décembre 2011. 137
Figure III-32 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées lors de la campagne supplémentaire réalisée sur le bassin de la Dordogne. 138

Figure III-33 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées lors de la campagne supplémentaire réalisée sur le sous bassin de la Vézère. 139
Figure III-34 Variation saisonnière des flux ($g.j^{-1}$) de résidus de médicaments calculés et températures de l'eau mesurées pour (a.) la station « la Vézère à Aubas » et (b.) la station « la Vézère à Le Bugue » en 2011. 140
Figure III-35 Variation saisonnière des flux ($g.j^{-1}$) de paracétamol calculés et les débits relevés pour (a.) la station « la Vézère à Aubas » et (b.) la station « la Vézère à Le Bugue » en 2011. 141
Figure III-36 Densité de population du département de la Dordogne et moyennes des concentrations cumulées en résidus de médicaments. Le calcul de la moyenne a été réalisé à partir des données obtenues sur l'ensemble des campagnes de mesure organisées en 2011. 142
Figure III-37 Densité de population du département de la Dordogne et moyennes des concentrations en paracétamol. Le calcul de la moyenne a été réalisé à partir des données obtenues sur l'ensemble des campagnes de mesure organisées en 2011. 143

Figure IV-1 Sites d'échantillonnage. 147
Figure IV-2 Répartition de la population par tranche d'âge en 2008 (Insee, données de 2008). 149
Figure IV-3 Pyramide des âges à Périgueux en 2009 (pourcentage) (Insee, données de 2009). 149
Figure IV-4 Traçage du rejet de la STEP de Saltgourde à la fluorescéine. 151
Figure IV-5 Signal obtenu suite à des dilutions au demi, au quart et au dixième pour une concentration initiale (a.) en pravastatine et (b.) en chloramphénicol de 500 $ng.L^{-1}$ dans une eau Milli-Q et un effluent de sortie de STEP. 152
Figure IV-6 Localisation des stations hydrométriques situées sur l'Isle (entre l'amont de la confluence avec l'Auvézère et l'aval de l'agglomération de Périgueux). 153
Figure IV-7 Fréquence de détection des molécules recherchées dans les eaux de surface lors des campagnes de mesure réalisées au niveau de l'agglomération périgourdine. La concentration minimale (7 $ng.L^{-1}$) correspond à la plus haute limite de détection (hors paracétamol qui a une limite de détection de 16 $ng.L^{-1}$). 155
Figure IV-8 Fréquence de détection des molécules recherchées dans les eaux résiduaires traitées de la station d'épuration de Saltgourde. La concentration minimale (20 $ng.L^{-1}$) correspond à la limite de détection qui a été fixée pour l'ensemble des molécules. Toutefois, les molécules détectées à des concentrations inférieures à 20 $ng.L^{-1}$ avec des critères d'acceptation valides (chapitre 3) ont également été prises en compte. 156
Figure IV-9 Fréquence de détection des molécules recherchées dans les eaux résiduaires traitées de la station d'épuration de Trélissac. La concentration minimale (20 $ng.L^{-1}$) correspond à la limite de détection qui a été fixée pour l'ensemble des molécules. Toutefois, les molécules détectées à des concentrations inférieures à 20 $ng.L^{-1}$ avec des critères d'acceptation valides (chapitre 3) ont également été prises en compte. 156
Figure IV-10 Concentrations ($ng.L^{-1}$) des classes pharmacologiques les plus fréquemment retrouvées dans l'Isle (n = 35). 157
Figure IV-11 Concentrations ($ng.L^{-1}$) du paracétamol (analgésique) dans l'Isle (n = 35). 158
Figure IV-12 Concentrations ($ng.L^{-1}$) des classes pharmacologiques les plus fréquemment retrouvées dans les effluents de sortie de Saltgourde (n = 4). 158
Figure IV-13 Concentrations ($ng.L^{-1}$) mesurées en paracétamol (analgésique) dans les effluents de sortie de Saltgourde (n = 4). 159
Figure IV-14 Concentrations ($ng.L^{-1}$) des classes pharmacologiques les plus fréquemment retrouvées dans les effluents de sortie de Trélissac (n = 4). 159
Figure IV-15 Flux (µg/j.EH) des classes pharmacologiques les plus fréquemment retrouvées dans les STEP de Saltgourde et Trélissac (n = 4 pour chaque STEP). 161
Figure IV-16 Variation des différents paramètres physico-chimiques mesurés dans l'Isle (n = 35 sauf pour le COD où n = 24). Les valeurs inférieures à la LQ ont été considérées comme étant nulles. 167
Figure IV-17 Variation des différents paramètres physico-chimiques mesurés dans les STEP de Saltgourde et Trélissac (n = 4 sauf pour la turbidité où n = 3). Les valeurs inférieures à la LQ ont été considérées comme étant nulles. 168

Figure IV-18 Sites d'échantillonnage. 169
Figure IV-19 Suivi longitudinal des flux de résidus de médicaments (hors paracétamol) présents dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de (a.) mars, (b.) mai, (c.) juin, (d.) septembre et (e.) novembre. La STEP de Trélissac se situe entre les stations de mesure I – 2 et I – 3, celle de Boulazac entre I – 3 et I – 4 et celle de Saltgourde entre I – 5 et I – 6. 171
Figure IV-20 Suivi longitudinal du flux de paracétamol ($g.j^{-1}$) présent dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de mars, mai, juin, septembre et novembre 2011. 172
Figure IV-21 Suivi longitudinal de la concentration en paracétamol ($ng.L^{-1}$) dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de mars, mai, juin, septembre et novembre 2011. 173
Figure IV-22 Suivi longitudinal du flux de carbamazépine ($g.j^{-1}$) présent dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de mars, mai, juin, septembre et novembre 2011. 173
Figure IV-23 Suivi longitudinal de la concentration en carbamazépine ($ng.L^{-1}$) dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de mars, mai, juin, septembre et novembre 2011. 174
Figure IV-24 Variation saisonnière (flux en $g.j^{-1}$) observée en 2011 au niveau de la station I – 7 située à la sortie de la zone urbaine de périgueux. 175
Figure IV-25 Variation des concentrations ($ng.L^{-1}$) mesurées en 2011 au niveau de la station I – 7 située à la sortie de la zone urbaine de périgueux. 175
Figure IV-26 Concentrations des résidus de médicaments mesurées dans deux affluents de l'Isle en 2011. 176
Figure IV-27 Flux cumulés de résidus de médicaments (µg/j.EH) dans les effluents de la station d'épuration de Saltgourde (hors paracétamol). 177
Figure IV-28 Flux de paracétamol (µg/j.EH) dans les effluents de la station d'épuration de Saltgourde. 178
Figure IV-29 Flux cumulés de résidus de médicaments (µg/j.EH) dans les effluents de la station d'épuration de Trélissac. 178
Figure IV-30 Contribution des sources d'introduction (en %) dans la contamination par les résidus de médicaments du tronçon de l'Isle étudié. Les graphiques illustrent les résultats obtenus pour l'ensemble des résidus de médicaments (hors paracétamol) obtenus au mois de mai, juin, septembre et novembre. 180
Figure IV-31 Contribution des sources d'introduction (en %) dans la contamination par le paracétamol du tronçon de l'Isle étudié. Les graphiques illustrent les résultats obtenus pour les mois de mai, juin, septembre et novembre. Le paracétamol a été quantifié uniquement dans les effluents de la STEP de Saltgourde. 181

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I-I Ratios hiver/été d'exposition de la population aux antibiotiques prescrits en médecine de ville (exprimée en DDJ pour 1000 personnes et par jour) (d'après CNAMTS, 2006 ; données du régime général de l'assurance maladie). 7
Tableau I-II Temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de certains résidus de médicaments répertoriés dans la littérature. 15
Tableau I-III Abattement moyen ou médian de certains résidus de médicaments retrouvé dans la littérature. Ces données ne concernent que la phase dissoute. 19
Tableau I-IV Concentrations maximales, médianes et moyennes ($ng.L^{-1}$) retrouvées dans la phase dissoute des eaux traitées de stations d'épuration (n = nombre d'échantillons analysés). 22
Tableau I-V Concentrations maximales, médianes et moyennes ($ng.L^{-1}$) retrouvées dans la phase dissoute des eaux naturelles (n = nombre d'échantillons analysés). 23
Tableau I-VI Concentrations maximales, médianes et moyennes ($ng.L^{-1}$) retrouvées dans la phase dissoute des eaux potables (n = nombre d'échantillons analysés). 26
Tableau I-VII Concentrations maximales ($ng.kg^{-1}$) retrouvées dans les sédiments (n = nombre d'échantillons analysés). 27

Tableau II-I Molécules sélectionnées lors d'un précédent projet réalisé par le LDAR 24. 44
Tableau II-II Propriétés physico-chimiques des quarante molécules retenues (d'après Gros et al., 2006 ; Kasprzyk-Horden et al., 2008 ; Syrres, 2012) et consommation annuelle (tonnage en kg) en France en 2004 [Thèse Besse, 2010]. Les noms des molécules en italique représentent les métabolites sauf pour l'oxazépam qui est un composé parent en plus d'être un métabolite. 48
Tableau II-III Composition minérale et pH de l'eau Evian®. 51
Tableau II-IV Critères d'acceptation appliqués pour l'identification des composés quantifiés par CL-SM/SM. 55
Tableau II-V Paramètres de la source d'ionisation et de la cellule de collision pour les modes d'ionisation positif et négatif. 56
Tableau II-VI Transitions SRM et paramètres inhérents au spectromètre de masse pour chaque composé. 58
Tableau II-VII Programmes d'élution des analytes pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) le mode d'ionisation positif. 63
Tableau II-VIII Étalons internes sélectionnés pour l'analyse des résidus de médicaments dans les eaux naturelles. 70
Tableau II-IX Stabilité de quelques résidus de médicaments exprimée en pourcentage par rapport à la concentration initiale dans deux types d'expérience : un échantillon réel supplémenté dès réception et dosé à t = 0 jours et t = 5 jours (A) et un échantillon réel dosé à t = 0 jours et t = 5 jours (B) (conservation à 4°C ± 2°C). 75
Tableau II-X Limites de détection et de quantification en $ng.L^{-1}$ vérifiées dans les eaux du réseau et de surface. 78
Tableau II-XI Justesse (valeur moyenne) et précision (CV) de la méthode à 50 $ng.L^{-1}$ et 150 $ng.L^{-1}$ dans les eaux de surface. 82

Tableau III-I Dénomination et caractéristiques des stations de prélèvement du bassin de la Dordogne. 96
Tableau III-II Dénomination et caractéristiques des stations de prélèvement du bassin de la Vézère. 97

Tableau III-III Dénomination et caractéristiques des stations de prélèvements du bassin de la Dronne. 98
Tableau III-IV Description des affluents de l'Isle suivis en 2011 dans le bassin de l'Isle. 99
Tableau III-V Dénomination et caractéristiques des stations de prélèvements du bassin de la l'Isle. 100
Tableau III-VI Qualité des cours d'eau des bassins versants étudiés en 2009 selon la DCE (d'après Conseil Général de la Dordogne, 2011). 103
Tableau III-VII Concentrations maximales, minimales, médianes et moyennes des résidus de médicaments par bassin d'étude (n = nombre de stations de mesure). 120
Tableau III-VIII Valeur p et coefficient de Pearson pour les résidus de médicaments détectés dans plus de 20 % des échantillons. Les valeurs en caractère gras correspondent aux paramètres où la valeur p est inférieure à 0,05 (5 %). 126

Tableau IV-I Caractéristiques des stations d'épuration de Saltgourde et Trélissac (d'après www.eau-adour-garonne.fr). 148
Tableau IV-II Qualité des cours d'eau, pressions et rejets de STEP (d'après l'Agence de l'Eau Adour Garonne). 150
Tableau IV-III Débits journaliers calculés le jour de l'échantillonnage aux niveaux des stations de mesure situées sur la zone de prélèvements et en aval de l'agglomération périgourdine (d'après la banque hydro France). 154
Tableau IV-IV Débits moyens journaliers mesurés aux STEP de Saltgourde et Trélissac. 154
Tableau IV-V Concentrations en carbamazépine prédites ($ng.L^{-1}$) à partir des concentrations en oxazépam mesurées dans l'Isle. 162
Tableau IV-VI Fréquence de détection et concentrations maximales, minimales, médianes et moyennes ($ng.L^{-1}$) des résidus de médicaments (n = nombre de stations de mesure). 164
Tableau IV-VII Caractéristiques physico-chimiques et abattement moyen du paracétamol et de la carbamazépine (références citées dans le tableau I-II et II-II). 172
Tableau IV-VIII Paramètres physico-chimiques mesurés dans les effluents de la STEP de Saltgourde. 177

LISTE DES ÉQUATIONS

Équation 1 – Équation de la courbe de calibration utilisée pour l'étalonnage interne ____ 39
Équation 2 – Calcul du rendement d'extraction _____ 64
Équation 3 – Calcul de l'effet de matrice _____ 67
Équation 4 – Calcul de l'effet mémoire _____ 70
Équation 5 – Calcul du rendement _____ 74
Équation 6 – Calcul du taux de recouvrement _____ 81
Équation 7 – Calcul du flux en g/j _____ 108
Équation 8 – Formule du coefficient de corrélation linéaire de Pearson (r) _____ 109
Équation 9 – Calcul du flux en g/j.EH _____ 154

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
Afnor	Association française de normalisation
Afssaps	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (devenue l'Ansm)
AIEMV	Association interprofessionnelle d'étude du médicament vétérinaire
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ANMV	Agence national du médicament vétérinaire
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
BRGM	Bureau de recherches géologiques et minières
CAP	Communauté d'agglomération périgourdine
CE_{50}	Concentration efficace médiane
Ceser	Conseil économique social et environnemental régional
CG-SM	Chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse
CL-SM	Chromatographie liquide – spectrométrie de masse
CNAMTS	Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés
COD	Carbone organique dissous
Cofrac	Comité français d'accréditation
DBO5	Demande biologique en oxygène
DCE	Directive cadre sur l'eau
DDD	Defined daily dose
DDJ	Dose définie journalière
DIREN	Direction régionale de l'environnement
DREAL	Direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement
EDTA	Acide éthylène diamine tétraacétique
EH	Equivalent-habitants
EIC	Expected introduction concentration
EMA	European Medecine Agency
EMA	Ecart Maximal Acceptable
EphMra	European pharmaceutical marketing research association
ESI	Electrospray ionization (ionisation par électronébulisation en français)
FDA	Food and drug administration (États-Unis)
GABA	Gamma aminobutyric acid (acide gamma-aminobutyrique en français)
GERS	Groupement pour l'élaboration et la réalisation de stratégies
HF-LPME	Hollow fiber liquid phase microextraction
HMG CoA	Hydroxyméthylglutaryl CoA
Insee	Institut national de la statistique et des études économiques
ISO	International organisation for standardization
K_{oc}	coefficient de partage carbone organique - eau
K_{ow}	coefficient de partage octanol - eau
LD	Limite de détection
LDAR 24	Laboratoire départemental d'analyse et de recherche de la Dordogne
Leem	Les entreprises du médicament
LQ	Limite de quantification
MES	Matières en suspension
NH_4^+	Ions ammonium

NO_2^-	Nitrite
NO_3^-	Nitrate
NOAEL	No observed adverse effect level (dose sans effet toxique observable en français)
NQE	Norme de qualité environnementale
NTU	Nephelometric Turbidity Unit
OECD	Organisation for economic co-operation and development
OMS	Organisation mondiale de la santé
ONEMA	Office nationale de l'eau et des milieux aquatiques
PBDE	Polybromodiphényléther
PDM	Programme de mesures
PEC	Predicted environmental concentration
pKa	Constante d'équilibre de la réaction de dissociation de l'acide
PNRM	Plan national sur les résidus de médicaments dans l'eau
PNSE	Plan national santé environnement
PO_4^{3-}	Orthophosphate
QqLIT	Spectromètre de masse de type quadripôle – trappe linéaire
QqQ	Spectromètre de masse de type triple quadripôles
Q-TOF	Spectromètre de masse de type quadripôle – temps de vol
SBSE	Stir bar sorptive extraction
SDVB	Styrène divinylbenzène
SPE	Solid phase extraction
SPME	Solid phase microextraction
SRM	Selected reaction monitoring
STEP	Station d'épuration
Sycovap	Syndicat mixte pour la mise en œuvre du contrat de ville de l'agglomération périgourdine
UGB	Unité de gros bétail
UNESCO	United nations educational, scientific and cultural organization
VICH	Vetenary international conference on harmonisation
Wacti	Weight of active ingredient

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'eau est au cœur des préoccupations de la société du 21e siècle. Indispensable à la vie et à son maintien, elle est devenue un enjeu social, économique, environnemental et politique. Aujourd'hui, l'agriculture, développée afin de répondre aux besoins nutritionnels de la population mondiale, nécessite des apports en eau douce correspondant à environ 70 % de la consommation mondiale (UNESCO, 2012). Aussi, l'usage de l'eau pour l'agriculture fait face à des problématiques socio-économiques et environnementales difficilement conciliables. L'utilisation de produits phytosanitaires en est un exemple car si les pesticides permettent d'augmenter les rendements de production, ils contaminent les écosystèmes terrestres et aquatiques. Plus récemment, des problématiques émergentes comme celle des résidus de médicaments ont fait leur apparition ces trois dernières décennies. Certaines de ces molécules ont des propriétés génotoxiques ou hormono-mimétiques et peuvent potentiellement avoir un impact sur l'environnement aquatique. L'eau peut également être le vecteur de nombreuses maladies et sa salubrité est essentielle pour la santé de l'Homme. Néanmoins, dans certaines régions du monde, la qualité de l'eau insuffisante peut engendrer d'importantes crises sanitaires. Ces différents exemples illustrent clairement le caractère fragile et rare de l'eau. L'usage raisonné de cette ressource ainsi que la préservation des milieux aquatiques s'avèrent être les défis d'aujourd'hui et de demain.

Au milieu du 20e siècle, les fortes industrialisations et urbanisations du territoire français ainsi que l'explosion démographique qui ont suivi la fin de la 2de guerre mondiale ont vu naître une prise de conscience sur la nécessité d'adopter un usage maîtrisé de l'eau. Cette reconsidération de la place de l'eau dans la société actuelle a permis d'élaborer, en 1964, un premier texte de loi sur la gestion des ressources en eau. Ce texte définit pour la première fois la décentralisation de la gestion de l'eau en créant six bassins fluviaux et aborde la problématique de la lutte contre la pollution des eaux. Aussi, c'est au fil des années que la conception de préservation des milieux aquatiques a fortement évolué aux yeux de la population française, plus soucieuse de la qualité des eaux et de la protection des écosystèmes.

De nos jours, la protection des ressources en eau est régie par un cadre législative européen, la Directive Cadre sur l'Eau, qui exige le retour au bon état écologique et chimique des masses d'eau en entraînant un suivi de substances prioritaires telles que certains pesticides et métaux, par exemple. Toutefois, la réglementation relative à la protection de l'environnement n'évolue pas au même rythme que la société et depuis peu, une nouvelle vague de contaminants, nommée polluants émergents, a fait son entrée parmi les molécules pouvant avoir un impact potentiel sur les écosystèmes et/ou la santé humaine. Cette appellation de « polluant émergent » fait référence aux contaminants ne disposant pas de statut réglementaire. De même, l'origine du terme émergent s'appuie essentiellement sur leur récente recherche dans les milieux aquatiques puisque certaines molécules existent depuis plusieurs décennies. L'intérêt porté pour ces nouveaux composés a connu une forte expansion à la fin du 20e siècle suite à l'apparition de nouvelles technologies analytiques permettant la détection et la quantification à l'état de traces voire ultra-traces.

Parmi les polluants émergents, les résidus de médicaments ont fait l'objet d'un fort engouement médiatique. Il s'agit de molécules utilisées pour leurs propriétés biologiques intrinsèques et la présence de résidus aussi actifs dans les milieux aquatiques pourraient avoir des effets non désirés sur des organismes non cibles. De plus, l'impact sur les écosystèmes de

l'exposition continue de mélanges à faibles doses reste encore mal connu. Les premières études menées sur les différents compartiments aquatiques ont révélé leur présence à des concentrations allant de quelques dizaines de $ng.L^{-1}$ au $\mu g.L^{-1}$. Néanmoins, les informations afférant à l'impact des résidus de médicaments sur les écosystèmes aquatiques sont encore parcellaires et une investigation plus approfondie est nécessaire afin d'appréhender leur devenir dans l'environnement et leurs effets sur la faune et la flore aquatiques.

La contamination des milieux aquatiques par les résidus de médicaments est souvent le signe d'une forte urbanisation. Le profil de consommation des médicaments est très dépendant de l'âge de la population, des tonnages, des habitudes de prescription (pouvant varier d'un pays à l'autre) et/ou des flux migratoires (tourisme, évènement culturel). Par ailleurs, la contamination des milieux aquatiques par les résidus de médicaments est aussi très dépendante de l'efficacité des stations d'épuration et des phénomènes de dégradation pouvant intervenir dans le milieu naturel. Aussi, il n'existe pas de modèle universel sur la contamination des ressources en eau par ces molécules applicable à chaque profil régional d'un même pays, par exemple.

En France comme au niveau international, les cours d'eau soumis à de fortes pressions domestiques et industrielles ont fait l'objet de nombreuses études. Cet intérêt pour les zones fortement urbanisées est légitime puisque la population est la principale source de dissémination des résidus de médicaments dans l'environnement. Cependant, la place occupée par les zones rurales n'est pas négligeable. Au recensement de 2007, 22,5 % de la population française vivait en zone rurale (Insee, 2011) soit sur plus de 80 % du territoire national. Néanmoins, les études entreprises sur les territoires à dominante rurale sont encore peu répandues et l'impact des composés pharmaceutiques sur l'environnement y est mal identifié.

De manière à améliorer les connaissances actuelles sur la contamination des milieux aquatiques par les résidus de médicaments, ces travaux de thèse se sont focalisés sur l'étude d'un territoire à dominante rurale : la Dordogne. Ce département est une terre de cultures et d'élevages qui dispose d'un fort attrait touristique puisqu'il s'agit de la première destination des français pour le tourisme rural (Ceser Aquitaine, 2012). Son réseau hydrographique est riche et dense et de nombreuses stations d'épuration parsèment ce département (plus de 200). Ce territoire, composé à 30 % de personnes de plus de 60 ans, contient également deux aires urbaines de plus de 50 000 habitants : les agglomérations de Périgueux et Bergerac. Ainsi, les différents aspects qui composent le département de la Dordogne en font un site d'étude varié mêlant urbanisme et ruralité.

Au niveau national mais également international des études de ce genre, centré exclusivement sur des zones vastes et rurales, restent rares et lorsqu'elles existent, le plan d'échantillonnage ne se concentre que sur un cours d'eau ou un territoire très restreint contenant peu de stations de mesure.

Après une présentation du contexte scientifique et bibliographique correspondant à ce travail de thèse (chapitre 1), ce manuscrit s'articule autour de trois axes majeurs abordant :

- le développement et la validation d'une méthode de dosage multi-résidus dans les matrices de type eaux naturelles utilisant la pré-concentration en ligne (chapitre 2) ;
- un vaste état des lieux de la contamination des eaux de surface du département de la Dordogne par les résidus de médicaments pendant l'année 2011, basé sur un plan d'échantillonnage initialement utilisé pour qualifier les états chimique et écologique des masses d'eau de la Dordogne selon la Directive Cadre sur l'Eau (chapitre 3) ;
- et un focus sur l'apport en résidus de médicaments de la zone urbaine la plus importante du territoire sur son cours d'eau (chapitre 4).

CHAPITRE I

I Contexte scientifique et bibliographique

De nouveaux polluants organiques sont continuellement ajoutés à la très longue liste des « molécules à rechercher » dans l'environnement. Ces évolutions législatives ont pour objectif premier de renforcer la protection de l'environnement en restaurant ou préservant la qualité des ressources en eau pouvant impacter les écosystèmes aquatiques et la santé humaine. Parmi ce florilège de contaminants, les résidus de médicaments n'ont été recherchés dans les différents compartiments environnementaux que très récemment et les données relatives à leur présence, leur devenir et leur impact restent encore lacunaires. Cet intérêt pour le médicament a principalement été favorisé par le développement de techniques de pointe permettant l'analyse de composés à l'état d'ultra-traces mais également par le fort impact médiatique que ce type de molécule génère.

Ce chapitre aborde, dans un premier temps, les contextes économiques et environnementaux qui entourent la problématique des résidus de médicaments. Les différentes techniques analytiques développées pour le dosage des résidus de médicaments dans le milieu aquatique sont présentées dans une seconde partie. Enfin, la problématique du sujet d'étude est discutée en fin de chapitre.

I.1. Les résidus de médicaments dans l'environnement

I.1.1. Généralités

Les premières traces d'utilisation de traitements thérapeutiques par l'Homme remontent à l'Antiquité. De nombreux « remèdes » provenant des ressources naturelles étaient alors sollicités comme, par exemple, le pavot pour ses propriétés psychotropes. Cependant, ce n'est qu'à la fin du 19e siècle que les premières synthèses industrielles voient le jour avec, notamment, l'expansion de la chimie moderne.

Le médicament fait partie intégrante de la vie quotidienne de l'Homme. Il est l'une des pièces maitresses du système de santé et certains principes actifs, comme le paracétamol, sont devenus d'usage courant dans notre société. Environ 3 000 molécules actives sont utilisées pour la fabrication de médicaments et réparties au sein de 14 500 présentations sur le marché officinal français en 2010 [Afssaps, 2011].

La recherche de ces contaminants dans les écosystèmes aquatiques et terrestres ainsi que l'étude de leur impact environnemental sont très récentes puisque les premières études ont été menées il y a approximativement trente ans. Cette problématique a émergé pour la première fois en 1970 [Tabak et Brunch, 1970]. Les premières recherches dans l'environnement de résidus de médicaments comme l'acide acétylsalicylique, l'acide clofibrique ou le diazépam ont été réalisées sur les rejets des eaux résiduaires [Hignite et Azarnoff, 1977] puis dans les eaux de rivières et les eaux potables [Richardson et Bowron, 1985]. Toutefois, ce n'est qu'à la fin du 20^{e} siècle que ces recherches se sont fortement développées grâce aux nouvelles technologies permettant de détecter ces composés à l'état d'ultra-traces dans les compartiments aquatiques.

Enfin, même si la majorité de ces molécules ont une polarité élevée et un risque de bioaccumulation faible par comparaison avec d'autres polluants, leur introduction continue dans le milieu, le caractère pseudo-persistant qui en résulte et l'impact environnemental sur le long terme génèrent un intérêt certain pour ces composés.

I.1.1.1. Caractéristiques du médicament

En France, un médicament répond à une définition bien spécifique. L'article L5111-1 du code de la santé publique décrit le médicament comme « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » [Code de la santé publique, 2007].

Les caractéristiques intrinsèques du médicament lui permettent de bénéficier de propriétés biologiques remarquables comme le franchissement de membranes. Bien qu'étant nécessaires à des fins curatives et préventives, ces molécules peuvent avoir une action non désirée sur des organismes non cibles présents dans l'environnement. Enfin, le caractère toxique de certains résidus de médicaments peut se voir renforcer en raison « d'effets mélanges » provoqués par la présence simultanée de plusieurs micropolluants dans l'environnement.

I.1.1.2. Consommation sur le territoire français

I.1.1.2.1. Médicaments à usage humain

Depuis quelques années, la croissance du marché pharmaceutique français évolue peu mais reste très diversifiée. Plusieurs enquêtes ont été menées par différents organismes afin de caractériser la consommation de médicaments en France [CNAMTS, 2006 ; Afssaps, 2012 ; Leem, 2007]. Si plusieurs indicateurs de mesure sont disponibles pour la représentation des résultats, l'unité de mesure la plus fréquemment utilisée est la Defined Daily Dose (DDD) ou Dose Définie Journalière (DDJ). Recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), elle permet de comparer différents systèmes de soin au niveau international et correspond à la quantité journalière supposée de principe actif destinée à un adulte de 70 kg. Elle permet également de s'affranchir de la présentation du médicament puisqu'elle prend en compte le dosage et le conditionnement. Afin de faciliter les comparaisons, les résultats de la DDJ sont exprimés pour mille habitants par jour (DDJ/1 000 habitants/jour).

Les médicaments sont communément répertoriés par classes thérapeutiques et subdivisées en classes pharmacologiques pour catégoriser les principes actifs en fonction de leur indication thérapeutique et pour regrouper les molécules selon leurs propriétés pharmacodynamiques principales. La figure I-1 permet de hiérarchiser les classes thérapeutiques les plus consommées (unités - boîte) sur le territoire français en 2011. Parmi les classes les plus représentées, les principales cibles suivantes peuvent être citées (classification EphMra) :

- le système nerveux central (33,7 %) dont font partie les analgésiques, les antiépileptiques et les anxiolytiques ;
- l'appareil digestif, stomatologie et métabolisme (16,3 %) qui comprend les antiulcéreux ;
- l'appareil cardio-vasculaire (11,5 %) qui englobe, entre autres, les diurétiques, les béta-bloquants et hypolipidémiants ;
- l'appareil respiratoire (9,5 %) qui contient les antihistaminiques ;
- les anti-infectieux voie générale (5,7 %) qui incluent les antibiotiques ;
- l'appareil locomoteur (5,2 %) qui intègre les anti-inflammatoires.

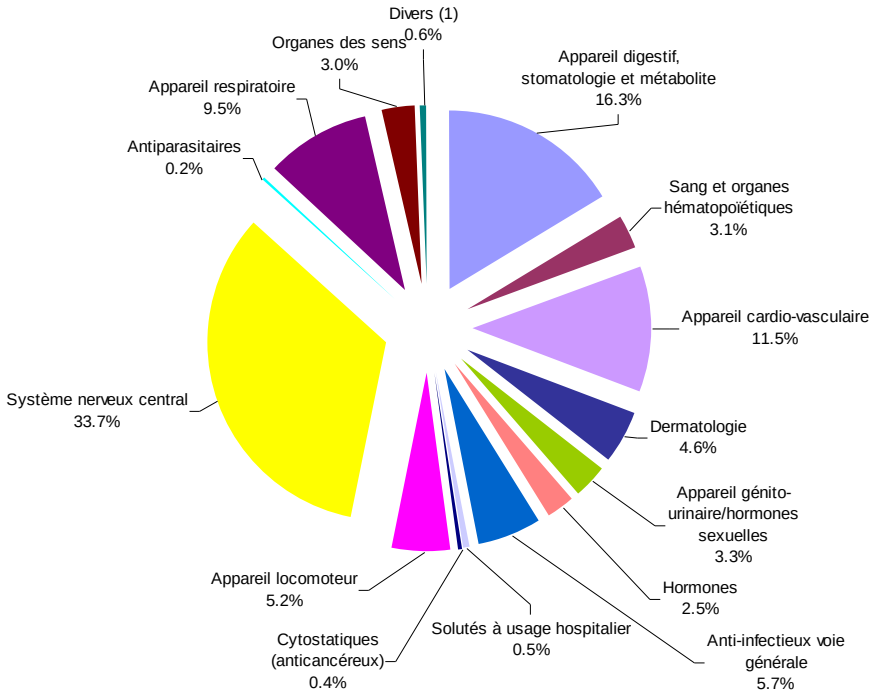


Figure I-1 Répartition du marché officinal par classe thérapeutique (classification EphMra) selon le nombre d'unités en 2011 (d'après www.leem.org/article/marche-interieur ; source GERS).
(1) Allergènes, immunomodulateurs, médicaments divers et produits de diagnostic.

Les médicaments utilisés pour le traitement du système nerveux central occupent une place majeure au sein du marché officinal français. Cependant, ce constat est à nuancer puisque le paracétamol, qui est le principe actif le plus vendu en officine en quantité, est inclus dans cette classe.

Il est également intéressant de noter qu'en 2009 la France était le 2e pays consommateur d'anxiolytiques en Europe derrière le Portugal d'après la figure I-2 [Afssaps, 2012].

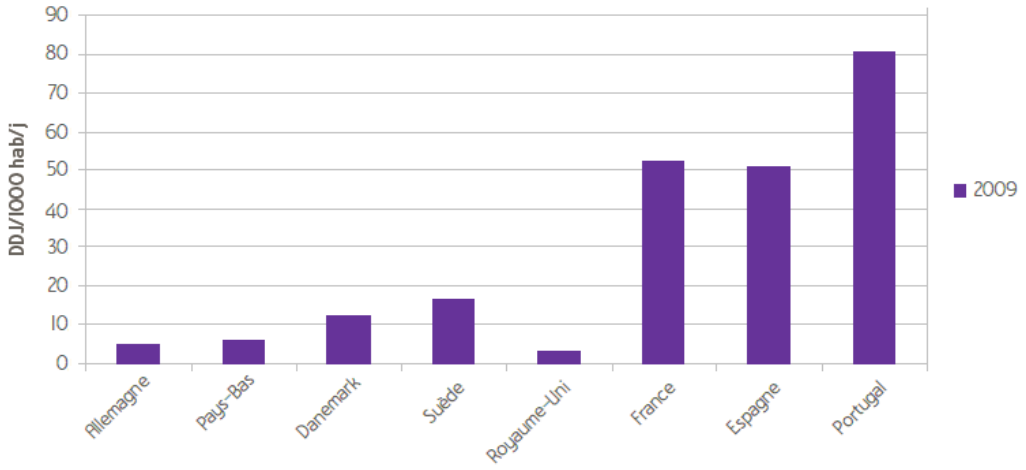


Figure I-2 Niveaux de consommation des anxiolytiques (DDJ/1 000 habitants/jour) calculés dans certains pays européens en 2009 [d'après Afssaps, 2012].

Locatelli et *al.* (2011) ont compilé les DDJ pour mille habitants par jour d'antibiotiques de trente trois pays dont le Brésil, les États-Unis et trente et un pays européens. La figure I-3 montre que la France tient également une place importante puisqu'elle se situe en 2e position des pays les plus consommateurs d'antibiotiques derrière la Grèce. Les classes d'antibiotiques les plus consommées en France sont :

- les pénicillines (*e.g.* ampicilline et amoxicilline) ;
- les quinolones (*e.g.* fluméquine et acide oxolinique) ;
- les macrolides (*e.g.* érythromycine et clarithromycine) ;
- le triméthoprime et les sulfonamides (*e.g.* sulfaméthoxazole et sulfadiazine).

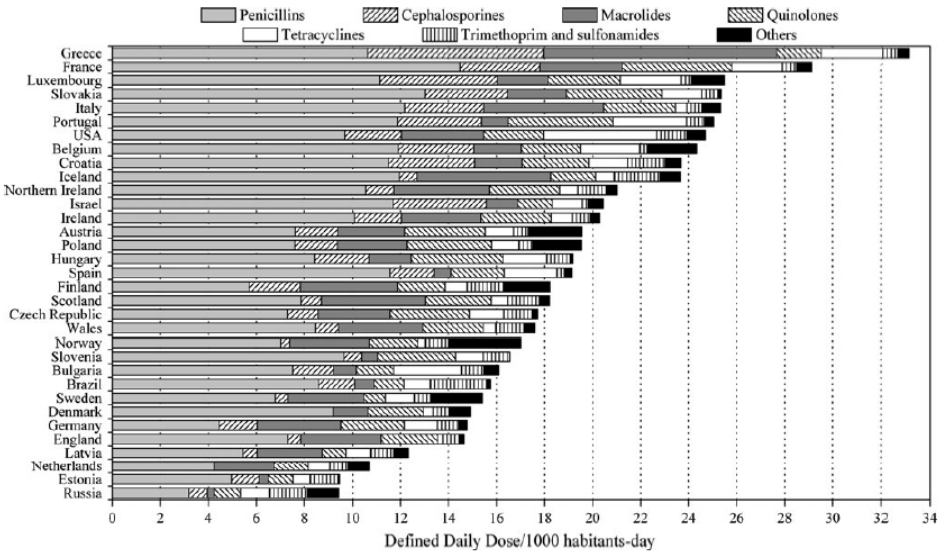


Figure I-3 Niveaux de consommation des antibiotiques (DDJ/1 000 hab./J) calculés dans certains pays [Locatelli *et al.*, 2011].

La consommation durant l'année est variable et peut dépendre fortement de la classe de médicament. L'étude réalisée par le CNAMTS (tableau I-I) montre que l'utilisation d'antibiotiques est logiquement plus importante pendant les mois d'hiver malgré les efforts réalisés sur la non prescription d'antibiotiques lors de maladies d'origine virale comme la grippe.

Tableau I-I Ratios hiver/été d'exposition de la population aux antibiotiques prescrits en médecine de ville (exprimée en DDJ pour 1000 personnes et par jour) (d'après CNAMTS, 2006 ; données du régime général de l'assurance maladie).

	Mois d'été*	Mois d'hiver**	Ration hiver/été
2003-2004	27,0	37,0	1,37
2004-2005	26,5	35,3	1,33
2005-2006	25,2	34,4	1,36

*juillet, août, septembre et avril, mai, juin
**octobre, novembre, décembre, janvier, février et mars

I.1.1.2.2. Médicaments à usage vétérinaire

La France est le premier marché de l'industrie du médicament vétérinaire européen. Elle dispose également d'une grande diversité animale composée d'animaux de production (58 %), d'animaux domestiques (39 %) et d'équins (3 %) [États généraux de l'Industrie – Janvier 2011]. Cependant, le marché vétérinaire reste relativement faible vis-à-vis du marché de l'industrie du médicament humain qui est environ trente fois plus important. Ainsi, en 2010, le volume total des ventes d'antibiotiques à usage vétérinaire s'est élevé à 1 014,24 tonnes en France [Chevance et Moulin, Anses - ANMV, 2011].

La figure I-4 met en évidence la grande diversité des classes de produits du marché français. L'analyse du marché réalisée à partir des catégories de produits fait également part de l'importance des traitements anti-infectieux (16 %) puisqu'ils se situent en 2e position derrière la classe des vaccins (20,1 %).

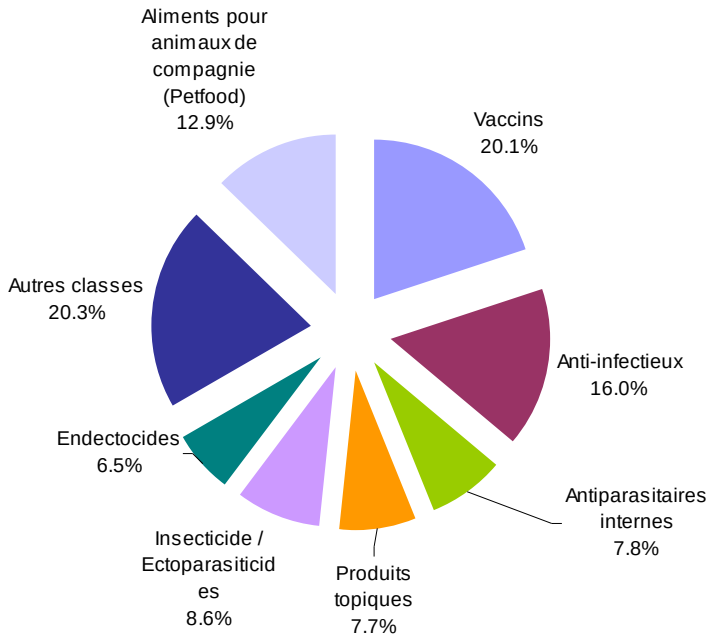


Figure I-4 Répartition du marché français par classes thérapeutiques en 2011 (d'après AIEMV, 2011).

La figure I-5 représente les ventes d'antibiotiques par espèce et en fonction de la quantité pondérale de matière active (Wacti – Weight of active ingredient) de 2010. La quantité pondérale de matière active permet de comparer des données de vente entre elles mais l'exposition aux différentes familles d'antibiotiques n'est pas prise en compte.

Ce diagramme met clairement en évidence l'importance que prennent les animaux de rente dans les tonnages d'antibiotiques vendus où les exploitations de porcs (44,06 %), de volailles (20,16 %) et de bovins (18,02 %) sont les plus importantes. A l'inverse, le tonnage dédié à l'élevage des poissons est très faible (0,28 %). Bien que la quantité semble minime, il est

nécessaire de préciser que, dans le cas précis des élevages piscicoles, les rejets voire les intrants se font directement dans le milieu naturel.

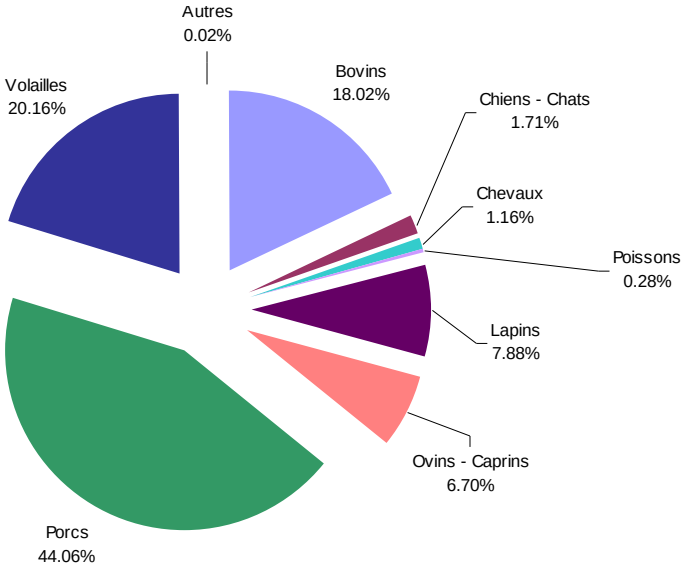


Figure I-5 Répartition des ventes entre les différentes espèces selon la quantité pondérale de matière active (Wacti) en 2010 (d'après Chevance et Moulin, Anses - ANMV, 2011).

I.1.1.3. Classes pharmacologiques d'intérêt

Cette partie décrit, très brièvement et de manière non exhaustive, les principales classes pharmacologiques les plus consommées et/ou étudiées dans le domaine environnemental.

I.1.1.3.1. Analgésiques ou antalgiques

Les antalgiques sont des principes actifs capables de soulager la douleur. Certains médicaments, contenant ces molécules, sont très consommés et peuvent être délivrés sans ordonnance en France. L'OMS a défini une classification des antalgiques selon trois paliers de douleur. Ces paliers sont échelonnés de la manière suivante :

- Les antalgiques périphériques non opioïdés (palier I), utilisés dans le traitement de douleurs faibles à modérées. Assez courant, ces composés comprennent le paracétamol, l'aspirine mais aussi les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme le diclofénac et le kétoprofène.
- Les antalgiques centraux faibles (palier II) pour les douleurs moyennes à intenses. Ils sont administrés seuls ou avec un antalgique classé dans le palier I. La codéine appartient à cette catégorie.
- Les antalgiques centraux puissants (palier III) pour les douleurs intenses à très intenses. Ces principes actifs sont utilisés en dernier recours puisqu'ils entraînent de nombreux effets indésirables (*e.g.* la morphine).

I.1.1.3.2. Antibiotiques

Les antibiotiques sont utilisés pour le traitement des infections bactériennes. Chaque famille chimique d'antibiotiques contient plusieurs molécules qui ont un spectre d'action semblable mais pas identique. Ils peuvent avoir un rôle bactéricide en tuant le micro-organisme ou bactériostatique en limitant sa prolifération. Les principales familles d'antibiotiques comprennent :

- les béta-lactamides (*e.g.* amoxicilline);
- les sulfonamides (*e.g.* sulfaméthoxazole) ;
- les macrolides (*e.g.* érythromycine) ;
- les quinolones (*e.g.* acide oxolinique) ;
- etc.

I.1.1.3.3. Antiépileptiques

L'épilepsie est une pathologie fréquente qui touche près de 500 000 personnes en France. Différentes familles de médicaments existent pour le traitement de l'épilepsie mais les mécanismes d'action de ces molécules s'articulent principalement autour de ces deux axes :

- le blocage des canaux ioniques du cerveau ;
- la potentialisation de l'action de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA en anglais), un neurotransmetteur.

Les premiers anticonvulsivants prescrits pour le traitement de cette pathologie inclus, entre autres, des barbituriques comme le phénobarbital (Gardénal®) ou le primidole (Misolyne®), le valproate de sodium (Dépakine®), la carbamazépine (Tégrétol®) - également prescrit pour la régulation de l'humeur - mais aussi des benzodiazépines (anxiolytiques). Aujourd'hui, de nouvelles molécules sont commercialisées afin de répondre à un problème de pharmaco-résistance[1] développé chez certaines personnes.

I.1.1.3.4. Anxiolytiques

Les anxiolytiques, partie intégrante des traitements associés au système nerveux central, peuvent être prescrits dans le cadre de troubles paniques, phobiques mais aussi d'anxiété généralisée. Il existe plusieurs types d'anxiolytiques mais les plus répandus sont les benzodiazépines. Ces molécules permettent d'améliorer l'affinité du GABA avec ses récepteurs ce qui a pour conséquence d'inhiber l'activité cellulaire. Le diazépam (Valium®) et le bromazépam (Lexomil®) font partie des spécialités qui composent cette famille de molécules.

Les antidépresseurs sont également des anxiolytiques. L'une des spécialités les plus connue est la fluoxétine (Prozac®).

I.1.1.3.5. Hypolipidémiants

Les hypolipidémiants sont utilisés pour la réduction du cholestérol sanguin. L'impact de cet ajustement permet de diminuer la fréquence des complications cardiovasculaires pour les patients ayant un niveau de cholestérol sanguin trop élevé.

Les principales molécules hypolipidémiantes sont :

- les résines échangeuses d'ions (cholestyramine) ;
- les fibrates et inhibiteurs de l'HMG CoA réductase (bézafibrate, gemfibrozil, etc.) ;

[1] Dans le cadre du traitement de l'épilepsie, la pharmaco-résistance correspond à la persistance de crises malgré la prise régulière d'un traitement.

- les statines (pravastatine, atorvastatine, etc.) ;
- et l'acide nicotinique (non disponible en France).

I.1.1.3.6. Autres composés pharmaceutiques

D'autres classes de médicaments sont à prendre en considération soit pour leur consommation élevée, pour leur présence avérée dans l'environnement ou leur forte toxicité.

Les béta-bloquants (*e.g.* nadolol et aténolol) sont très utilisés dans les différents domaines de la pathologie cardiovasculaire (hypertension, insuffisances cardiaques et coronaires, etc.). Le mode d'action de ces antagonistes consiste à se fixer sur certains récepteurs et les bloquer. Ces composés disposent de propriétés pharmacologiques supplémentaires comme des effets métaboliques, endocriniens et hypertenseurs.

De par leur caractère anti-prolifératif, les anticancéreux détruisent aussi bien les cellules cancéreuses que les cellules normales en division. Leur toxicité élevée peut engendrer certains effets comme le retard de croissance chez l'enfant, la stérilité ou la tératogénicité. Les anticancéreux se composent de plusieurs familles de molécules comme les dérivés de plantes ou les agents alkylants (*e.g.* ifosfamide et cyclophosphamide).

Les produits de contraste iodés, utilisés en imagerie médicale, permettent d'améliorer le contraste de certaines zones du corps que l'on cherche à étudier grâce à l'iode qu'ils contiennent. Ces molécules, très utilisées en radiologie, comprennent des composés tels que l'iopromide (Ultravist®) ou l'iobitridol (Xenetix®).

I.1.2. Les différentes sources et voies d'introduction des résidus de médicaments dans le milieu environnemental

Les voies d'introduction des résidus de médicaments sont multiples et variées. La source principale concerne les médicaments consommés par l'homme et l'animal (figure I-6). Le devenir du principe actif après excrétion dans les urines et les fèces varie selon l'individu et la molécule. Ainsi, la molécule mère peut être excrétée soit sous forme inchangée soit sous forme de métabolites issus de phénomènes de conjugaison, oxydation, réduction et/ou hydrolyse [Halling-Sorensen *et al.*, 1998]. Les résidus de médicament sont, ensuite, dispersés selon deux axes principaux de dissémination au niveau géographique : les rejets diffus et les rejets ponctuels. Les rejets diffus concernent essentiellement les émissions provenant de l'épandage des boues ou de l'assainissement non collectif tandis que les rejets ponctuels sont relatifs aux voies de contamination comme les stations d'épuration ou les piscicultures.

Appréhender les différents cheminements que peuvent emprunter les résidus de médicaments ainsi que leur contribution dans la contamination du milieu aquatique est capital. En effet, cette connaissance permet de déterminer leur impact réel sur les écosystèmes terrestres et aquatiques ainsi que de définir les actions préventives à mener et minimiser les conséquences sur l'environnement et la santé.

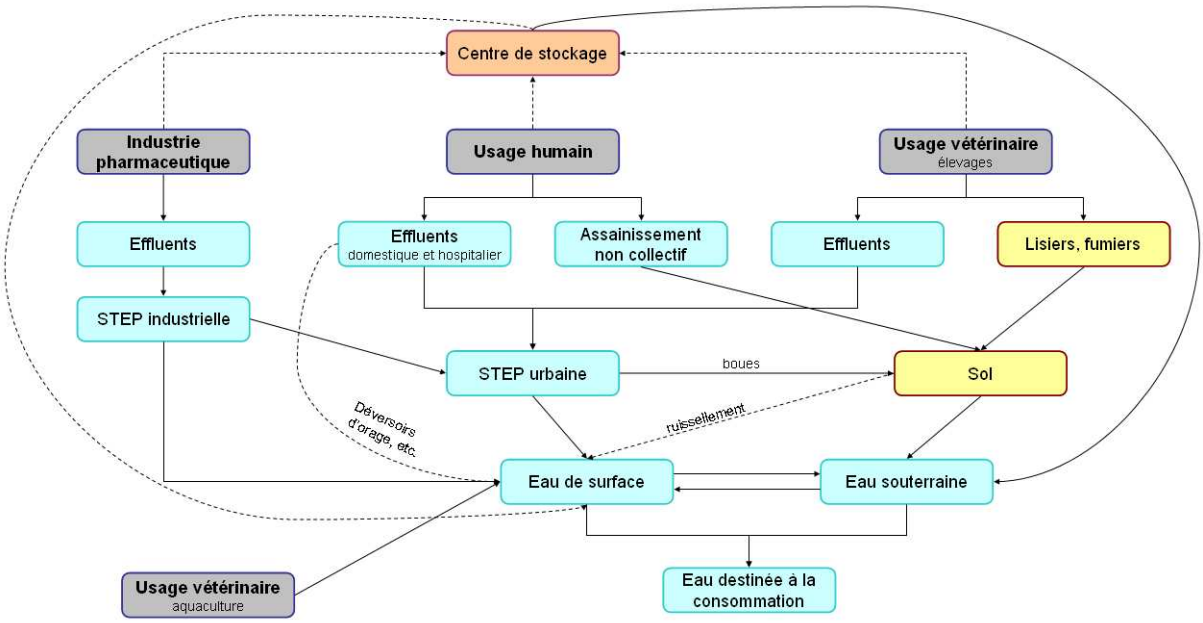


Figure I-6 Origines et principales voies d'introduction des résidus de médicaments dans le milieu aquatique.

I.1.2.1. Principales voies d'introduction liées à l'usage humain

I.1.2.1.1. Les stations d'épuration urbaines

Les stations d'épuration ont été identifiées comme étant la principale voie d'introduction des résidus de médicaments dans le milieu naturel. L'élimination des résidus de médicaments par les stations d'épuration est très variable [Miège *et al.*, 2009]. Les techniques d'assainissement peuvent également fortement influencer l'abattement de molécules [Göbel *et al.*, 2007] mais certains composés comme la carbamazépine sont connus pour être réfractaires aux différents procédés classiques utilisés pour le traitement des eaux usées [Clara *et al.*, 2004].

Les conditions climatiques influencent également l'efficacité des traitements [Castiglioni *et al.*, 2006]. A titre d'exemple, les épisodes pluvieux peuvent entraîner un temps de résidence hydraulique plus court et donc une diminution du pouvoir épuratoire de la station mais aussi favoriser une déviation des effluents d'un réseau unitaire vers le milieu récepteur par le biais de déversoirs d'orages (by-pass). Ils peuvent également causer un déclin de l'activité microbienne et/ou une diminution des phénomènes de sorption et floculation [Ternes, 1998 ; Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005 ; Vieno *et al.*, 2007 ; Benotti et Brownawell, 2007].

L'effet saisonnier de la consommation de médicaments joue un rôle important sur la variabilité des apports de certaines classes de médicaments dans les stations d'épuration comme l'ont montré McArdell *et al.* (2003) (figure I-7).

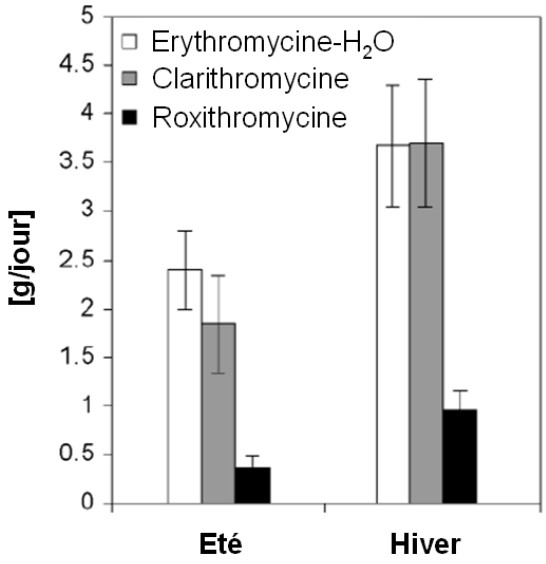


Figure I-7 Flux journaliers d'antibiotiques (moyenne par semaine et écart-type) mesurés dans la station de Kloten-Opfikon (Suisse) en été 2000 et hiver 2001 [d'après McArdell *et al.*, 2003].

Enfin, la composition du rejet en résidus de médicaments par les stations d'épuration peut être impactée par la présence d'évènements ponctuels (culturel, sportif, etc.) ou par des établissements spécifiques raccordés au système d'assainissement municipal [McArdell *et al.*, 2003 ; Gerrity *et al.*, 2011].

I.1.2.1.2. Les centres de soins

Les centres de soins (hôpitaux, cliniques, etc.) contribuent pleinement à l'apport de résidus de médicaments dans l'environnement. La caractérisation des effluents des établissements de soins a déjà été documentée dans plusieurs publications scientifiques mais elles sont, pour la plupart, encore récentes [Gomez *et al.*, 2006 ; Langford et Thomas, 2009 ; Chang *et al.*, 2010 ; Ort *et al.*, 2010 ; Nagarnaik *et al.*, 2011 ; Sim *et al.*, 2011].

Les rejets de ces centres, raccordés au réseau d'assainissement collectif ou ayant leur propre système de traitement des eaux usées, présentent des caractéristiques différentes de celles des eaux usées urbaines. En effet, certains traitements thérapeutiques sont utilisés spécifiquement dans ces établissements. C'est le cas, par exemple, de certains antibiotiques comme l'ofloxacine ou le sulfaméthoxazole [Brown *et al.*, 2006] mais aussi des produits de contrastes iodés utilisés en radiographie et qui participent à la composition des eaux résiduaires provenant des centres médicaux [Heberer, 2002a]. Les anticancéreux ont également été retrouvés dans les rejets hospitaliers. En 1997, Kümmerer *et al.* ont mesuré une concentration maximale en ifosfamide de 1,914 $\mu g.L^{-1}$ dans les effluents d'un hôpital allemand tandis qu'en 2007, Mahnik *et al.* ont retrouvé des teneurs maximales en 5-fluorouracil et doxorubicine de 124 et 1,35 $\mu g.L^{-1}$ respectivement dans des effluents hospitaliers à Vienne (Autriche).

I.1.2.1.3. L'assainissement non collectif

L'assainissement non collectif en France concerne 10 % de la population française (www.assainissement-non-collectif.developpement-durable.gouv.fr). Ce système qui peut s'adresser aux maisons individuelles non raccordées au réseau collectif est essentiellement répandu dans les milieux ruraux afin d'éliminer les matières organiques, l'azote et le phosphore. La filière de traitement des eaux est composée de deux étapes : le prétraitement qui est assuré par une fosse sceptique et l'assainissement qui est effectué dans le sol ou un dispositif agréé. Les eaux sont ensuite évacuées par infiltration dans le sol. Cependant, quand la nature du sol ne permet pas de disperser les eaux usées traitées, le rejet peut se faire dans un milieu aquatique superficiel.

La part de l'assainissement non collectif dans la contamination des compartiments environnementaux a été peu quantifiée jusqu'à présent. Toutefois, quelques travaux ont déjà été publiés sur les résidus de médicaments et les effluents des fosses septiques provenant de lieux résidentiels ou de lieux publics (campings, parc, commerces, etc.) [Conn *et al.*, 2006 ; Godfrey *et al.*, 2007 ; Carrara *et al.*, 2008]. Ces études mettent en avant le rôle important que peuvent avoir les systèmes d'assainissement non collectifs dans la contamination des eaux souterraines situées à proximité de ces sites. En effet, l'infiltration dans le sol des résidus de médicaments non dégradés peut impacter les eaux souterraines et, *in fine*, les eaux destinées à la consommation humaine.

I.1.2.2. Principales voies d'introduction liées à l'usage vétérinaire

Les principales spécialités utilisés en médecine vétérinaire concernent les antibiotiques, les antiparasitaires et les hormones mais les molécules les plus fréquemment recherchées dans le milieu aquatique restent, aujourd'hui, les antibiotiques [Ternes, 1998 ; Hirsch *et al.*, 1999 ; Zuccato *et al.*, 2000 ; Kolpin *et al.*, 2002 ; Sim *et al.*, 2011]. Ces composés, employés à titre préventif et curatif, ont aussi été utilisés comme promoteurs de croissance avant leur interdiction au sein de l'Union Européenne en 2006 [Kemper, 2008].

Parmi les animaux traités, la plus grande consommation de médicaments est attribuée aux animaux de rente (« I.1.1.2.2. Médicaments à usage vétérinaire »). Les résidus excrétés se retrouvent dans les déjections animales et les fumiers et lisiers qui sont stockés puis épandus sur les sols. En fonction des propriétés physico-chimiques des résidus de médicaments, ces derniers peuvent être retrouvés dans les eaux souterraines (infiltration) et/ou dans les eaux de surface (ruissellement). La présence d'antibiotiques dans les différents compartiments environnementaux peut avoir des conséquences néfastes sur les écosystèmes et favoriser la résistance de certaines bactéries face aux antibiotiques [Kemper, 2008].

L'utilisation d'antibiotiques en aquaculture est plus faible que dans l'élevage d'animaux de rente mais l'introduction des résidus de médicaments se fait directement dans le milieu aquatique. Les poissons n'ingèrent pas les médicaments qui leur sont administrés dans leur totalité [Thorpe *et al.*, 1990], les principes actifs restant sont soit adsorbés par les sédiments, soit présents dans la phase dissoute.

I.1.2.3. Voies d'introduction communes

I.1.2.3.1. Les unités de production

Au sein de la littérature internationale, les informations traitant des rejets provenant des sites de production de médicaments sont récentes mais parcellaires [Larsson *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2008 ; Sim *et al.*, 2011]. Nonobstant, il est très probable que ce genre d'investigation se heurte à un souci de confidentialité, un manque de transparence et/ou d'accès aux sites. Il s'agit également d'une voie d'introduction très ciblée puisqu'elle n'implique principalement que les composés produits sur le site mais aussi les zones géographiques où sont situés les sites de production. Enfin, selon la convention de rejet en vigueur, les rejets en eaux usées des usines de production sont soit traités par la station d'épuration du site, soit raccordées aux stations d'épuration urbaines.

En 2007, Larsson *et al.* font état de concentrations de résidus de médicaments très élevées dans les effluents industriels dépassant ainsi les teneurs déjà rencontrées dans les réseaux collectifs pour certains antibiotiques. Il indique également que les teneurs en ciprofloxacine, mesurées lors de cette étude, dépassent les concentrations plasmatiques produisant un effet thérapeutique chez l'homme.

I.1.2.3.2. Les centres de stockage

Les déchets qui ne sont ni recyclables et ni valorisables sont stockés, à défaut d'être incinérés, dans des centres de stockage pour y être enfouis. Bien que ces lieux répondent à des normes environnementales strictes, la saturation des sites et certaines conditions exceptionnelles peuvent engendrer une contamination du milieu aquatique par le biais d'infiltration [Looser *et al.*, 1999]. Très peu d'études ont été menées concernant ce sujet [Eckel et *al.*, 1993 ; Holm et *al.*, 1995 ; Ahel *et al.*, 1998 ; Schwarzbauer *et al.*, 2002] mais cette voie d'introduction n'est pas à négliger. A titre d'exemple, en 2005, une enquête réalisée par Bound et Voulvoulis auprès de 392 habitants du Royaume-Uni a montré que dans 63,2 % des cas, les ménages éliminaient leurs médicaments périmés ou non utilisés via les ordures ménagères tandis que dans 11,5 % des cas, ils étaient éliminés par le biais des éviers et toilettes. Ce point est clairement illustré par la figure I-8 qui traite de l'exemple du métoprolol. La majorité du métoprolol distribué serait consommée puis collectée dans les stations d'épuration mais le taux d'abattement élevé du métoprolol reconsidère l'importance de la station d'épuration comme principale voie d'introduction de cette molécule vis-à-vis du centre de stockage. Ainsi, le schéma proposé par Bound et Voulvoulis (2005) met en exergue le rôle que peuvent jouer les centres de stockage sur la contamination du milieu aquatique. Toutefois, il est important de préciser qu'il s'agit d'un modèle qui ne permet pas de prédire les quantités exactes de métoprolol.

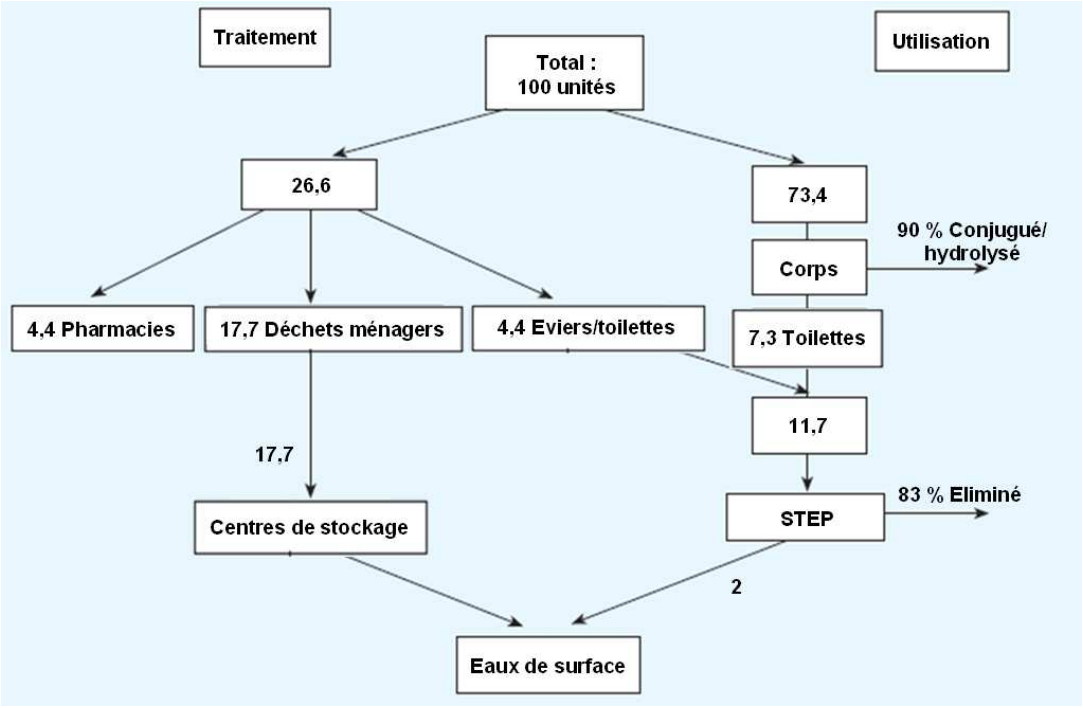


Figure I-8 Devenir du métoprolol par unité utilisée après utilisation dans des ménages anglais [d'après Bound et Voulvoulis, 2005].

I.1.3. Devenir dans l'environnement aquatique

I.1.3.1. Le milieu naturel

I.1.3.1.1. Dégradation abiotique

La photolyse et l'hydrolyse sont deux phénomènes naturels qui participent à la dégradation des résidus de médicaments dans l'environnement aquatique. Au sein même de la photolyse, il existe deux processus qui peuvent intervenir lors de la dégradation des molécules : la photolyse directe et la photolyse indirecte. Tandis que la photolyse directe d'une molécule est

initiée par la lumière du soleil, la photolyse indirecte nécessite la présence d'oxydants puissants (radicaux libres, oxygène singulet) qui permettront l'oxydation du contaminant. Ces oxydants peuvent être générés par les matrices naturelles (matières organiques naturelles), par des métaux de transition (*e.g.* fer) ou certains ions (*e.g.* nitrates) [Andreozzi *et al.*, 2003 et références citées dans cet article : Zepp et Cline, 1977 ; Zepp *et al.*, 1981]. La réaction d'hydrolyse intervient lorsqu'une molécule organique réagit avec une molécule d'eau. C'est une réaction qui peut dépendre de plusieurs facteurs environnementaux dont le pH, la température mais également la présence de certains catalyseurs (*e.g.* métaux) qui peuvent fortement influencer le rendement de la réaction d'hydrolyse.

L'importance des processus abiotiques dans la dégradation des molécules est très dépendante de la nature des composés, de la composition du milieu naturel (acides humiques, ions nitrates, sol) ainsi que des conditions climatiques et géographiques. Certaines molécules comme la carbamazépine et l'acide clofibrique sont peu assujettis à la photolyse alors que le phénomène inverse a été observé pour le diclofénac [Buser *et al.*, 1998 ; Andreozzi *et al.*, 2003]. Certaines benzodiazépines comme l'oxazépam, le diazépam et l'alprazolam sont également peu sensibles à la dégradation photochimique [Calisto *et al.*, 2011]. Parmi les antibiotiques, l'oxytétracycline est soumise à une dégradation par hydrolyse et photolyse alors que l'acide oxolinique et la fluméquine sont peu photosensibles dans les eaux douces [Pouliquen *et al.*, 2007].

Le tableau I-II regroupe les temps de demi-vie de certains résidus de médicaments issus de la littérature internationale.

Tableau I-II Temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de certains résidus de médicaments répertoriés dans la littérature.

Composés	Temps de demi-vie	Remarques	Référence
Analgésique			
Paracétamol	56 h et 35 h	Latitude : 37° N, août 2006 et mai 2007	Yamamoto *et al.*, 2009
AINS			
Diclofénac	5,0 jours	Eau bi-distillée à pH 5,5 (latitude : 50° N, hiver)	Andreozzi *et al.*, 2003
Ibuprofène	600 h et 9900 h 324 h	Latitude : 37° N, août 2006 et mai 2007 Eau de surface (latitude : 41° N, mai 2007)	Yamamoto *et al.*, 2009 Matamoros *et al.*, 2009
Kétoprofène	0,04 h	Eau de surface (latitude : 41° N, mai 2007)	Matamoros *et al.*, 2009
Naproxène	10,2 – 14,6 jours	Eau de surface (Vénézuela)	Araujo *et al.*, 2011
Antibiotiques			
Acide oxolinique	2,3 – 4,8 jours	Eau de surface (illumination naturelle)	Lai et Lin, 2009
Fluméquine	1,9 – 2,3 jours	Eau de surface (illumination naturelle)	Lai et Lin, 2009
Ofloxacine	10,6 jours	Eau bi-distillée à pH 5,5 (latitude : 50° N, hiver)	Andreozzi *et al.*, 2003
Sulfaméthoxazole	2,4 jours	Eau bi-distillée à pH 5,5 (latitude : 50° N, hiver)	Andreozzi *et al.*, 2003
Antiépileptique			
Carbamazépine	100 jours 84 h et 2100 h 67,4 h	Eau bi-distillée à pH 5,5 (latitude : 50° N, hiver) Latitude : 37° N, août 2006 et mai 2007 Eau de surface (latitude : 41° N, mai 2007)	Andreozzi *et al.*, 2003 Yamamoto *et al.*, 2009 Matamoros *et al.*, 2009
Anxiolytiques			
Alprazolam	865 h	Photolyse directe (lampe xénon filtrée)	Caslisto *et al.*, 2011
Diazépam	28 h	Photolyse directe (lampe xénon filtrée)	Caslisto *et al.*, 2011
Lorazépam	2,6 h	Photolyse directe (lampe xénon filtrée)	Caslisto *et al.*, 2011
Oxazépam	15,1 h	Photolyse directe (lampe xénon filtrée)	Caslisto *et al.*, 2011

Composés	Temps de demi-vie	Remarques	Référence
Béta-bloquants			
Aténolol	347 h 77 h et 730 h	Eau désionisée (lampe xénon filtrée) Latitude : 37° N, août 2006 et mai 2007	Liu et Williams, 2007 Yamamoto *et al.*, 2009
Propranolol	16 h 6,0 h et 8,3 h 16,8 jours	Eau désionisée (lampe xénon filtrée) Latitude : 37° N, août 2006 et mai 2007 Eau bi-distillée à pH 5,5 (latitude : 50° N, hiver)	Liu et Williams, 2007 Yamamoto *et al.*, 2009 Andreozzi *et al.*, 2003
Hypolipidémiant			
Gemfibrozil	119,5 – 288,8 jours	Eau de surface (Vénézuela)	Araujo *et al.*, 2011

I.1.3.1.2. Dégradation biotique

Les réactions intervenant lors des dégradations biotiques sont plus spécifiques que celles impliquées lors des dégradations abiotiques puisqu'elles sont l'œuvre d'enzymes. Elles dépendent de la diversité de la flore des sols et des eaux ainsi que du type et des fonctions des organismes qui la composent [Fatta-Kassinos *et al.*, 2010].

Dans le milieu naturel, différencier réactions biotiques et abiotiques est assez complexe mais quelques publications décrivent le devenir de certaines molécules dans le milieu naturel. Selon Yamamoto *et al.* (2009), l'aténolol, la carbamazépine, l'ibuprofène, l'ifenprodil, l'indométhacine, l'acide méfénamique, le paracétamol et le propranolol sont faiblement biodégradables (> 24 h) dans les eaux de surface. Les travaux de Lin *et al.* (2010) ont également montré que le propranolol était peu altéré par la biodégradation.

I.1.3.1.3. Sorption sur la matière solide

Dans le milieu naturel, certaines molécules sont plus susceptibles de s'adsorber sur les sédiments ou la phase particulaire. Ces caractéristiques sont fortement liées aux propriétés physico-chimiques et notamment à leurs coefficients de partage octanol - eau (K_{ow}), leurs coefficients de partage carbone organique - eau (K_{oc}) ainsi que leurs affinités électrochimiques. Les études menées sur les sédiments et les sols se sont surtout développées ces dernières années [Oppel *et al.*, 2004 ; Löffler *et al.*, 2005 ; Yamamoto *et al.*, 2005 ; Stein *et al.*, 2008] alors que celles traitant de la phase particulaire sont plus fragmentaires [Castiglioni *et al.*, 2006 ; thèse Togola, 2006].

Le devenir de certaines molécules se partage entre plusieurs processus. A titre d'exemple, dans les eaux de surface, le propranol est peu soumis à la biodégradation mais semble sensible à la photodégradation et aux phénomènes d'adsorption [Yamamoto *et al.*, 2009]. Enfin, contrairement aux dégradations biotiques et abiotiques, l'adsorption ne mène pas à la formation de produits de dégradation mais à une accumulation de résidus sur la phase solide.

I.1.3.2. Les filières de traitement

I.1.3.2.1. Eaux résiduaires

Le traitement des eaux usées par les stations d'épuration (STEP) est essentiel pour la qualité environnementale des milieux aquatiques. Elle permet d'épurer les eaux polluées avant de les introduire dans le milieu récepteur. Néanmoins, les STEP ont été initialement conçues pour abattre les matières en suspension (MES), la matière organique dissoute, l'azote ainsi que le phosphore.

Les STEP se composent de plusieurs niveaux de traitement dédiés à l'épuration des eaux résiduaires. Les principaux processus se divisent en différentes étapes et sont explicités ci-après selon l'ordre dans lequel ils interviennent au sein d'une station [Techniques de l'ingénieur, 1974] :

- Le prétraitement utilisé dans les stations permet une élimination des résidus dont la nature et la taille sont incompatibles avec les procédés d'épuration. Cette étape est assurée par différentes opérations physiques et mécaniques comme le dégrillage, la dilacération, le dessablage, le déshuilage et le dégraissage.
- La décantation primaire permet d'éliminer une partie de la pollution particulaire. Les matières décantables (matières organiques et certains métaux) se rassemblent sous forme de boues au fond du réservoir. Un décanteur d'eaux domestiques peut éliminer entre 20 et 45 % de la demande biologique en oxygène (DBO5) et entre 50 et 70 % des matières en suspension (MES).
- Le traitement secondaire peut être réalisé par voies biologiques et/ou physico-chimiques.
    - Le processus biologique permet la biodégradation des polluants par les micro-organismes en reproduisant les phénomènes d'auto-épuration existant dans l'environnement. La prolifération des micro-organismes qui intervient lors de l'épuration biologique peut être réalisée à l'aide de bactéries aérobies (boues activées, lagunage, lits bactériens, etc.) ou anaérobies.
    - Le processus physico-chimique sépare les polluants de l'eau par coagulation et floculation. Ces réactions chimiques entraînent la formation de fines particules qui s'agglomèrent pour être plus facilement éliminées. De par sa gestion rapide des fortes fluctuations de flux, ce type de procédé est particulièrement adapté aux agglomérations touristiques.
- Le traitement tertiaire (complémentaire) consiste à réduire les pollutions non biodégradables de l'effluent comme la demande chimique en oxygène (DCO) et les micropolluants, par exemple. Cette étape peut être assurée par des procédés physico-chimiques (adsorption sur charbon actif, filtration sur sable, etc.) mais également par des procédés spécifiques pour l'élimination du phosphore et de l'azote.

Les stations d'épuration domestiques ou industrielles sont généralement constituées de traitements primaires (prétraitement et décanteur primaire) et secondaires. Cependant, certains systèmes d'assainissement disposent de l'ensemble des traitements.

L'efficacité des stations d'épuration vis-à-vis des résidus de médicaments est fonction des propriétés physico-chimiques des molécules ainsi que des caractéristiques propres aux usines de traitement (procédés, temps de séjour hydraulique, température, etc.). La carbamazépine, par exemple, s'est révélée être très réfractaire aux traitements secondaires quelles que soient les stations [Ternes, 1998 ; Clara *et al.*, 2004 ; Castiglioni *et al.*, 2006 ; Joss *et al.*, 2006 ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2009 ; Leclercq *et al.*, 2009]. *A contratio*, les traitements biologiques permettent une élimination quasi complète du paracétamol (>90 %) [Ternes, 1998 ; Benotti *et al.*, 2007 ; Jones *et al.*, 2007 ; Gros *et al.*, 2010].

Le climat peut également influencer l'abattement de certains résidus. Castiglioni *et al.* (2006) ont comparé les taux d'élimination mesurés en périodes hivernale et estival. Ils ont divisé les molécules étudiées selon leur devenir en trois groupes comprenant :

- les molécules dont l'abattement estival est plus important que l'abattement hivernal (*e.g.* l'aténolol et le furosémide) ;

- les molécules dont l'abattement ne varie pas (*e.g.* l'ofloxacine) ;
- et les molécules non éliminées comme la carbamazépine et la clarithromycine.

Certains paramètres liés à l'utilisation de filières d'assainissement biologique peuvent améliorer l'élimination de certains composés. Clara *et al.*, (2005) ont montré que l'élimination de molécules organiques pouvait être dépendante de l'âge des boues. Pour un âge des boues supérieur à dix jours (à 10°C), une diminution significative des taux d'élimination pouvaient être observée pour l'ibuprofène et le bézafibrate, par exemple. Cependant, pour le diclofénac et le 17-alpha-éthynilestradiol, des résultats contradictoires ont été obtenus et laissent sous entendre que d'autres paramètres influencent leur devenir dans les stations d'épuration.

De manière générale, le caractère polaire des résidus de médicaments contribue à leur introduction dans le milieu naturel car ces molécules sont peu éliminées par les filières de traitements biologiques conventionnels.

Le tableau I-III, présente quelques données d'abattements (phase dissoute) réalisés avec des traitements secondaires (biologique ou physico-chimique). Il met en évidence la forte variation du taux d'élimination d'une installation à une autre pour une même molécule ainsi que l'élimination incomplète des résidus de médicaments par les filières classiques.

Tableau I-III Abattement moyen ou médian de certains résidus de médicaments retrouvé dans la littérature. Ces données ne concernent que la phase dissoute.

Composés	Abattement moyen ou médian	Référence
Analgésique		
Paracétamol	91 – 99 %	Benotti *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2007 ; Gros *et al.*, 2010
AINS		
Diclofénac	0 – 69 %	Ternes, 1998 ; Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005 ; Gros *et al.*, 2010
Ibuprofène	79 – 91 %	Ternes, 1998 ; Gros *et al.*, 2010 ; Jones *et al.*, 2007 ; Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005
Kétoprofène	48 – 78 %	Stumpf *et al.*, 1999 ; Lindqvist *et al.*, 2005
Naproxène	66 – 86 %	Ternes, 1998 ; Gros *et al.*, 2010
Antibiotiques		
Clarithromycine	0 %	Castiglioni *et al.*, 2006
Erythromycine	39 %	Chang *et al.*, 2010
Ofloxacine	57 %	Castiglioni *et al.*, 2006
Oxytétracycline	100 %	Chang *et al.*, 2010
Sulfaméthoxazole	48 – 74 %	Benotti *et al.*, 2007 ; Gros *et al.*, 2010 ; Chang *et al.*, 2010
Triméthoprime	1 – 60 %	Benotti *et al.*, 2007 ; Chang *et al.*, 2010
Tylosine	100 %	Chang *et al.*, 2010
Antiépileptique		
Carbamazépine	7 – 37 %	Ternes, 1998 ; Heberer, 2002b ; Benotti *et al.*, 2007
Antihistaminique H2		
Ranitidine	72 %	Castiglioni *et al.*, 2006
Béta-bloquants		
Aténolol	21 %	Castiglioni *et al.*, 2006
Propranolol	96 %	Ternes, 1998
Diurétique		
Furosémide	15 % – 50 %	Castiglioni *et al.*, 2006 ; Gros *et al.*, 2010
Hypolipidémiants		
Bézafibrate	69 – 83 %	Ternes, 1998 ; Gros *et al.*, 2010
Gemfibrozil	67 – 69 %	Ternes, 1998 ; Gros *et al.*, 2010

De nouvelles technologies, utilisées dans les filières de traitement tertiaire, ont déjà prouvées leur efficacité à l'égard d'un grand nombre de résidus de médicaments. Ternes *et al.* (2003) ont utilisé un système de désinfection par ozonation (pilote) afin de traiter les effluents provenant de stations d'épuration et contenant, entre autres, des antibiotiques, des anti-inflammatoires non stéroïdiens et un antiépileptique. Suite au traitement à l'ozone (10/15 mg/L^{-1}, temps de contact : 18 min), l'ensemble des résidus de médicaments ont été réduits à des seuils inférieurs à leurs limites de quantification à l'exception des produits de contraste iodés. Cependant, le traitement à l'ozone risque de générer des produits de dégradation de structure et de toxicité inconnues.

Kim *et al.* (2007) ont comparé l'efficacité de plusieurs procédés dont l'osmose inverse et la nanofiltration sur les résidus de médicaments. Pour les deux techniques, le taux d'élimination s'est avéré supérieur à 95 % pour des molécules comme la carbamazépine, l'érythromycine, le diclofénac ou le triméthoprime. Dans ce cas, l'avantage indéniable réside dans le fait que les techniques membranaires retiennent les contaminants et ne produisent pas de produits de dégradation. Cependant, il faut souligner que ces procédés sont rarement utilisés dans le domaine de l'assainissement des eaux usées et restent majoritairement employés dans le cadre de la potabilisation des eaux.

I.1.3.2.2. Eaux destinées à la consommation humaine

Les traitements appliqués aux eaux destinées à la consommation sont très dépendants de l'origine et de la qualité de la ressource en eau. Généralement, une eau potable provenant d'une eau de surface subira plus de traitements que celle issue d'une eau souterraine.

Les principaux traitements utilisés pour la potabilisation des eaux sont les suivants :

- Le dégrillage. Cette étape est similaire à celle employée pour le traitement des eaux usées. Elle permet de retenir les objets volumineux qui auraient pu être captés lors de la prise d'eau.
- La coagulation/floculation et clarification. Ces procédés sont utilisés pour les eaux chargées en matières en suspension. La coagulation/floculation est un traitement chimique qui permet l'agglomération de fines particules tandis que la clarification consiste à séparer l'eau de la matière en suspension en la décantant dans des bassins adaptés.
- La filtration. Ce procédé permet de purifier l'eau par le biais d'un filtre ou d'un lit de sable fin (contenant éventuellement du charbon actif) de manière à éliminer les matières en suspension ainsi qu'un grand nombre de bactéries.
- La désinfection. Il s'agit du seul traitement capable d'éliminer les micro-organismes présents dans l'eau ainsi que certains polluants organiques dissous. Plusieurs procédés peuvent être utilisés dont :
    - la chloration par l'introduction de chlore en sortie d'usine ainsi qu'en différents points du réseau (il s'agit du seul traitement rémanent). Il est appliqué en fin de filière.
    - l'ozonation qui consiste à injecter de l'ozone dans l'eau afin d'abattre les virus et bactéries.
    - et les rayonnements ultraviolets qui permettent de désinfecter l'eau en étape intermédiaire.

L'élimination des résidus de médicaments par les différentes filières de traitements pour la production d'eau potable n'est pas absolue et reste, comme cela a été observé avec les eaux résiduaires, « molécule-dépendant ». Huerta-Fontela *et al.*, (2011) ont étudié le devenir de 55 résidus de médicaments détectés à l'entrée d'une usine de potabilisation espagnole composée d'une étape de pré-chloration, de floculation, de filtration sur sable, d'ozonation, de filtration sur charbon actif et enfin d'une dernière étape de chloration en sortie d'usine. A l'issue de ces différents procédés, cinq molécules ont été retrouvées dont trois assez fréquemment à des concentrations proches de 10 $ng.L^{-1}$ (aténolol, phénitoïne et hydrochlorthiazide).

En étudiant une usine de potabilisation utilisant des filières de traitement classique, Stackelberg *et al.* (2007) ont constaté que certaines molécules pouvaient être partiellement abattues par l'étape de clarification et totalement éliminées par la chloration (*e.g.* paracétamol et sulfaméthoxazole) tandis que seule la filtration sur charbon actif a montré son efficacité vis-à-vis de la carbamazépine (> 90 %).

L'ozonation et la chloration ont démontré à maintes reprises leur efficacité en présence de résidus de médicaments. Néanmoins, l'inconvénient majeur de ces techniques de désinfection

chimique provient de la production de sous-produits de dégradation pouvant potentiellement être plus toxiques que le composé parent. Andreozzi *et al.* (2003) ont identifié un grand nombre de sous-produits de dégradation provenant de l'oxydation avancée du paracétamol (ozone – H_2O_2/UV). Bedner et Maccrehan (2006) ont également caractérisé, lors de la chloration des eaux, la présence de deux de ses sous-produits de dégradation plus toxique.

I.1.4. Présence dans l'environnement aquatique

Les résidus de médicaments ont été retrouvés dans les différents compartiments aquatiques de pays principalement situés sur les continents américain [Kolpin *et al.*, 2002 ; Lishman *et al.*, 2006 ; Benotti *et al.*, 2009 ; Locatelli *et al.*, 2011], européen [Ternes, 1998 ; Zuccato *et al.*, 2000 ; Vieno *et al.*, 2007 ; Togola et Budzinski, 2008 ; Miège *et al.*, 2009 ; Vulliet et Cren-Olivé, 2011] et asiatique [Kim *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2008 ; Sim *et al.*, 2011]. D'après Heberer (2002a), plus de 80 principes actifs et métabolites ont été retrouvés à des niveaux de concentration supérieurs au $\mu g.L^{-1}$ dans les eaux résiduaires et les eaux de surfaces situées à proximité d'effluents.

A partir de 2007, le nombre d'études discutant de la présence des résidus de médicaments dans l'environnement a considérablement augmenté mais essentiellement au profit des eaux résiduaires [Mompelat *et al.*, 2009]. Concernant les études relatives à la présence de ces xénobiotiques dans les eaux de surface, les différents travaux de recherche existants se sont majoritairement focalisés sur les zones urbaines. Aussi, les données propres aux territoires ruraux restent rares. Néanmoins, certains auteurs se sont intéressés à l'étude de zones agricoles et suburbaines comme Veach et Bernot (2011) qui ont analysé 12 résidus de médicaments sur deux sites sur une période de 12 mois. Sur une échelle plus importante, Silva *et al.* (2011) ont mené une étude de grande ampleur sur le bassin d'Ebro (bassin versant de 85 550 km^2) en Espagne en analysant 43 résidus de médicaments dans plusieurs cours d'eau traversant des zones agricoles, urbaines et industrielles mais les différents sites n'ont été échantillonnés qu'à une seule reprise.

Les tableaux suivants (tableaux I-IV, I-V, I-VI et I-VII) regroupent les concentrations mesurées dans la phase dissoute des compartiments aquatiques continentaux et dans les sédiments. La contamination de la phase particulaire par les résidus de médicaments, très fragmentaires, ne sera pas abordée.

I.1.4.1. Les eaux résiduaires

Ces dernières années, les études menées sur les effluents de stations d'épuration se sont largement développées. Miège *et al.* (2009) ont recensé la présence de plus de 100 résidus de médicaments et produits de soin dans des stations d'épuration européennes, brésiliennes et nord américaines. Ces données, issues de 117 publications scientifiques, couvrent une période d'environ 10 ans (janvier 1997 - juin 2006). Comme cela a été abordé précédemment, les données de présence dépendent de plusieurs facteurs comme le système d'assainissement ou les conditions climatiques.

Le tableau I-IV réunit, de manière non exhaustive, quelques données d'occurrence provenant de la littérature internationale. Seules les eaux traitées ont été recensées.

Tableau I-IV Concentrations maximales, médianes et moyennes (ng.L^{-1}) retrouvées dans la phase dissoute des eaux traitées de stations d'épuration (n = nombre d'échantillons analysés).

Composés	Localisation	Max.	Méd.	Moy.	n	Référence
Analgésique						
Paracétamol	Croatie	5 990	-	2102	5	Gros *et al.*, 2006
	France	11 308,9	-	-	3	Togola et Budzinski, 2008
	Allemagne	6 000	nd	-	49	Ternes, 1998
	Corée du Sud	27	-	10	-	Behara *et al.*, 2011
	États-Unis	-	-	860	6	Benotti et Brownawell, 2007
AINS						
Diclofénac	Croatie	390	-	215	5	Gros *et al.*, 2006
	France	486,4	-	-	3	Togola et Budzinski, 2008
	Irlande	2 478	-	-	3	Lacey *et al.*, 2008
	Canada	250	110	-	8	Lee *et al.*, 2005
	Allemagne	2 100	810	-	49	Ternes, 1998
	Corée du Sud	49	-	24	-	Behara *et al.*, 2011
Ibuprofène	Croatie	800	-	266	5	Gros *et al.*, 2006
	France	219,0	-	-	3	Togola et Budzinski, 2008
	Irlande	nd	-	-	3	Lacey *et al.*, 2008
	Canada	2 170	310	-	8	Lee *et al.*, 2005
	Allemagne	3 400	370	-	49	Ternes, 1998
	Corée du Sud	75	-	40	-	Behara *et al.*, 2011
Kétoprofène	Croatie	620	-	318	5	Gros *et al.*, 2006
	France	1 080,6	-	-	3	Togola et Budzinski, 2008
	Canada	90	50	-	8	Lee *et al.*, 2005
	Allemagne	380	200	-	49	Ternes, 1998
	Corée du Sud	37	-	12	-	Behara *et al.*, 2011
	États-Unis	-	-	nd	6	Benotti et Brownawell, 2007
Naproxène	Croatie	160	-	108	5	Gros *et al.*, 2006
	France	289,1	-	-	3	Togola et Budzinski, 2008
	Canada	2 540	820	-	8	Lee *et al.*, 2005
	Allemagne	520	300	-	10	Ternes, 1998
	Corée du Sud	166	-	111	-	Behara *et al.*, 2011
Antibiotiques						
Erythromycine	Croatie	nd	-	-	5	Gros *et al.*, 2006
Sulfaméthoxazole	Croatie	820	-	390	5	Gros *et al.*, 2006
	Irlande	553	-	-	3	Lacey *et al.*, 2008
	Corée du Sud	162	-	57	-	Behara *et al.*, 2011
	États-Unis	-	-	140	6	Benotti et Brownawell, 2007
Triméthoprime	Croatie	310	-	290	5	Gros *et al.*, 2006
	Irlande	360	-	-	3	Lacey *et al.*, 2008
	Corée du Sud	154	-	63	-	Behara *et al.*, 2011
	États-Unis	-	-	120	6	Benotti et Brownawell, 2007
Antiépileptique						
Carbamazépine	Croatie	630	-	410	5	Gros *et al.*, 2006
	France	293,4	-	-	3	Togola et Budzinski, 2008
	Irlande	881	-	-	3	Lacey *et al.*, 2008
	Allemagne	6 300	2 100	-	30	Ternes, 1998
	Corée du Sud	74	-	55	-	Behara *et al.*, 2011
	États-Unis	-	-	65	6	Benotti et Brownawell, 2007
Anxiolytiques						
Diazépam	France	nd	-	-	3	Togola et Budzinski, 2008
	Allemagne	40	nd	-	20	Ternes, 1998

Composés	Localisation	Max.	Méd.	Moy.	n	Référence
Oxazépam	Allemagne	250	-	-	-	Heberer, 2002b
Béta-bloquants						
Aténolol	Croatie	1 150	-	400	5	Gros *et al.*, 2006
	Corée du Sud	5 911	-	2 772	-	Behara *et al.*, 2011
Propranolol	France	1 111	426	-	24	Miège *et al.*, 2006
	Croatie	470	-	290	5	Gros *et al.*, 2006
	Irlande	nd	-	-	3	Lacey *et al.*, 2008
	Allemagne	290	170	-	29	Ternes, 1998
Diurétique						
Furosémide	Irlande	nd	-	-	3	Lacey *et al.*, 2008
Hypolipidémiants						
Bézafibrate	Croatie	10	-	-	5	Gros *et al.*, 2006
	Irlande	nd	-	-	3	Lacey *et al.*, 2008
	Allemagne	4 600	2 200	-	49	Ternes, 1998
Gemfibrozil	Croatie	320	-	120	5	Gros *et al.*, 2006
	France	17,2	-	-	3	Togola et Budzinski, 2008
	Irlande	330	-	-	3	Lacey *et al.*, 2008
	Canada	2 090	190	-	8	Lee *et al.*, 2005
	Allemagne	1 500	400	-	49	Ternes, 1998
	Corée du Sud	26	-	17	-	Behara *et al.*, 2011

nd : non détecté
- : non disponible

I.1.4.2. Les eaux naturelles

Les concentrations mesurées dans les eaux naturelles sont variables et s'étendent du $ng.L^{-1}$ au $\mu g.L^{-1}$. Les classes pharmacologiques présentes sont multiples mais les classes les plus fréquemment retrouvées restent les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les antibiotiques [Mompelat *et al.*, 2009]. Au niveau national, plusieurs études exploratoires ont été commandées par différentes agences de l'eau mais également par l'Anses (2008).

Les concentrations en résidus de médicaments peuvent être très variables d'une étude à l'autre. Cependant, elles ne sont que le reflet de l'impact de différents paramètres sur le milieu comme la consommation locale de médicaments, la dilution d'un cours d'eau ou la localisation des prélèvements (proximité STEP, infiltration, etc.).

Tableau I-V Concentrations maximales, médianes et moyennes ($ng.L^{-1}$) retrouvées dans la phase dissoute des eaux naturelles (n = nombre d'échantillons analysés).

Composés	Localisation	Masse d'eau	Max.	Méd.	Moy.	n	Référence
Analgésique							
Paracétamol	Espagne	Rivière	250	-	42	10	Gros *et al.*, 2006
	France	Rivière	72,3	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	Corée du Sud	Rivière et lac	73	-	33	8	Kim *et al.*, 2007
	France	Rivière	-	-	14,7	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	10,3	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
AINS							
Diclofénac	Espagne	Rivière	60	-	29	10	Gros *et al.*, 2006
	France	Rivière	33,2	-	-	6	Togola et Budzinski,

Composés	Localisation	Masse d'eau	Max.	Méd.	Moy.	n	Référence
							2008
	Corée du Sud	Rivière et lac	6,8	-	3,0	8	Kim *et al.*, 2007
	Allemagne	Eau souterraine	590	-	-	105	Sacher *et al.*, 2001
	France	Rivière	-	-	5,4	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	9,7	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Ibuprofène	Espagne	Rivière	150	-	60	10	Gros *et al.*, 2006
	France	Rivière	4,5	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	Corée du Sud	Rivière et lac	38	-	28	8	Kim *et al.*, 2007
	Italie	Rivière	17,4	13,0	-	7	Zuccato *et al.*, 2005
	France	Rivière	-	-	5,5	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	nd	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Kétoprofène	Espagne	Rivière	nd	-	-	10	Gros *et al.*, 2006
	France	Rivière	14,5	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	France	Rivière	-	-	3,4	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	2,8	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Naproxène	Espagne	Rivière	50	-	33	10	Gros *et al.*, 2006
	France	Rivière	9,1	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	Corée du Sud	Rivière et lac	18	-	11	8	Kim *et al.*, 2007
	France	Rivière	-	-	3,5	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	1,2	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Antibiotiques							
Erythromycine	Espagne	Rivière	30	-	17	10	Gros *et al.*, 2006
	Corée du Sud	Rivière et lac	4,8	-	3,4	8	Kim *et al.*, 2007
	Italie	Rivière	15,9	3,2	-	7	Zuccato *et al.*, 2005
Sulfaméthoxazole	Espagne	Rivière	<LQ	-	-	10	Gros *et al.*, 2006
	Corée du Sud	Rivière et lac	36	-	20	8	Kim *et al.*, 2007
	Allemagne	Rivière	480	30	-	52	Hirsch *et al.*, 1999
	Allemagne	Eau souterraine	200	-	-	59	Hirsch *et al.*, 1999
	Italie	Rivière	nd	-	-	7	Zuccato *et al.*, 2005
	Allemagne	Eau souterraine	410	-	-	105	Sacher *et al.*, 2001
	France	Rivière	-	-	1,9	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	3,0	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Triméthoprime	Espagne	Rivière	20	-	11	10	Gros *et al.*, 2006
	Corée du Sud	Rivière et lac	5,3	-	4,0	8	Kim *et al.*, 2007
	Allemagne	Rivière	470	-	-	52	Hirsch *et al.*, 1999
	Allemagne	Eau souterraine	nd	-	-	59	Hirsch *et al.*, 1999
	France	Rivière	-	-	0,9	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011

Composés	Localisation	Masse d'eau	Max.	Méd.	Moy.	n	Référence
	France	Eau souterraine	-	-	1,4	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Antiépileptique							
Carbamazépine	Espagne	Rivière	110	-	30	10	Gros *et al.*, 2006
	France	Rivière	56,3	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	Allemagne	Rivière	1 100	250	-	26	Ternes, 1998
	Corée du Sud	Rivière et lac	61	-	25	8	Kim *et al.*, 2007
	Italie	Rivière	34,2	23,1	-	7	Zuccato *et al.*, 2005
	Allemagne	Eau souterraine	900	-	-	105	Sacher *et al.*, 2001
	France	Rivière	-	-	13,9	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	10,4	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Anxiolytiques							
Diazépam	France	Rivière	nd	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	Allemagne	Rivière	nd	-	-	30	Ternes, 1998
	Italie	Rivière	nd	-	-	7	Zuccato *et al.*, 2005
Oxazépam	France	Rivière	-	-	25,1	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	14	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Béta-bloquants							
Aténolol	Espagne	Rivière	250	-	72	10	Gros *et al.*, 2006
	Italie	Rivière	41,7	17,2	-	7	Zuccato *et al.*, 2005
	France	Rivière	-	-	4,7	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	5,5	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Propranolol	Espagne	Rivière	nd	-	-	10	Gros *et al.*, 2006
	Allemagne	Rivière	590	12	-	45	Ternes, 1998
	France	Rivière	-	-	1,2	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	1,8	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Diurétique							
Furosémide	Italie	Rivière	67,2	3,5	-	7	Zuccato *et al.*, 2005
Hypolipidémiants							
Bézafibrate	Espagne	Rivière	10	-	8	10	Gros *et al.*, 2006
	Italie	Rivière	2,7	1,9	-	7	Zuccato *et al.*, 2005
	France	Rivière	-	-	3,4	71	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	Eau souterraine	-	-	nd	70	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Gemfibrozil	Espagne	Rivière	60	-	46	10	Gros *et al.*, 2006
	France	Rivière	2,3	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	Corée du Sud	Rivière et lac	9,1	-	6,6	8	Kim *et al.*, 2007

- : non disponible.

I.1.4.3. Les eaux potables

Les données d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux potables sont moins renseignées que les autres compartiments aquatiques. Cette différence peut s'expliquer par la présence de certains composés à l'état d'ultra-traces et des difficultés analytiques qui en découlent [Mompelat *et al.*, 2009]. Les concentrations mesurées sont variables d'un composé à un autre mais aussi très dépendante de l'origine de l'eau et des filières de traitement utilisées dans la potabilisation de l'eau.

Tableau I-VI Concentrations maximales, médianes et moyennes (ng.L^{-1}) retrouvées dans la phase dissoute des eaux potables (n = nombre d'échantillons analysés).

Composés	Localisation	Max.	Méd.	Moy.	n	Référence
Analgésique						
Paracétamol	France	210,1	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	France	71	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	71			285	Anses, 2011
AINS						
Diclofénac	France	2,5	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	France	56	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Ibuprofène	France	14	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Kétoprofène	France	3,0	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	France	22	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Naproxène	France	0,2	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	France	6	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Antibiotiques						
Sulfaméthoxazole	France	11	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	États-Unis	0,32	0,32		15	Benotti *et al.*, 2009
Triméthoprime	France	1,4	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Antiépileptique						
Carbamazépine	France	43,2	-	-	6	Togola et Budzinski, 2008
	France	41,6	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	États-Unis	10	6,8		15	Benotti *et al.*, 2009
	France	33			285	Anses, 2011
Anxiolytiques						
Diazépam	États-Unis	< LD	-		15	Benotti *et al.*, 2009
	Italie	23,5	-	-	2	Zuccato *et al.*, 2000
Oxazépam	France	89,6	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
	France	91			285	Anses, 2011
Béta-bloquants						
Aténolol	France	34	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Propranolol	France	2	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Hypolipidémiants						
Bézafibrate	France	12,4	-		-	Vulliet et Cren-Olivé, 2011
Gemfibrozil	États-Unis	1,2	0,43		15	Benotti *et al.*, 2009

< LD : inférieur à la limite de détection.
- : non disponible.

I.1.4.4. Les sédiments

Contrairement aux études menées sur les compartiments aquatiques, la contamination des sédiments est peu documentée. De par leurs propriétés physico-chimiques, certains résidus de médicaments s'adsorbent sur les sédiments, s'accumulent et peuvent induire des effets sur les organismes aquatiques comme l'antibiorésistance [Diaz-Cruz *et al.*, 2003]. Les données de présence révèlent, parfois, des concentrations supérieures à celles mesurées dans les eaux naturelles.

Tableau I-VII Concentrations maximales (ng.kg^{-1}) retrouvées dans les sédiments (n = nombre d'échantillons analysés).

Composés	Localisation	Max.	n	Référence
Analgésique				
Paracétamol	Espagne	200	23	Silva *et al.*, 2011*
AINS				
Diclofénac	Espagne	3 360	23	Silva *et al.*, 2011*
Ibuprofène	Italie	220	4	Zuccato *et al.*, 2000
	Espagne	20 900	23	Silva *et al.*, 2011*
Kétoprofène	Espagne	3 340	23	Silva *et al.*, 2011*
Antibiotiques				
Erythromycine	Italie	630	4	Zuccato *et al.*, 2000
	Espagne	33 500	23	Silva *et al.*, 2011*
Triméthoprime	Espagne	2 340	23	Silva *et al.*, 2011*
Tylosine	Italie	2 640	4	Zuccato *et al.*, 2000
	Espagne	71 000	23	Silva *et al.*, 2011*
Antiépileptique				
Carbamazépine	Espagne	6 850	16	Vazquez-Roig *et al.*, 2010
	Espagne	2 840	23	Silva *et al.*, 2011*
Antihistaminique H2				
Ranitidine	Italie	150	4	Zuccato *et al.*, 2000
	Espagne	25 100	23	Silva *et al.*, 2011*
Anxiolytique				
Diazépam	Espagne	3 720	16	Vazquez-Roig *et al.*, 2010
Béta-bloquants				
Aténolol	Espagne	3 780	23	Silva *et al.*, 2011*
Propranolol	Espagne	2 600	16	Vazquez-Roig *et al.*, 2010
Diurétique				
Furosémide	Espagne	10 900	23	Silva *et al.*, 2011*
Hypolipidémiants				
Bézafibrate	Italie	130	4	Zuccato *et al.*, 2000
	Espagne	500	23	Silva *et al.*, 2011*
Gemfibrozil	Espagne	5 200	23	Silva *et al.*, 2011*

*Valeur maximale issue de la moyenne d'un triplicat.

I.1.5. Impacts sur l'environnement

I.1.5.1. Écotoxicologie

La présence de résidus de médicaments, conçus pour être biologiquement actif, peut provoquer des effets indésirables sur des organismes non cibles présents dans l'environnement. Évaluer le risque environnemental et ainsi protéger les différents écosystèmes nécessite la connaissance de concentrations d'exposition et de données toxicologiques. Aujourd'hui, plusieurs approches permettent d'évaluer la toxicité des composés pharmaceutiques vis-à-vis de divers organismes mais les données actuelles restent encore insuffisantes.

I.1.5.1.1. Toxicité aiguë

L'évaluation de la toxicité aiguë est réalisée à partir de méthodes normalisées (ISO, OECD, etc.) sur des espèces aquatiques diverses (algues, zooplanctons, poissons, etc.). Ces essais permettent de déterminer une dose létale à partir de laquelle 50 % de la population traitée meurt (DL_{50}). Cependant, ces tests sont pratiqués à des concentrations élevées (de l'ordre du $mg.L^{-1}$) et sur une courte durée ce qui est peu représentatif des conditions d'exposition environnementale.

Plusieurs publications font état de la toxicité aiguë de résidus de médicaments sur des organismes mais elles concernent majoritairement les antibiotiques et anti-inflammatoires non stéroïdiens [Santos *et al.*, 2010]. Néanmoins, les auteurs ayant travaillés sur cette problématique s'accordent à dire que la concentration effective médiane (CE_{50}) mesurée reste très supérieure aux concentrations rencontrées dans le milieu aquatique [Cleuvers, 2004 ; Hernando *et al.*, 2004]. A titre d'exemple, Henschel *et al.* (1997) ont calculé une CE_{50} de 50 $mg.L^{-1}$ pour *Daphnia* après 48 h d'exposition au paracétamol ce qui reste très au dessus des concentrations pouvant être mesurées dans le milieu naturel.

I.1.5.1.2. Toxicité chronique

L'étude de la toxicité chronique semble plus appropriée à la situation environnementale puisque les niveaux de concentrations testés sont variables et les durées d'exposition plus longues [Santos *et al.*, 2010]. L'évaluation de la toxicité chronique permet de définir une dose sans effet toxique observable (No Observable Adverse Effect Level - NOAEL en anglais) qui correspond à la concentration maximale n'entraînant pas d'effets notables sur la population observée. Tout comme la toxicité aiguë, la toxicité chronique se focalise sur une seule molécule.

Flippin *et al.* (2007) ont étudié l'exposition chronique à l'ibuprofène du médaka japonais (*Oryzias latipes*) à des concentrations allant de 1 à 100 $\mu g.L^{-1}$ et sur une période de six semaines. Alors qu'aucune toxicité aiguë n'avait été observée, ils ont constatés que l'ibuprofène alternait le schéma reproductif de ce poisson en diminuant la fréquence des pontes et en augmentant le nombre d'œufs par ponte.

I.1.5.1.3. Les mélanges binaires et multi-composants

Jusqu'à présent, les études toxicologiques s'intéressaient particulièrement aux conséquences biologiques d'une molécule sur différents organismes mais depuis peu, des travaux prenant en considération la toxicité liée à un mélange de deux voire plusieurs composés ont été développés. L'étude des effets combinés est plus révélatrice des interactions pouvant se produire dans l'environnement. En effet, ces protocoles d'évaluation peuvent mettre en évidence les effets antagonistes ou bien synergiques de certains résidus [Cleuvers, 2003 ; Cleuvers, 2004 ; Hernando *et al.*, 2004]. Tout comme les études traitant de la toxicité chronique, l'analyse de l'effet mélange est bien moins documentée que la toxicité aiguë des résidus de médicaments sur divers organismes.

Schnell *et al.* (2009) ont mis en évidence les effets que peuvent avoir un mélange de résidus à de faibles concentrations sur la truite arc-en-ciel grâce aux réactions synergiques qui existent. Alors qu'Eguchi *et al.* (2004) ont fait état de l'augmentation de l'activité inhibitrice de croissance du mélange binaire triméthorpime/sulfaméthoxazole ou sulfadiazine chez des algues vertes (*Selenastrum capricornutum*).

I.1.5.2. Les effets potentiels

I.1.5.2.1. La perturbation endocrinienne

Certains résidus de médicaments ont la faculté d'agir sur le système hormonal des êtres vivants. C'est le cas des hormones ostrogéniques. L'observation de la faune aquatique a montré, depuis peu, que les poissons étaient soumis à une perturbation endocrinienne [Jobling *et al.*, 1998 ; Folmar *et al.*, 2001]. De plus, des expérimentations de poissons en cage ont mené au même constat [Purdom *et al.*, 1994 ; Routledge *et al.*, 1998].

A titre d'exemple, Larsson *et al.* (1999) ont positionné, dans une cage, des truites arc-en-ciel juvéniles en aval du rejet des effluents d'une station d'épuration. Après deux semaines d'exposition, la bile des truites contenait des composés ostrogéniques et des taux élevés de vitellogénine (protéine synthétisée par le poisson femelle) avaient été mesurés dans leur plasma.

Enfin, il est essentiel de préciser que rien ne permet de définir exactement quelles molécules sont la cause de ces perturbations puisque les hormones stéroïdiennes ne sont pas les seuls composés à disposer de cette fonctionnalité (*e.g.* phtalates et PBDE).

I.1.5.2.2. L'antibiorésistance

Certaines bactéries initialement sensibles aux traitements antibiotiques peuvent développer une résistance face aux traitements antibiotiques bactériens. Cette résistance peut s'amplifier notamment suite à des mécanismes de mutation et des échanges de gènes résistants entre bactéries, entre autres [Halling-Sorensen, 1998]. Ce phénomène est d'autant plus problématique qu'il engendre une diminution de l'efficacité des traitements existants en cas d'infection.

L'antibiorésistance de la flore bactérienne a été observée par Guardabassi *et al.* (2000) à 300 m en aval du rejet d'une pisciculture qui utilisait de l'acide oxolinique. Fan *et al.* (2009) ont également constaté la présence de bactéries plus résistantes lors du traitement d'une eau usée synthétique contenant de l'érythromycine et de l'érythromycine-H_2O dans des réacteurs biologiques séquentiels.

I.1.5.2.3. La génotoxicité

La génotoxicité traduit la capacité d'un composé à modifier l'ADN. Les anticancéreux, molécules génotoxiques par excellence, peuvent potentiellement conduire à la mutation de gènes d'organismes non cibles. Les eaux usées provenant des stations d'épuration en sont un vecteur privilégié puisqu'ils ont déjà été retrouvés dans différents effluents [Ternes et *al.*, 1998 ; Mullot *et al.*, 2009].

Giuliani *et al.* (1996) ont mesuré l'activité génotoxique de 800 échantillons d'eaux résiduaires provenant d'un hôpital. Sur l'ensemble des mesures, 13 % des échantillons ont été considérés comme génotoxiques. Toutefois, cette activité n'a plus été détectée dans les effluents de la station d'épuration municipale en raison de la dilution du rejet hospitalier. Bien que le caractère génotoxique n'ait plus été identifié, les auteurs mettent en avant le fait que ces composés peuvent s'accumuler dans les différents compartiments environnementaux et générer des effets sur le long terme.

I.1.6. Aspects réglementaires

I.1.6.1. La qualité des eaux (www.legifrance.gouv.fr)

En 2000, l'Union Européenne a mis en place la Directive Cadre sur l'Eau (DCE – 2000/60/CE) dont l'objectif est le retour au bon état écologique et chimique des masses d'eau en Europe. La pollution des milieux naturels peut engendrer l'insalubrité d'une eau destinée à un usage précis mais également la détérioration de la faune et la flore aquatiques. L'état des lieux a débuté en 2004 et l'échéance finale pour la réalisation des objectifs a été arrêtée pour 2015 puis 2027.

D'après la DCE, chaque État membre doit mettre en place des programmes de dépollution des eaux et de réduction d'émission de polluants afin de restaurer une bonne qualité des milieux aquatiques. L'évaluation de la qualité des eaux est réalisée à partir de l'état écologique et chimique des masses d'eau concernées. Ces états sont eux-mêmes définis selon différents paramètres biologiques, physico-chimiques, hydromorphologiques et chimiques.

L'état écologique est déterminé à partir de paramètres ayant un impact sur l'aspect biologique des masses d'eau. Il permet de traduire la qualité des systèmes aquatiques. L'évaluation de l'état écologique des cours d'eau est définie à partir de paramètres :

- biologiques (indice biologique global normalisé, indice poissons en rivière, indice biologique diatomées et indice biologique macrophytes en rivière) ;
- physico-chimiques (température, salinité, état d'acidification, nutriments, bilan oxygène, etc.) ;
- et hydromorphologiques (hydrologie, morphologie et continuité écologique).

La classification de l'état écologique est établie selon cinq stades compris entre un état très bon et un état mauvais.

L'état chimique d'une station de suivi est défini selon des Normes de Qualité Environnementale (NQE) déterminées pour chaque élément et molécule. Ces NQE correspondent à des concentrations à ne pas dépasser afin de garantir la protection de la santé humaine et de l'environnement. La liste des composés à surveiller dans les milieux aquatiques contient quarante et un composés dont des hydrocarbures, des pesticides et des métaux. Contrairement à l'état écologique, la classification de l'état chimique est réalisée selon deux états : bon et mauvais. Toutefois, il est important de préciser que le bon état chimique n'est atteint que si toutes les concentrations des paramètres mesurés sont inférieures aux NQE. En effet, si un composé dépasse la NQE alors le cours d'eau est déclassé et considéré comme en mauvais état chimique. Enfin, l'état global d'une masse d'eau est déterminé en associant la qualité écologique et chimique.

En France, la planification de la gestion des eaux est décrite dans les Schémas Directeurs d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SDAGE). Chaque bassin hydrographique dispose d'un SDAGE qui a été mis à jour en 2009 (pour une durée de 6 ans) afin d'intégrer les objectifs environnementaux de la DCE ainsi que ceux propres aux bassins français. Chaque SDAGE est accompagné d'un Programme De Mesures (PDM) qui réunit les mesures phares à accomplir d'un point de vu opérationnel. Néanmoins, en complément à ces plans de gestion, d'autres actions incluses dans différents programmes nationaux mis en place par les pouvoirs publics ciblent des problématiques de santé environnementale. Parmi ces plans, le PNSE 2 (Plan National Santé Environnement 2) comprend une action clé qui vise à « *Améliorer la connaissance et réduire les risques liés aux rejets de médicaments dans l'environnement* ». Dans le cadre de cette mesure, un nouveau plan, le Plan National sur les Résidus de Médicaments dans l'eau (PNRM), a été élaboré afin d'évaluer et gérer les risques environnementaux et sanitaires inhérents à la présence des résidus de médicaments dans le milieu aquatique.

L'altération de la qualité de l'eau peut entraîner des risques conséquents pour les écosystèmes aquatiques mais également pour l'Homme. Les pollutions, d'origine agricole, domestique et industrielle, participent à divers phénomènes qui peuvent avoir des conséquences irréversibles sur le milieu aquatique. Parmi ces phénomènes, l'eutrophisation peut provoquer une diminution de la diversité biologique et la production d'algues toxiques pour certaines espèces aquatiques et terrestres. Ce phénomène intervient lorsqu'un apport important de matières nutritives est rejeté dans le milieu aquatique. Aussi, ces nutriments, dont font partie l'azote (ions ammonium, ions nitrates, etc.) et le phosphore (ions orthophosphates, etc.), participent à la prolifération d'algues et ainsi à l'eutrophisation des eaux de surface.

L'apport de polluants organiques et inorganiques peut également entraîner la mort de certains organismes mais aussi avoir un impact, de manière indirect, sur la santé humaine comme c'est le cas pour les métaux lourds qui s'accumulent dans les poissons. Ainsi, la forte consommation de poissons peut entraîner des intoxications très sérieuses comme cela a été observé au Japon en 1954 à Minamata où le méthylmercure présent dans des poissons contaminés a eu de graves conséquences sur la population locale [Thibaud, 1971].

Aujourd'hui, les résidus de médicaments ne sont pas pris en compte dans les politiques de protection et de gestion des eaux en France et en Europe. Néanmoins, début 2012, la Commission Européenne a proposé quinze substances supplémentaires dans le but de faire évoluer la liste déjà existante. Parmi ces molécules, deux hormones (17-alpha-éthinylestradiol (EE2), 17-bêta-estradiol (E2)) et un anti-inflammatoire non stéroïdien (diclofénac) ont été sélectionnés.

I.1.6.2. Les autorisations de mise sur le marché

Actuellement, différentes directives européennes liées aux médicaments à usages humain et vétérinaire introduisent la notion d'évaluation du risque environnementale. L'étude de l'écotoxicité des produits pharmaceutiques qui en résulte est incluse dans les dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM). Les dossiers d'AMM sont constitués par les demandeurs et permettent d'évaluer l'efficacité, la sécurité et la qualité d'un produit. En Europe et en France, ce sont, respectivement, l'European Medecines Agency (EMA) et l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) qui gèrent les dossiers et délivrent les autorisations.

La notion d'évaluation du risque environnemental associée aux médicaments à usage humain a fait sa première apparition aux États-Unis. En 1998, la Food and Drug Administration (FDA) a publié une réglementation décrivant la méthodologie d'évaluation du risque environnemental à adopter par les industries (FDA, 1998). Cette législation diffère du texte réglementaire européen en vigueur notamment au niveau de la valeur seuil.

Le guide d'évaluation de la FDA est divisé en deux étapes majeures. Le premier stade permet de calculer la concentration environnementale préliminaire (EIC en anglais pour Expected Introduction Concentration). Il s'agit d'une concentration environnementale prédite et la valeur seuil a été fixée à 0,1 $\mu g.L^{-1}$. Si la valeur de EIC calculée est inférieure à cette valeur, la législation estime qu'il n'y a pas de risque pour l'environnement. Dans le cas contraire, des tests supplémentaires sont réalisés afin de déterminer le devenir et les effets du composé sur l'environnement.

En Europe, l'évaluation du risque environnemental a d'abord été introduite, pour les médicaments à usage vétérinaire, au sein de la directive 81/852/EC, amendée par la directive 92/18/EC. La ligne directrice (EMEA/CVMP/055/96), qui décrit les protocoles et méthodes à utiliser pour évaluer l'exposition environnementale des médicaments vétérinaires, a été adoptée en janvier 1997 mais n'a été effective qu'un an plus tard. Aujourd'hui, la précédente directive

européenne a été remplacée par la directive 2001/82/EC (amendée par la directive 2004/28/EC). Elle s'applique toujours aux animaux de rente (sauf exception) mais l'évaluation du risque environnemental a été étendue à d'autres formulations comme les génériques.

Dans un souci d'harmonisation, la Veterinary International Conference on Harmonisation (VICH) a publié un guide qui décrit les exigences nécessaires à l'évaluation du risque environnemental des médicaments vétérinaires en accord avec plusieurs pays dont les États-Unis, le Japon et les pays de l'Union Européenne. Le protocole d'évaluation de la version européenne (EMEA/CVMP/ERA/418282/2005-Rev.1), entré en vigueur le 1er mars 2009, est divisé en deux phases. La première consiste à prédire les concentrations environnementales (PEC en anglais pour Predicted Environmental Concentration) à partir de données de consommation et de métabolisation, par exemple. La deuxième phase de l'évaluation n'est engagée que si la PEC dans les eaux souterraines est supérieure ou égale à 0,1 $\mu g.L^{-1}$ ou si la PEC dans le sol est supérieure ou égale à 10 $\mu g.kg^{-1}$. Elle permet de mettre en place différentes études afin de déterminer le devenir de la molécule dans l'environnement ainsi que la toxicité dudit produit. Ces tests permettent d'évaluer le rapport bénéfice/risque c'est-à-dire les effets bénéfiques du médicament sur l'organisme par rapport au risque environnemental qu'il engendre. Ce critère peut amener à un refus de la mise sur le marché d'un médicament vétérinaire.

La réglementation qui définit l'évaluation du risque environnemental des médicaments à usage humain a été élaborée plus tardivement. En effet, la ligne directrice (EMEA/CHMP/4447/00) décrivant les méthodes d'évaluation est entrée en vigueur en décembre 2006, soit environ neuf ans après le premier guide utilisé dans le domaine vétérinaire. La méthode d'évaluation, moins contraignante, se compose également de deux phases :

- l'estimation de la PEC dans les eaux de surface ;
- des essais qui visent à déterminer la toxicité du principe actif lorsque la PEC est supérieure à 0,01 $\mu g.L^{-1}$.

Contrairement aux médicaments à usage vétérinaire, la ligne directrice utilisée pour la médecine humaine ne prend pas en compte les métabolites et les excipients. Les génériques, de plus en plus répandus, sont eux aussi écartés. Enfin, un des inconvénients majeurs de ce texte est qu'il n'est pas rétroactif ce qui exclut les molécules les plus consommées comme le paracétamol ou le diclofénac. L'évaluation du risque environnemental pour les produits pharmaceutiques utilisés en médecine humaine est encore insuffisante et n'est pas un critère discriminant pour l'attribution des autorisations de mise sur le marché.

I.2. Méthodologies associées aux dosages des résidus de médicaments dans la phase dissoute des compartiments aquatiques

Ces dix dernières années, de nombreuses méthodes analytiques de type multi-résidus permettant le dosage de résidus de médicaments dans les compartiments environnementaux se sont développées. Ces protocoles ont fait l'objet de plusieurs revues scientifiques [Ternes, 2001 ; Petrovic *et al.*, 2005 ; Buchberger, 2007 ; Fatta *et al.*, 2007 ; Buchberger, 2011].

La figure I-9 résume les différentes étapes permettant le dosage des composés pharmaceutiques dans les matrices aqueuses. La filtration permet l'analyse des résidus de médicaments uniquement présents dans la phase dissoute. Plusieurs techniques d'extraction peuvent également être utilisées pour l'extraction des résidus de médicaments mais l'extraction sur phase solide (Solid Phase Extraction – SPE en anglais) est le procédé le plus répandu. L'analyse instrumentale, quant à elle, est communément réalisée au moyen de techniques séparatives couplées à la spectrométrie de masse. Cette partie abordera exclusivement les couplages CL-SM (/SM) et CG-SM (/SM).

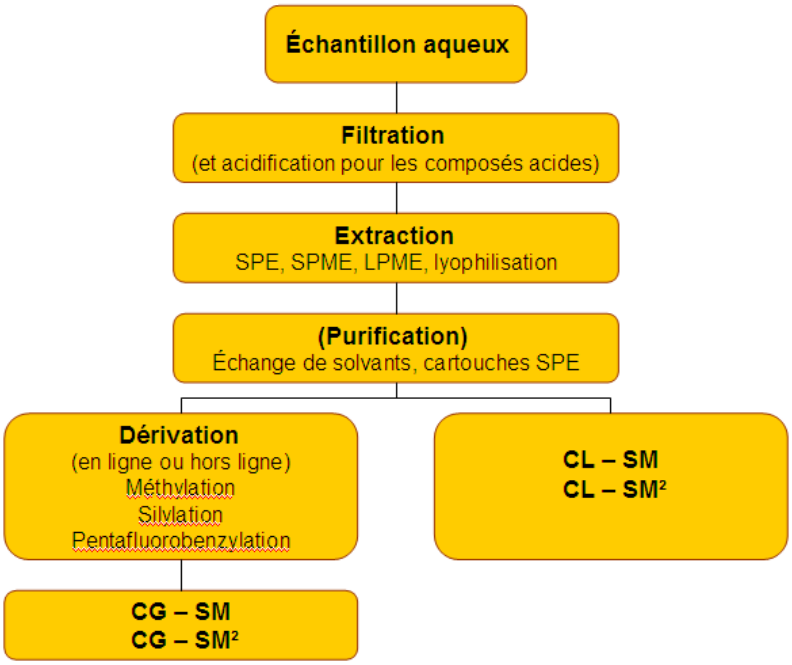


Figure I-9 Préparation de l'échantillon classique et analyse des résidus de médicaments dans les matrices aqueuses (d'après Fatta *et al.*, 2007).

I.2.1. Pré-concentration et extraction des résidus de médicaments

I.2.1.1. Extraction sur phase solide

L'extraction sur phase solide est de loin la technique la plus utilisée pour le dosage des résidus de médicaments dans les matrices aqueuses. Le spectre d'activités de la SPE est assez large puisque qu'il couvre, entre autres, l'analyse agro-alimentaire, cosmétique et environnementale.

Depuis quelques années, un système d'extraction sur phase solide en ligne tend à se développer au sein de l'analyse environnementale. Néanmoins, ce procédé reste minoritaire car cette technique est encore récente et peu de systèmes proposent ce type d'extraction.

I.2.1.1.1. Extraction hors ligne

La SPE est une technique qui se base sur la distribution de différentes molécules entre une phase solide (adsorbant) et la phase liquide (échantillon). Ainsi, en fonction des propriétés de la molécule cible, des interactions polaires, hydrophobes et / ou ioniques entre la phase solide et la molécule entrent en jeu.

L'extraction sur phase solide d'un échantillon est réalisée selon quatre étapes (figure I-10) :

- la cartouche est conditionnée avec un ou plusieurs solvants afin d'activer les sites de la phase stationnaire ;
- l'échantillon est percolé de manière à extraire les molécules d'intérêts de la matrice étudiée ;
- la phase stationnaire est lavée pour éliminer les impuretés ;
- enfin, les analytes sont élués grâce à un ou plusieurs solvants appropriés.

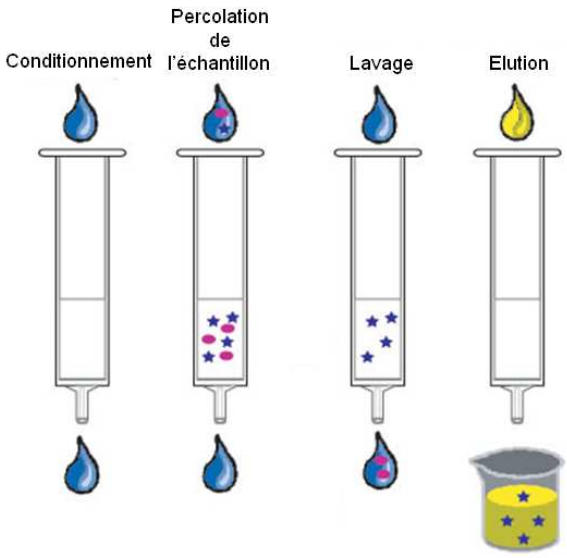


Figure I-10 Principe de la SPE (d'après www.silicycle.com).

Ce système est peu consommateur de solvant, automatisable et permet de fortement concentrer les échantillons. Cependant, ce procédé est long à mettre en œuvre et nécessite le développement de protocoles d'extraction en fonction de la nature de la molécule (neutre, basique et acide) afin d'être le plus sensible et le plus sélectif possible.

Les phases stationnaires utilisées pour le dosage des résidus de médicaments sont multiples. Toutefois, les adsorbants les plus utilisés pour les analyses multi-résidus de médicaments sont les phases inverses hydrophile – lipophile (copolymère styrène – divinylbenzène) adaptée aux molécules polaires et apolaires (*e.g.* Oasis® HLB, Strata^{TM}-X, Lichrolut® EN) et les modes mixtes en phase inverse échangeurs de cations (*e.g.* Oasis® MCX, Strata^{TM}-X-C, Lichrolut® SCX). Chaque protocole d'extraction est optimisé afin d'extraire des molécules aux propriétés physico-chimiques différentes avec une seule et même procédure. Certaines équipes, analysant plusieurs classes de résidus de médicaments, acquièrent de meilleurs résultats en utilisant des cartouches Oasis® MCX à un pH 2 [Kasprzyk-Horden *et al.*, 2008 ; Togola et Budzinski, 2008] tandis que d'autres obtiennent les meilleurs compromis avec des cartouches Oasis® HLB sans ajustement de pH ou à pH 7 [Gros *et al.*, 2006 ; Tamtam *et al.*, 2009 ; Garcia-Lor *et al.*, 2010]. En revanche, Castiglioni *et al.* (2005) ont optimisé l'extraction de trente composés en extrayant les composés acides, basiques et neutres à l'aide d'une cartouche Oasis MCH (pH 1,5 – 2) et les composés polaires avec une cartouche Lichrolut EN (pH 7). Ainsi, la scission des molécules en deux groupes leur a permis d'obtenir des rendements d'extraction supérieurs à 70 % (sauf exception).

I.2.1.1.2. Extraction en ligne

L'extraction en ligne est moins contraignante puisque le conditionnement de l'échantillon, en vue d'une injection dans le système analytique, est plus rapide. La SPE hors ligne requiert très souvent une étape d'évaporation afin de concentrer et reprendre l'analyte dans des solvants adaptés aux techniques de séparation et de détection. Ces étapes ne sont pas nécessaires en extraction en ligne puisque le système est directement relié au chromatographe liquide.

Deux procédés d'extraction sur phase solide en ligne existe actuellement. La première approche consiste à utiliser de petites colonnes chromatographiques de granulométries élevées (>10 µm) et réutilisables tandis que la seconde approche, similaire à la SPE hors ligne, utilise des cartouches à usage unique [Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2007].

L'extraction en ligne a été, au préalable, appliquée pour le dosage des pesticides dans l'eau [Dupas *et al.*, 1996 ; Sancho *et al.*, 2004] avant de s'élargir au domaine des résidus de médicaments dans les matrices environnementales. Elle a été développée pour l'analyse d'un nombre de composés restreints (≤ 10) [Choi *et al.*, 2007 ; Segura *et al.*, 2007 ; Ding *et al.*, 2010 ; Viglino *et al.*, 2008] mais très rapidement, des protocoles contenant une vingtaine de molécules voire plus ont été mis en place [Pitarch *et al.*, 2004 ; Stoob *et al.*, 2005 ; Pozo *et al.*, 2006 ; Garcia-Galan *et al.*, 2010 ; Lopez-Serna *et al.*, 2010 ; Garcia-Galan *et al.*, 2011]. A titre de comparaison avec la SPE hors ligne, l'extraction en ligne est moins consommatrice de solvant et n'exige qu'un faible volume d'échantillon (entre 1 et 5 mL en moyenne pour les systèmes utilisant des colonnes réutilisables). Les méthodes en ligne sont également automatisées. Nonobstant, les limites de détection atteintes peuvent être plus élevées car le facteur de concentration est moins important [Trenholm *et al.*, 2009].

I.2.1.2. Autres techniques d'extraction

D'autres techniques d'extraction peuvent être employées pour l'analyse des résidus de médicament dans les matrices aqueuses. Parmi les procédés existants, nous pouvons citer :

- L'extraction liquide - liquide. Cette technique consiste à extraire, à l'aide d'un solvant dans une ampoule à décanter, les molécules d'intérêts en utilisant leur affinité pour la phase liquide organique. Koch *et al.*, (2005) ont utilisé ce type d'extraction pour l'analyse de l'azythromycine. Cette méthode, compatible avec les différentes techniques séparatives existantes, est très consommatrice de solvants et non automatisable mais elle permet d'obtenir un facteur de concentration important.
- La micro-extraction sur phase solide (Solid Phase Microextraction - SPME en anglais). Une fibre en silice recouverte d'un greffage va extraire les composés d'intérêts présents dans la phase gazeuse ou liquide d'un échantillon. Les molécules sont, ensuite, désorbées dans l'injecteur du système de séparation chromatographique. Ce système a déjà été utilisé pour le dosage de sulfonamides, de perturbateurs endocriniens et d'hormones [Balakrishnan *et al.* 2006 ; Yang *et al.*, 2006]. Rapide et peu consommateur de solvants, ce procédé reste, malgré tout, moins sensible, répétable et sélectif que la SPE.
- L'extraction à l'aide d'un barreau aimanté (Stir Bar Sorptive Extraction - SBSE en anglais). Le barreau est enrobé de verre et d'un polymère qui permet la sorption des molécules en l'immergeant dans l'échantillon aqueux tandis que la désorption des composés est réalisée à l'aide d'un système de thermodésorption. Quintana *et al.* (2007) ont extrait différents contaminants organiques dans des matrices aqueuses grâce à ce système. Après optimisation, la technique a fonctionné pour un grand nombre de composé à l'exception des phénols les plus polaires et de certains résidus de médicaments.
- La lyophilisation. Cette technique consiste à retirer l'eau d'un échantillon en le sublimant. Elle a été utilisée par Hirsch *et al.* (1998) pour l'extraction de différents antibiotiques dans les compartiments aquatiques. En comparant la lyophilisation à une extraction sur phase solide classique, cette équipe a constaté que les rendements d'extraction obtenus après lyophilisation étaient plus intéressants car supérieurs à 80 % dans la majorité des cas. Néanmoins, la lyophilisation n'a pas permis d'avoir des limites de quantification aussi faibles que celles obtenues par SPE.
- La micro-extraction liquide assistée par fibre creuse (Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction – HF-LPME en anglais). Cette méthode utilise une fibre creuse qui est immergée dans un solvant non miscible avec l'eau. Elle

permet de diminuer la consommation de solvants et génère un gain de temps considérable. Quintana *et al.* (2004) ont développé un protocole permettant l'extraction de résidus de médicaments dans les eaux résiduaires par HF-LPME. Malgré l'obtention de limites de quantification intéressantes, ils relèvent la faible précision du système utilisé.

I.2.2. Analyse des résidus de médicaments

Les faibles concentrations de résidus de médicaments attendues dans les matrices environnementales nécessitent l'utilisation de techniques capables de détecter des teneurs de l'ordre de quelques $ng.L^{-1}$. Les appareillages les plus couramment utilisés pour le dosage des molécules pharmaceutiques sont les couplages CL-SM (/SM) et CG-SM (/SM).

I.2.2.1. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

L'utilisation de la chromatographie liquide couplée à une détection par spectrométrie de masse pour le dosage des résidus de médicaments s'est considérablement développée avec l'introduction de sources d'ionisation compatibles avec ce type de technique séparative. Ce système permet, entre autres, l'analyse de molécules très polaires et / ou thermolabiles.

La chromatographie liquide de partage est la technique la plus répandue dans l'analyse des composés pharmaceutiques dans l'environnement. Son principe repose sur un mécanisme d'échanges entre le soluté, la phase stationnaire (colonne) et la phase mobile (solvants d'élution). Il existe deux types de phases :

- la phase normale qui utilise principalement des colonnes polaires de type amine ou nitrile et qui nécessite l'utilisation de solvants apolaires ou peu polaires comme le n-hexane ou l'éther ;
- la phase inverse qui utilise essentiellement des colonnes de silice greffée avec des groupements alkyles apolaires de type C_8 ou C_{18} et qui nécessite l'utilisation de solvants polaires comme l'eau ou le méthanol.

La chromatographie de partage en phase inverse est le système le plus utilisé pour l'analyse des résidus de médicaments dans l'environnement et permet la séparation des molécules d'intérêts selon leur polarité.

La détection des résidus de médicaments est majoritairement réalisée par spectrométrie de masse. Cette technique est dissociée en trois parties :

- la source qui forme les ions ;
- l'analyseur qui sépare les ions selon le rapport de leur masse sur leur nombre de charge (m/z) ;
- le détecteur qui mesure et amplifie le signal.

L'association spectrométrie de masse et chromatographie liquide requière l'utilisation de sources d'ionisation douces à pression atmosphérique (peu énergétiques). La source qui est la plus largement utilisée pour la recherche de résidus de médicaments dans les eaux est l'ionisation par électronébulisation (ElectroSpray Ionization – ESI en anglais) [Buchberger, 2010]. Ce procédé (figure I-11) consiste à produire un champ électrique (E) qui va pénétrer dans la solution. Les cations ou anions formés s'accumulent à l'extrémité d'une aiguille. Les charges sont fortement attirées par la contre électrode et conduisent à l'élongation en forme de cône de la solution chargée (cône de Taylor). La solution va se disperser en gouttelettes (spray) et l'utilisation d'un gaz séchant (N_2) va permettre l'évaporation du solvant. Progressivement, la taille des gouttelettes chargées va diminuer et lorsque la densité de charge est trop importante, des

gouttelettes plus petites sont formées jusqu'à obtention d'ions en phase gazeuse (explosion coulombienne).

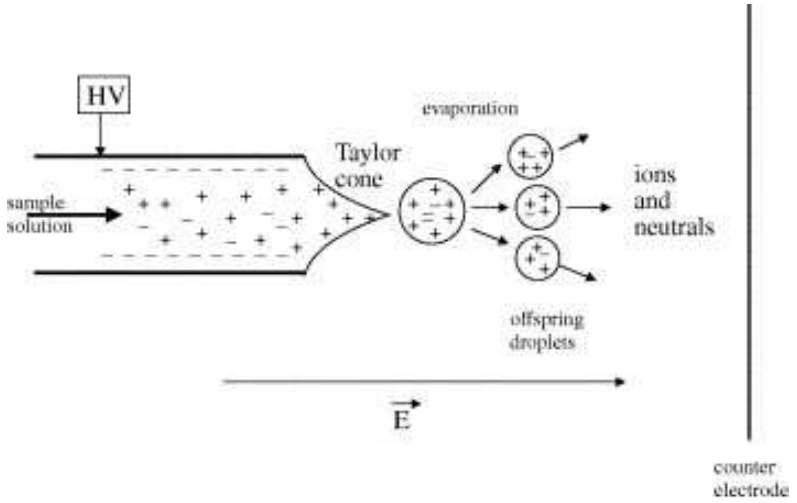


Figure I-11 Schéma de formation des ions par ESI [Manisali *et al.*, 2006].

Le piège ionique [Lindsey *et al.*, 2001 ; Lindberg *et al.*, 2004 ; Cahill *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2008] et le quadripôle ont fait partie des premiers analyseurs utilisés pour la quantification des résidus de médicaments. Très rapidement, la spectrométrie de masse en tandem (triple quadripôles – QqQ) a supplanté les technologies n'utilisant qu'un analyseur [Hirsch *et al.*, 1998 ; Vanderford *et al.*, 2003 ; Castiglioni *et al.*, 2005 ; Gros *et al.*, 2006 ; Zhang et Zhou, 2007 ; Pailler *et al.*, 2009 ; Tamtam *et al.*, 2009 ; Shao *et al.*, 2009 ; Rodil *et al.*, 2009 ; Wu *et al.*, 2010]. La spectrométrie de masse en tandem de type triple quadripôles est une technique sensible, sélective et particulièrement adaptée pour la recherche de molécules cibles dans les échantillons environnementaux. Elle permet également de confirmer la présence des molécules grâce à un mode de balayage spécifique appelée SRM (Selected Reaction Monitoring).

Depuis quelques années, certaines équipes ont développé des protocoles utilisant des systèmes hybrides pour le dosage de résidus de médicaments dans l'environnement. Petrovic *et al.* (2006) ont utilisé un spectromètre de masse de type quadripôle – temps de vol (Q – ToF) pour la recherche et la confirmation de 29 résidus de médicaments dans les eaux usées. Gros *et al.* (2009) ont développé une méthode d'analyse à l'aide d'un spectromètre de masse de type quadripôle – trappe linéaire (QqLIT) pour la détection et l'identification de 73 résidus de médicaments dans les eaux de surface et les eaux résiduaires.

I.2.2.2. La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

La chromatographie en phase gazeuse est une technique analytique qui permet la séparation et le dosage de composés volatiles. L'analyte, entrainé par un gaz vecteur inerte, circule dans une colonne pour être séparé des autres composés présents dans l'échantillon. La molécule d'intérêt est détectée selon son rapport m/z à l'aide d'un spectromètre de masse. Les sources d'ionisation ne comportent aucune étape de désolvatation car les molécules sont déjà à l'état gazeux. Les principales sources d'ionisation utilisées en couplage avec un chromatographe gazeux sont :

- l'impact électronique qui consiste à bombarder la molécule avec des électrons afin d'arracher un électron de la molécule et ainsi former un ion ;
- l'ionisation chimique qui utilise un gaz réactif (ammoniac, méthane, etc.) ionisé par impact électronique pour réagir avec les molécules vaporisées.

Les analyseurs des spectromètres de masse couplés aux chromatographes en phase gazeuse sont similaires à ceux utilisés avec un chromatographe en phase liquide. Ainsi, le piège ionique, le simple quadripôle et, maintenant, le triple quadripôle sont fréquemment retrouvés pour le dosage des résidus de médicaments [Togola et Budzinski, 2008 ; Mullot *et al.*, 2009 ; Sebok *et al.*, 2009 ; Trenholm *et al.*, 2006 ; Verenitch *et al.*, 2006 ; Yu *et al.*, 2007].

Depuis l'essor de la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse, l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse pour les dosages multi-résidus a été quelque peu délaissée. De plus, une étape supplémentaire de dérivation est souvent nécessaire pour améliorer le caractère volatil des molécules. Malgré ces inconvénients, l'impact électronique et l'ionisation chimique sont moins sujets aux effets de matrice ce qui permet d'obtenir des limites de détection plus sensibles [Buchberger, 2011]

I.2.3. Difficultés liées à l'étape d'ionisation

Lors de l'ionisation des molécules d'intérêt, la co-élution de composés présents dans la matrice peut entraîner une suppression ou une exaltation du signal étudié (compétition). Ces effets de matrices sont visibles en CG-SM (/SM) et CL-SM (/SM). Toutefois, ce phénomène est beaucoup plus conséquent en CL-SM (/SM) qui utilise une source peu énergétique comme l'ionisation par électronébulisation (ESI). Ces effets sont difficilement prévisibles puisqu'ils dépendent de l'instrumentation mais également de l'échantillon étudié. Le développement de protocoles d'extraction sélectifs suivi, parfois, d'une purification, peut s'avérer nécessaire afin de réduire les effets de matrice [Van De Steene *et al.*, 2006 ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008]. De nombreux auteurs font état de suppression de signal lors du dosage des résidus de médicament par CL-SM (/SM) dans les matrices environnementales et tout particulièrement dans les eaux résiduaires [Renew et Huang, 2004 ; Vieno *et al.*, 2006 ; Shao *et al.*, 2009].

L'effet de matrice peut mener à une quantification erronée des résidus de médicaments dans l'environnement en sous estimant ou sur estimant les concentrations réellement présentes dans l'échantillon. Elle peut également mener à l'identification de faux positifs. L'étalonnage externe ne permet pas de s'affranchir de ce phénomène mais plusieurs alternatives existent afin de compenser cet effet.

I.2.3.1. L'étalonnage interne

L'étalonnage interne est une technique de dosage utilisée pour de multiples applications comme en CG pour contrôler les variations des volumes d'injection, par exemple. Cette méthode est également très utilisée pour s'affranchir des effets de matrice liés aux dosages des résidus de médicaments.

Cette technique consiste à ajouter une quantité connue d'un composé (étalon interne) non présent dans les échantillons. L'étalon interne doit essentiellement avoir une structure similaire au composé d'intérêt et un temps de rétention proche. En spectrométrie de masse, les étalons internes sont généralement des molécules analogues marquées par un isotope stable (^{13}C, ^{2}D).

L'étalonnage interne consiste à tracer une courbe de calibration selon l'équation suivante :

$$\frac{S_x}{S_{EI}} = f \times \left(\frac{C_x}{C_{EI}} \right)$$

Équation 1 – Équation de la courbe de calibration utilisée pour l'étalonnage interne

où S_X et S_{EI} correspondent respectivement au signal du composé recherché et à celui de l'étalon interne, C_X et C_{EI} aux concentrations du composé et de l'étalon interne, et f au facteur de réponse du composé x par rapport à l'étalon interne.

Dans chaque échantillon analysé, le rapport S_X/S_{EI} est mesuré pour déterminer, à l'aide de la gamme d'étalonnage, la concentration présente dans l'échantillon.

Cette technique, utilisée dans de nombreux protocoles [Batt et Aga, 2005 ; Van De Steene *et al.*, 2006 ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008 ; Gros *et al.*, 2009], permet de compenser les effets de matrice et les pertes durant la préparation de l'échantillon. Cependant, l'obtention d'un étalon interne par composé n'est pas toujours aisée et peut s'avérer couteuse. Dans certains cas, un même étalon interne permet de compenser les effets de matrice de plusieurs molécules.

I.2.3.2. Les ajouts dosés

La méthode des ajouts dosés consiste à ajouter directement dans l'échantillon à analyser, une quantité connue de la molécule à quantifier. Deux ajouts minimum par échantillon sont nécessaires. La concentration ou la quantité initialement présente dans la matrice étudiée correspond à la valeur absolue de l'intersection entre la droite et l'axe des abscisses. Cette technique permet de compenser les effets de matrice mais est très longue à mettre en place puisqu'il faut réaliser des ajouts sur chaque échantillon analysé. Elle requière également la connaissance approximativement des concentrations des molécules recherchées dans l'échantillon afin d'adapter la teneur des ajouts. La méthode des ajouts dosées est employée par différents auteurs pour le dosage des composés pharmaceutiques dans des matrices environnementales complexes comme les eaux résiduaires et les eaux de surface [Conley *et al.*, 2008 ; Van De Steene et Lambert, 2008].

I.2.3.3. La dilution

La dilution de l'échantillon est une alternative qui permet de s'affranchir des effets de matrice. Gros *et al.* (2006) ont étudié l'efficacité de la dilution des extraits sur l'atténuation de l'effet de matrice. En diluant des extraits concentrés d'eaux résiduaires et en comparant les signaux correspondant à ceux obtenus dans un solvant dopé (figure I-12), ils ont constaté qu'une dilution au demi était nécessaire pour corriger l'effet de matrice des eaux résiduaires traitées tandis qu'une dilution au quart était indispensable pour les eaux résiduaires brutes.

La dilution des échantillons peut s'avérer intéressante dans certains cas mais la perte de sensibilité associée peut être problématique. Néanmoins, certains compromis peuvent être mis en place. En effet, le protocole de dosage de résidus de médicaments de Kasprzyk-Hordern *et al.* (2008) prévoit l'utilisation de la dilution comme complément à l'étalonnage interne. Lorsque qu'un étalon interne ne permet pas de compenser l'effet de matrice, l'échantillon est dilué. Enfin, il est admis que l'effet de matrice est négligeable lorsque deux dilutions différentes consécutives donnent le même résultat.

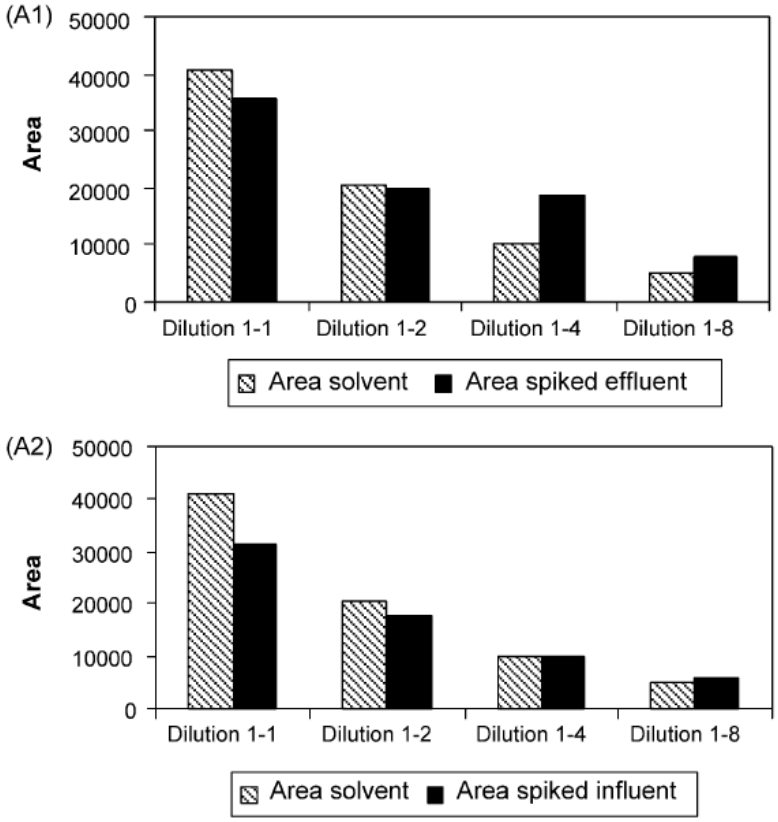


Figure I-12 Impact de la dilution sur l'effet de matrice du bézafibrate dans les extraits (A1) d'une eau résiduaire traitée et (A2) d'une eau résiduaire brute [Gros *et al.*, 2006].

I.3. Problématique et méthodologie

Les études menées sur les résidus de médicaments ainsi que leur présence et devenir dans les différents compartiments environnementaux ont connu un essor considérable ces dix dernières années. L'apparition de nouvelles technologies permettant l'analyse de composés à l'état de traces voire ultra-traces a fortement contribué à cette expansion. Malgré le fort intérêt que porte le domaine de la Recherche et les Ministères (PNRM, PNSE 2, etc.) pour cette problématique, les informations relatives aux résidus de médicaments restent incomplètes.

L'état des connaissances actuelles, qui a été résumé dans ce chapitre, a permis de définir des thèmes de recherche pour ces travaux de thèse. Aussi, de manière à améliorer les données relatives à la problématique des résidus de médicaments dans le milieu aquatique, notre plan d'étude s'articule autour de deux axes :

- Le premier axe d'étude consiste à compléter les données recueillies sur l'état de la contamination des eaux de surface par les résidus de médicaments. Les informations de présence de ces composés sont largement documentées dans la littérature mais concernent essentiellement certaines classes pharmacologiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antibiotiques et les bêta-bloquants. Aujourd'hui, un grand nombre de molécules aux propriétés physico-chimiques différentes est recherché grâce au développement de méthodes multi-résidus. Néanmoins, certaines classes de molécules très consommées sont encore peu étudiées (anxiolytiques, diurétiques, etc.). Ainsi, en élargissant l'éventail thérapeutique des molécules recherchées, l'évaluation de l'impact de ces composés sur la faune et la flore aquatiques s'en trouvera, *in fine*, plus complète.

- Le second axe vise à étudier l'impact des zones urbanisées sur les ressources en eau d'un territoire à dominante rurale. Les études menées jusqu'à présent concernent principalement les agglomérations de fortes densités de population. L'intérêt pour ces profils est tout à fait légitime puisqu'une grande partie de la contamination des milieux aquatiques par les résidus de médicaments est d'origine anthropique. Cependant, les territoires ruraux proposent une gestion des systèmes d'assainissement différente avec un grand nombre de stations d'épuration de faibles et moyennes capacités ou la présence non négligeable de systèmes d'assainissement non collectifs, par exemple. Les zones peu urbanisées disposent également de nombreux élevages pouvant contribuer à l'apport de résidus de médicaments vétérinaires. Identifier les émissions de résidus de médicaments ainsi que l'importance ou non de la contamination des eaux par ces mêmes molécules permettra d'acquérir des connaissances sur la contribution des territoires ruraux qui représentent les quatre cinquièmes du territoire français (www.senat.fr). Enfin, les résultats obtenus pourront également permettre de prioriser les actions à mettre en œuvre pour préserver les milieux aquatiques.

Afin de répondre à ces différents axes de recherche, le département de la Dordogne a été choisi comme thème central de cette étude. Peu urbanisé, ce territoire est très agricole mais possède un fort attrait touristique puisqu'il est le premier département touristique en « environnement campagne » de France. Définir la zone d'étude a, ainsi, permis de mettre en place une méthodologie de travail qui s'est articulée autour des trois lignes directrices suivantes :

- Développer des procédures de dosage de résidus de médicaments :
  - en élaborant une liste de molécules à rechercher qui puisse être la plus large possible en termes de classes pharmacologiques utilisées en médecine humaine et vétérinaire ;
  - en développant et validant une méthode de dosage multi-résidus dans les eaux naturelles via un système de préparation de l'échantillon innovant : la pré-concentration en ligne ;
  - en soumettant la méthode d'analyse à l'accréditation Cofrac (Comité français d'accréditation) qui est un gage de qualité vis-à-vis des compétences techniques.

- Déterminer l'état de la contamination des ressources en eau du département de la Dordogne par les résidus de médicaments :
  - en réalisant différentes campagnes de mesures sur le département de la Dordogne en ciblant des zones aux profils variés ;
  - en identifiant les zones d'introduction des résidus de médicaments sur ce département ;
  - en étudiant de potentielles corrélations entre deux variables (résidus de médicaments et paramètres physico-chimiques ou résidus de médicaments seuls).

- Étudier la contribution d'une agglomération de taille moyenne (Périgueux) sur la concentration en résidus de médicaments de son cours d'eau :
  - en identifiant les zones d'introduction des résidus de médicaments ;
  - en caractérisant les eaux traitées de STEP et les eaux de surface ;
  - en déterminant la contribution des principales STEP de l'agglomération à l'égard de la contamination de la zone par les composés pharmaceutiques.

CHAPITRE II

II Analyse quantitative de résidus de médicaments par pré - concentration en ligne CL-SM/SM

Comme relevé dans l'étude bibliographique, les résidus de médicaments peuvent être présents dans les eaux naturelles à de très faibles concentrations (de l'ordre du $ng.L^{-1}$). Leur détection et quantification nécessitent l'utilisation de méthodes sensibles, capables de détecter des molécules à l'état de trace voire de l'ultra-trace. Cette quête éternelle de la sensibilité reste, malgré tout, tributaire de l'instrumentation utilisée mais surtout de l'étape d'extraction.

Aujourd'hui, il n'existe pas de réglementation concernant la surveillance des résidus de médicaments dans l'environnement. Différents travaux de priorisation ont été réalisés [Anses, 2008 ; thèse Besse, 2010] mais à ce jour, il n'existe aucune liste de molécules prioritaires au niveau national. Dans le cadre de notre travail de thèse, une priorisation a été réalisée en accord avec plusieurs études menées en France mais aussi dans différents pays européens. La première partie de ce chapitre s'attache, ainsi, à illustrer les différents critères ayant mené à l'élaboration d'une liste de résidus adaptée au territoire étudié : le département de la Dordogne.

La seconde partie de ce chapitre a pour vocation principale de décrire les différentes démarches qui ont contribué au développement d'un protocole analytique sensible et robuste pour la recherche de résidus de médicaments dans les eaux naturelles.

II.1. Élaboration de la liste des molécules d'intérêt

II.1.1. Liste initiale

La réalisation d'un premier état des lieux de la contamination en résidus de médicaments de plusieurs cours d'eau a été l'un des principaux objectifs de l'étude. De ce fait, aucune classe pharmacologique n'a été privilégiée. Le souhait d'élargir l'éventail thérapeutique des molécules à rechercher tout en minimisant le nombre de protocoles analytiques a d'emblée été établi dans un souci de temps et de coût.

Le territoire étudié est une zone faiblement urbanisée et industrialisée. En revanche, le secteur agricole, et notamment les élevages de bovins, volailles et ovins, est assez présent. Bien que l'urbanisation ne soit pas dominante, les variations saisonnières dues au tourisme ainsi que la présence de nombreuses filières d'assainissement de tailles moyennes pour le traitement des eaux usées en font un secteur prédisposé aux pollutions urbaines.

Une première liste de molécules a été élaborée par le Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de la Dordogne en 2008 (tableau II-I). Ces composés ont été retenus suite à une rapide étude bibliographique et ont été utilisés comme point de départ pour la réalisation d'une liste de molécules plus complète.

Tableau II-I Molécules sélectionnées lors d'un précédent projet réalisé par le LDAR 24.

Classe pharmacologique	Composé	Métabolite
Antalgique	paracétamol	acide salicylique
Anti-inflammatoires non stéroïdiens	diclofénac, ibuprofène, kétoprofène	
Antibiotiques	sulfaméthoxazole, triméthoprime	
Antiépileptique	carbamazépine	
Antifongiques	clotrimazole	
Béta-bloquants	aténolol	
Diurétique	furosémide	
Hormones stéroïdiennes	17-α-éthynilestradiol, 17-β-éthynilestradiol, 17-β-estradiol, estrone, progestérone, testostérone	
Hypolipidémiants	bézafibrate, fénofibrate	acide-4-chlorobenzoïque

II.1.2. Liste Anses

Par la suite, la sélection des molécules à rechercher s'est majoritairement basée sur la hiérarchisation des résidus de médicaments qu'a réalisée l'Anses en 2008. Cette liste comporte quarante-deux médicaments à usage humain ainsi que onze métabolites et vingt-trois médicaments à usage vétérinaire. Dans cette étude, le choix des résidus a été réalisé selon trois critères :

- le tonnage (quantité consommée en France en un an) ;
- l'affinité pour l'eau (solubilité) ;

- l'activité des molécules en utilisant la posologie minimale pour les médicaments humains et l'activité des molécules en utilisant la dose journalière admissible pour les médicaments à usage vétérinaire.

La hiérarchisation est effectuée en calculant un indice de « criticité » à l'aide des trois paramètres précédents. Pour les médicaments humains, certaines corrections ont été apportées en fonction du métabolisme, de l'accessibilité des produits et de la représentativité au sein d'une même classe thérapeutique.

II.1.3. Liste finale

Dans le cadre des travaux de cette thèse et pour des raisons pragmatiques, cette liste a été affinée en fonction des besoins liés à l'étude de la contamination en résidus de médicaments des cours d'eau du département de la Dordogne. Les différents critères ayant permis d'ajouter ou d'éliminer certaines molécules de la liste proposée par l'Anses sont :

- la consommation en médicaments sur le territoire de la Dordogne ainsi que les différentes activités agricoles (élevages) ;
- l'occurrence des résidus de médicaments à partir de la littérature nationale et internationale ;
- le métabolisme et l'élimination des résidus ;
- la faisabilité analytique et économique.

Ces différents critères sont décrits dans la partie suivante.

II.1.4. Critères de sélection

II.1.4.1. Consommations locales et élevages

Afin d'adapter la liste des molécules cibles aux caractéristiques sanitaires et économiques de la zone étudiée, les médicaments les plus consommées dans plusieurs centres de soins du département de la Dordogne durant l'année 2009 ainsi que les activités agricoles ont été pris en considération. Les enquêtes réalisées auprès des hôpitaux et des cliniques ont permis de mettre en évidence l'utilisation courante des molécules suivantes :

- alprazolam ;
- bromazépam ;
- diazépam ;
- furosémide (liste Anses) ;
- lorazépam ;
- méprobamate ;
- oxazépam (liste Anses) ;
- paracétamol (liste Anses) ;
- zolpidem.

Les types d'élevages, et notamment les piscicultures, ont permis de cibler les composés suivants :

- acide oxolinique ;
- chloramphénicol (usage vétérinaire interdit dans l'Union Européenne selon la Commission de Régulation (UE) n°37/2010 mais détecté dans les eaux de surface et les sédiments en Espagne [Gros *et al.*, 2009 ; Silva *et al.*, 2011]) ;
- enrofloxacine ;
- fluméquine ;
- oxytétracycline (liste Anses) ;
- sulfadiazine ;
- triméthoprime.

II.1.4.2. Occurrence des résidus de médicaments

La détection répétée de certains résidus dans les différents compartiments aquatiques a été un des facteurs discriminants dans l'élaboration d'une liste définitive de molécules à rechercher. Une revue bibliographique d'environ trente références a ainsi permis d'éliminer certains composés issus de la liste proposée par l'Anses mais aussi d'étendre le choix des molécules cibles. Les molécules ajoutées sont toutes des composés parents excepté pour l'érythromycine-H_2O qui est le métabolite de l'érythromycine. Il s'agit, ici, d'un cas particulier puisque, en milieu acide, l'érythromycine n'est présent que sous sa forme métabolisée [Hirsch *et al.*, 1998]. Par conséquent, dans un milieu naturel légèrement acide ou dans des conditions d'extraction en milieu acide, la recherche du métabolite est plus pertinente.

L'étude bibliographique a permis d'ajouter les molécules suivantes :

- clarithromycine ;
- érythromycine-H_2O ;
- gemfibrozil ;
- naproxène ;
- norfloxacine ;
- propranolol.

II.1.4.3. Métabolisme et élimination des résidus de médicaments

L'élimination des médicaments de l'organisme humain emprunte plusieurs voies parmi lesquelles fait partie le métabolisme. Elle correspond à la transformation d'un médicament en un ou plusieurs composés de manière à en faciliter l'élimination en les rendant hydrosolubles. Ainsi, les molécules excrétées peuvent être éliminées, entre autres, par voies rénales et hépatiques.

L'élimination des résidus par l'organisme est à prendre en considération dans la recherche de contaminants dans l'environnement car il peut être plus intéressant de rechercher les métabolites plutôt que le composé parent en fonction de la métabolisation du principe actif initial. La fraction excrétée du composé parent est définie par le Fexcreta. Les métabolites de phase I (oxydation, réduction et hydrolyse) ainsi que les composés glucuroconjugués sont pris en considération pour la détermination de ce paramètre.

Afin de déterminer les concentrations environnementales prédites (Predicted Environmental Concentration – PEC en anglais) selon le modèle EMA, Besse et Garric (2007) ont mis en place une méthodologie (figure II-1) permettant, dans la mesure du possible, de déterminer les Fexcreta de composés pharmaceutiques à usage humain.

Le paramètre Fexcreta (compris entre 0 et 1) a été une des données employées pour sélectionner certaines molécules à rechercher. Les Fexcreta, déterminés par Besse et Garric (2008), ont permis, parmi les statines par exemple, de privilégier la pravastatine (Fexcreta de 0,5) par rapport à la simvastatine et l'atorvastatine (Fexcreta de 0,01). Pour les benzodiazépines, ce critère a également corroboré le choix de l'oxazépam et du lorazépam (Fexcreta de 1 et 0,85 respectivement). En revanche, l'alprazolam, le diazépam et le bromazépam qui possèdent des Fexcreta compris entre 0,03 et 0,01, ont tout de même été conservés au vu des données de consommation locale que nous ont fournies divers hôpitaux et cliniques du département de la Dordogne.

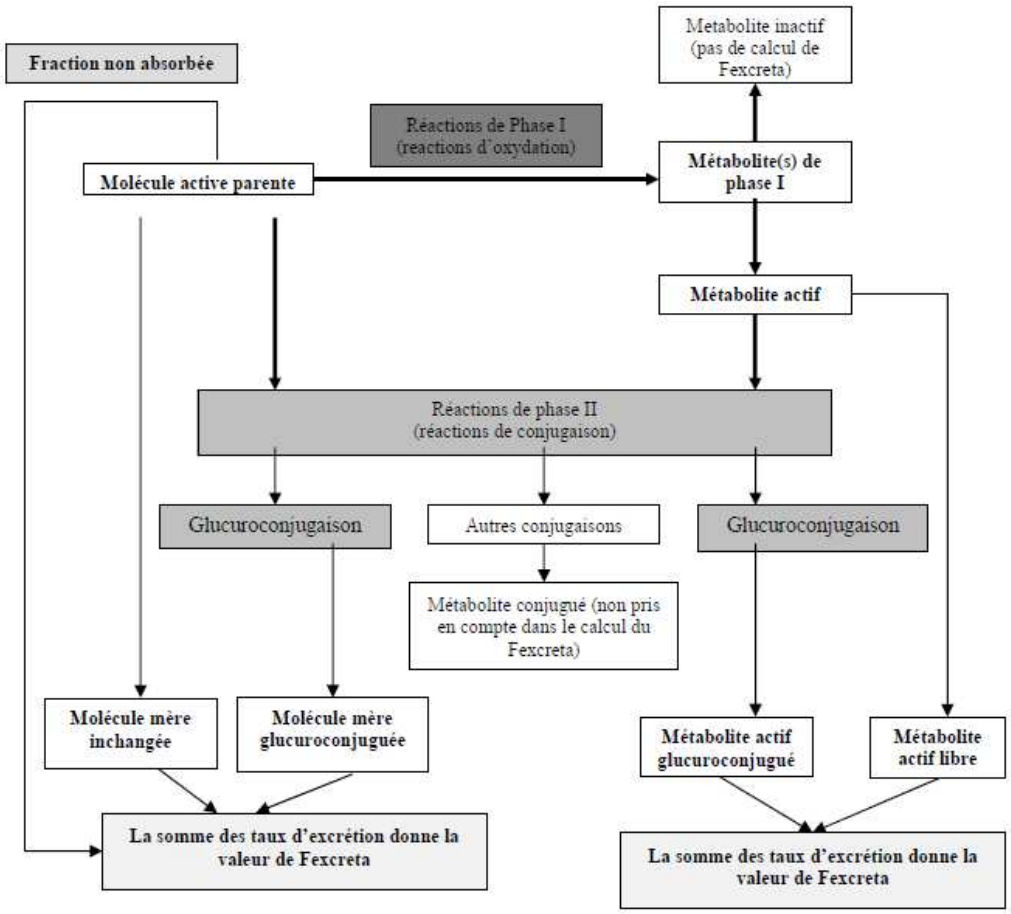


Figure II-1 Méthodologie développée par Besse et Garric pour la détermination des Fexcreta [Besse et Garric, 2007].

II.1.4.4. Faisabilités analytiques et économiques

La faisabilité analytique a été un des critères les plus discriminants. Pour des raisons de planification des travaux mais aussi pour des raisons économiques, développer plusieurs protocoles analytiques n'a pas été envisageable. Ainsi, au cours des premiers développements, certains résidus ont dû être éliminés de la liste des molécules à rechercher. Parmi ces molécules, certains composés très utilisés comme l'oxytétracycline et le métabolite de l'acide acétylsalicylique, l'acide salicylique, n'ont pu être dosés. Enfin, selon des considérations économiques, certains standards n'ont pu être acquis et introduits dans la méthode comme le salbutamol (coût supérieur à 300 euros pour 100 mg), par exemple.

II.1.5.Molécules retenues et propriétés physico-chimiques

Après avoir pris en compte les différents critères décrits précédemment, quarante molécules ont été sélectionnées. Les paramètres physico-chimiques ainsi que les classes pharmacologiques des composés sont regroupés dans le tableau II-II. Les formules topologiques des molécules sont en annexe 1.

A titre de comparaison, la liste proposée possède quelques similitudes avec des listes de molécules déjà développées par différents organismes. La liste retenue contient :

- treize composés (a) qui figuraient parmi les trente huit recherchés dans les rejets et les eaux superficielles dans le cadre du projet Amperes (projetamperes.cemagref.fr) ;
- dix huit composés (b) qui figurent parmi les cinquante six proposés par l'Irstea pour les milieux aquatiques [Besse et Garric, 2007] ;
- dix neuf composés (c) sur les vingt neuf recherchés par le BRGM lors d'une étude des eaux souterraines et superficielles menée sur le bassin Loire Bretagne [Togola *et al.*, 2008] ;
- dix sept composés (d) sur les quarante cinq recherchés par l'Anses dans les eaux destinées à la consommation sur le territoire français [Anses, 2011].

Tableau II-II Propriétés physico-chimiques des quarante molécules retenues (d'après Gros *et al.*, 2006 ; Kasprzyk-Horden *et al.*, 2008 ; Syrres, 2012) et consommation annuelle (tonnage en kg) en France en 2004 [Thèse Besse, 2010]. Les noms des molécules en italique représentent les métabolites sauf pour l'oxazépam qui est un composé parent en plus d'être un métabolite.

Classe pharmacologique	Composé	MM ($g.mol^{-1}$)	pK_a à 25°C	Log K_{ow}	S dans l'eau à 25°C ($mg.L^{-1}$)	Tonnage en 2004 (kg)
Analgésique	Paracétamol[a, b, c, d]	151,17	9,38	0,46	14000	3303077
AINS	Diclofénac[a, b, c]	296,16	4,15	4,51	2,37	9896
	Ibuprofène[a, b, c, d]	206,29	4,91	3,97	21	240024
	Kétoprofène[a, b, c, d]	254,29	4,45	3,12	51	21697
	Naproxène[a, b, c]	230,27	4,15	3,18	15.9	37332
Antibiotiques	Acide oxolinique	261,24	6,87	0,94	3,2	-
	Chloramphénicol	323,13	11,0	1,14	2500	-
	Clarithromycine[b]	747,97	8,99	3,16	0,342	15105
	Enrofloxacine	359,40	-	0,70	3400	-
	Erythromycine[b, d]	733,95	8,88	3,06	1,44	-
	Erythromycine-H_2O	715,92	-	-	-	-
	Fluméquine	261,26		1,60	2190	-
	Monensin[d]	670,89	4,3	5,43	0,003	-
	Norfloxacine	319,34	-	-1,03	178000	-
	Ofloxacine[b, d]	361,38	-	-0,39	28300	4137
	Sulfadiazine	250,28	6,36	-0,09	77	-
	Sulfaméthazine[d]	278,33	7,59	0,89	1500	-
	Sulfaméthoxazole[a, b]	253,28	6,0	0,89	610	16730
	Triméthoprime[b]	290,32	7,12	0,91	400	3346
Anticancéreux	Cyclophosphamide[b, d]	261,09	-	0,63	40000	281,84
	Ifosfamide[b, d]	261,09	-	0,86	3780	121,38
Antiépileptiques	*10,11 époxycarbamazépine*[d]	252,27	-	-	-	-
	Carbamazépine[a, b, c, d]	236,28	13,9	2,45	17,7	33514
Antifongique	Clotrimazole[c]	344,85	-	6,26	0,0101	
Antihistaminique H2	Ranitidine[b, d]	314,40	2,7-8,2	0,27	24700	11656
Anxiolytiques	Alprazolam[a, c]	308,77	-	2,12	13,1	178
	Bromazépam[a, c]	316,16	-	2,05	175	2604

Classe pharmacologique	Composé	MM ($g.mol^{-1}$)	pK_a à 25°C	Log K_{ow}	S dans l'eau à 25°C ($mg.L^{-1}$)	Tonnage en 2004 (kg)
	Diazépam[a, c]	284,75	3,4	2,82	50	526
	Lorazépam[c]	321,17	13,0	2,39	80	585
	Oxazépam[b, c, d]	286,72	-	2,24	179	6195
Béta-bloquants	Aténolol[a, b, c, d]	266,34	9,6	0,16	13300	18337
	Propranolol[a, b, c]	257,34	9,42	3,48	61,7	12487
Diurétique	Furosémide[b, c, d]	330,75	3,9	2,03	73,1	21288
Hormones stéroïdiennes	Progestérone[b, d]	314,47	-	3,87	8,81	-
	Testostérone	288,43	-	3,32	23,4	-
Hypolipidémiants	*Acide-4-chlorobenzoïque*[c]	156,57	3,98	2,65	72	-
	Bézafibrate[b, c]	361,83	-	4,25	0,355	20852
	Fénofibrate[c]	360,84	-	5,19	0,418	85670
	Gemfibrozil[a, b, c]	250,34	-	4,77	10,9	-
	Pravastatine[b, d]	446,00	-	3,1	-	10969

II.2. Matériels et méthodes

II.2.1. Réactifs, consommables et matériels courants de laboratoire

Les réactifs et consommables courants utilisés pour le dosage des résidus de médicaments sont exposés ci-dessous :

- Molécules recherchées de qualité analytique (pureté > 97 %) :
  - 10,11 époxycarbamazépine, acide 4-chlorobenzoïque, acide oxolinique, alprazolam, aténolol, bézafibrate, bromazépam, carbamazépine, chloramphénicol, clarithromycine, clotrimazole, cyclophosphamide monohydraté, diazépam, érythromycine, enrofloxacine, fluméquine, furosémide, ibuprofène, ifosfamide, kétoprofène, lorazépam, naproxène, norfloxacine, oxazépam, paracétamol, pravastatine sodique, progestérone, propranolol hydrochloride, ranitidine hydrochloride, sulfadiazine, sulfaméthazine, sulfaméthoxazole, testostérone et triméthoprime, Sigma-Aldrich (St Louis, MO, États-Unis) ;
  - diclofénac sodique, fénofibrate, gemfibrozil, ofloxacine, Cluzeau Info Labo (Sainte-Foy-La-Grande, France) ;
  - monensin, Fischer Scientific (Waltham, MA, États-Unis).

- Molécules marquées (étalons internes):
  - aténolol *d7*, carbamazépine *d10*, diclofénac *d4*, kétoprofène *d3*, gemfibrozil *d5*, ibuprofène *d3* , norfloxacine *d5*, oxazépam *d5*, C/D/N Isotopes (Québec, Canada);
  - chloramphénicol *d5* et sulfaméthoxazole *d4*, Dr Ehrenstorfer (Augsburg, Allemagne);
  - paracétamol *d4*, LGC Promochem (Teddington, Royaume-Uni).

- Contrôles qualité :
  - les mélanges à façon utilisés pour la préparation des contrôles qualité ont été commandés auprès de la société Cluzeau Info Labo (Sainte-Foy-la-Grande, France). Ces solutions, préparées dans l'acétonitrile,

contiennent l'ensemble des molécules cibles à une concentration de 10 $mg.L^{-1}$.

- Solvants :
  - acide formique (98 %), J.T. Backer (Mansfield, MA, États-Unis) ;
  - acétonitrile de qualité CL-SM, Carlo Erba (Val de Reuil, France) ;
  - eau purifiée obtenue grâce à un système Milli-Q (Billerica, MA, États-Unis). La résistivité de cette eau est de 18 MΩ.cm et la concentration du carbone organique dissous est inférieure à 0,1 $mg.L^{-1}$.

- Autres réactifs :
  - acide chlorhydrique 30 %, Merck KgaA (Darmstadt, Allemagne) ;
  - méthanol de qualité CL-SM, Carlo Erba (Val de Reuil, France) ;
  - hydroxyde de sodium 1 N, VWR (Radnor, PA, États-Unis) ;
  - acétate d'ammonium, Fischer Scientific (Waltham, MA, États-Unis) ;
  - eau minérale Evian® ;
  - N_2 distribué par un générateur d'azote, Claind (Lenno, Italie) ;
  - argon d'une pureté globale > 99,9999 %, Air Liquide (Paris, France).

- Consommables :
  - filtres seringue en fibre de verre (1 µm) fabriqués par Macherey-Nagel (Düren, Allemagne) ;
  - seringues stériles sans aiguille de 10 mL, Becton Dickinson (Frankin Lakes, NJ, Etats-Unis) ;
  - vials et bouchons pré-percés avec septum en PTFE fournis par Macherey-Nagel (Düren, Allemagne).

- Matériels courants de laboratoire :
  - Fioles jaugées en verre borosilicaté à col rodé de classe A de 50 mL (ambrées) et 100 mL, Duran (Wertheim, Allemagne) ;
  - balance de précision (e = 1 mg) Sartorius MC210P (Goettingen, Allemagne).

II.2.2. Solutions de travail

Une solution d'environ 100 $mg.L^{-1}$ a été préparée pour chaque molécule cible et étalon interne excepté pour l'acide oxolinique qui a été dissous dans un mélange méthanol – 5 % NaOH (0.1 M). L'érythromycine-H_2O, quant à elle, a été mise en solution selon le protocole proposé par Mc Ardell *et al.*, 2003. Les masses pesées sont conservées pour le calcul de la concentration réelle.

Les solutions de travail ont été préparées dans l'acétonitrile à une concentration de 1 $mg.L^{-1}$. Ces solutions sont renouvelées tous les mois et conservées au congélateur à -22°C ± 4°C.

II.2.3. Utilisation d'une eau minérale de référence

L'eau minérale Evian® est une matrice qui a été utilisée comme référence dans les différents développements de ce travail. Dans le protocole de dosage des résidus de médicaments dans les eaux naturelles, l'eau Evian® est utilisée pour la préparation de la gamme d'étalonnage,

des contrôles qualités mais aussi des blancs. La constance des paramètres physico-chimiques (tableau II-III) de cette eau lui confère un avantage non négligeable. Elle possède, également, une minéralité comparable à celle de certaines eaux retrouvées sur le territoire du département de la Dordogne.

Tableau II-III Composition minérale et pH de l'eau Evian®.

Paramètres	Concentrations
Ca^{2+}	80 mg.L^{-1}
Mg^{2+}	26 mg.L^{-1}
Na^{+}	6,5 mg.L^{-1}
K^{+}	1 mg.L^{-1}
SiO_2	15 mg.L^{-1}
HCO_3^{-}	360 mg.L^{-1}
SO_4^{2-}	12,6 mg.L^{-1}
Cl^{-}	6,8 mg.L^{-1}
NO_3^{-}	3,7 mg.L^{-1}
Résidu sec à 180°C	309 mg.L^{-1}
pH	7,2

II.2.4.Contrôles qualité

Pour s'assurer du bon fonctionnement du protocole analytique et pour contrôler la dérive dans le temps du système analytique, plusieurs contrôles qualité ont été mis en place pour :

- s'assurer de la sensibilité du système analytique en plaçant des standards des composés cibles de concentrations équivalentes aux limites de quantification à la fin de chaque série ;
- vérifier la justesse de l'étalonnage grâce à des contrôles qualité (100 ng.L^{-1} selon les composés) préparés dans l'eau minérale Evian®. Ces points sont suivis par carte de contrôle ce qui permet aussi d'ajuster les incertitudes ;
- contrôler la robustesse de la méthode au moyen de dopage de 100 ng.L^{-1} d'échantillons réels (parmi ceux analysés) ;
- prévenir les contaminations liées à la préparation de l'échantillon et celles liées au système analytique seul en analysant respectivement des blancs « méthodes » (eau Evian®) et des blancs « instrumentaux » (vials vides).

Les dopages de 100 ng.L^{-1} dans l'eau Evian® et les échantillons analysés sont préparés à partir d'une solution indépendante de celle utilisée pour la gamme d'étalonnage en vue de vérifier la justesse de la méthode.

II.2.5.Échantillons

Les échantillons sont prélevés dans des flacons en verre brun de 250 mL préalablement calcinés à 550°C pendant deux heures. Lors des prélèvements d'eau potable (eaux destinées à la consommation humaine des réseaux de distribution) et afin d'éviter toute dégradation des composés liée à la présence de chlore, l'ajout de thiosulfate de sodium est réalisé pour les échantillons d'eaux du réseau (600 µL d'une solution à 60 g.L^{-1} pour un litre).

Dès réception, les échantillons sont filtrés sur fibre de verre (1 µm). Ils sont analysés sous vingt-quatre heures et stockés au réfrigérateur à 4°C ± 2°C.

II.2.6.Instrumentation

Le système analytique utilisé pour le dosage des résidus de médicaments est l'EQuan MAX (figure II-2) commercialisé par la société Thermo Fisher Scientific. Cet outil est composé de deux compartiments distincts : le chromatographe liquide, qui comprend le système de pré-concentration liquide, et le spectromètre de masse.

Figure II-2 Système de pré-concentration en ligne et chromatographe liquide couplé à un spectromètre de masse en tandem (modèle Equan MAX).

II.2.6.1. Pré-concentration en ligne et chromatographie liquide

Le système chromatographique utilisé comprend :

- une pompe « Surveyor Plus HPLC » pour la pré-concentration en ligne ;
- une pompe « Accela 1250 U-HPLC » pour l'élution et la séparation des analytes ;
- un passeur d'échantillons ouvert Accela (HTC PAL – figure II-3) lui-même composé :
  - de compartiments thermostatés à 4°C pour la conservation des échantillons ;
  - d'une seringue de 2 500 µL ;
  - d'une boucle d'injection de 1 mL ;
  - de deux vannes six voies supportant les hautes pressions ;
  - d'une vanne six voies.

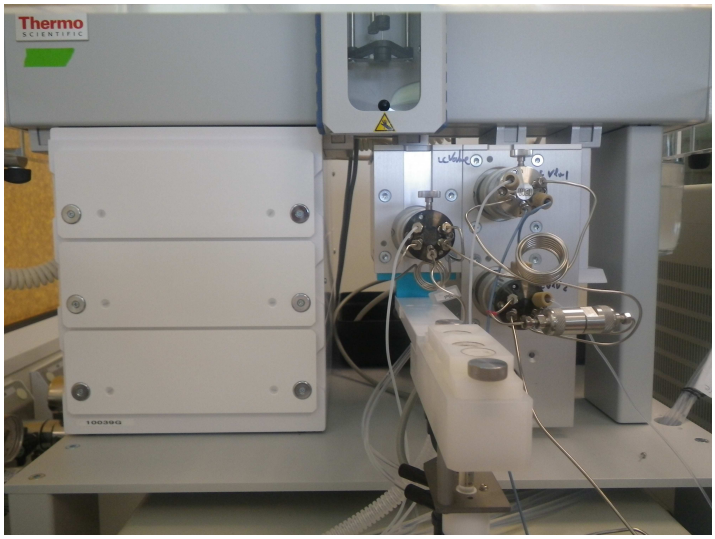


Figure II-3 Passeur d'échantillon Accela et système de pré-concentration en ligne.

Les colonnes utilisées sont :

- pour la pré-concentration en ligne (après optimisation):
  - une colonne Strata-X de type styrène divinylbenzène (20 mm x 2.0 mm, 21 µm) de la marque Phenomenex pour le mode d'ionisation positif ;
  - une colonne Hypersil Gold C_{18} (20 mm x 2.1 mm, 12 µm) de la marque Thermo Fisher Scientific pour le mode d'ionisation négatif.
- pour la séparation des composés cibles :
  - une colonne Hypersil Gold C_{18} (150 mm x 2.1, 3 µm) de la marque Thermo Fisher Scientific pour le mode d'ionisation positif ;
  - une colonne Hypersil Gold C_{18} (100 mm x 2.1 mm, 3 µm) de la marque Thermo Fisher Scientific pour le mode d'ionisation négatif.

Les solvants utilisés sont :

- pour le chargement de l'échantillon :
  - H_2O+0,05 % HCO_2H pour le mode d'ionisation positif ;
  - H_2O pour le mode d'ionisation négatif ;
- pour l'élution des analytes :
  - H_2O+0,05 % HCO_2H (solvant A) et acétonitrile+0,05 % HCO_2H (solvant B) pour le mode d'ionisation positif ;
  - H_2O (solvant A) et acétonitrile (solvant B) pour le mode d'ionisation négatif.

Dans le système de préconcentration en ligne, l'extraction des résidus de médicaments se compose de deux phases majeures :

- la première, qualifiée d'étape de chargement, permet aux composés d'intérêts de s'adsorber sur la phase stationnaire de la colonne de capture ;
- la seconde, dite étape d'élution, permet la désorption des analytes dans le sens contraire du chargement de l'échantillon (*backflush*). Les composés sont entraînés dans la colonne chromatographique pour y être séparés.

Ces deux étapes sont représentées sur la figure II-4.

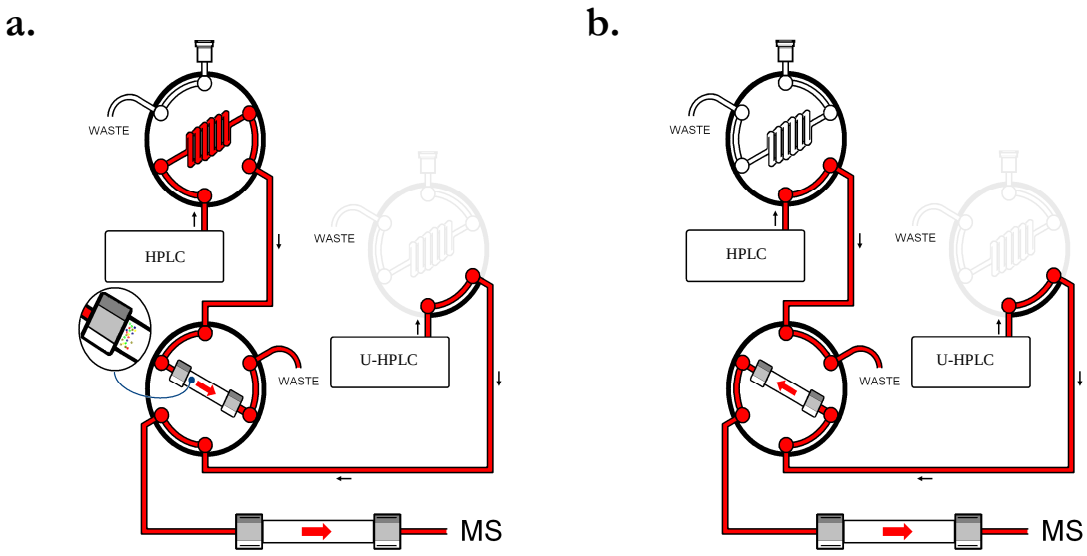


Figure II-4 Schéma des deux principales étapes qui composent le système de pré-concentration en ligne: (a.) le chargement de l'échantillon et (b.) l'élution des analytes (d'après Thermo Fisher Scientific).

De manière chronologique, la seringue prélève 1 mL d'échantillon puis l'introduit dans l'injecteur de la vanne dédiée à cet effet. Un premier système de pompage va pré-concentrer l'échantillon dans la colonne de capture pendant 4 min. Le chargement achevé, un second système de pompage va entraîner la désorption des analytes en appliquant le gradient d'élution destiné à la séparation chromatographique. Enfin, pendant que la colonne chromatographique est reconditionnée, la pompe utilisée pour le chargement de l'échantillon rééquilibre la colonne de capture dans les conditions de chargement.

Ce système nécessite donc une optimisation de la nature des solvants et du débit utilisés lors de l'étape de pré-concentration en fonction des molécules recherchées.

II.2.6.2. Spectrométrie de masse en tandem

Le système chromatographique est couplé au TSQ Vantage, un spectromètre de masse de type triple quadripôles commercialisé par la société Thermo Fisher. Cet appareil comprend :

- une source « Ion Max » avec sondes interchangeables (APCI et ESI) ;
- une sonde chauffée pour l'électrospray (modèle H-ESI II) ;
- deux analyseurs de type quadripôle hyperbolique (Q1 et Q3) ;
- une cellule de collision (quadripôle carré en angle droit - q2) ;
- un photomultiplicateur d'électrons pour la détection.

Le mode de quantification utilisé pour l'analyse des résidus de médicaments est le SRM (Selected Reaction Monitoring). Ce mode consiste à isoler un ion (ion parent ou précurseur) à l'aide d'un premier analyseur (Q1), de le fragmenter dans une cellule de collision (q2) puis de sélectionner un deuxième ion (ion fils ou produit) issu de la fragmentation de l'ion parent. Ce couple d'ions constitue une transition. Quand la fragmentation le permet, deux transitions sont sélectionnées pour chaque composé.

La confirmation d'un résultat est décrite selon la décision 2002/657/CE du Journal officiel des Communautés européennes. Cette décision définit des critères communs pour

l'interprétation des résultats et dans le cas d'analyses utilisant la spectrométrie de masse en tandem, la présence d'un résidu est confirmée par les points d'identification suivants :

- le temps de rétention de l'analyte (t_r) ;
- la transition ion parent > ion fils utilisée pour la quantification ;
- la transition ion parent > ion fils utilisée pour la confirmation (quand cela est possible) ;
- et le rapport « signal ion confirmation/signal ion quantification ».

Les critères d'acceptation relatifs au ratio des ions de confirmation et de quantification sont reportés dans le tableau II-IV.

Tableau II-IV Critères d'acceptation appliqués pour l'identification des composés quantifiés par CL-SM/SM.

Critères d'acceptation			
Temps de rétention relatif	**Rapport Signal/Bruit**	**Rapport d'ions confirmation / quantification**	**Fourchette (%)**
t_r échantillon / t_r standard > ± 2.5 % par rapport à l'échantillon	Doit être > 3	Si >50 % Si > 20 % et <= 50 % Si > 10% et <= 20 % Si <= 10 %	20 % 25 % 30 % 50 %

II.3. Développement analytique

II.3.1.Conditions de détection

II.3.1.1. Paramètres du spectromètre de masse

Cette partie s'attache à décrire le développement de la méthode de dosage ainsi que les résultats obtenus. Le travail d'optimisation est présenté de manière chronologique. Bien qu'un échantillon soit toujours extrait avant d'être analysé, les étapes de développement sont tout autre puisqu'elles nécessitent de débuter par l'optimisation des conditions de détection avant d'effectuer le développement des conditions d'extraction.

Enfin, le choix de différencier les modes positif et négatif a été opéré dès le début du travail. Le spectromètre de masse utilisé permet pourtant d'alterner l'ionisation positive et l'ionisation négative lors de l'analyse d'un même échantillon. Cependant, dans un souci de gain de sensibilité, de dosage d'un grand nombre de molécules et parce que l'étape extraction est réalisée en ligne, deux protocoles ont été élaborés.

II.3.1.1.1. Infusion des molécules cibles

L'optimisation des paramètres propres au spectromètre de masse a été réalisée en infusant une solution de chaque molécule d'intérêt avec une connexion en « T » (figure II-5). Ce système permet d'introduire en continu l'analyte et la phase mobile dans la source tout en étant le plus proche possible des conditions d'élution. La mise au point est réalisée à partir d'une solution de 1 $mg.L^{-1}$. La phase mobile (débit de 300 $\mu L.min^{-1}$) est composée à 50 % d'eau et à 50 % d'acétonitrile (acidifiée ou non en fonction du mode d'ionisation). Les différents éléments optimisés sont :

- les paramètres de la source d'ionisation ;
- la détermination des transitions ion parent > ions fils et l'optimisation de l'optique ionique.

Les résultats obtenus pour ces deux axes de développement sont détaillés ci-après.

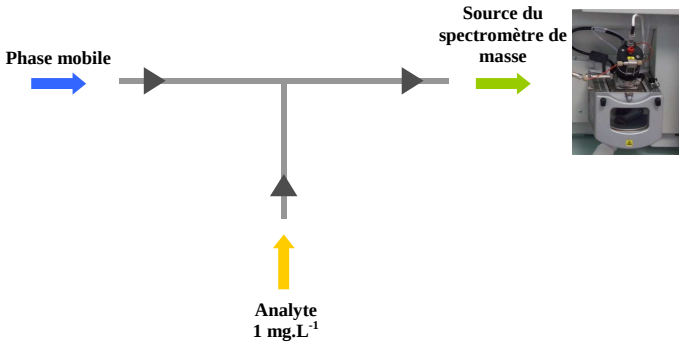


Figure II-5 Système d'infusion à l'aide d'un « T ».

II.3.1.1.2. Réglage de la source d'ionisation

Les paramètres de réglage de la source d'ionisation sont déterminants puisqu'ils conditionnent, en partie, la sensibilité attribuée à chaque composé car seule la fraction ionisée est détectée. Le développement est réalisé sur des paramètres qui seront déterminés pour l'ensemble des molécules ciblées. Ces paramètres, que sont les gaz favorisant l'ionisation des molécules, la tension appliquée à l'aiguille métallique, la position de la sonde, la température de vaporisation (chauffage de la sonde) ainsi que la température du tube de transfert, sont le fruit de compromis dans le but d'obtenir un spray stable. La difficulté de l'optimisation est ainsi mise en exergue par la présence d'un nombre de composés conséquent et le caractère « permanent » des réglages de la source. Ces paramètres ont été définis en fonction de la réponse des molécules les moins sensibles tout en garantissant un signal intense pour le plus grand nombre de composés. Le tableau II-V regroupe les paramètres de réglage choisis de la source pour les modes d'ionisation positif et négatif.

Simultanément à ces optimisations de réglage de source, s'ajoute le choix de la pression du gaz de collision utilisé pour la fragmentation, paramètre lié au quadripôle (q2). C'est un paramètre fixé pour l'ensemble de la méthode de dosage.

Tableau II-V Paramètres de la source d'ionisation et de la cellule de collision pour les modes d'ionisation positif et négatif.

	ESI-	ESI+
Tension de l'aiguille métallique (*spray voltage*)	3000 V	3500 V
Pression du gaz ionisant (*sheath gas*)	35 ua*	40 ua
Pression du gaz auxilliaire (*auxiliary gas*)	15 ua	10 ua
Gaz de balayage (*sweep gas*)	0,5 ua	0,5 ua
Température du tube de transfert	350°C	350°C
Température de vaporisation	250°C	100°C
Pression du gaz de collision	1 mTorr	1,5 mTorr

*ua : unité arbitraire

II.3.1.1.3. Transitions ion parent > ion fils et optique ionique

L'infusion des solutions de chaque composé a également permis de déterminer les transitions les plus favorables pour leur dosage ainsi que le réglage optimal de l'optique ionique, paramètre spécifique à chaque ion en mode SM[2]. La tension appliquée aux lentilles ioniques (S-Lens) dépend de la masse de la molécule recherchée, de la température de la ligne de transfert ainsi que du débit de la phase mobile.

Les ions parents retenus sont les ions pseudo-moléculaires $[M+H]^+$ ou $[M-H]^-$ selon le mode d'ionisation excepté pour le monensin qui s'ionise en formant un adduit sodium $[M+Na]^+$. Quand le composé le permettait, deux ions fils ont été retenus pour la quantification et la confirmation. La fidélité intermédiaire[2] dans les eaux de surface (n = 5) et l'abondance de l'ion ont été des critères décisifs pour le choix des ions de quantification et de confirmation. En effet, comme l'illustre la figure II-6 dans le cas du furosémide, il s'est avéré que l'ion le plus abondant (328,9 / 285,0) dans l'eau ultra-pure se révèle être moins sélectif dans une eau de surface.

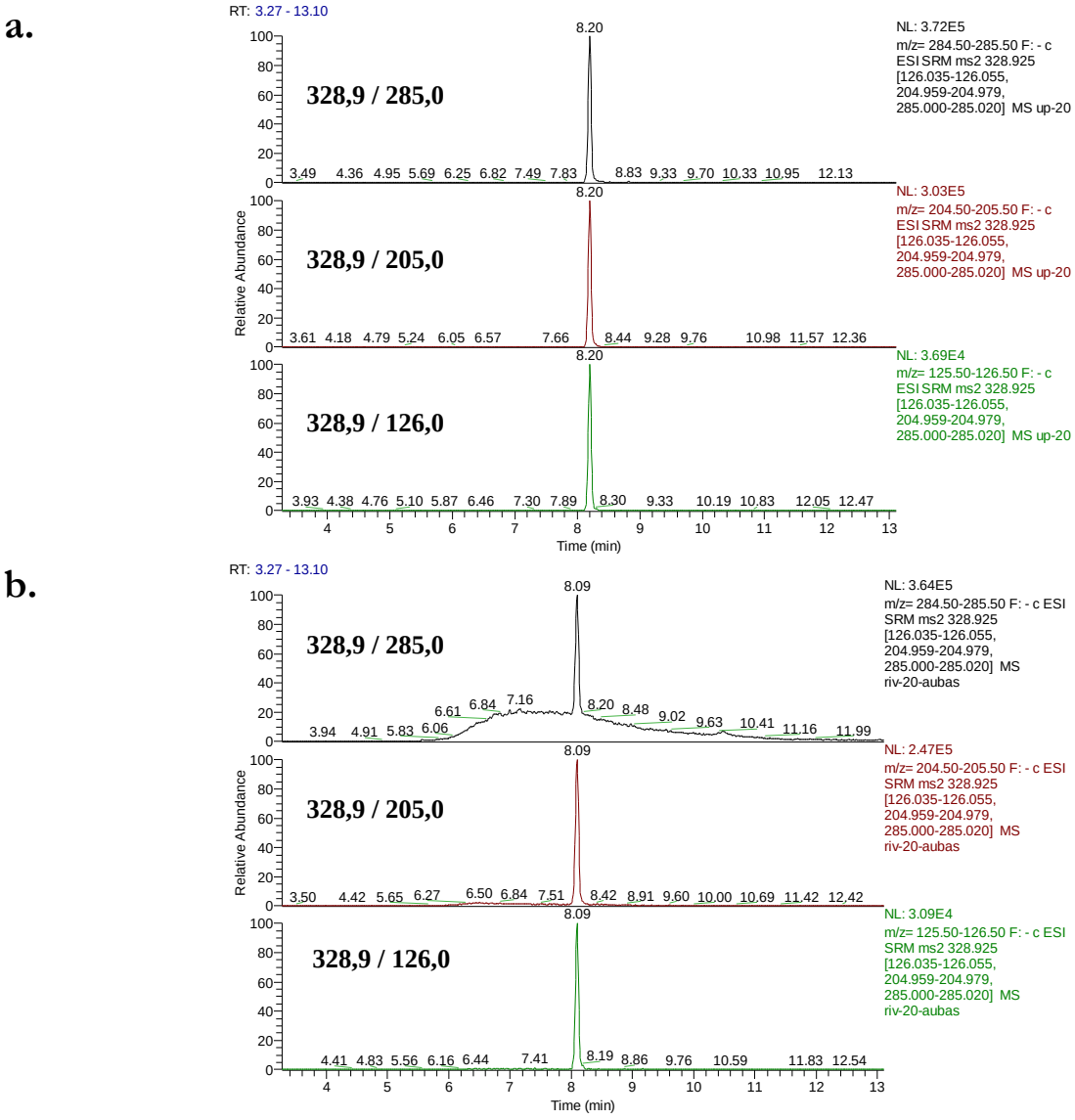


Figure II-6 Transitions du furosémide dans (a.) l'eau ultra-pure et dans (b.) une eau de rivière supplémentées à 20 ng.L^{-1}.

[2] La fidélité intermédiaire permet de déterminer la variabilité des mesures liée à l'application d'une même procédure, sur un lieu précis en faisant varier certaines conditions expérimentales (jour de l'analyse, opérateur, etc.).

L'optimisation des énergies de collision permet de maximiser l'abondance des ions fils. Elle a été réalisée, pour chaque transition, automatiquement grâce au logiciel puis affinées manuellement. Les paramètres spécifiques à chaque molécule sont regroupés dans le tableau II-VI.

Tableau II-VI Transitions SRM et paramètres inhérents au spectromètre de masse pour chaque composé.

Composés	Ion parent (m/z)	Transition de quantification (m/z)	Énergie de collision (eV)	Transition de confirmation (m/z)	Énergie de collision (eV)	S-Lens
		Mode négatif				
Furosémide	328,9	328.9 - 205.0	23	328.9 - 126.0	36	101
Chloramphénicol	320,9	320.9 - 152.0	16	320.9 - 257.0	13	95
Chloramphénicol *d5*	328,0	328.0 - 157.0	19			77
Pravastatine	423,1	423.1 - 321.1	12	423.1 - 303.1	15	113
Acide 4-chlorobenzoïque	155,0	155.0 - 111.1	15			55
Bézafibrate	360,0	360.0 - 274.1	20	360.0 - 154.0	30	87
Naproxène	229,0	229.0 - 169.1	37	229.0 - 185.1	8	35
Kétoprofène *d3*	256,1	256.1 - 212.2	10			38
Diclofénac	293,9	293.9 - 250.0	14	293.9 - 214.1	23	59
Diclofénac *d4*	300,0	300.0 - 256.1	12			72
Ibuprofène	205,0	205.0 - 161.1	8			30
Ibuprofène *d3*	208,1	208.1 - 164.2	8			39
Gemfibrozil	249,1	249.1 - 121.1	16	249.1 - 127.1	15	64
Gemfibrozil *d6*	255,2	255.2 - 121.1	19			65
		Mode positif				
Aténolol	267,1	267.1 - 145.1	25	267.1 - 190.2	18	83
Aténolol *d7*	274,2	274.2 - 145.1	28			96
Ranitidine	315,1	315.1 - 130.1	25	315.1 - 176.1	17	74
Paracétamol	152,1	152.1 - 110.1	16	152.1 - 93.1	23	54
Paracétamol *d4*	156,1	156.1 - 114.2	17			54
Norfloxacine	320,2	320.2 - 276.2	15	320.2 - 233.2	22	91
Norfloxacine *d5*	325,1	325.1 - 281.2	17			90
Ofloxacine	362,2	362.2 - 318.3	17	362.2 - 261.2	26	90
Triméthoprime	291,1	291.1 - 230.2	22	291.1 - 261.2	24	102
Enrofloxacine	360,2	360.2 - 316.3	17	360.2 - 245.2	25	114
Sulfadiazine	251,0	251.0 - 156.1	14	251.0 - 92.1	22	78
Sulfaméthazine	279,1	279.1 - 186.1	17	279.1 - 124.1	24	98
Ifosfamide	261,1	261.1 - 154.1	22	261.1 - 92.1	27	83

Composés	Ion parent (m/z)	Transition de quantification (m/z)	Énergie de collision (eV)	Transition de confirmation (m/z)	Énergie de collision (eV)	S-Lens
10,11-époxycarbamazepine	253,1	253.1 - 180.2	29	253.1 - 236.2	11	64
Cyclophosphamide	261,1	261.1 - 140.1	21	261.1 - 142.1	20	83
Erythromycine	734,6	734.6 - 158.1	30	734.6 - 576.6	16	131
Propranolol	260,2	260.2 - 116.2	17	260.2 - 183.2	22	90
Acide oxolinique	262,1	262.1 - 244.2	17	262.1 - 216.1	28	96
Sulfaméthoxazole	254,1	254.1 - 156.1	16	254.1 - 92.1	28	67
Sulfaméthoxazole *d4*	258,1	258.1 - 160.1	17			76
Bromazépam	316,0	316.0 - 182.2	32	316.0 - 209.2	26	87
Erythromycine-H_2O	716,5	716.5 - 158.1	30	716.5 - 558.5	13	105
Clarithromycine	748,5	748.5 - 158.1	28	748.5 - 590.6	17	139
Carbamazepine	237,1	237.1 - 194.2	19	237.1 - 193.2	32	85
Carbamazepine *d10*	247,2	247.2 - 204.2	22			80
Fluméquine	262,1	262.1 - 244.2	18	262.1 - 202.1	32	104
Oxazépam	287,0	287.0 - 241.2	21	287.0 - 269.2	13	95
Oxazépam *d6*	292,1	292.1 - 246.1	23			71
Clotrimazole	277,0	277.0 - 165.2	26	277.0 - 239.2	49	85
Lorazépam	321,1	321.1 - 275.1	21	321.1 - 229.1	29	97
Alprazolam	309,1	309.1 - 281.2	25	309.1 - 205.2	40	115
Bézafibrate	362,2	362.2 - 316.2	13	362.2 - 139.0	27	82
Kétoprofene	255,2	255.2 - 209.2	14	255.2 - 105.1	26	67
Kétoprofene *d3*	258,1	258.1 - 212.2	13			76
Diazépam	285,0	285.0 - 193.2	32	285.0 - 154.1	26	107
Testostérone	289,2	289.2 - 97.1	23	289.2 - 109.1	25	91
Diclofénac	296,1	296.1 - 214.1	32	296.1 - 215.1	19	70
Diclofénac *d4*	300,1	300.1 - 218.1	35			72
Progestérone	315,2	315.2 - 97.1	33	315.2 - 109.1	23	81
Fénofibrate	361,2	361.2 - 233.1	16	361.2 - 139.0	30	82
Monensin	693,5	693.5 - 479.5	51	693.5 - 461.4	50	158

II.3.1.2. Nature de la phase mobile

La composition de la phase mobile est un facteur non négligeable dans le processus d'ionisation des molécules car elle impacte l'intensité du signal. Afin d'améliorer la détection des composés d'intérêts, deux voies ont été explorées : l'acidité de la phase mobile et l'ajout d'un tampon. Le choix du solvant organique s'est porté sur l'acétonitrile et non sur le méthanol pour

des raisons de neutralité du solvant vis-à-vis de certaines molécules mais aussi de force éluante (plus importante dans le cas de l'acétonitrile).

La figure II-7 représente les aires obtenues pour les modes d'ionisation négatif et positif de 13 molécules sur les 40 dosées. Ces composés ont été sélectionnés en fonction de leurs propriétés physico-chimiques (log K_{ow}, pK_a) ainsi que leurs appartenances à une classe pharmacologique spécifique.

L'influence du pH de la phase mobile a été déterminée en acidifiant l'eau et l'acétonitrile à 0,05 % et 0,1 % avec de l'acide formique. Les différentes compositions ont été évaluées en injectant une solution synthétique de 10 $\mu g.L^{-1}$ de chaque composé et en l'absence de colonne de pré-concentration en ligne (conditions de répétabilité r = 3).

La figure II-7a illustre clairement l'influence de l'ajout d'acide dans la phase mobile. La présence de 0,05 % d'acide formique inhibe partiellement la détection du furosémide et complètement celle de l'acide-4-chlorobenzoïque et de l'ibuprofène. Ces composés (de type acide) étant détectés en mode d'ionisation négatif grâce à la perte d'un proton, l'ajout d'acide dans la phase mobile rend cette ionisation plus difficile voire impossible.

Pour le mode d'ionisation positif (figure II-7b), aucune tendance générale ne se dessine. La réponse de certains composés, comme le clotrimazole, est plus intense en milieu sans acide tandis que pour d'autres molécules, comme le fénofibrate, l'ajout d'acide améliore la réponse. Le choix définitif s'est porté sur l'ajout de 0,05 % d'acide formique afin de s'assurer de l'apport constant de protons et ainsi favoriser l'ionisation positive des molécules. La sensibilité remarquable de la majorité des composés peu disposés à la présence d'acide permet de conforter ce choix.

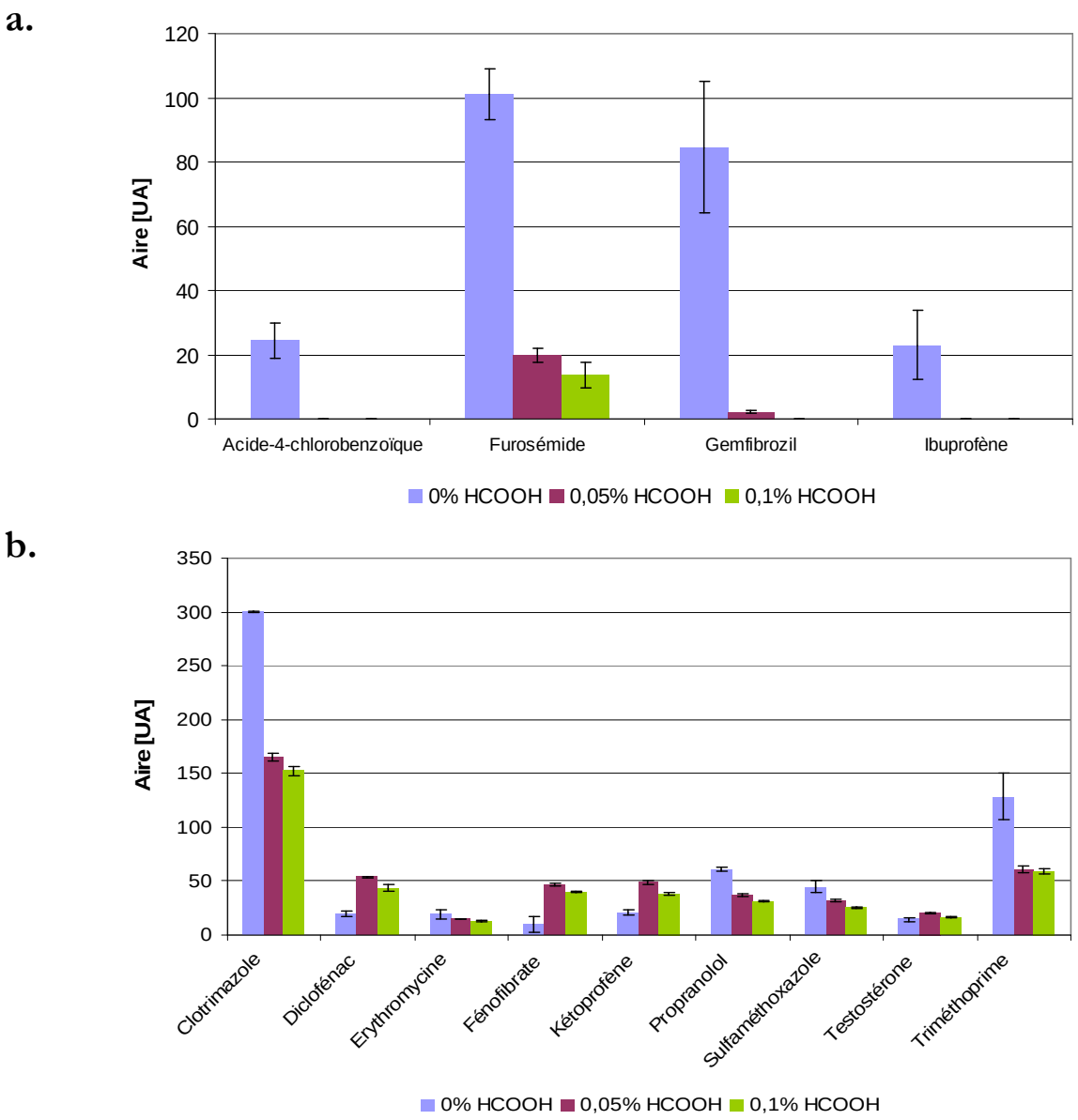


Figure II-7 Exemple de l'influence de l'acide formique sur la réponse des molécules analysées en (a.) ESI- et (b.) ESI+ lors de l'injection d'une solution de 10 µg.L^{-1} (r = 3).

La figure II-8 représente la variation du signal de plusieurs composés en fonction de la quantité d'acétate d'ammonium présente dans les solvants d'élution. Dans ce cas de figure, le rôle de l'acétate d'ammonium est double puisqu'il permet de stabiliser le pH mais aussi, pour le monensin, de former un adduit ammonium $[M+NH_4]^+$, plus reproductible que l'adduit sodium $[M+Na]^+$.

Comme précédemment, les compositions ont été évaluées en injectant une solution synthétique de 10 µg.L^{-1} dans des conditions de répétabilité (r = 3) avec une phase mobile contenant 0, 2 et 5 mM d'acétate d'ammonium.

D'après la figure II-8, la présence d'acétate d'ammonium est peu favorable à l'ionisation des molécules acides alors que pour le mode d'ionisation positif, l'impact est plus nuancé. Pour des molécules comme le diclofénac et le kétoprofène, l'ajout d'acétate d'ammonium diminue considérablement la réponse lors de l'ionisation. *A contrario*, un gain de signal est observé pour l'érythromycine en présence d'acétate d'ammonium. La réponse du propranolol est peu impactée par l'ajout du sel. L'ajout d'acétate d'ammonium ne sera donc pas retenu.

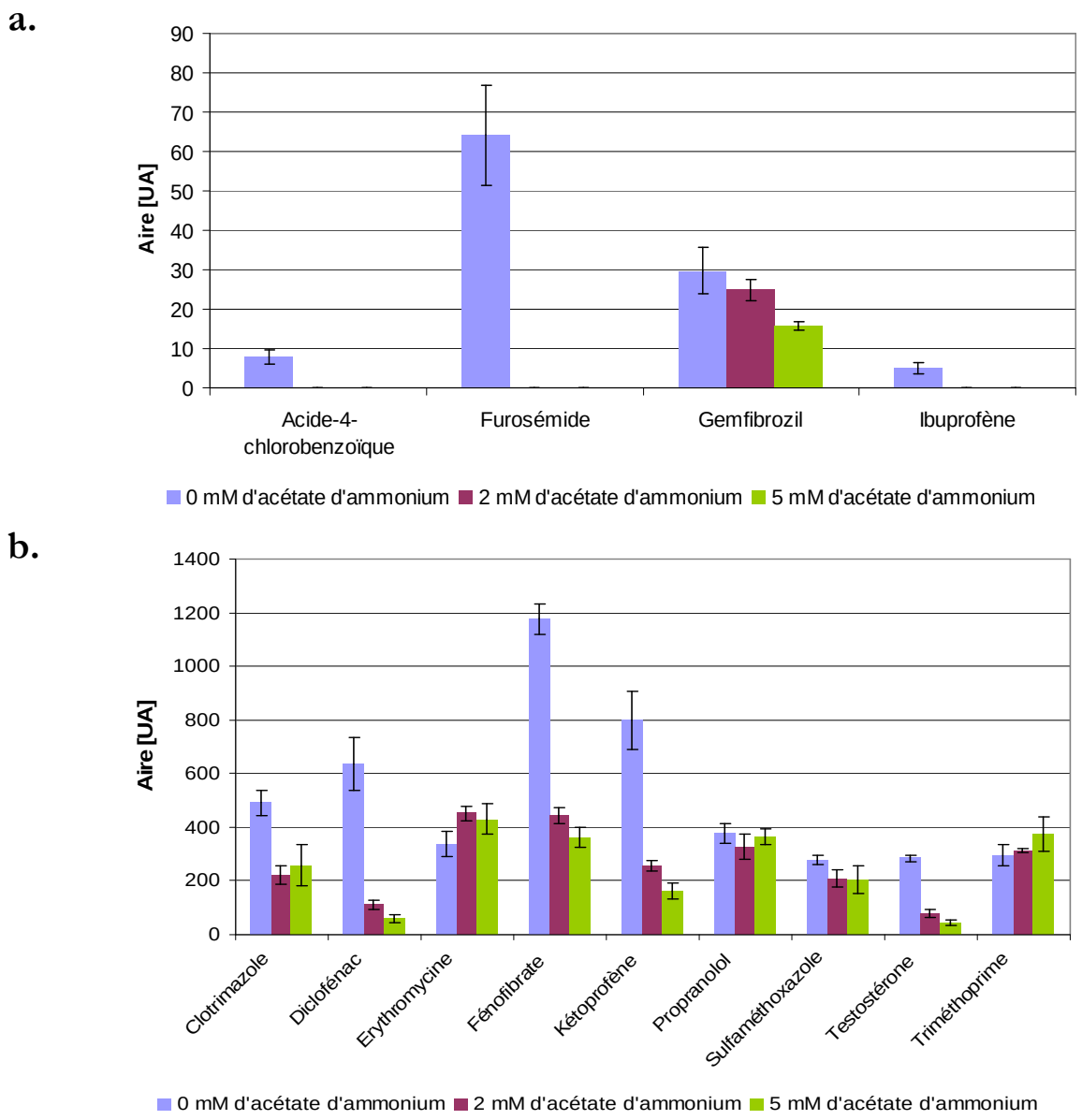


Figure II-8 Exemple de l'influence de l'acétate d'ammonium sur la réponse des molécules analysées en (a.) ESI- et (b.) ESI+ lors de l'injection d'une solution de 10 µg.L^{-1} (r = 3).

En conclusion, l'étude de l'influence de ces différents paramètres a permis de définir les conditions opératoires suivantes :

- eau et acétonitrile sans acétate d'ammonium pour l'ESI- ;
- eau+0,05 % HCO_2H et acétonitrile+0,05 % HCO_2H sans acétate d'ammonium pour l'ESI+.

II.3.2.Séparation chromatographique

La qualité de la séparation chromatographique est un aspect primordial du développement analytique. L'identification des composés recherchés est en partie assurée par ce paramètre. Bien que la spectrométrie de masse en tandem permette d'isoler le pic chromatographique d'un composé en sélectionnant une transition, certaines molécules peuvent présenter des transitions communes et seul le temps de rétention peut permettre de séparer des

pics. De plus, travailler la séparation chromatographique permet de diminuer les effets dus aux interférents co-élués.

En chromatographie liquide, les paramètres pouvant influencer la séparation sont les caractéristiques de la colonne (granulométrie, longueur, phase stationnaire), le débit et la composition de la phase mobile. Le choix des colonnes chromatographiques a été réalisé en fonction des résultats déjà décrits dans la littérature internationale tandis que l'optimisation des débits a été réalisée entre 200 et 400 $\mu L.min^{-1}$. Les gradients d'élution des modes d'ionisation positif et négatif qui concerne la séparation chromatographique ainsi que les débits optimisés sont renseignés dans le tableau II-VII.

Tableau II-VII Programmes d'élution des analytes pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) le mode d'ionisation positif.

a.

ESI-			
Temps (min)	Débit ($\mu L.min^{-1}$)	% A	% B
0	300	80	20
4	300	80	20
11	300	10	90
14	300	10	90
14,5	300	80	20
20	300	80	20

b.

ESI+			
Temps (min)	Débit ($\mu L.min^{-1}$)	% A	% B
0	300	95	5
4	300	95	5
6	300	70	30
16	300	5	95
20	300	5	95
20,5	300	95	5
28	300	95	5

II.3.3.Extraction des composés par pré-concentration en ligne

II.3.3.1. Sélection des colonnes de pré-concentration en ligne

Afin de déterminer l'efficacité du système de pré-concentration en ligne ainsi que le choix des colonnes d'extraction, une comparaison injection directe - pré-concentration en ligne a été réalisée. Des rendements d'extraction ont été déterminés en injectant 50 pg et 150 pg soit 50 et 150 $ng.L^{-1}$ ainsi que 2,5 et 7,5 $\mu g.L^{-1}$ pour la pré-concentration en ligne et l'injection directe respectivement. Pour cette étape, l'utilisation de l'eau Evian® a été préférée à l'eau purifiée. En effet, certains composés sont connus pour s'adsorber sur la verrerie (cas de l'ofloxacine, figure II-9) conduisant ainsi à une perte de sensibilité [Ye et Weinberg, 2007 ; Tamtam *et al.*, 2009]. Il est possible que la présence de cations et/ou de matières organiques puisse prévenir cette adsorption. De plus, l'eau Evian® présente une composition minérale proche de celles des eaux naturelles analysées sur le département de Dordogne.

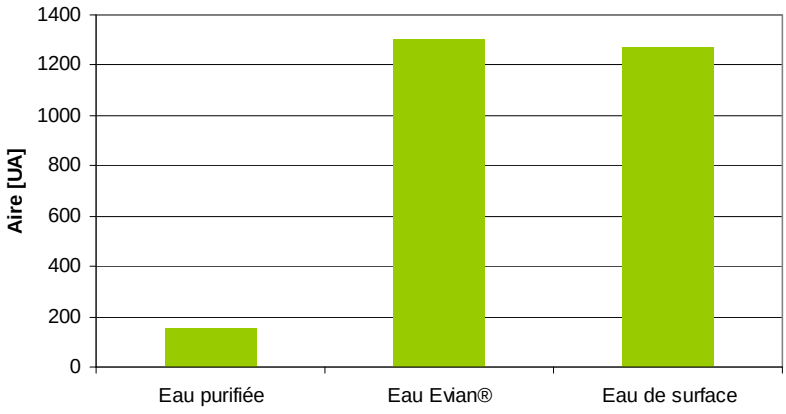


Figure II-9 Réponse de l'ofloxacine (100 $ng.L^{-1}$) dans l'eau purifiée, l'eau Evian® et une eau de surface.

Les rendements d'extraction ont été réalisés sur deux types de phases : C_{18} (Hypersil Gold) et styrène divinylbenzène (Strata-X). Des boucles de 20 µL et 1 mL et des seringues de 100 µL et 2 500 µL ont été utilisées pour la comparaison entre l'injection directe et l'injection par pré-concentration en ligne. Les différents volumes des boucles d'injection sont à prendre en considération puisqu'ils introduisent une incertitude supplémentaire vis-à-vis des rendements d'extraction déterminés suite à une extraction sur phase solide dite hors ligne [Hennion, 1999].

L'équation utilisée pour le calcul du rendement d'extraction est la suivante :

$$\text{Re}\,ndement\ d'extraction\ (\%) = \left(\frac{A_{extraction}}{A_{injection\ \ directe}} \right) \times 100$$

Équation 2 – Calcul du rendement d'extraction

où $A_{extraction}$ est l'aire du pic chromatographique obtenu après pré-concentration en ligne et $A_{injection\ directe}$ l'aire obtenu sans utilisation du système de pré-concentration.

Les deux colonnes de préconcentration C_{18} ou SDVB utilisées pour les molécules analysées en mode d'ionisation négatif permettent d'obtenir des rendements d'extraction situés entre 90 et 120 % (figure II-10). Ces résultats expriment l'efficacité du système de pré-concentration en ligne puisqu'il n'engendre pas de pertes significatives. Le choix final du type de colonne s'est porté sur la colonne C_{18} car elle s'est avérée plus robuste notamment lors de l'analyse d'échantillons chargés.

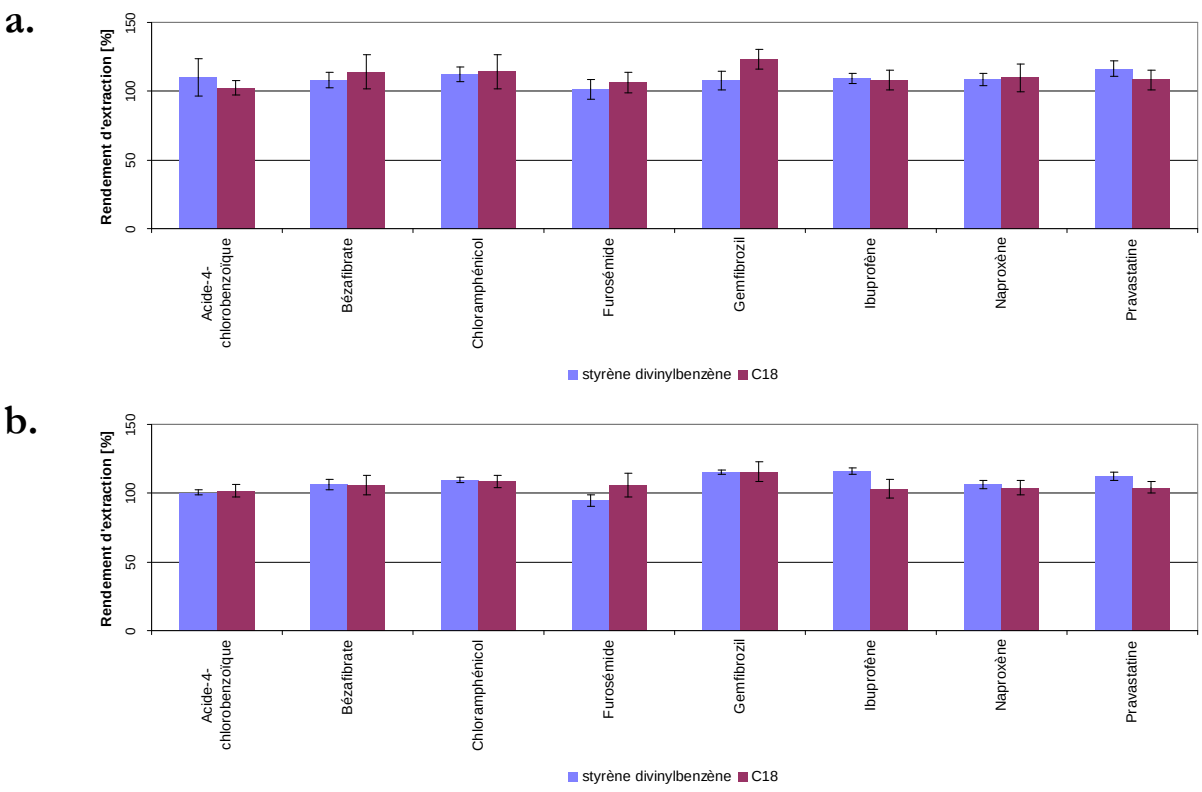


Figure II-10 Rendements d'extraction obtenus par pré-concentration en ligne à (a.) 50 pg et (b.) 150 pg dans l'eau Evian® (n = 3) pour le mode d'ionisation négatif.

Pour le mode d'ionisation positif (figure II-11), la colonne SDVB permet d'obtenir des rendements analogues pour l'ensemble des molécules excepté pour l'ofloxacine, la norfloxacine, l'enrofloxacine et le triméthoprime qui ont des rendements d'extraction compris entre 70 et 80 %. Les fluoroquinolones sont des composés qui, sur une phase polymérique, sont mieux

extraits sous une forme cationique que sous une forme zwitterion [Seifrtova *et al.*, 2009]. Ainsi, la non acidification des échantillons lors de l'extraction peut expliquer les rendements d'extraction légèrement plus faibles pour ces molécules. Enfin, la colonne C_{18} n'a pas été retenue ici puisqu'elle ne permettait pas d'extraire le paracétamol et la sulfadiazine (résultats non représentés).

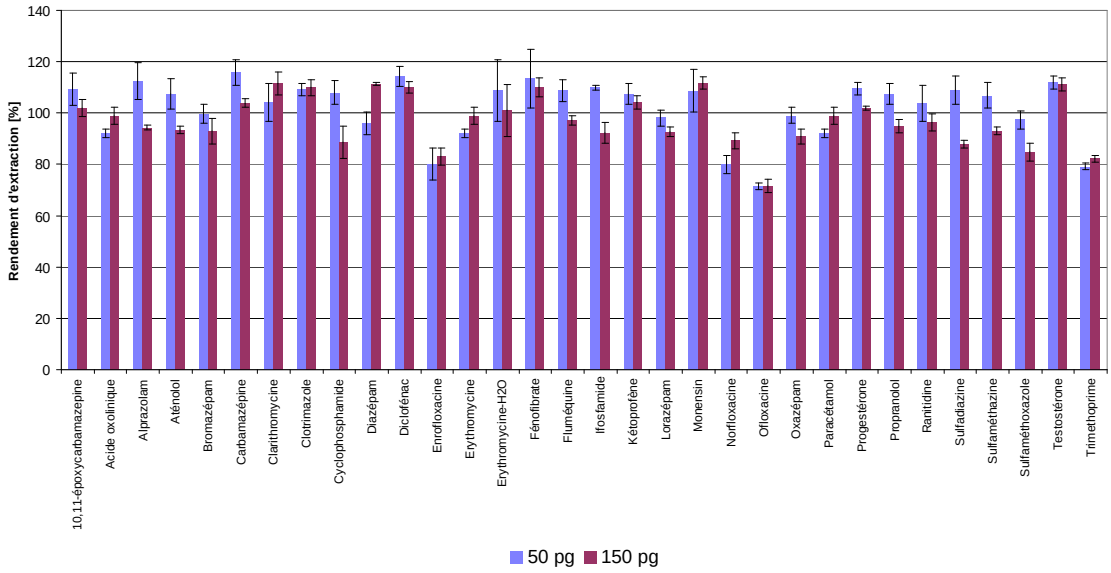


Figure II-11 Rendements d'extraction obtenus par pré-concentration en ligne à 50 pg et 150 pg dans l'eau Evian® (n = 3) pour le mode d'ionisation positif (colonne styrène divinylbenzène).

II.3.3.2. Solvant de chargement

Le choix des solvants de chargement est une étape clé de l'optimisation de la phase de pré-concentration. En effet, il est nécessaire de s'assurer de la rétention des analytes d'intérêts tout en éliminant au mieux les impuretés potentielles. La composition des solvants est similaire à celle utilisée lors de l'élution avec une proportion en acétonitrile variant de 0 à 10 %. L'acidification a été conservée pour le mode d'ionisation positif afin de rester dans les mêmes conditions que la phase mobile utilisée pour l'élution des composés. Les tests ont été réalisés à partir d'une eau de surface dopée à 100 $ng.L^{-1}$. Sur les quelques essais réalisés, l'addition d'acétonitrile n'a pas permis d'améliorer la rétention des composés lors de l'étape de pré-concentration en ligne. Au contraire, pour certains composés analysés aussi bien en mode positif qu'en mode négatif, l'ajout de ce solvant organique leur est défavorable. Ainsi, le choix final s'est porté sur une composition exempte en acétonitrile :

- H_2O pour le mode négatif ;
- H_2O+0,05 % HCO_2H pour le mode positif.

II.3.3.3. Temps de chargement et débits

L'influence de deux autres paramètres relatifs au chargement de l'échantillon (débit et temps de chargement) a été étudiée. Ces deux paramètres doivent permettre d'assurer une rétention optimale tout en évitant une désorption prématurée des analytes.

L'optimisation du débit et du temps de chargement a été réalisée sur une eau de surface supplémentée à 100 $ng.L^{-1}$ (n = 3, volume d'injection de 1 mL). Les différents essais ont permis de mettre en évidence un temps de chargement optimal pour chaque débit testé soit :

- 4 min pour un débit de 0,75 mL.min^{-1} ;
- 3 min pour un débit de 1 mL.min^{-1} ;
- 2 min pour un débit de 1,5 mL.min^{-1}.

D'après la figure II-12, peu de différences sont observées pour le mode d'ionisation négatif excepté pour le bézafibrate et le furosémide où un faible débit (0,75 mL.min^{-1}) semble permettre une meilleure rétention de ces composés. Pour le mode d'ionisation positif, la même tendance est constatée malgré de faibles disparités entre l'utilisation d'un débit à 0,75 mL.min^{-1} et 1 mL.min^{-1}. Pour ce dernier cas, le débit à 0,75 mL.min^{-1} a été choisi en raison de l'amélioration de l'allure des pics chromatographiques observée en utilisant ce débit. Enfin, pour les deux modes, le temps de chargement de 4 min permet de rincer la colonne de capture avec une phase aqueuse après le chargement des analytes.

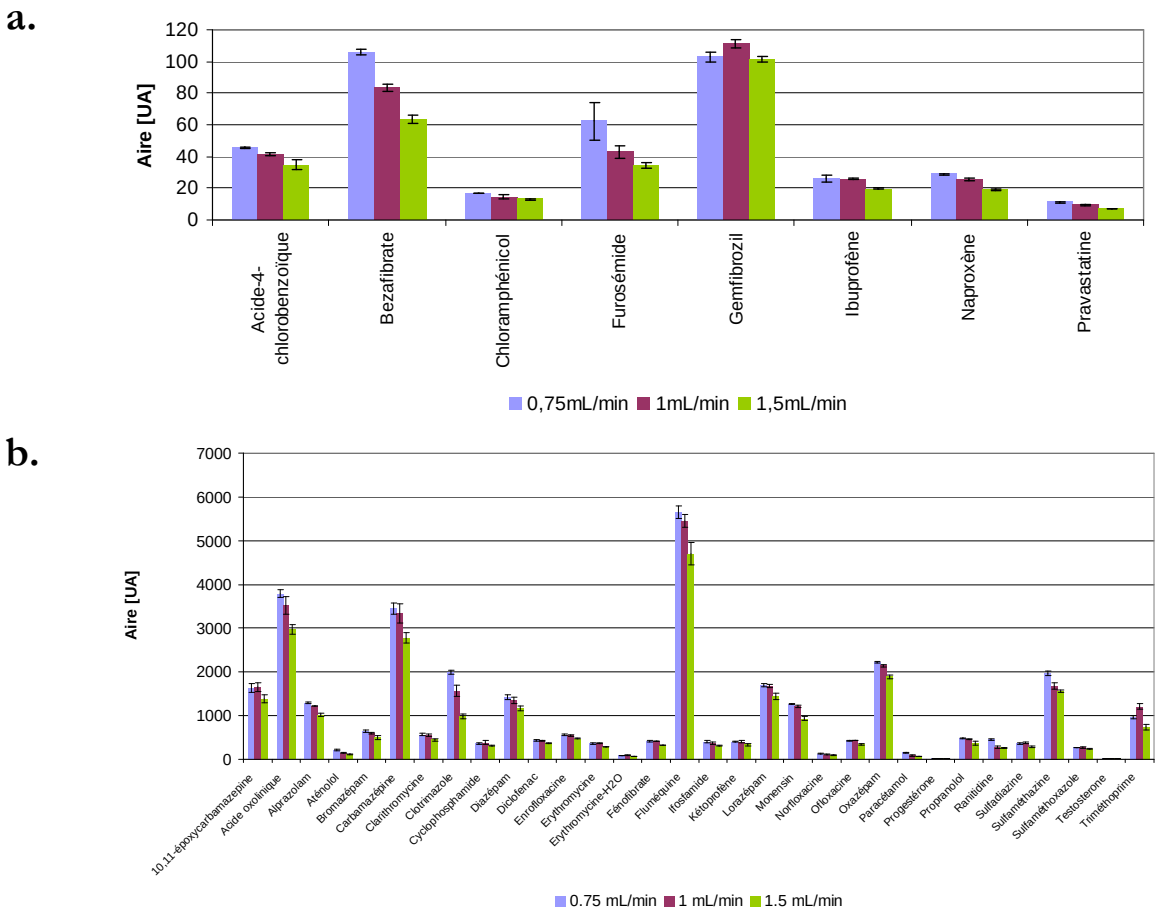


Figure II-12 Impact du débit de chargement de l'échantillon sur la réponse de l'analyte pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) le mode d'ionisation positif d'une eau de surface supplémentée à 100 ng.L^{-1} (n = 3).

II.3.4.Effets de matrice

A chaque développement et validation de méthodes analytiques sont associés une étude de l'effet de la matrice sur les composés d'intérêts. Ce phénomène, difficile à maîtriser, a un impact important dans l'analyse quantitative de molécules par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse dans des matrices chargées. L'effet de la matrice est largement documentée dans la littérature internationale et tout particulièrement dans l'analyse des eaux résiduaires [Vanderford *et al.*, 2003; Kasprzyk-Horden *et al.*, 2008; Balakrishnan *et al.*, 2006; Ye *et al.*, 2007]. La conséquence principale de ce phénomène est une quantification erronée due à une

extinction ou une exaltation de la réponse de l'analyte lors de l'ionisation. Il existe principalement deux techniques pour corriger les interactions générées par la matrice : la calibration interne et les ajouts dosés. Pour des raisons de temps de préparation et de coût, l'étalonnage interne avec utilisation de standards marqués a été privilégié pour le protocole développé.

Afin de déterminer si les matrices analysées génèrent une exaltation (EM > 0) ou une extinction de signal (EM < 0) sur les molécules étudiées, la formule suivante a été utilisée :

$$EM(\%) = \left(\frac{S_m - S_{m0}}{S_{mE}} - 1 \right) \times 100$$

Équation 3 – Calcul de l'effet de matrice

où S_m est le signal (aire du pic) obtenu dans la matrice dopée (eaux de réseau et de surface) à un niveau de concentration connu, S_{m0} correspond au signal obtenu dans la matrice non dopée et S_{mE} est le signal obtenu dans une eau minérale dopée à la même concentration que la matrice étudiée.

L'effet de la matrice a été étudiée à 50 et 150 $ng.L^{-1}$ (n = 3) ce qui correspond à un point bas et un point haut du domaine de linéarité de la méthode. Aucun test n'a été réalisé à des concentrations supérieures à 250 $ng.L^{-1}$ car dans le cas d'échantillons positifs en résidus de médicaments ayant une concentration supérieure au plus haut point de gamme, une dilution est réalisée. La dilution permet par ailleurs de diminuer l'effet de matrice comme illustré par Gros *et al.*, 2006.

L'ensemble des données indiquent que, pour la majorité des composés, l'effet de la matrice reste minime (< ± 10 %) pour les eaux de réseau (figure II-13). Pour les eaux de surface (figure II-14), l'effet matriciel est globalement compris entre - 20 et 20 % pour une grande partie des molécules recherchées ce qui reste acceptable. Cependant, certains composés sont sujets à une importante exaltation du signal dans des eaux de surface comme la fluméquine et l'acide oxolinique avec des exaltations de l'ordre de 40 % et supérieures à 70 %, respectivement (comparaison à l'eau Evian®). Des exaltations du signal sont également observées lors de l'utilisation d'eau du réseau. Enfin, certaines molécules, comme le chloramphénicol, révèlent un phénomène d'extinction du signal (de l'ordre de – 25 % à 50 et 150 $ng.L^{-1}$ dans les eaux de surface). Une tendance encore plus accentuée avait été observée pour le chloramphénicol par Kasprzyk-Horden *et al.* en 2008 avec une extinction de 73 % dans les eaux de surface.

Pour ce type d'approche, l'idéal est de disposer d'un étalon marqué et spécifique à chaque composé analysé. Cependant, pour des raisons de coût et de disponibilité, l'acquisition de certains étalons internes, comme celui de l'acide oxolinique, n'a pu être possible. Ainsi, pour les composés qui ne peuvent être corrigés par étalonnage interne, un ajout de 100 $ng.L^{-1}$ est réalisé afin d'appliquer un facteur correctif à la concentration retrouvée dans l'échantillon.

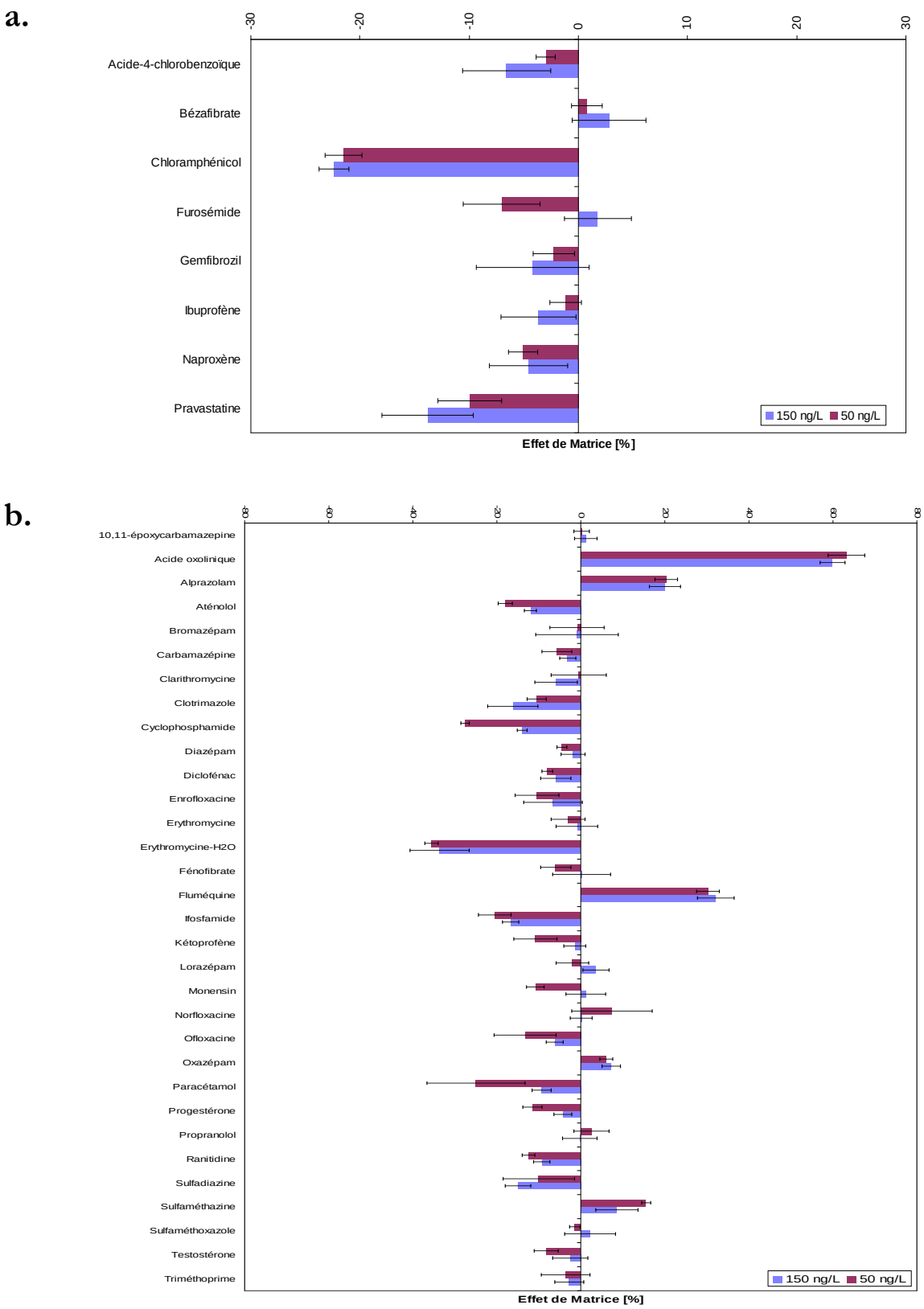
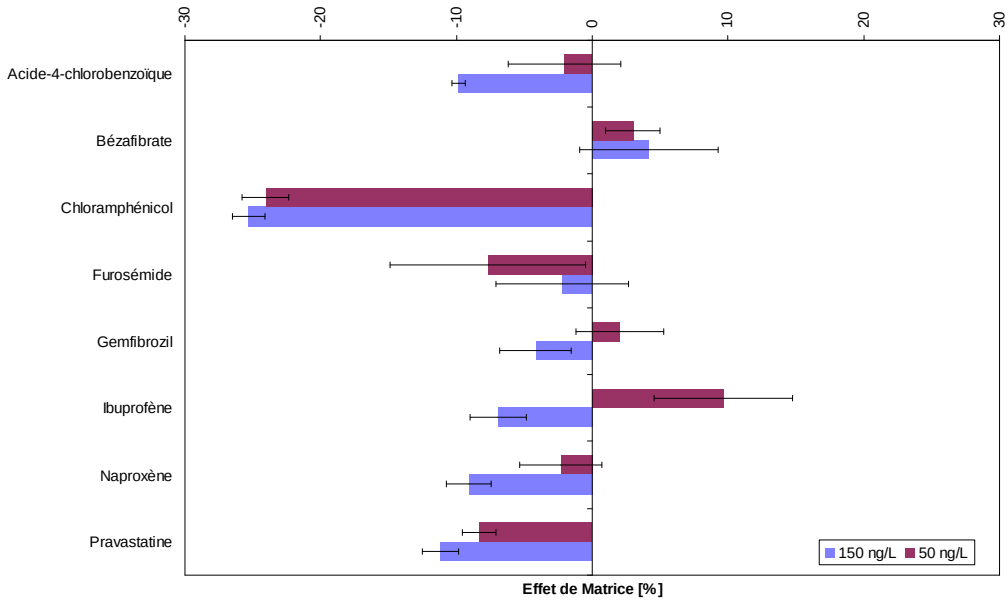


Figure II-13 Effets de matrice observés à 50 et 150 ng.L^{-1} (n = 3) dans les eaux du réseau pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) positif.

a.



b.

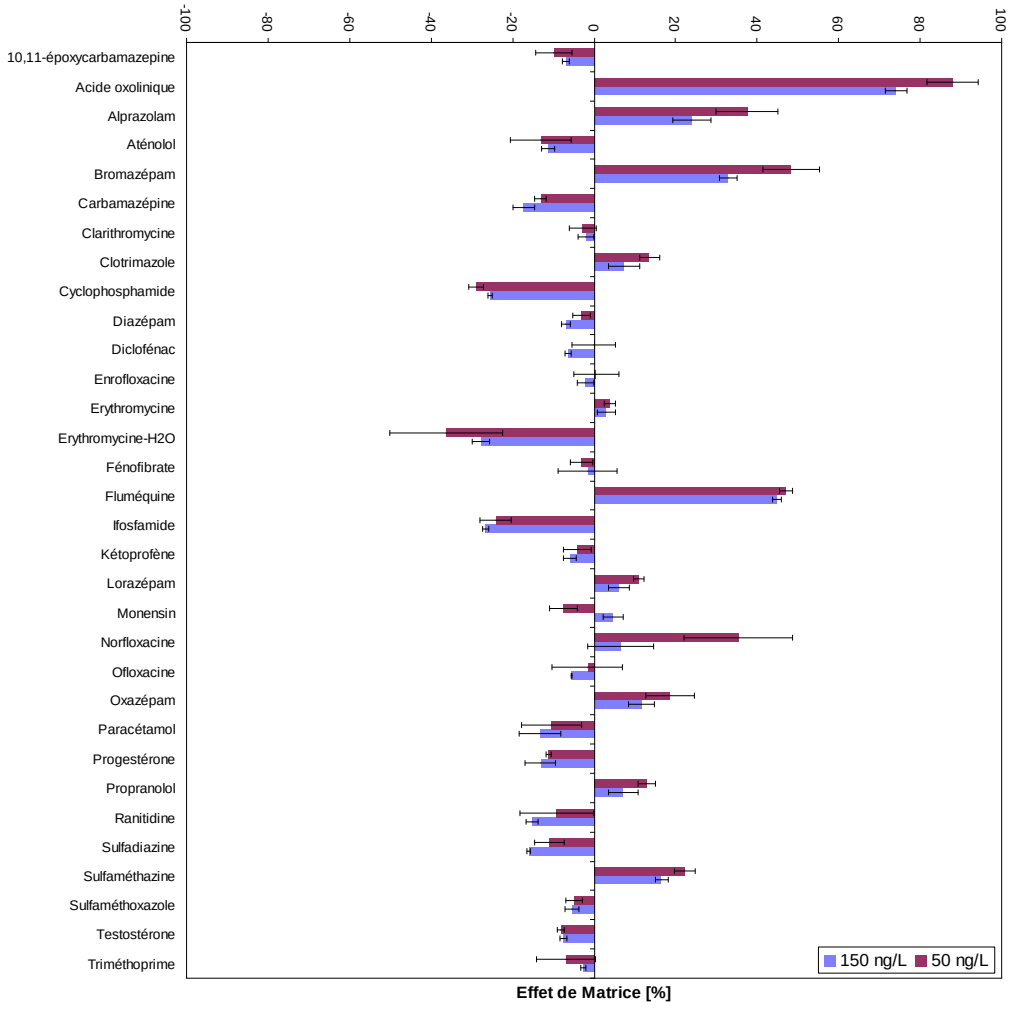


Figure II-14 Effets de matrice observés à 50 et 150 ng.L^{-1} (n = 3) dans les eaux de surface pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) positif.

Les étalons internes retenus suite à ces essais sont regroupés dans le tableau II-VIII. Ils sont utilisés afin de corriger leurs homologues non deutérés mais également l'ensemble des autres molécules (la liste contenant les molécules analysées ainsi que l'étalon interne utilisé pour leurs corrections est fournie en annexe 7).

Tableau II-VIII Étalons internes sélectionnés pour l'analyse des résidus de médicaments dans les eaux naturelles.

Étalons internes
Aténolol *d7*
Carbamazépine *d10*
Chloramphénicol *d5*
Diclofénac *d4*
Gemfibrozil *d6*
Ibuprofène *d3*
Kétoprofène *d3*
Norfloxacine *d5*
Oxazépam *d6*
Paracétamol *d4*
Sulfaméthoxazole *d4*

II.3.5. Rémanence des analytes associée au système analytique

Dans le cadre d'une analyse par pré-concentration en ligne, l'effet mémoire peut être plus marqué que celui observé avec un système classique d'injection. Le grand volume d'injection (1 mL) et l'utilisation d'une colonne de capture réutilisable peuvent être générateurs de contaminations croisées.

L'effet mémoire a été caractérisé en injectant un échantillon supplémenté à 1 $\mu g.L^{-1}$ suivi de quatre blancs (n = 3). Le phénomène a été quantifié à l'aide de la formule définie par Segura *et al.*, 2007 :

$$Effet\ mémoire\ (\%) = \left(\frac{A_{blanc}}{A_{standard}} \right) \times 100$$

Équation 4 – Calcul de l'effet mémoire

où A_{blanc} correspond à la moyenne de l'aire du composé étudié dans le blanc et $A_{standard}$ à la moyenne de l'aire mesurée dans l'échantillon dopé à 1 $\mu g.L^{-1}$.

Les résultats montrent que la rémanence des composés reste faible avec un pourcentage n'excédant pas 0,7 % dès le premier blanc (figure II-15). Cependant, pour la ranitidine, le fénofibrate et les fluoroquinolones (enrofloxacine, norfloxacine et ofloxacine), l'effet mémoire est plus important puisque les pourcentages sont compris entre 2 % et 6 % après injection de la solution de 1 $\mu g.L^{-1}$. Pour les fluoroquinolones, une baisse de la rémanence est relativement bien marquée dès le deuxième blanc (< 0,6 %), mais la régression n'est évidente, pour le fénofibrate et la ranitidine, qu'à partir du troisième blanc.

Ces données obtenues indiquent également que le programme de rinçage mis en place est suffisant pour l'application souhaitée. Ce programme consiste à rincer la seringue et la vanne d'injection à deux reprises (2,5 mL) après chaque injection de même que la tubulure pendant la phase d'élution en introduisant une grande proportion de phase organique dans le solvant de rinçage (95 % acétonitrile/5 % eau).

Au vu des résultats et afin de s'assurer qu'il n'y a pas de contamination, un blanc est analysé après le standard le plus concentré de la gamme de calibration (250 $ng.L^{-1}$). Enfin, si un

échantillon contient au moins 250 ng.L^{-1} d'un composé cible et que l'échantillon suivant est positif, ce dernier est analysé à nouveau de manière à garantir la fiabilité du résultat.

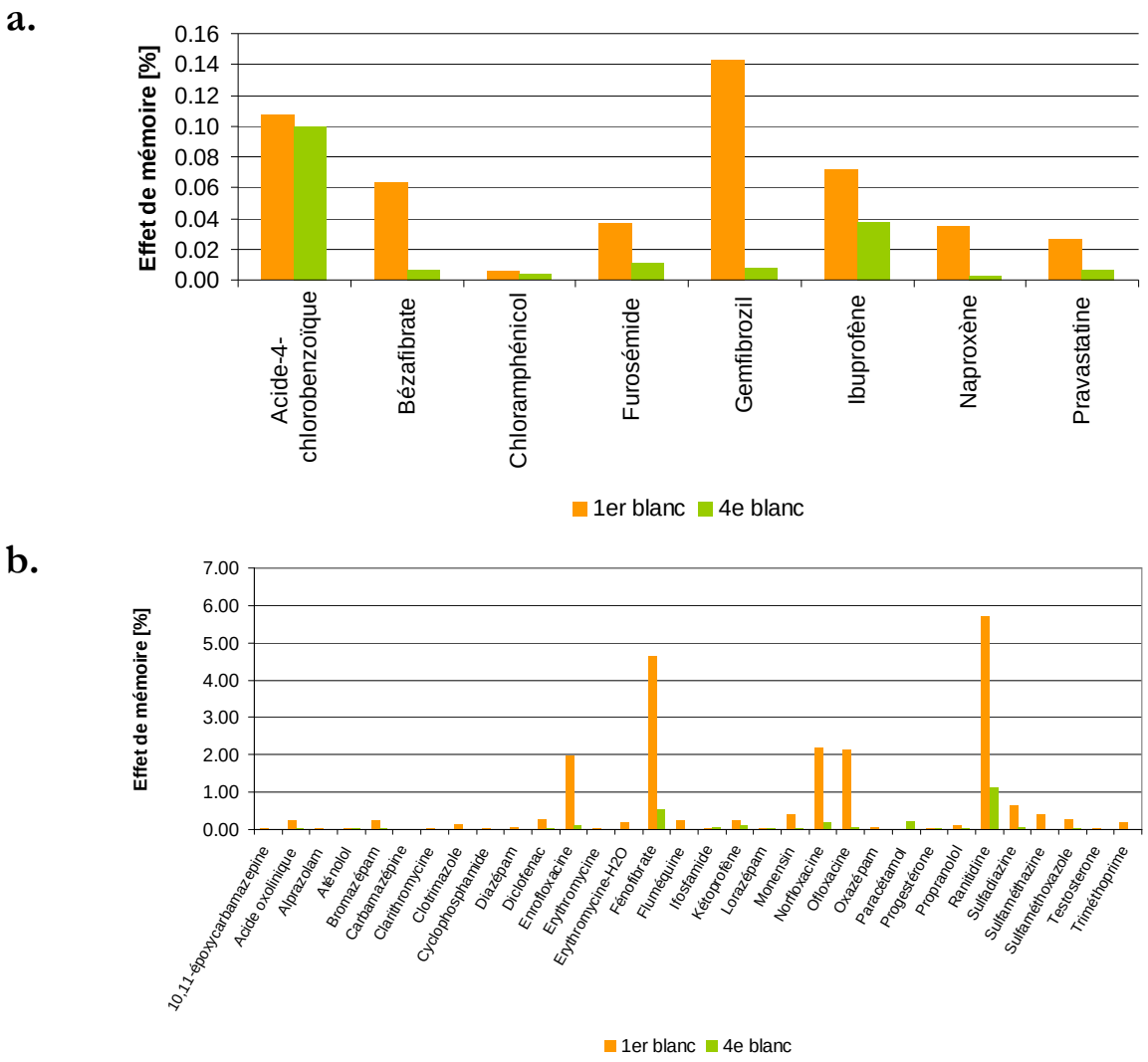


Figure II-15 Détermination de l'effet mémoire des composés étudiés après injection de 1 µg.L^{-1} suivi de quatre blancs pour (a.) le mode d'ionisation négatif et (b.) le mode d'ionisation positif. Seul l'effet mémoire calculé après l'injection du 1er blanc et du 4^{e} blanc est représenté sur cette figure.

II.3.6.Prétraitement de l'échantillon et conservation

Pour cette partie, les résultats obtenus sont présentés pour treize molécules. Ces composés ont été sélectionnés afin d'assurer un éventail de propriétés physico-chimiques représentatif.

II.3.6.1. Ajouts d'additifs

II.3.6.1.1. Acidification de l'échantillon

En vue d'optimiser l'étape d'extraction des composés cibles, une évaluation de l'impact du pH a été réalisée. Des échantillons d'eau de surface ont ainsi été dopés avec une solution contenant l'ensemble des molécules à 200 ng.L^{-1} (n = 1) puis ajustés à pH = 3 et pH = 7 avec de l'acide formique.

Pour le mode d'ionisation négatif, il est clairement mis en évidence, sur la figure II-16, que l'acidification de l'échantillon favorise l'extraction de certains composés analysés comme le furosémide. Le cas de l'acide 4-chlorobenzoïque illustre aussi le rôle décisif que peut jouer l'acidification puisqu'elle permet de retenir cette molécule alors que cette dernière est non retenue à pH 7 (figure II-17).

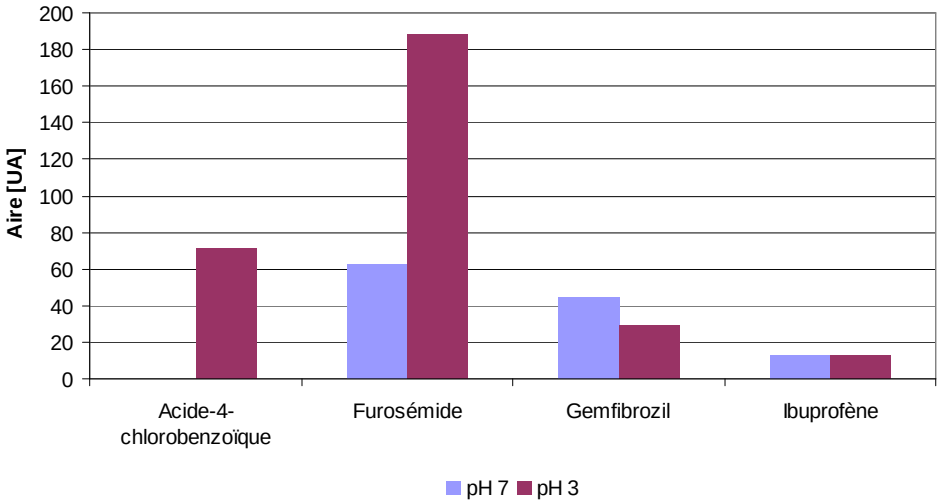


Figure II-16 Réponses des composés obtenues après ajustement du pH à 7 et 3 d'une eau de surface supplémentée à 200 ng.L^{-1} pour le mode d'ionisation négatif.

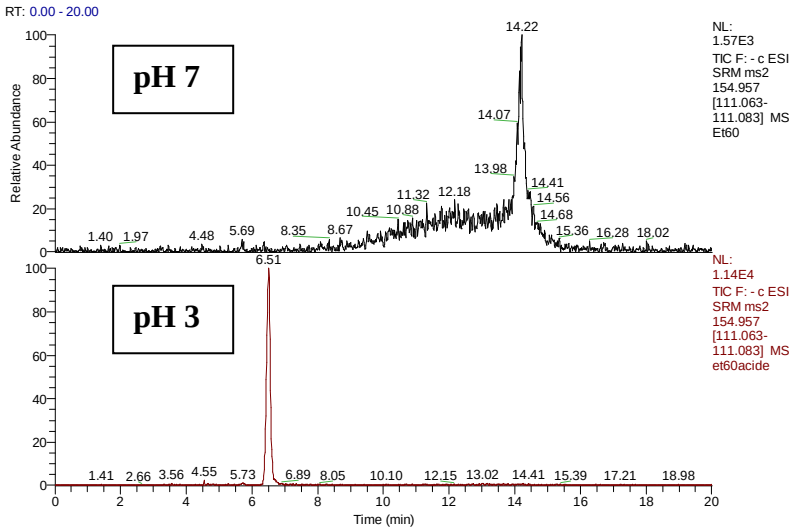


Figure II-17 Chromatogramme représentant l'acide 4-chlorobenzoïque à 200 ng.L^{-1} préparé dans une eau de surface non acidifiée (pH 7) et acidifié (pH 3).

Pour les molécules analysées en mode d'ionisation positif (figure II-18), les conclusions sont moins évidentes puisque pour ces molécules il n'y a pas de tendance globale. Acidifier l'échantillon à un pH 3 favorise la réponse du clotrimazole mais désavantage le triméthoprime. Le cas de l'érythromycine, quant à lui, s'explique par le fait qu'en milieu acide, l'érythromycine perd une molécule d'eau [Hirsch, 1999]. Ainsi, il est nécessaire de doser l'érythromycine-H_2O et non l'érythromycine. Enfin, une perte de linéarité a également été constatée lors de l'acidification de la gamme de calibration pour certains composés. Il a donc été décidé de ne pas acidifier l'échantillon et de doser l'érythromycine et l'érythromycine-H_2O afin de prévenir la déshydratation de l'érythromycine.

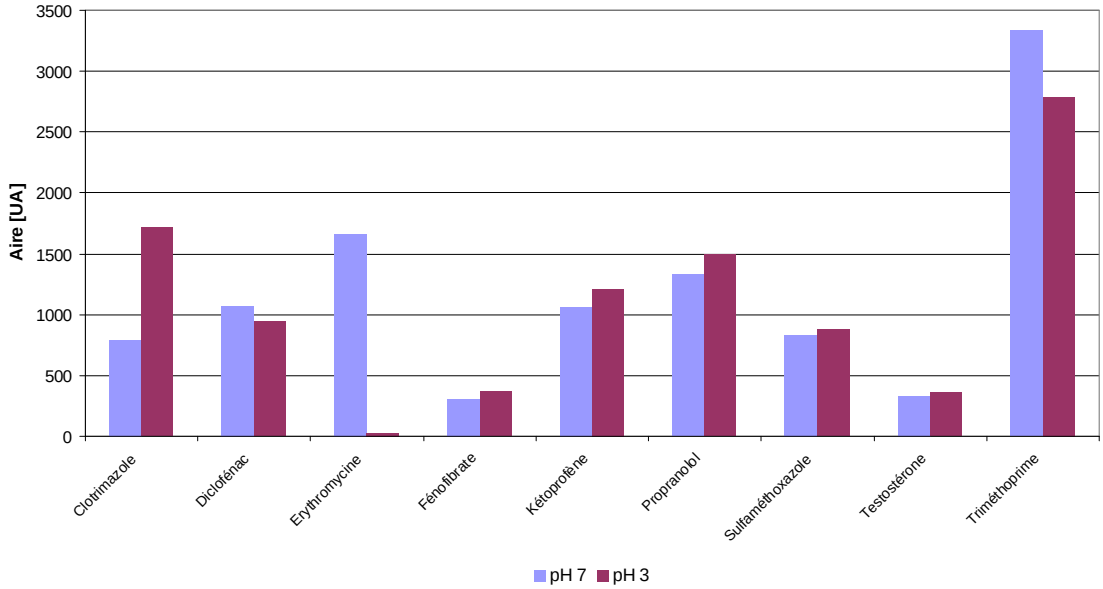


Figure II-18 Réponses des composés après ajustement du pH à 7 et 3 d'une eau de surface supplémentée à 200 ng.L^{-1} pour le mode d'ionisation positif.

Afin de s'assurer que le protocole développé en ESI+ ne nécessite aucun ajustement de pH, des tests ont été réalisés sur une eau de surface dopée à 200 ng.L^{-1} (n = 1). La gamme de pH étudiée permet de balayer l'ensemble des cas pouvant être rencontré lors de l'analyse d'eaux naturelles. L'eau de surface sélectionnée, de pH 9, a ensuite été acidifiée avec de l'acide formique à un pH 5 afin de s'assurer de couvrir le domaine d'acidité des eaux pouvant être analysées. Comme illustré sur la figure II-19, les variations sont peu significatives entre l'eau de surface étudiée à un pH 9 et à un pH 5. Ainsi, les résultats étant comparables, aucun ajustement de pH n'est réalisé lors du dosage des composés cibles en ESI+.

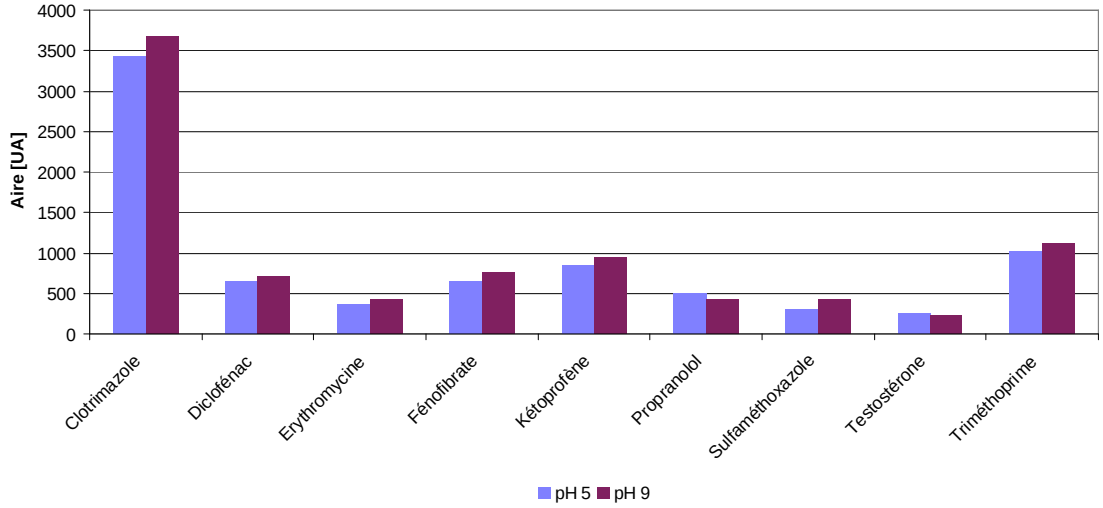


Figure II-19 Réponses des composés obtenues après ajustement du pH à 9 et 5 d'une eau de surface supplémentée à 200 ng.L^{-1} pour le mode d'ionisation positif.

Ces différents essais ainsi que d'autres tests réalisés sur des eaux de natures diverses et espacés dans le temps, ont permis de développer les conditions optimales de traitement de l'échantillon avant l'étape d'extraction. Les molécules analysées en ESI- sont acidifiées à un pH 3 tandis que celles analysées en ESI+ ne nécessite pas d'ajustement.

II.3.6.1.2. Ajout d'un agent complexant

Certaines molécules, comme les tétracyclines et les fluoroquinolones, sont connues pour leurs propriétés complexantes avec des ions comme Ca^{2+}, Mg^{2+}, Al^{3+} et Fe^{3+} [Wessels et *al.*, 1998 ; Schmitt et Schneider, 2000 ; Gu et Karthikeyan, 2005]. Afin de pallier ce phénomène lors du transport, de la conservation et du traitement de l'échantillon, l'agent chélateur EDTA est le plus communément utilisé [Castiglioni *et al.*, 2005].

Les essais ont été réalisés à partir d'une eau de surface supplémentée à 200 $ng.L^{-1}$ sans EDTA et contenant 0,1 % EDTA (n = 1). La figure II-20 montre que les rendements, calculés à partir de l'équation 5, sont généralement compris entre 80 et 120 % sauf pour le clotrimazole (148 %) où l'ajout de cet agent chélateur a un effet bénéfique et les fluoroquinolones (*e.g.* ofloxacine - 43 %), la ranitidine et le monensin où, au contraire, l'ajout d'EDTA est défavorable. Dans ce cas, la perte de sensibilité due à la présence d'EDTA peut intervenir au niveau de l'extraction mais surtout au niveau de l'ionisation. L'ajout d'un agent chélateur n'a finalement pas été retenu.

$$\text{Re}\,ndement\ (\%) = \left(\frac{A_{0,1\%EDTA}}{A_{0\%EDTA}} \right) \times 100$$

Équation 5 – Calcul du rendement

où $A_{0,1\%EDTA}$ correspond à l'aire du composé mesuré dans l'échantillon contenant de l'EDTA et $A_{0\%EDTA}$ à l'aire du composé mesuré dans l'échantillon exempt d'EDTA.

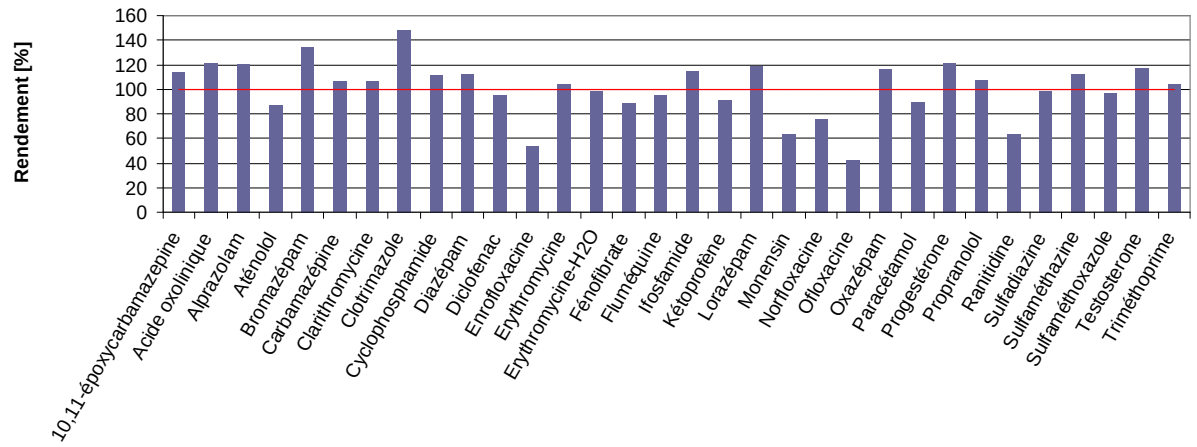


Figure II-20 Réponses des composés obtenues avant et après ajout de 0,1 % Na_2EDTA dans une eau de surface supplémentée à 200 $ng.L^{-1}$ pour le mode d'ionisation positif (n = 1).

II.3.6.2. Conservation de l'échantillon

La conservation des échantillons est un paramètre critique et tout particulièrement lors de l'utilisation de pré-concentration en ligne car l'extraction sur phase solide hors ligne permet une conservation des extraits dans un solvant organique. La conservation d'échantillons d'eaux naturelles a été testée dès réception de l'échantillon filtré et après cinq jours de conservation à 4°C ± 2°C dans un flacon en verre brun (n = 1). Les essais ont été réalisés sur :

- un échantillon (A) préalablement supplémenté à 50 $ng.L^{-1}$;
- un échantillon (B) non supplémenté et contenant les molécules suivantes : aténolol, bézafibrate, carbamazépine, ibuprofène, naproxène, oxazépam et paracétamol (tableau II-IX).

Sur l'ensemble des échantillons analysés, la différence observée entre les concentrations mesurées dès réception et filtration de l'échantillon et après cinq jours de conservation sont négligeables (pourcentages compris entre 70 et 130 %) excepté pour le clotrimazole. Pour ce composé, une diminution de 62 % est constatée après cinq jours. L'analyse de cette molécule doit donc être réalisée dans les vingt-quatre heures après réception de l'échantillon d'eau. Toutefois, les autres molécules peuvent être analysées dans les cinq jours qui suivent le prélèvement.

Tableau II-IX Stabilité de quelques résidus de médicaments exprimée en pourcentage par rapport à la concentration initiale dans deux types d'expérience : un échantillon réel supplémenté dès réception et dosé à t = 0 jours et t = 5 jours (A) et un échantillon réel dosé à t = 0 jours et t = 5 jours (B) (conservation à 4°C ± 2°C).

		A	B
Classe pharmacologique	Composé	% à t_{5j}	% à t_{5j}
Analgésique	Paracétamol	102	128
AINS	Diclofénac	108	non présent
	Ibuprofène	110	104
	Kétoprofène	110	non présent
	Naproxène	86	114
Antibiotiques	Acide oxolinique	76	non présent
	Chloramphénicol	116	non présent
	Clarithromycine	85	non présent
	Enrofloxacine	121	non présent
	Erythromycine	98	non présent
	Erythromycine-H_2O	non mesuré	non présent
	Fluméquine	106	non présent
	Monensin	92	non présent
	Norfloxacine	106	non présent
	Ofloxacine	122	non présent
	Sulfadiazine	120	non présent
	Sulfaméthazine	107	non présent
	Sulfaméthoxazole	116	non présent
	Triméthoprime	84	non présent
Anticancéreux	Cyclophosphamide	91	non présent
	Ifosfamide	84	non présent
Antiépileptiques	*10,11 époxycarbamazépine*	94	non présent
	Carbamazépine	91	100
Antifongique	Clotrimazole	38	non présent
Antihistaminique H2	Ranitidine	96	non présent
Anxiolytiques	Alprazolam	86	non présent
	Bromazépam	76	non présent
	Diazépam	89	non présent
	Lorazépam	85	non présent
	Oxazépam	100	106
Béta-bloquants	Aténolol	94	128
	Propranolol	87	non présent
Diurétique	Furosémide	87	non présent
Hormones stéroïdiennes	Progestérone	93	non présent
	Testostérone	86	non présent
Hypolipidémiants	*Acide-4-chlorobenzoïque*	102	non présent
	Bézafibrate	91	130
	Fénofibrate	86	non présent
	Gemfibrozil	114	non présent
	Pravastatine	90	non présent

II.4. Performances analytiques et validation de la méthode

La validation des deux méthodes (ESI+ et ESI-) a été réalisée en accord avec la norme française AFNOR T90-210 développée pour les matrices environnementales. Pour l'ensemble des eaux ayant servi à la validation, les paramètres physico-chimiques mesurés sont compris entre :

- 7,2 et 8,3 pour le pH ;
- 2 et 16 $mg.L^{-1}$ pour les matières en suspension ;
- 1,6 et 9,3 $mg.L^{-1}$ pour le carbone organique dissous ;
- 105 et 655 $\mu S.cm^{-1}$ pour la conductivité.

Le détail des valeurs obtenues pour chaque échantillon est compilé dans l'annexe 2.
La partie suivante s'attache à décrire les phases clés de la validation réalisée sur une année.

II.4.1.Linéarité

II.4.1.1. Définition

L'étude du domaine de linéarité a été définie selon l'approche de l'Écart Maximal Acceptable (EMA). Elle consiste à définir un EMA et vérifier si les biais[3] associés à chaque point de la fonction d'étalonnage sont acceptables. Les EMA, qui correspondent à l'écart maximal accepté entre la valeur théorique et la valeur mesurée, peuvent être définis par une réglementation, un client, des cartes de contrôle ou par le laboratoire. Cette approche permet de s'affranchir de l'utilisation du coefficient de détermination en attribuant une incertitude sur chaque point.

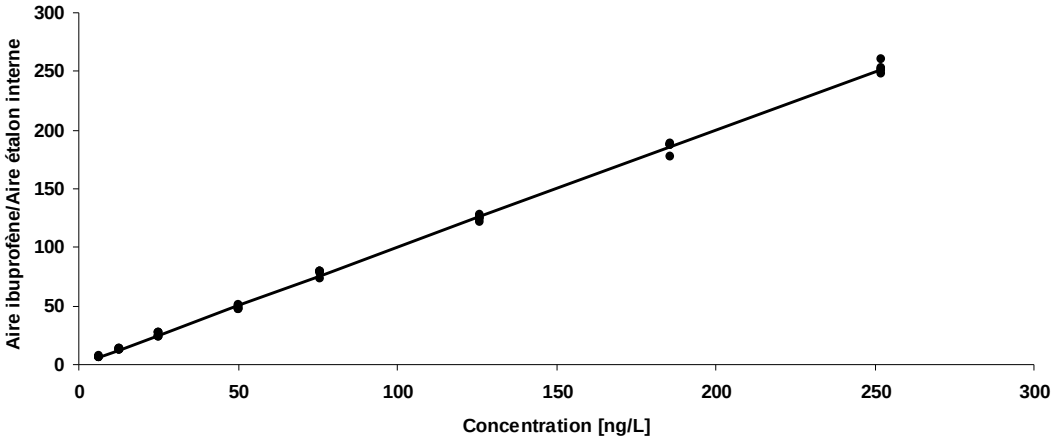
II.4.1.2. Résultats

Le domaine de linéarité (figure II-21) des composés étudiés a été vérifié entre 1 $ng.L^{-1}$, pour les molécules les plus sensibles, et 250 $ng.L^{-1}$. Les essais ont été réalisés dans des conditions de fidélité intermédiaire (n = 5), c'est-à-dire avec une même méthode, dans un même laboratoire mais en changeant certaines conditions comme l'expérimentateur ou le jour de la mesure. La figure II-22 représente les biais relatifs au furosémide selon chaque point de la courbe d'étalonnage. Ainsi, si tous les biais observés sont acceptables (< EMA) alors la courbe de calibration est validée. Dans le cas contraire, l'étalonnage ne peut être utilisé.
Les EMA définis pour chaque composé par le laboratoire sont pour :

- les concentrations de 1 à 20 $ng.L^{-1}$: 30 % ;
- les concentrations de 40 à 100 $ng.L^{-1}$: 20 % ;
- les concentrations de 150 à 250 $ng.L^{-1}$: 10 %.

[3] Le biais correspond à une démarche qui va aboutir à un résultat erroné par rapport à la réalité.

a.



b.

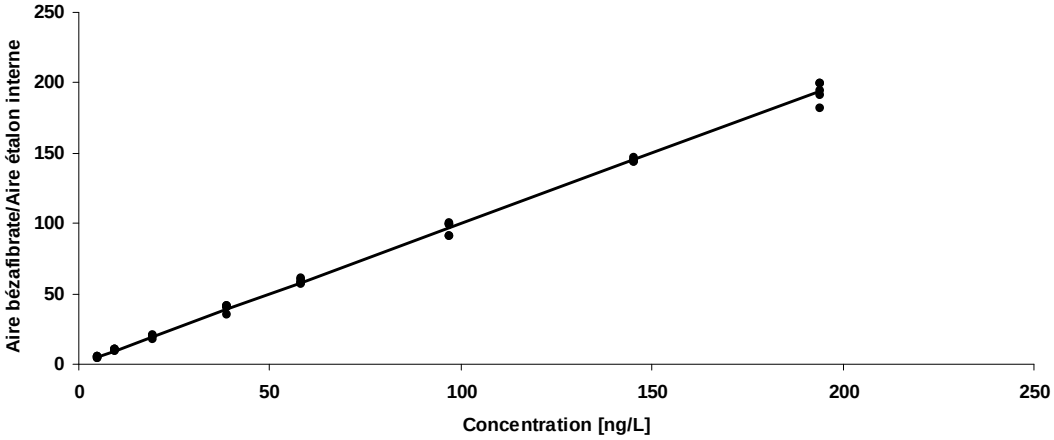


Figure II-21 Domaine de linéarité (n = 5) de (a.) l'ibuprofène et (b.) le bézafibrate.

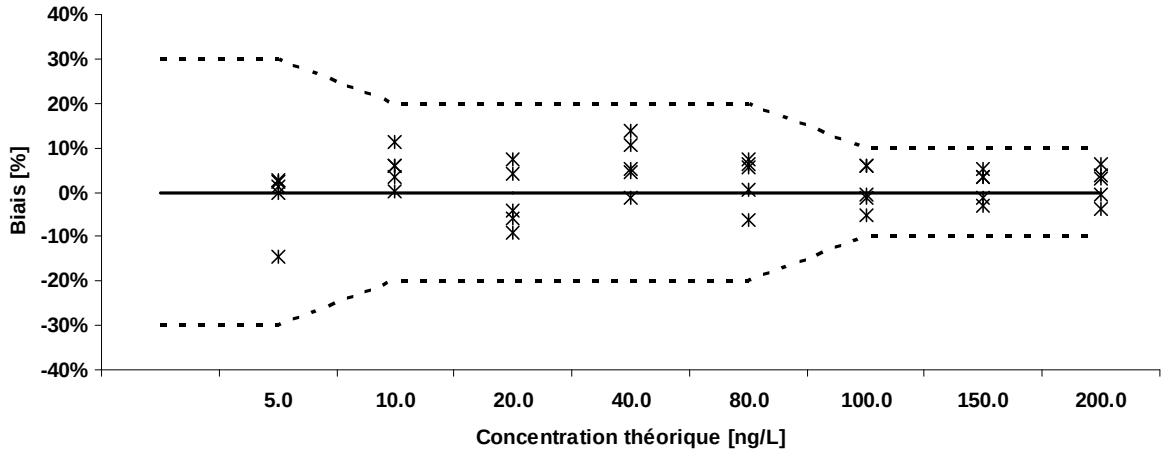


Figure II-22 Répartition des biais relatifs en fonction des niveaux de concentration du furosémide selon les EMA définis par le laboratoire.

II.4.2.Limites de détection et de quantification

II.4.2.1. Définition

Les limites de détection et de quantification d'une méthode analytique sont des paramètres qui définissent respectivement la plus petite quantité pouvant permettre d'identifier un analyte de manière fiable en le différenciant du zéro et la plus petite quantité d'un analyte pouvant être quantifié dans des conditions de précision et de justesse définies.

Selon la norme française T90-210, seules les limites de quantification (LQ) sont caractérisées en vérifiant une LQ en matrice qui aura été présupposée dès le départ.

Bien que la méthode développée pour le dosage des résidus de médicaments dans les eaux naturelles s'appuie fortement sur la norme T90-210, en plus des limites de quantification en matrice, les limites de détection (LD) dans les eaux naturelles ont été identifiées.

II.4.2.2. Résultats

La détermination des LD et des LQ a été réalisée en dopant, à différents niveaux de concentrations, plusieurs matrices présentant des propriétés physico-chimiques variées. Les niveaux sélectionnés, pour la recherche des LQ, présentent des rapports signal sur bruit égaux ou supérieurs à 10. Le choix de la limite de détection de la méthode a été défini en divisant par trois la limite de quantification de la méthode. Enfin, les LD et LQ présélectionnées ont été vérifiées dans les matrices d'intérêts (eaux de surface et eaux du réseau) dans des conditions de répétabilité (r = 2) et de fidélité intermédiaire (n = 5).

Les limites de détection et de quantification de la méthode sont répertoriées dans le tableau II-X. Les valeurs vérifiées en matrice proposent une sensibilité intéressante pour une méthode multi-résidus. Le faible volume d'échantillon (1 mL) permet d'avoir des LQ comprises entre 5 et 21 $ng.L^{-1}$ excepté pour le paracétamol (47 $ng.L^{-1}$) et ce, malgré l'utilisation de l'ion de confirmation pour la détermination des limites de détection et de quantification. Cet ion, moins sensible que celui utilisé pour la quantification, a été privilégié dans le but d'améliorer la robustesse de la méthode. Ainsi, les LQ vérifiées pour certains composés, comme le propranolol, peuvent être réévaluées et abaissées si l'ion de quantification est utilisé (figure II-23).

Tableau II-X Limites de détection et de quantification en $ng.L^{-1}$ vérifiées dans les eaux du réseau et de surface.

	Eaux du réseau		**Eaux de surface**	
Composés				
	LQ	**LD**	**LQ**	**LD**
		Mode négatif		
Acide 4-chlorobenzoïque	11	4	21	6
Bézafibrate	5	2	5	2
Chloramphénicol	11	4	21	7
Furosémide	6	2	11	3
Gemfibrozil	11	4	11	4
Ibuprofène	7	3	13	4
Naproxène	21	7	21	7
Pravastatine	10	3	20	5

	Eaux du réseau		Eaux de surface	
Composés				
	LQ	**LD**	**LQ**	**LD**
		Mode positif		
10,11-époxycarbamazépine	6	2	11	4
Acide oxolinique	6	2	6	2
Alprazolam	5	2	5	2
Aténolol	5	2	10	3
Bromazépam	6	2	6	2
Carbamazépine	5	2	5	2
Clarithromycine	6	2	6	2
Clotrimazole	6	2	6	2
Cyclophosphamide	6	2	11	4
Diazépam	2	0.7	6	2
Diclofénac	6	2	6	2
Enrofloxacine	11	4	11	4
Erythromycine	6	2	6	2
Erythromycine-H_2O	11	4	11	4
Fénofibrate	11	4	6	2
Fluméquine	6	2	6	2
Ifosfamide	6	2	11	4
Ketoprofène	13	4	13	4
Lorazépam	9	3	9	3
Monensin	6	2	5	2
Norfloxacine	21	7	21	7
Ofloxacine	6	2	6	2
Oxazépam	5	2	10	3
Paracétamol	47	16	47	16
Progestérone	10	3	10	3
Propranolol	5	2	5	2
Ranitidine	10	3	20	7
Sulfadiazine	12	4	12	4
Sulfaméthazine	11	4	11	4
Sulfaméthoxazole	11	4	11	4
Testostérone	7	3	13	4

	Eaux du réseau		Eaux de surface	
Composés				
	LQ	**LD**	**LQ**	**LD**
Triméthoprime	2	0.7	6	2

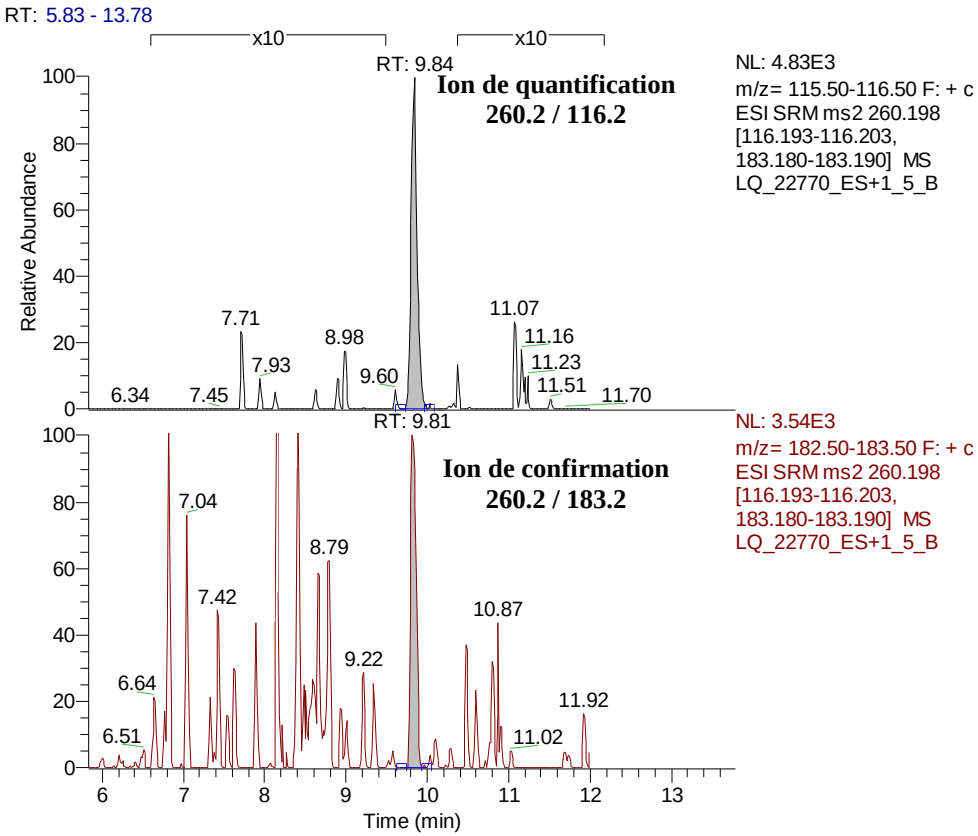


Figure II-23 Propanolol quantifié dans une eau de surface dopée à 5 ng.L^{-1} (LQ). Le bruit a été multiplié par 10.

II.4.3.Exactitude de la méthode

II.4.3.1. Définition

L'exactitude permet de caractériser l'erreur totale associée à la méthode analytique. Cette notion se définit par l'étude de la fidélité intermédiaire (précision) et de la justesse[4].

Les taux de recouvrement de la méthode sont étudiés dans les matrices d'intérêts et permettent de vérifier si l'étalonnage interne mis en place corrige les effets de matrice et les problèmes d'extraction pouvant subvenir, entre autres, suite à la détérioration des colonnes de capture. Ils permettent également de déterminer l'écart entre la valeur obtenue et la valeur considérée comme vraie ainsi que le degré de dispersion entre une série de mesure.

[4] La justesse d'une méthode correspond à l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne issue d'une série d'essais homogène et une valeur de référence acceptée. Dans le cas précis des résidus de médicaments, la valeur de référence n'est autre que la quantité ajoutée dans l'échantillon étudié.

Les taux de recouvrement ont été déterminés à deux niveaux de concentrations : 50 ng.L^{-1} et 150 ng.L^{-1} dans des conditions de répétabilité (r = 2) et fidélité intermédiaire (n = 5) en utilisant la formule suivante :

$$TR\ (\%) = \left(\frac{C_{échantillon\ ajout} - C_{échantillon\ initiale}}{C_{théorique}} \right) \times 100$$

Équation 6 – Calcul du taux de recouvrement

où $C_{théorique}$ est la valeur réelle du dopage dans la matrice étudiée, $C_{échantillon\ ajout}$ la valeur mesurée expérimentalement dans l'échantillon supplémenté et $C_{échantillon\ initiale}$ la valeur mesurée dans l'échantillon non supplémenté.

La détermination, par gamme extraite et étalonnage interne, de ces rendements ne permet pas de mettre en évidence si un composé est faiblement extrait ou non (pour cela il faut se référer à la partie « II.3.3.1 Sélection des colonnes de pré-concentration en ligne »). Cependant, elle permet de valider le choix des étalons internes pour la correction des effets de matrice provenant d'échantillons d'eau aux propriétés physico-chimiques variées.

II.4.3.2. Résultats

Les taux de recouvrement de la méthode (tableau II-XI) sont, d'une manière générale, compris entre 90 % et 110 %. Ils ont été déterminés seulement dans des eaux superficielles et non dans les eaux du réseau car l'effet de matrice y est plus important (« II.3.4 Effet de matrice »). Dans le cadre du protocole suivant, les taux de recouvrement sont jugés acceptables s'ils sont compris entre 75 % et 125 %. Les résultats obtenus permettent de conclure sur le caractère satisfaisant du choix des étalons internes. Cependant, un biais est observé dans le cas de la pravastatine où le taux de recouvrement moyen est de 78,6 % à 50 ng.L^{-1} avec un coefficient de variation de 15 % et 85,2 % à 150 ng.L^{-1} avec un coefficient de variation de 12,5%. A l'inverse, l'acide oxolinique révèle une exaltation du signal avec un taux de recouvrement moyen de 130,5 % à 50 ng.L^{-1} et 110 % à 150 ng.L^{-1}. Dans ces deux cas de figure, la politique adoptée consiste à réaliser un ajout d'acide oxolonique et/ou de pravastatine de 100 ng.L^{-1} dans l'échantillon en cas de positifs. Ainsi, les taux de recouvrement déterminés pourront être appliqués afin de corriger la valeur mesurée.

Enfin, les résultats obtenus permettent de conclure sur la capacité des étalons internes à corriger l'effet de matrice constaté dans la partie « II.3.4 Effet de matrice » pour une grande partie des composés comme le chloramphénicol, l'alprazolam ou le bromazépam.

Tableau II-XI Justesse (valeur moyenne) et précision (CV) de la méthode à 50 ng.L^{-1} et 150 ng.L^{-1} dans les eaux de surface.

	Eaux de surface	
Composés	**Taux de recouvrement en % à 50 ng.L^{-1} (CV en %)**	**Taux de recouvrement en % à 150 ng.L^{-1} (CV en %)**
	Mode négatif	
Acide 4-chlorobenzoïque	90.6 (15.6)	102.2 (13.8)
Bézafibrate	93.4 (12)	94.5 (12.8)
Chloramphénicol	103.2 (11.4)	110.7 (6.9)
Furosémide	100.6 (11)	99.2 (10.1)
Gemfibrozil	96.8 (12.4)	95.6 (9.8)
Ibuprofène	95.7 (11.4)	93.7 (9.2)
Naproxène	92.2 (12.8)	94.1 (9.6)
Pravastatine	78.6 (15)	85.2 (12.5)
	Mode positif	
10,11-époxycarbamazépine	97.3 (12.6)	97.6 (15.3)
Acide oxolinique	130.5 (12.6)	115.9 (9.1)
Alprazolam	106.7 (8.8)	104.5 (8.6)
Aténolol	97.4 (14.1)	96.2 (10.9)
Bromazépam	101.4 (14.5)	101.3 (13.4)
Carbamazépine	95.9 (15.6)	94.2 (14.2)
Clarithromycine	95.0 (12.1)	93.0 (10.8)
Clotrimazole	93.3 (12.3)	105.3 (11.0)
Cyclophosphamide	97.3 (13.8)	91.3 (14.0)
Diazépam	98.8 (13.2)	96.6 (12.9)
Diclofénac	98.2 (7.7)	95.3 (10.8)
Enrofloxacine	107.3 (9.6)	95.9 (9.3)
Erythromycine	95.3 (9.1)	98.3 (9.3)
Erythromycine-H_2O	101.3 (8.1)	92.3 (14.5)
Fénofibrate	96.1(10.5)	96.2 (9.5)
Fluméquine	104.3 (12.7)	99.5 (14.0)
Ifosfamide	96.7 (14.5)	94.7 (12.8)
Kétoprofène	92.7 (11.6)	98.0 (13.3)
Lorazépam	107.0 (9.4)	102.7 (9.0)
Monensin	97.5 (15.7)	92.7 (9.2)
Norfloxacine	95.4 (10.9)	92.7 (9.2°
Ofloxacine	104.7 (4.6)	100.2 (12.4)

	Eaux de surface	
Composés	**Taux de recouvrement en % à 50 ng.L^{-1} (CV en %)**	**Taux de recouvrement en % à 150 ng.L^{-1} (CV en %)**
Oxazépam	106.4 (13.4)	98.4 (14.4)
Paracétamol	97.3 (12.3)	96.9 (14.5)
Progestérone	98.9 (13.5)	98.3 (13.3)
Propranolol	103.5 (14.2)	102.2 (14.9)
Ranitidine	94.2 (10.0)	100.8 (12.6)
Sulfadiazine	102.5 (13.4)	95.3 (7.1)
Sulfaméthazine	103.0 (10.2)	97.1 (10.3)
Sulfaméthoxazole	100.7 (12.9)	92.5 (12.1)
Testostérone	101.3 (11.0)	95.0 (11.1)
Triméthoprime	110.0 (11.1)	101.2 (11.2)

II.4.4.Mesure de l'incertitude

II.4.4.1. Définition

L'estimation de l'incertitude associée à un résultat analytique est fondamentale dans la finalisation de la validation d'une méthode. La valeur retrouvée n'est jamais exacte et se soustrait à une série d'erreurs qu'il est important de définir et de déterminer afin d'assurer la fiabilité d'un résultat. La totalité des sources d'erreurs a été identifiée dans un fichier (annexe 3) afin d'étudier les causes de l'incertitude de mesure d'après la méthode des 5M (Main d'œuvre, Moyen, Méthode, Milieu et Matière). Cette technique permet de déterminer le degré d'influence de différents paramètres sur l'incertitude ainsi que de répertorier les moyens engagés pour les maîtriser.

Cette notion est d'autant plus importante dans le cas d'analyses multi-résidus où les molécules cibles disposent de propriétés physico-chimiques variées et où la conciliation est parfois nécessaire durant le développement analytique.

Pour chaque molécule analysée, une incertitude type est évaluée. Trois approches peuvent être utilisées pour la détermination des incertitudes associées à un paramètre :

- les incertitudes déterminées lors de la validation de la méthode ;
- les incertitudes définies suite au suivi régulier de contrôles qualité sur des cartes de contrôle ;
- les incertitudes caractérisées après la réalisation d'essais inter-laboratoires (cette approche ne sera pas détaillée dans ce chapitre car non utilisée).

Ces différentes démarches, explicitées ci-après, sont classées par ordre croissant de préférence.

II.4.4.2. Validation de la méthode

L'incertitude déterminée suite à la validation de la méthode participe à la définition de l'exactitude des paramètres sur une matrice réelle.

L'incertitude des résidus de médicaments a été évaluée à 3 niveaux de concentration : à la LQ, à 50 ng.L^{-1} et à 150 ng.L^{-1}. Les essais ont été réalisés dans des conditions de répétabilité (r = 2) et de fidélité intermédiaire (n = 5) en modifiant les variables temps et manipulateur.
Cette étude a permis de définir une incertitude maximale en matrice de 50 % à la LQ et de 35 % à 50 ng.L^{-1} et à 150 ng.L^{-1}.

II.4.4.3. Cartes de contrôles

L'utilisation de cartes de contrôle (figure II-24) permet de traiter statistiquement les valeurs d'un échantillon constant et de concentration connue. Ce contrôle qualité évalue la pertinence d'un protocole analytique sur une longue période tout en permettant d'anticiper certains problèmes pouvant être critiques (dérèglement d'un système, instabilité d'une solution, etc.).

Afin d'affiner les incertitudes déterminées lors de la validation de la méthode, l'étude statistique des contrôles qualité donne la possibilité, grâce aux cartes de contrôle, de prendre en compte plus de variables pouvant influencer l'incertitude. Cependant, contrairement à la validation de la méthode, les contrôles qualités sont réalisés à un seul niveau de concentration et à partir d'une unique eau de qualité constante, l'eau Evian®, ce qui a pour effet de minimiser l'impact généré par l'effet de matrice.

Chaque année, les incertitudes des molécules cibles sont réévaluées grâce aux incertitudes déterminées via les cartes de contrôle.

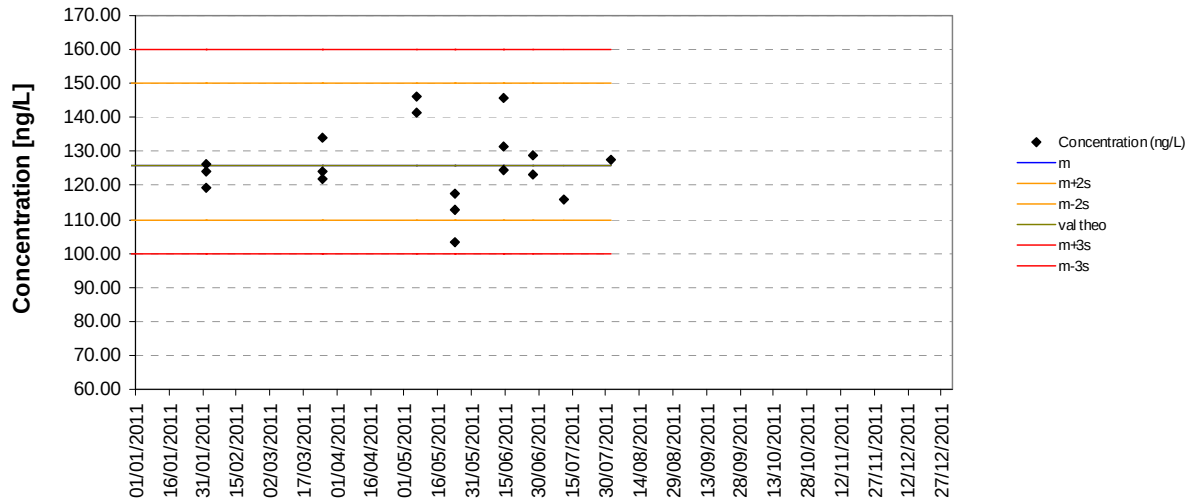
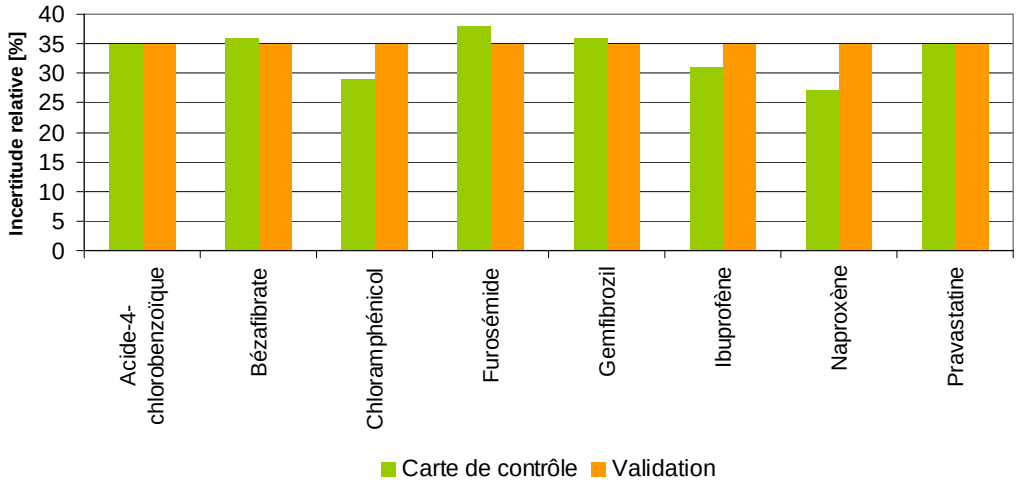


Figure II-24 Carte de contrôle du contrôle qualité de l'ibuprofène à 126 ng.L^{-1} où m représente la valeur de l'analyte, val. théo. la valeur théorique, m±2s la valeur théorique ± 2 écarts-types et m±3s la valeur théorique ± 3 écarts-types (bornes définies lors de la validation).

Une comparaison a été réalisée entre les incertitudes déterminées suite à la validation de la méthode et les incertitudes obtenues lors de la réalisation de cartes de contrôle avec un minimum de vingt contrôles qualité afin d'assurer un traitement statistique.

Comme illustré sur la figure II-25 et en accord avec les deux approches, les incertitudes sont assez similaires avec, cependant, une légère augmentation de l'incertitude de la norfloxacine (42 %) et une diminution du kétoprofène (21 %) et l'ofloxacine (26 %) en utilisant les cartes de contrôle. Malgré les limites citées plus tôt, ce dernier cas est assez intéressant puisqu'il prend en compte beaucoup plus d'essais ce qui est, en termes statistique, plus représentatif.

a.



b.

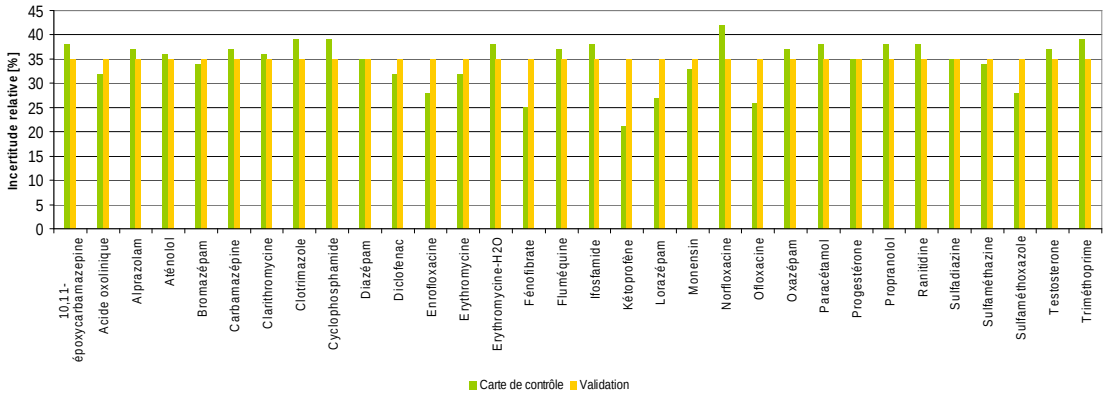


Figure II-25 Comparaison des incertitudes déterminées lors de la validation de la méthode et lors de la réalisation de cartes de contrôle pour (a.) le mode négatif et (b.) le mode positif.

II.5. Assurance qualité

L'assurance qualité représente les différents moyens mis en œuvre afin de garantir une prestation répondant aux critères de qualité que s'est fixées le laboratoire. Il s'agit d'un gage de confiance. La norme internationale de référence pour l'élaboration du système de management est l'ISO/CEI 17025. Cette norme précise les exigences générales à respecter afin d'assurer les compétences administratives et techniques des laboratoires d'essais et/ou d'étalonnage. Ainsi, en définissant un système de management qui puisse garantir la qualité des activités administratives et techniques, le laboratoire assure sa fiabilité et sa compétence en vue d'être accréditer.

De manière à pouvoir répondre à des exigences techniques mais aussi managériales, plusieurs outils sont développés, mis en place et continuellement appliqués. Qu'il s'agisse de contrôles liés directement au protocole d'essais ou de contrôles indirects, la qualité est un dispositif indispensable au bon fonctionnement des activités d'un laboratoire.

La partie suivante s'attache à décrire, succinctement, l'organisation et les moyens employés afin de satisfaire les exigences nécessaires au système qualité.

II.5.1. Qualité des résultats

Comme cela a été indiqué précédemment, les contrôles sont une condition *sine qua non* pour démontrer la fiabilité du résultat et la compétence des opérateurs. Deux types de contrôles peuvent être répertoriés :

- les contrôles internes qui sont relatifs à l'environnement et à l'analyse ;
- les contrôles externes qui concernent les essais interlaboratoires.

II.5.1.1. Contrôles internes

La qualité des résultats est régie par l'environnement de travail mais aussi par les essais en eux-mêmes. Plusieurs paramètres sont constamment surveillés en vue de garantir les compétences techniques du laboratoire. Les principaux éléments contrôlés sont :

- les installations et conditions ambiantes (locaux, transport de la verrerie contaminée, intégrité des échantillons, contaminants volatils, etc.) ;
- le matériel (métrologie, contrôle des nouveaux lots de consommables, etc.) ;
- la traçabilité du mesurage (matériels et réactifs utilisés) ;
- la méthode d'essai avec la présence de contrôles lors de l'analyse comme les blancs, les contrôles qualité et les vérifications de limites de quantification présents à la fin de chaque série analytique ;
- le personnel avec un contrôle de leur qualification assuré par leur habilitation et le maintien de l'habilitation ainsi que la participation aux formations initiales et continues.

Afin de conserver une traçabilité de l'action, l'ensemble les résultats obtenus lors des contrôles sont saisis sur un support.

II.5.1.2. Contrôles externes

La qualité des résultats est aussi assurée, dans la mesure du possible, par des contrôles externes. Ces contrôles nécessitent la participation à des essais interlaboratoires. Dans le cadre de polluants non réglementés, la réalisation de ce genre d'essais n'est pas aisée puisque très peu d'essais sont réalisés.

II.5.2. Anomalies et fiches d'actions

La validation d'un protocole ne garantit en rien la conformité permanente d'une méthode. Pour des raisons diverses et variées, un écart peut être observé par rapport à un résultat attendu. Dans ce cas précis, une anomalie est enregistrée afin d'en identifier la cause et de résoudre le problème rencontré par la mise en place d'actions correctives. Ce système permet aussi d'apporter des actions préventives de façon à anticiper certaines anomalies ou pour améliorer le système déjà mis en place. Ainsi, cette amélioration continue du système garantit une efficacité optimale.

II.5.3. Audits qualité

En vue d'évaluer le système qualité mis en place au laboratoire, des audits qualité sont organisés tous les quinze mois par le Cofrac (COmité FRançais d'ACcréditation) et tous les ans,

en interne, par le responsable de l'Assurance Qualité ou par des laboratoires qui proposent des audits internes reconnus par le Cofrac. Ces audits sont l'occasion de contrôler que l'organisation générale du laboratoire et le savoir faire technique, détaillés dans différents documents (manuel qualité, procédures, etc.), sont bien appliqués et correspondent aux exigences décrites dans la norme NF EN ISO/CEI 17025 et les différents référentiels publiés par le Cofrac.

CHAPITRE III

III Les résidus de médicaments et le département de la Dordogne : état des lieux de la contamination des ressources en eau

Le département de la Dordogne est le 3e plus vaste département français avec une superficie de 9 220 km^2. En 2009, l'Insee a recensé 411 266 habitants dont environ 30 000 habitants dans sa préfecture (Périgueux).

Zone très boisée (45 % du département), la Dordogne présente une densité de population relativement faible de 45 hab./km^2. A titre de comparaison, celle de l'Aquitaine s'élève à 78 hab./km^2. Ce département est à dominante rurale mais il reçoit de nombreux touristes et dispose d'une capacité d'accueil de 300 000 personnes par an.

Les effluents domestiques sont traités par de nombreuses stations d'épuration de capacité allant de 20 EH à 10 000 EH (équivalent-habitants) excepté pour les six stations les plus grandes qui sont dimensionnées pour un nombre d'équivalent-habitants compris entre 10 000 et 50 000. L'assainissement non collectif occupe une place importante au sein de la Dordogne puisque 85 % des communes du département ont plus de la moitié de leur parc de logements équipé pour l'assainissement non collectif ce qui représente environ 141 000 installations [Conseil Général de la Dordogne, 2009]. Cependant, ce profil n'est pas une exception nationale puisqu'il est à l'image de nombreux départements français comme une grande partie de ceux situés dans le Sud-Ouest et le centre de la France.

L'étude de la contamination par les résidus de médicaments des principaux cours d'eau du département de la Dordogne est née de la volonté du Conseil Général de développer des connaissances sur l'état chimique de certaines masses d'eau. Par le passé, cette administration a également mis en place des réseaux complémentaires de suivi des eaux superficielles et souterraines en vue de garantir un meilleur suivi des ressources en eau de ce département. Cependant, parmi les législations en vigueur, la Directive Cadre européenne sur l'Eau ne prévoit

pas la recherche de résidus de médicaments dans les masses d'eau continentales. Par ailleurs, l'impact de ces polluants émergents, au fort pouvoir médiatique, reste encore mal connu.

Plusieurs études exploratoires ont déjà été pilotées sur le territoire français par différents organismes publics [Billetorte, 2007 ; Togola *et al.*, 2008 ; Tracol et Duchemin, 2009 ; Agence de l'Eau Artois Picardie, 2010 ; Anses, 2011]. Ces projets ont couvert de vastes secteurs en ciblant, dans la majorité des cas, des zones peuplées et urbanisées à la différence du département de la Dordogne. Cependant, il faut souligner que l'étude réalisée par l'Agence de l'Eau Adour-Garonne conjointement avec la DRASS Midi-Pyrénées [Billetorte, 2007] ainsi que celle menée par l'Anses (2011) incluaient, dans leurs plans d'échantillonnage, respectivement trois et deux stations de mesure en Dordogne avec un seul prélèvement.

La première partie de ce chapitre décrira principalement le plan d'échantillonnage ainsi que les caractéristiques du territoire étudié tandis que la seconde partie sera dédiée à l'interprétation des résultats obtenus suite aux différentes campagnes de mesure.

III.1. Matériels et méthodes

En vue de rendre les résultats de cette étude exploitables par un grand nombre d'organismes publics français comme les Agences de l'Eau, les stations de mesure retenues pour ce programme sont issues du réseau de surveillance défini par l'Agence de l'Eau Adour-Garonne dans le cadre de la DCE. Le plan d'échantillonnage initial a également fait l'objet d'une extension par l'ajout de stations de mesure appartenant au réseau départemental dans le but de garantir une meilleure couverture du territoire étudié. Toutefois, la fréquence de prélèvement de ces stations est moins importante.

Au niveau logistique, nos campagnes de mesure sur l'ensemble du département ont pu être réalisées sur un laps de temps réduit (trois jours consécutifs) grâce à l'intervention des équipes de préleveurs du LDAR 24.

III.1.1. Caractéristiques du département

III.1.1.1. Densité de population

La densité de population du département de la Dordogne est presque deux fois moins importante que celle de la France (114 hab./km² en 2010). Les habitants de ce département majoritairement rural représentent 13 % de la population de la région Aquitaine. La Dordogne est également le territoire dont la moyenne d'âge est la plus élevée d'Aquitaine avec 31,2 % de ses habitants âgés de 60 ans ou plus en 2009. Enfin, ce département peu urbanisé possède deux villes de plus de 10 000 habitants [Insee, 2011]. La densité de population (hab./km²) du département de la Dordogne est illustrée par la figure III-1.

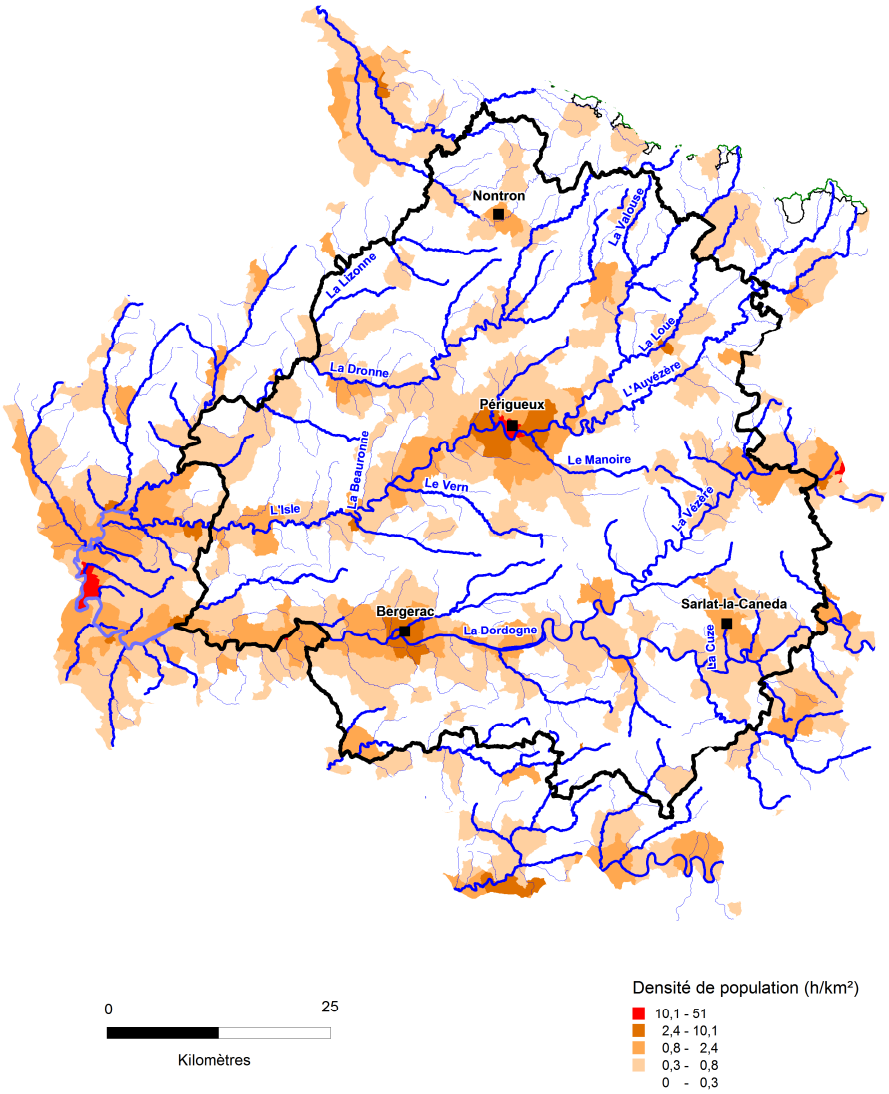


Figure III-1 Densité de population des bassins versants localisés sur le département de la Dordogne (hab./km²).

III.1.1.2. Élevage

L'élevage occupe une place majeure au sein de la Dordogne. Les filières présentes sur le territoire sont assez variées et la production départementale importante. L'activité agricole, principalement située au Nord-Est et à l'Est du département (figure III-2), comprend majoritairement (www.cg24.fr) :

- des bovins : la Dordogne est le 3e département laitier du Grand-Ouest et la filière « bovin viande » représente environ 36 % de la production régionale ;
- des ovins avec 280 élevages de plus de 50 brebis en 2011 ;
- des caprins avec 146 éleveurs pour une production de 13,2 millions de litres en 2010 ;
- des volailles grasses avec une production départementale qui se situe au 2e rang national pour les oies ;
- et des volailles maigres avec une production en poulet représentant 19 % de la production en Aquitaine.

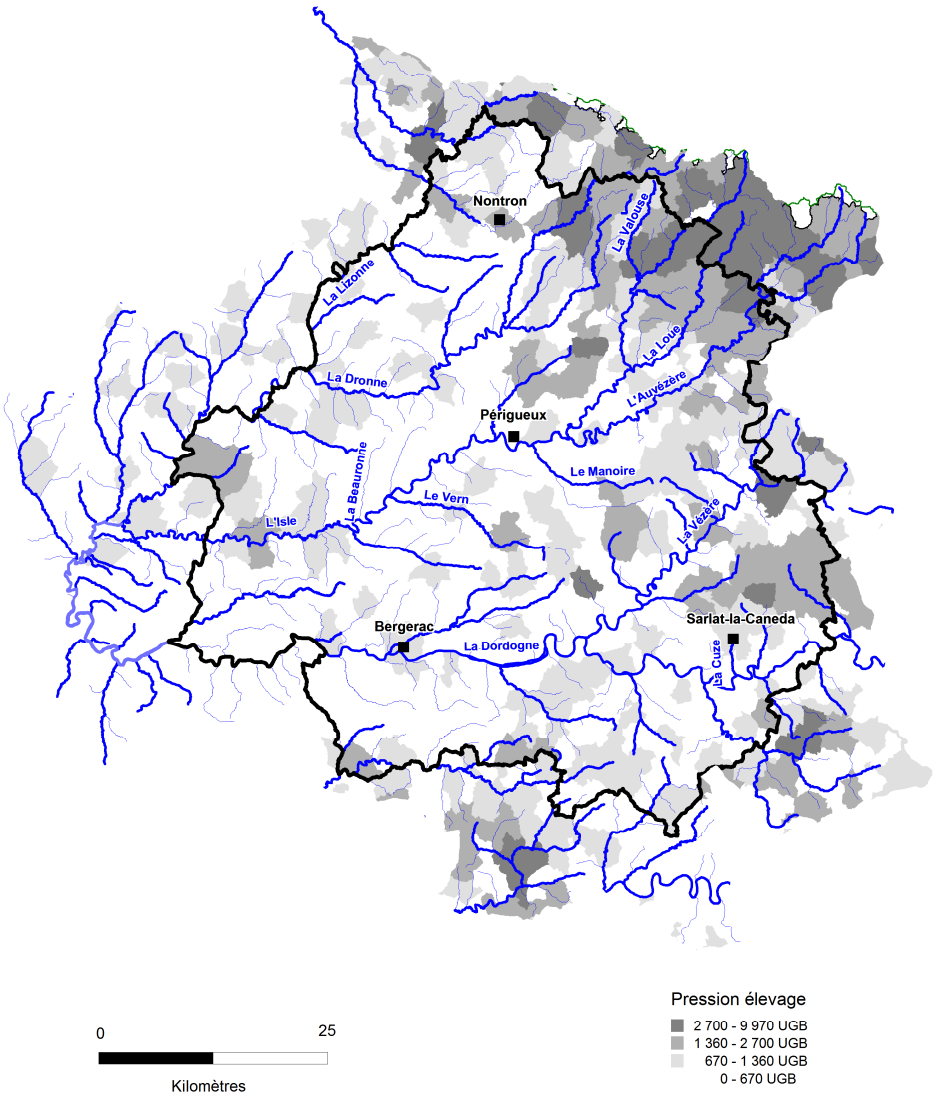


Figure III-2 Densité du bétail des bassins versants du département de la Dordogne en unité de gros bétail (UGB).

III.1.1.3. Climatologie

Les caractéristiques climatiques du département révèlent des précipitations annuelles moyennes d'environ 800 mm avec une disparité entre le sud-ouest bergeracois (inférieure à 800 mm) et le Nord – Nord-Est du département (supérieure à 1 000 mm).

Les températures moyennes du climat océanique périgourdin sont de 3,5°C en janvier et de 21,5°C en juillet avec une différence de 4°C en moyenne entre Bergerac (sud-ouest), où la température est la plus élevée, et le Nord-Est de la Dordogne.

L'année 2011 a été exceptionnelle d'un point de vue climatique. Elle est décrite dans la partie « III.1.7 Caractérisation de l'année 2011 ».

III.1.1.4. Géologie

Le département de la Dordogne est constitué de zones géologiques variées réparties sur trois grands ensembles (figure III-3). Le premier, localisé au Nord-Est du territoire, est une zone du domaine hercynien (Massif Central) où les roches sont cristallines et métamorphiques (schiste, gneiss, etc.). Les deux autres ensembles, situés sur la zone géologique du bassin aquitain (domaine des bassins céno-mésozoïques), sont composés d'une zone calcaire et une zone sablo-argileuse au Sud-Ouest du département.

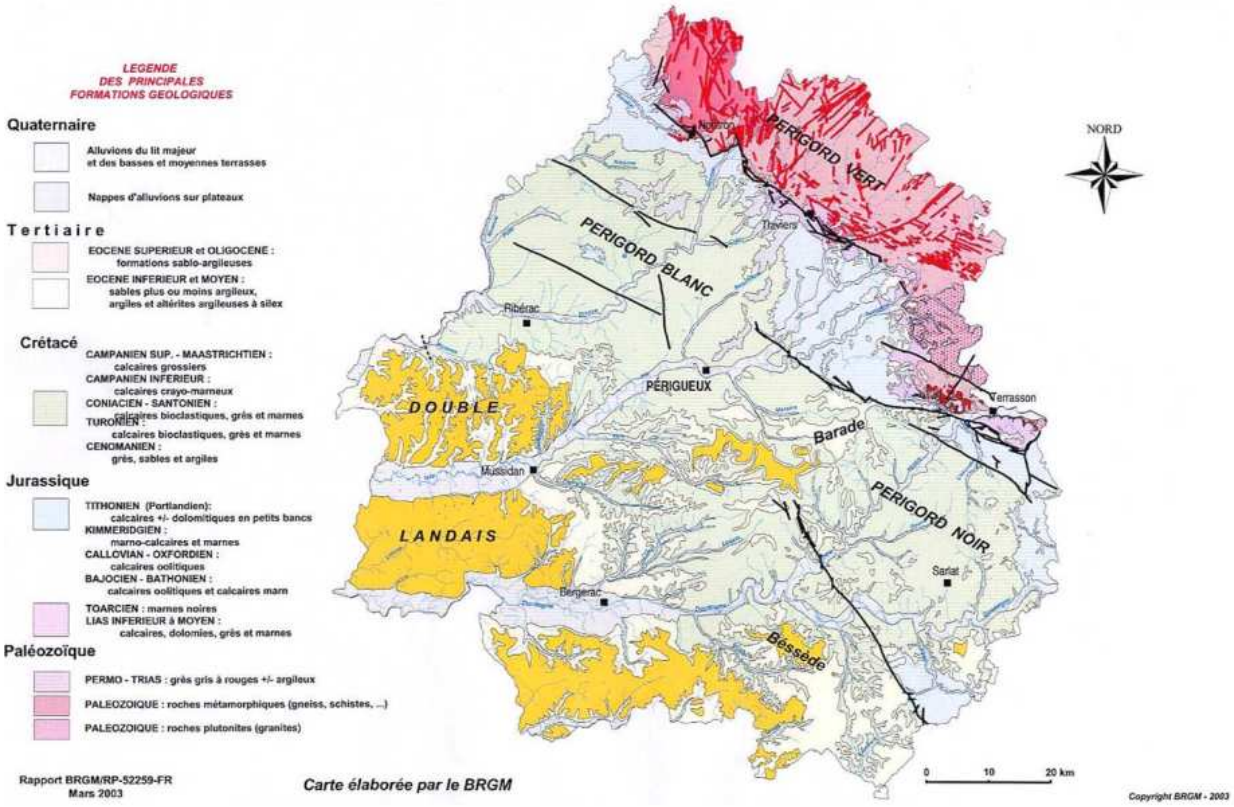


Figure III-3 Carte géologique simplifiée du département de la Dordogne (d'après BRGM).

III.1.2. Les sites d'échantillonnage

Les différentes stations de prélèvement sont localisées sur plusieurs cours d'eau du département de la Dordogne. Sur les trente sept points de prélèvement étudiés, quinze ont fait l'objet de campagnes mensuelles durant l'année 2011. Les vingt-deux autres stations ont été prélevées à une fréquence variant de un à cinq sur les douze mois de l'étude.

Les points de prélèvement, représentés sur la figure III-4 et décrits dans la partie « III.1.3 Description des différents bassins versants », peuvent être séparés en trois groupes selon leur fréquence de prélèvement :

- le premier groupe (en vert sur la carte) représente les stations qui ont été prélevées mensuellement pendant l'année 2011 ;
- le second groupe (points oranges), a été prélevé à une fréquence variant de une à six fois en 2011 ;
- le troisième groupe (points roses) représente des stations qui n'appartiennent pas au plan d'échantillonnage initial et qui n'ont été prélevées qu'une fois.

Ces dernières ont été ajoutées afin d'affiner l'état des lieux de la contamination par les résidus de médicaments du département de la Dordogne. Contrairement aux autres points de prélèvement, ces stations supplémentaires n'ont pas été définies par l'Agence de l'Eau Adour-Garonne.

Les stations de mesure situées sur le département de la Corrèze ne sont pas représentées sur cette carte.

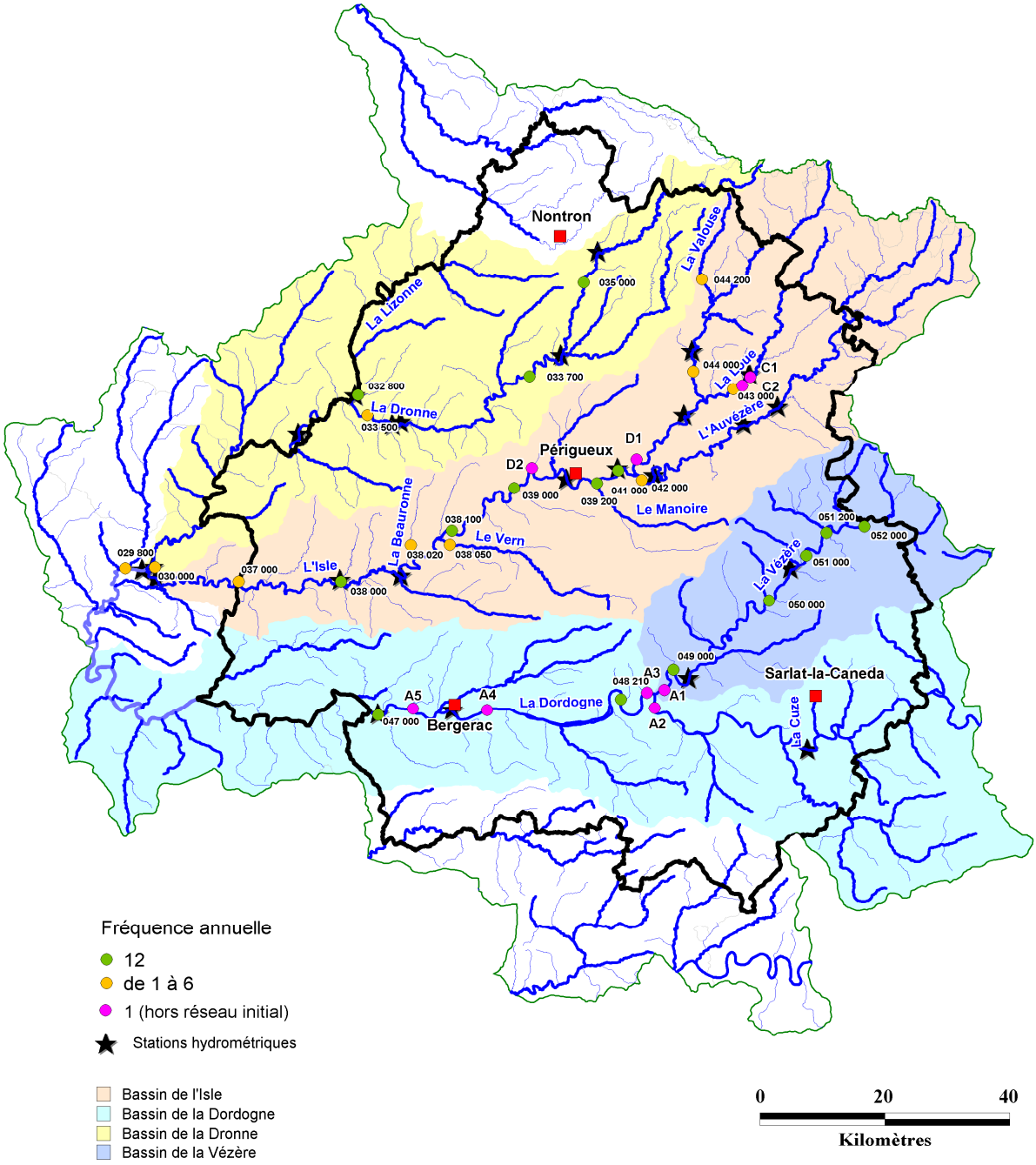


Figure III-4 Localisation des stations de mesure avec les fréquences de prélèvement dans les différents bassins étudiés (bassin de la Dordogne, de la Vézère, de la Dronne et de l'Isle).

III.1.3. Description des différents bassins versants

Les différents points de l'étude sont localisés sur quatre des six bassins versants du département de la Dordogne. Ils reflètent les différents profils qui caractérisent le département :

- Le bassin de la Dordogne est une zone touristique qui dispose d'une grande diversité faunistique dans sa partie amont.
- Le bassin de la Vézère est composé de nombreux sites naturels. Ce bassin, très touristique, est le reflet des conséquences induites par la pollution provenant de différents sites d'activités industrielles (Terrasson-Lavilledieu et Brive-la-Gaillarde en Corrèze).
- Le bassin de la Dronne est principalement caractérisé par la présence de pressions agricoles ainsi qu'industrielles (présence d'entreprises agro-alimentaires). Il s'agit également d'une zone qui dispose d'un panel riche et varié d'espèces animales et végétales reconnu puisque certains sites de la vallée de la Dronne sont classés Natura 2000[5].
- La partie amont du bassin de l'Isle (avant la confluence avec l'Auvézère) est soumise à des pressions agricoles élevées (élevages et cultures) avec une pression domestique relativement faible excepté sur certains cours d'eau comme la Loue où sont localisées plusieurs stations d'épuration communales. Le bassin aval de l'Isle se distingue par la présence de pressions industrielles et agricoles ainsi que de pressions domestiques fortes en aval de l'agglomération périgourdine.

III.1.3.1. Le bassin de la Dordogne

La Dordogne prend sa source au Puy de Sancy (Puy de Dôme) et rejoint la Garonne afin de former l'estuaire de la Gironde qui se jette dans l'océan Atlantique. Ce cours d'eau s'étend sur 483 km (linéaire).

Le débit moyen interannuel (1958 - 2011) relevé au niveau de la station de Bergerac est de 273,72 $m^3.s^{-1}$ (surface du bassin de 14 040 km^2). Les fluctuations saisonnières entre la période de basses eaux et de hautes eaux sont assez fortes puisque le débit mensuel moyen est de 459,23 $m^3.s^{-1}$ en février (maximum) et de 80,14 $m^3.s^{-1}$ en août (minium).

Aucune pression remarquable n'a été identifiée sur la partie du cours d'eau présente sur le département hormis une pression agricole en amont du bassin (élevage). Il existe, cependant, trois grands barrages hydroélectriques sur le tronçon étudié (barrages de Mauzac, Tuilières et Bergerac) ce qui peut générer certaines modifications du milieu.

La partie amont du bassin n'a pas fait l'objet d'une étude mais une campagne supplémentaire qui regroupe l'analyse d'échantillons d'eau issus de la confluence de la Vézère et de la Dordogne a été menée en juillet 2011. Cette campagne n'intervient pas dans le plan d'échantillonnage initial. Les caractéristiques des stations de mesure ainsi que leur localisation sont représentés sur le tableau III-I et la figure III-29.

[5] Le réseau Natura 2000 regroupe des sites naturels européens sélectionnés pour la rareté ou la fragilité de leur faune et leur flore.

Tableau III-I Dénomination et caractéristiques des stations de prélèvement du bassin de la Dordogne.

Nom de la station	Numéro de la station	Fréquence des prélèvements sur une année	Caractéristiques
La Dordogne à Trémolat	048 210	12	-
La Dordogne en aval de Bergerac	047 000	12	Aval STEP Bergerac (50 000 EH – système de traitement par boues activées)
La Dordogne en amont de la confluence avec la Vézère	A2	1	-
La Dordogne en aval de la confluence avec la Vézère	A3	1	-
La Dordogne en amont de Bergerac	A4	1	
La Dordogne en aval proche de Bergerac	A5	1	Aval STEP Bergerac (50 000 EH – système de traitement par boues activées)

III.1.3.2. Le bassin de la Vézère

La Vézère, affluent de la Dordogne, est un cours d'eau qui prend sa source à la tourbière de Longéroux dans la commune de Meymac (Corrèze) et qui se jette dans la Dordogne à Limeuil (Dordogne). La longueur du cours d'eau est de 211 km.

Le débit moyen interannuel de la Vézère entre 1967 et 2011 est de 58,13 $m^3.s^{-1}$ à Campagne dans le département de la Dordogne (surface du bassin versant de 3 736 km^2) avec un maximum de 97,18 $m^3.s^{-1}$ au mois de février et un minimum de 19,17 $m^3.s^{-1}$ au mois d'août. Néanmoins, il est important de préciser que ces valeurs sont des moyennes interannuelles et qu'elles ne mettent pas en évidence des phénomènes de fluctuations plus importants ou des périodes de sécheresse comme cela a été le cas en 2011 pour l'ensemble des bassins étudiés.

La pression domestique du bassin de la Vézère en Dordogne est relativement faible car il n'existe qu'une seule station d'épuration de capacité moyenne, située à Terrasson-Lavilledieu (10 000 EH) qui se rejette dans la Vézère. Cette ville est située en amont de la Vézère dans le département de la Dordogne. La pression agricole domine ce pan du département avec, notamment, une prédominance pour la culture de denrées alimentaires. La pression industrielle de ce bassin est caractérisée par la présence d'une papeterie, d'industries agro-alimentaires, d'un abattoir de volailles mais aussi de pisciculture. Il s'agit également d'une zone très touristique avec de nombreux campings. Enfin, avant de traverser le département de la Dordogne, la Vézère est déjà fortement impactée par les activités domestiques et industrielles de l'agglomération de Brive-la-Gaillarde (Corrèze).

Des prélèvements supplémentaires, non prévus dans le plan d'échantillonnage initial, ont été réalisés afin de déterminer l'impact de la commune de Brive-la-Gaillarde (Corrèze) sur son cours d'eau la Vézère.

Les caractéristiques des stations de prélèvement sont regroupées dans le tableau III-II et la localisation des points sur la figure III-29.

Tableau III-II Dénomination et caractéristiques des stations de prélèvement du bassin de la Vézère.

Nom de la station	Numéro de la station	Fréquence des prélèvements sur une année	Caractéristiques
La Vézère en aval de la Corrèze	052 000	12	Aval de Brive-la-Gaillarde et amont rejet STEP de Terrasson-Lavilledieu
La Vézère à Condat sur Vézère	051 200	12	Aval rejet STEP le Lardin Saint Lazare (2 250 EH – système de traitement par boues activées)
La Vézère à Aubas	051 000	12	-
La Vézère à Thonac	050 000	12	Amont STEP Thonac
La Vézère à la Bugue	049 000	12	Amont STEP Le Bugue
La Vézère à Limeuil	A1	1	Confluence Dordogne
La Vézère en amont de Brive-la-Gaillarde	B1	1	Amont de la STEP de Brive-la-Gaillarde et de la confluence avec la Corrèze
La Corrèze en amont de Brive-la-Gaillarde	B2	1	Amont de la STEP de Brive-la-Gaillarde
La Vézère en aval de Brive-la-Gaillarde	B3	1	Aval de la STEP de Brive-la-Gaillarde (250 000 EH – système de traitement par boues activées)

Pour la suite de ce chapitre, les bassins de la Dordogne et de la Vézère seront traités conjointement.

III.1.3.3. Le bassin de la Dronne

La Dronne prend sa source dans la commune de Bussière-Galant (Haute-Vienne) et se jette dans l'Isle au niveau de la commune de Coutras (Gironde). Son linéaire est de 200 km.

Le débit moyen interannuel de la Dronne s'élève à 24,62 $m^3.s^{-1}$ à la station de Coutras (surface du bassin versant de 2 816 km^2). Les débits moyens relevés entre 1967 et 2011 indiquent un débit moyen maximal de 50,48 $m^3.s^{-1}$ en février et un débit moyen minimal de 4,85 $m^3.s^{-1}$ en août.

Les pressions domestiques et industrielles ne sont pas élevées sur ce cours d'eau mais la présence de plusieurs élevages ainsi que de nombreuses cultures céréalières amènent une pression agricole qualifiée de moyenne[6].

La Lizonne, longue de 60 km, prend sa source à Sceau-Saint-Angel (Dordogne) et conflue avec la Dronne dans la commune de Saint-Séverin (Charente).

Au Marchais (station hydrométrique de référence), le débit moyen interannuel calculé entre 1985 et 2011 est de 5,15 $m^3.s^{-1}$ avec un maximum de 10,24 $m^3.s^{-1}$ au mois de janvier et un

[6] Les pressions sont définies par un secrétariat technique local sous la responsabilité du délégué régional de l'agence de l'eau avec la DIREN de région et le représentant régional de l'ONEMA.

minimum de 1,19 $m^3.s^{-1}$ au mois de février. La surface du bassin versant de la Lizonne au Marchais s'élève à 640 km^2.

La forte pression agricole est dominée par la présence de cultures sur ce territoire. La pression industrielle moyenne est notamment caractérisée par l'existence d'une papeterie.

Le plan d'échantillonnage du bassin de la Dronne est présenté sur la figure III-18. Le tableau III-III rassemble les fréquences de prélèvement et les caractéristiques des stations de mesure.

Tableau III-III Dénomination et caractéristiques des stations de prélèvements du bassin de la Dronne.

Nom de la station	Numéro de la station	Fréquence des prélèvements sur une année	Caractéristiques
La Dronne à Saint Front	035 000	12	Amont STEP Saint-Front-La-Rivière
La Dronne à Valeuil	033 700	12	-
La Dronne à Epeluche	033 500	2	-
La Dronne à Coutras	030 000	1	Amont confluence avec l'Isle et STEP de Coutras
La Lizonne au Marchais	032 800	12	Station hydrométrique

III.1.3.4. Le bassin de l'Isle

L'Isle prend sa source à Chamessouze à 390 m d'altitude (Haute-Vienne) et se jette dans la Dordogne dans la commune de Libourne (Gironde). Ce cours d'eau, qui est le principal affluent de la Dordogne, a un linéaire de 250 km.

Le régime hydrologique de l'Isle se compose de périodes de hautes eaux (décembre à avril) et de basses eaux (mai à novembre). Le débit moyen interannuel à Saint-Laurent-des-Hommes est de 35,58 $m^3.s^{-1}$ (1932-2011). À cette station, la surface du bassin est de 3 350 km^2 et les débits maximal (février) et minimal (août) sont de 64,34 $m^3.s^{-1}$ et 13,40 $m^3.s^{-1}$ respectivement.

Plusieurs affluents du bassin de l'Isle ont été suivis au cours de l'année 2011 et pour mieux définir ces différents cours d'eau, le tableau III-IV en fournit une description très succincte. La localisation des stations de mesure est présentée sur la figure III-21.

Tableau III-IV Description des affluents de l'Isle suivis en 2011 dans le bassin de l'Isle.

Nom du cours d'eau	Linéaire	Source (commune)	Confluence avec l'Isle (commune)	Débits annuels mesurés
Valouse	24 km	Saint-Pierre-de-Frugie (Dordogne)	Saint-Paul-la-Roche (Dordogne)	-
Loue	51 km	Saint-Yrieix-la-Perche (Haute-Vienne)	Coulaures (Dordogne)	À Saint-Médard-d'Excideuil (1966-2011) : • interannuel : 2,94 $m^3.s^{-1}$ • max. : 5,49 $m^3.s^{-1}$ • min. :0,87 $m^3.s^{-1}$
L'Auvézère	112 km	Saint-Germain-les-Belles (Haute-Vienne)	Lieu-dit le *Gué Rède* (Dordogne)	Au Change (1976-2011) : • interannuel : 8,43 $m^3.s^{-1}$ • max. : 16,80 $m^3.s^{-1}$ • min. : 1,82 $m^3.s^{-1}$
Le Manoire	27 km	Thenon (Dordogne)	Boulazac (Dordogne)	-
Le Vern	40 km	Cendrieux et Veyrines-de-Vergt (Dordogne)	Neuvic (Dordogne)	-
La Beauronne	18 km	Chantérac et Saint-Vincent-de-Connezac (Dordogne)	Lieu-dit *Beaufort* (Dordogne)	-

Les pressions agricoles sont élevées dans la partie amont du bassin de l'Isle où plus de la moitié de la zone est consacrée à l'élevage. Les pressions domestiques et industrielles sont relativement faibles sur l'ensemble du secteur à l'exception de la Valouse et de la Loue avec la présence de plusieurs stations d'épuration communales et la masse d'eau amont de l'Auvézère où est implantée une conserverie en Corrèze. Concernant la partie aval de l'Isle, la pression domestique est globalement importante au niveau de Périgueux et un peu moins soutenue sur le Manoire et le tronçon aval lointain de l'agglomération périgourdine. La pression agricole est localisée sur l'ensemble de bassin aval avec, principalement, la présence de cultures. Enfin, pour l'ensemble du territoire, la pression industrielle est qualifiée de moyenne par l'Agence de l'Eau Adour-Garonne excepté pour la zone d'activité de Boulazac qui génère une pression industrielle assez importante sur le Manoire

La démographie du bassin versant de l'Isle est de 320 000 habitants. Les 116 stations d'épuration dont dispose le bassin ne permet pas de traiter l'ensemble des eaux résiduaires produites [Epidor, 2001]. La partie non gérée par les stations d'épuration est soit rejetée directement dans le milieu soit traitée par des systèmes d'assainissement non collectif. En Dordogne, l'assainissement non collectif a une place importante puisqu'il représente 66 % des résidences du département (www.cg24.fr).

La partie amont du bassin de l'Isle a bénéficié d'une campagne particulière afin de caractériser l'impact de la ville de Saint-Médard-d'Excideuil sur la Loue ainsi que celui de l'Auvézère (affluent le plus long après la Dronne) sur l'Isle. Pour la ville de Saint-Médard-d'Excideuil, ce suivi a été organisé suite aux premiers résultats des campagnes d'échantillonnage réalisées en Dordogne. Cette campagne, réalisée en juin 2011, n'intervient pas dans le plan

d'échantillonnage initial. Le tableau III-V regroupe les caractéristiques des stations de prélèvement.

Tableau III-V Dénomination et caractéristiques des stations de prélèvements du bassin de la l'Isle.

Nom de la station	Numéro de la station	Fréquence des prélèvements sur une année	Caractéristiques
L'Isle à Corgnac	044 000	1	-
L'Isle à Charrieras	041 000	12	Station hydrométrique et amont agglomération périgourdine
L'Isle à Razac	039 000	12	Amont STEP de Razac-sur-l'Isle
L'Isle à Neuvic	038 100	12	-
L'Isle à Bénévent	038 000	12	Station hydrométrique
L'Isle à Saint-Antoine	037 000	6	Aval STEP Saint-Antoine-sur-l'Isle (1 500 EH – système de traitement par boues activées)
L'Isle à Guitres	029 800	4	Aval STEP Guitres (1 500 EH – système de traitement par boues activées)
La Valouse au Pont Fermier	044 200	3	-
La Loue à Saint-Martial-d'Albarède	043 000	3	Aval STEP Saint-Médard-d'Excideuil (1 930 EH – système de traitement par boues activées)
L'Auvézère à Pont Rognac	042 000	5	-
Le Manoire en aval de Boulazac	039 200	12	Aval zone industrielle
Le Vern à Neuvic	038 050	2	-
La Beauronne à Beauronne	038 020	3	-
La Loue en amont d'Excideuil	C1	1	
La Loue en aval d'Excideuil	C2	1	Aval STEP Saint-Médard-d'Excideuil (1 930 EH – système de traitement par boues activées)
L'Isle en amont de la confluence avec l'Auvézère	D1	1	-
L'Isle à l'écluse de la Roche	D2	1	Aval STEP Saltgourde (48 333 EH – système de traitement physico-chimique et par biofiltration)

III.1.4. Techniques de prélèvement de l'échantillon

III.1.4.1. Matériels

Les matériels utilisés pour les prélèvements, le transport et les mesures sur terrain lors des différentes campagnes sont les suivants :

- un préleveur d'eau à messager en acrylique avec des bouchons en polyuréthane de la société SDEC France (Reignac sur Indre, France) ;
- une canne de prélèvement en aluminium inoxydable ;
- un instrument multimétrique (SensoDirect 150) de la marque Lovibond (Dortmund, Allemagne) pour la mesure de la température, du pH, de la conductivité et de l'oxygène dissous ;
- des enceintes isothermes (modèle CF-80) de la société WAECO (Plailly, France) ;
- un enregistreur autonome de température (TK 110) provenant de la société Kimo (Montpon Ménestérol, France) ;
- des flacons en verre brun de 250 mL préalablement calcinés à 550°C pendant 2 heures ;
- un véhicule utilitaire équipé de réfrigérateurs.

III.1.4.2. Le prélèvement d'échantillons

Le prélèvement d'un échantillon d'eau superficielle peut être réalisé de plusieurs façons selon les caractéristiques physiques de la station de prélèvement sélectionnée. Au cours des différentes campagnes de mesure, les types de prélèvement suivants ont été effectués :

- Le prélèvement manuel à l'aide de pontonnières. Quand le niveau de l'eau le permet, il est possible de prélever directement à la main en se positionnant face au contre courant et en prélevant au moment ou les perturbations générées par la présence du préleveur se sont atténuées.
- Le prélèvement réalisé depuis un pont qui nécessite l'utilisation d'une bouteille lestée. Le prélèvement amont, qui est réalisé à mi-courant, permet d'obtenir une meilleure homogénéité de la masse d'eau (écoulement laminaire). L'utilisation d'une bouteille lestée permet de prélever l'échantillon à la profondeur désirée.
- Le prélèvement à l'aide d'une perche télescopique depuis la rive. Ce prélèvement doit être réalisé à au moins 2 m de la berge (en évitant les zones mortes).

Dans chaque cas, le prélèvement est effectué à environ 30 cm en dessous de la surface ou à mi-profondeur selon le cours d'eau. Le flacon et le bouchon sont rincés au préalable avec l'eau à analyser. Il est nécessaire de remplir le flacon dans sa totalité afin de limiter au maximum les interactions avec la phase gazeuse.

III.1.4.3. Conditions de prélèvement et paramètres mesurés sur le terrain

Pour assurer la traçabilité du prélèvement, à chaque station est associée une fiche de prélèvement (annexe 4). Elle répertorie les informations suivantes :

- la date et l'heure du prélèvement ;
- la description de la zone prélevée (berge, pont, profondeur, ombrage, etc.) ;
- la description de l'environnement (présence de feuilles, d'hydrocarbures, d'obstacles, etc.) ;
- une indication purement qualitative de l'aspect physique de l'eau (couleur, odeur, etc.) ;
- les conditions météorologiques ;
- les valeurs mesurées *in situ* de la conductivité, du pH, de l'oxygène dissous et de la température de l'eau et de l'air.

III.1.4.4. Conditionnement des échantillons

Le conditionnement des échantillons pendant le transport est une étape importante qui peut altérer l'intégrité des prélèvements. Afin d'éviter que les échantillons subissent des transformations biologiques, physiques voire chimiques, chaque flacon est transporté dans des enceintes isothermes à une température comprise entre 0°C et 10°C pour refroidir les échantillons mais aussi pour les conserver à l'abri de la lumière. Des appareils mobiles d'enregistrement de températures sont disposés dans chaque enceinte. Si la température relevée par les enregistreurs excède les 10°C, la température de l'échantillon est contrôlée et une anomalie est enregistrée dans le logiciel qualité du laboratoire.

III.1.5. Paramètres supplémentaires

Parallèlement à l'analyse des résidus de médicaments, les paramètres suivants ont été mesurés par des méthodes normalisées et accréditées :

- les Matières en Suspension (MES) ;
- le Carbone Organique Dissous (COD) ;
- les ions ammonium (NH_4^+) ;
- les ions nitrites (NO_2^-) et nitrates (NO_3^-) ;
- les ions orthophosphates (PO_4^{3-}) et le phosphore total ;
- la chlorophylle a.

L'ensemble de ces paramètres a été mesuré sous accréditation sur les échantillons d'eau issus du programme d'échantillonnage initial excepté la chlorophylle a qui a été dosée dans 31 % des échantillons. Pour les autres échantillons (campagnes exceptionnelles), seules les teneurs en COD et NH_4^+ ont été analysées. Les données brutes avec les limites de quantification associées sont regroupées dans l'annexe 5.

III.1.6. Qualité des cours d'eau

Depuis 2006, les différents bassins versants de la Dordogne sont analysés afin de répondre à la Directive Cadre sur l'Eau qui exige le retour au bon état écologique des masses d'eau européennes. Le tableau III-VI regroupe très sommairement les conclusions obtenues lors de la caractérisation de la qualité des cours d'eau du département de la Dordogne en 2009.

Tableau III-VI Qualité des cours d'eau des bassins versants étudiés en 2009 selon la DCE (d'après Conseil Général de la Dordogne, 2011).

Bassin	Nombre de stations suivies	Cours d'eau principal	Affluents
Dordogne	13	o Détérioration de l'état biologique en aval de Bergerac.	o 19 affluents sur 23 ont un état écologique moyen voire médiocre.
Vézère	11	o État moyen.	o Bon état sauf pour le Cern, la Laurence et la Beune.
Dronne	11	o État écologique moyen voire médiocre. o Bon état de la Dronne sur sa partie médiane.	o État écologique moyen voire médiocre. o Quelques affluents en bon état.
Amont de l'Isle	6	o État moyen malgré un bon état physico-chimique et biologique. o La présence de mercure déclasse l'Isle.	o État moyen. o La présence de mercure déclasse l'Auvézère.
Aval de l'Isle	6	o Bon état avant agglomération périgourdine. o État médiocre en aval de Périgueux.	o Affluents en bon état hormis certains cours d'eau comme le Manoire, le Vern ou la Beauronne.

III.1.7. Caractérisation de l'année 2011

Les différentes données illustrées par les figures III-5, III-6, III-7 et III-8 sont issues des mesures réalisées par la station météorologique de la ville de Bergerac[7] (seule station du département). Bien qu'il existe quelques contrastes entre certaines zones du département en termes de conditions météorologiques, les tendances observées en 2011 étaient similaires.

Pour la partie hydrologie, le choix des stations de mesure hydrométriques s'est porté sur des stations présentes sur la Dordogne, la Vézère, la Dronne et l'Isle et dont les débits mesurés en 2011 étaient disponibles[8].

III.1.7.1. Précipitations

L'année 2011, qualifiée de sèche, a été globalement déficitaire sur le plan pluviométrique. Il est tombé 463,8 mm en 2011 par rapport au 702 mm de la moyenne interannuelle ce qui représente un déficit de 34 %. Les mois de juillet et décembre ont été les seuls mois de l'année où le cumul de pluie a été excédentaire avec une différence d'environ 89% et 38 % par rapport à la moyenne mensuelle interannuelle calculée entre 1981 et 2010 (figure III-5). Enfin, de nombreux mois ont été déficitaires en 2011 dont avril et mai avec une différence d'environ 82 % et 93 % respectivement par rapport à la moyenne mensuelle interannuelle.

[7] Les données météorologiques sont issues des sites www.meteociel.fr et www.meteo-climat-bzh.dyndns.org.
[8] Les informations hydrologiques proviennent du site www.hydro.eaufrance.fr.

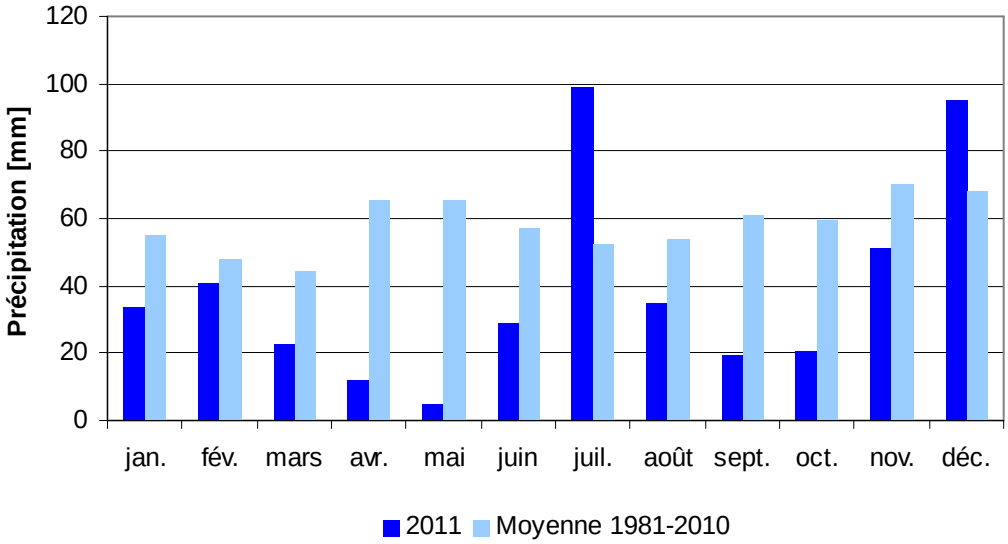


Figure III-5 Précipitations totales par mois de l'année 2011 et de la moyenne obtenue entre 1981 et 2010 relevées à la station de Bergerac (Dordogne).

La représentation graphique des périodes de prélèvement (trois jours maximum), illustrée par la figure III-6, a été rapprochée aux données de pluviométrie relevées sur 24 heures à la station météorologique de Bergerac. Les prélèvements ont globalement été réalisés par temps sec en 2011. Aucun épisode de crue n'a été relevé pendant les campagnes de mesure et les précipitations mesurées sur 24 heures sont, sur l'ensemble de l'année, très faibles. La faible pluviométrie permet de conjecturer sur l'impact négligeable de l'effet de la dilution ainsi que sur le ruissellement pouvant induire une aggravation de la contamination par les résidus de médicaments vétérinaires, entre autres.

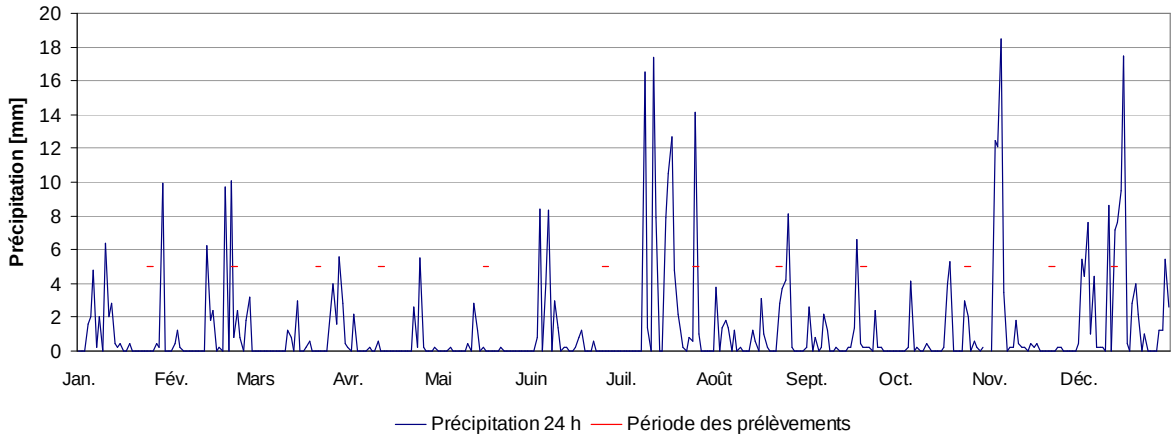


Figure III-6 Pluviométrie sur 24 heures mesurée à la station météorologique de Bergerac et période de prélèvement des stations définies par l'Agence de l'Eau Adour-Garonne.

III.1.7.2. Températures

La figure III-7 représente les températures moyennes minimales et maximales par mois de l'année 2011 ainsi que la moyenne obtenue entre 1981 et 2010. La seule différence notable, pour les températures minimales, concerne les mois de novembre et décembre. En 2011, les températures étaient légèrement plus élevées que la moyenne avec une différence de 2,8°C en

novembre et 2,6°C en décembre. Concernant les températures maximales, l'année 2011 a été plutôt chaude avec des records de températures en avril et mai (+5°C et +3,7°C respectivement par rapport à la moyenne). Le seul mois où la température moyenne mensuelle a été inférieure à la moyenne interannuelle est juillet avec une différence de 2,5°C.

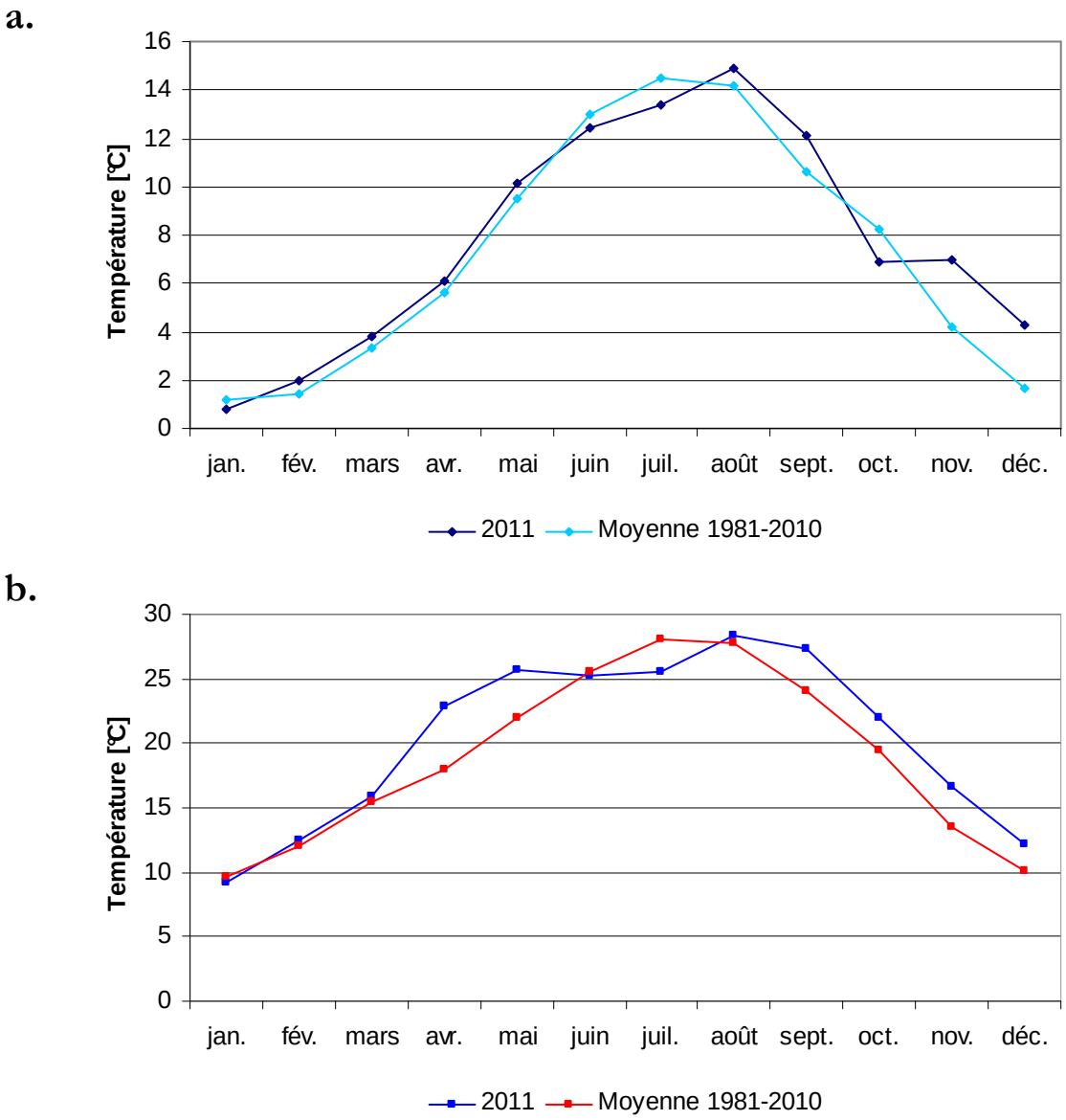


Figure III-7 Températures moyennes (a.) minimales et (b.) maximales par mois de l'année 2011 et de la moyenne obtenue entre 1981 et 2010. Les données ont été relevées à la station de Bergerac (Dordogne).

III.1.7.3. Ensoleillement

L'année 2011 a été une période très ensoleillée avec des mois d'avril, mai et octobre remarquablement excédentaires (figure III-8). Le mois d'avril a été assez exceptionnel puisque une différence d'ensoleillement total de 114,2 heures a été relevée entre 2011 et la moyenne des mois d'avril entre 1981 et 2010. *A contrario*, le mois de juillet a été moins ensoleillé avec une différence de 49,3 heures avec la moyenne interannuelle du mois de juillet.

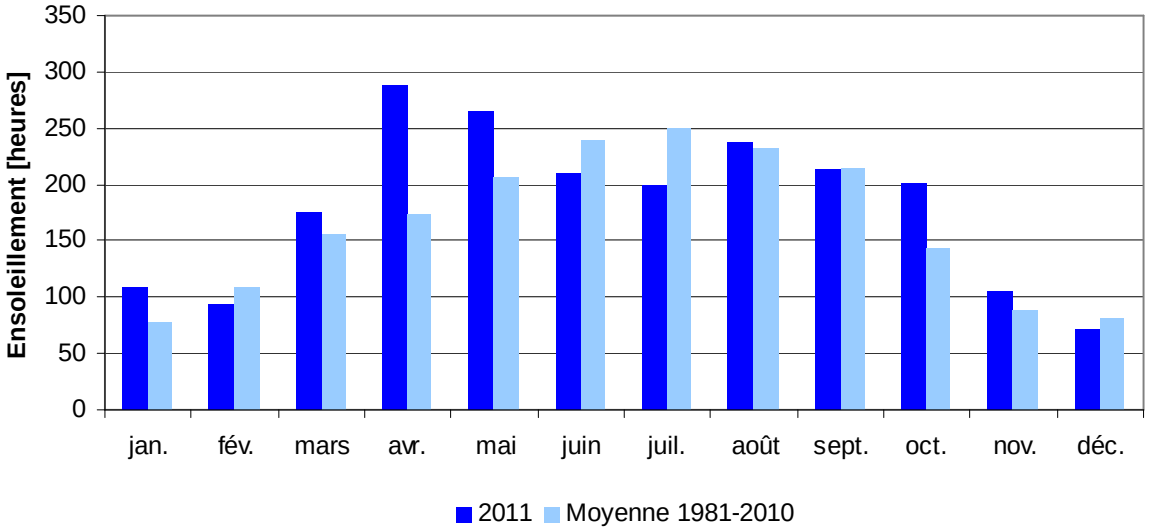


Figure III-8 Ensoleillement total par mois de l'année 2011 et de la moyenne obtenue entre 1981 et 2010. Les données ont été relevées à la station de Bergerac (Dordogne).

III.1.7.4. Débits

L'année 2011 a été exceptionnelle en termes de pluviométrie, ensoleillement et température ce qui a eu une conséquence directe sur les différents cours d'eau du département. La figure III-9 représente les débits moyens mensuels mesurés en 2011 et la moyenne des débits moyens mensuels mesurés sur une période variant de 10 ans à 78 ans selon l'année de mise en service des stations de mesure hydrométriques. La tendance observée est similaire puisque le débit moyen est environ deux fois moins important que la moyenne interannuelle excepté pour le mois de décembre où les débits de la Dordogne et la Vézère sont proches de leur débit moyen interannuel respectif. Il est également intéressant de noter qu'un « effet plateau » est observé entre mai et novembre pour les débits mesurés en 2011.

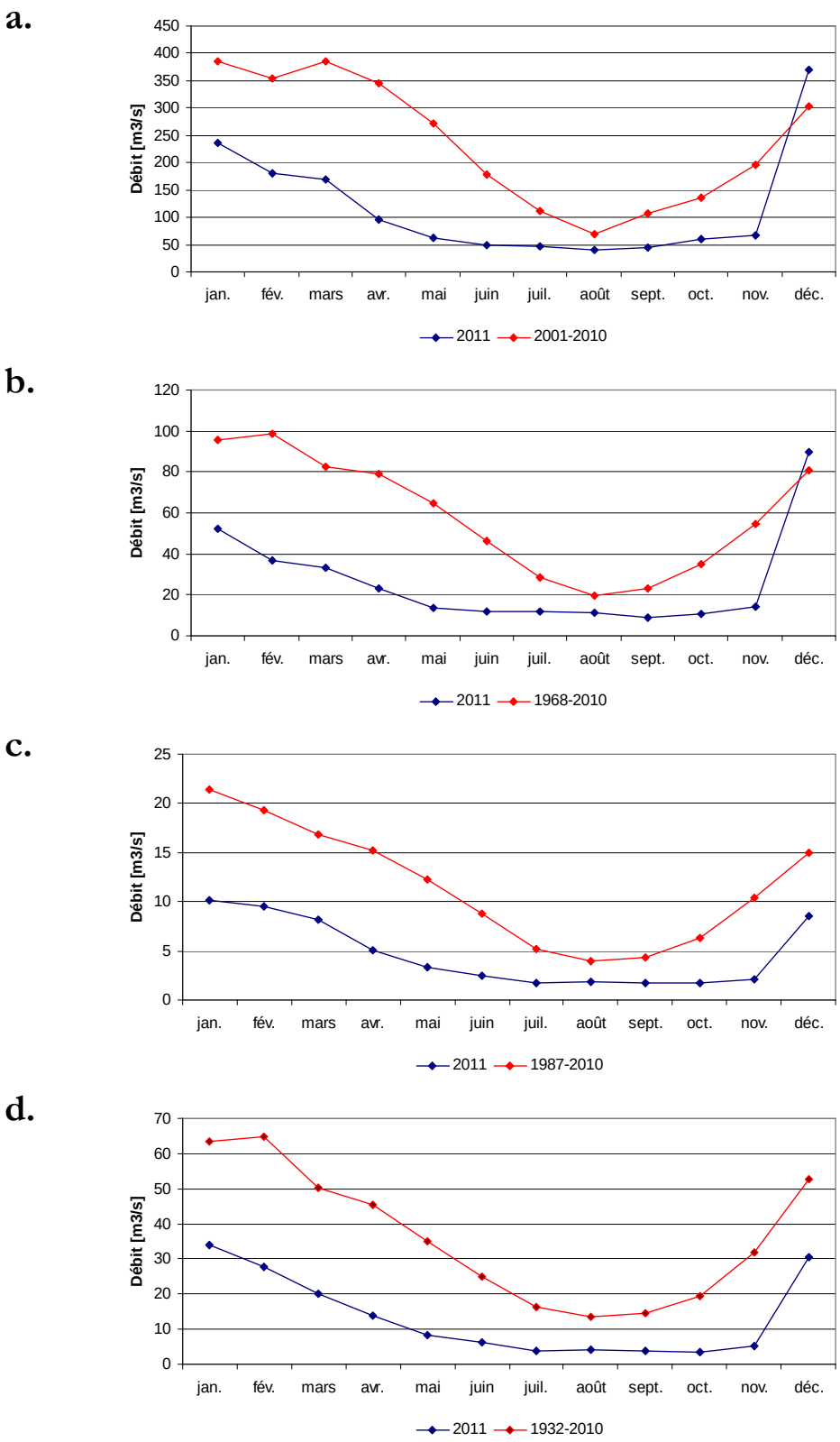


Figure III-9 Débits mensuels moyens mesurés en 2011 et débits mensuels moyens interannuels relevés sur les stations de mesure hydrométriques de (a.) la Dordogne à Lamonzie-Saint-Martin, (b.) la Vézère à Campagne, (c.) la Dronne à Villetouraix et (d.) l'Isle à Saint-Laurent-des-Hommes.

III.1.7.5. Conclusion

L'année 2011 a été une période assez atypique en termes de climatologie. La faible pluviométrie ainsi que l'ensoleillement abondant ont eu pour effet de diminuer le niveau des cours d'eau et d'augmenter la température de l'eau ce qui peut favoriser les dégradations biotiques et abiotiques des micro-polluants organiques dans le milieu aquatique. Toutefois, la dégradation des résidus de médicaments (STEP, milieu naturel, etc.) étant multifactorielle et molécule dépendant, les paramètres climatiques restent insuffisants pour interpréter leur comportement dans le milieu récepteur.

III.1.8. Calcul des flux

Définir l'impact environnemental engendré par un ou plusieurs composés nécessite de connaître le flux des composés car il permet de comparer les charges polluantes. Il est important de souligner que l'expression des données sous forme de concentrations est tout aussi utile puisque complémentaire. Par exemple, il est plus aisé de mettre en évidence certaines tendances liées à la saisonnalité à partir des flux alors que les concentrations sont plus indiquées pour l'évaluation des risques écotoxicologiques.

Le flux est calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{Flux}\,(g/j) = \text{Concentration}\,(g/m^3) \times \text{Débit}\,(m^3/j)$$

Équation 7 – Calcul du flux en g/j

Les calculs de flux ont été réalisés, pour cette étude, aux stations de mesure « l'Isle à Bénévent » (038 000), « la Vézère à Aubas » (051 000) et la « Vézère à le Bugue » (049 000). Ces sites sont localisés à proximité d'une station hydrométrique qui permet de mesurer la hauteur du niveau du cours d'eau. Les débits instantanés sont calculés à l'aide d'une courbe de tarage et rendus disponibles sur le site HYDRO (www.hydro.eaufrance.fr). Les flux ont été calculés en considérant que les concentrations étaient homogènes dans la colonne d'eau.

III.1.9. Traitement statistique des données

La distribution des résidus de médicaments par classe pharmacologique retrouvés dans chaque bassin a été illustrée sous la forme de graphique type « boîtes à moustaches » (figure III-10). Cette représentation graphique se compose des données suivantes :

- la médiane ;
- le 1er quartile (Q1) qui représente 25 % des valeurs ;
- le 3^{e} quartile (Q3) qui représente 75 % des valeurs ;
- l'extrémité de la moustache inférieure qui correspond à la valeur minimum supérieure à la frontière basse (Q1-1,5 × (Q3-Q1)) ;
- l'extrémité de la moustache supérieure qui correspond à la valeur maximum inférieure à la frontière haute (Q3+1,5 × (Q3-Q1)) ;
- les valeurs atypiques lorsqu'elles existent.

Pour les données qui nous intéressent, toutes les concentrations détectables ont été prises en compte malgré l'existence d'incertitudes plus élevées pour les valeurs inférieures à la limite de quantification. Il s'agissait, en effet, de ne pas perdre d'informations relatives à la présence de

certains résidus. Pour les composés non détectés, les concentrations ont été considérées comme étant nulles.

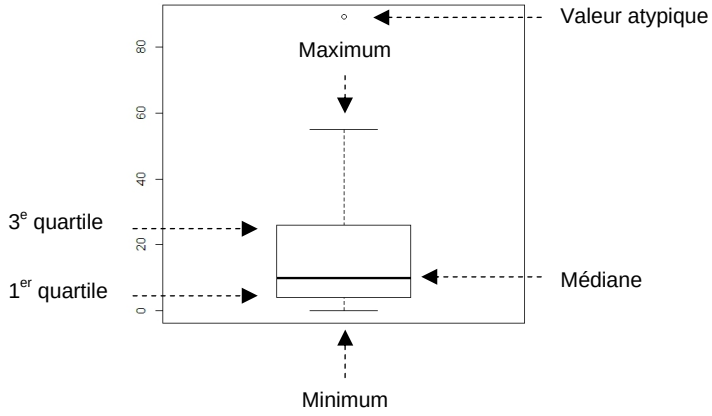


Figure III-10 Représentation graphique en boîte à moustaches.

L'étude de la corrélation entre deux variables a été réalisée en calculant le coefficient de corrélation linéaire de Pearson (r). Ce paramètre, compris entre – 1 et 1, permet de mettre en évidence l'existence ou non d'une liaison linéaire. Il est calculé à partir de la formule suivante :

$$r = \frac{\sum((x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}))}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2}}$$

Équation 8 – Formule du coefficient de corrélation linéaire de Pearson (r)

Si le coefficient de corrélation de Pearson est proche de 1 ou – 1, les deux variables sont, respectivement, linéairement corrélées positivement ou négativement. S'il est proche de 0, la liaison linéaire est faible.

III.2. Données générales obtenues sur l'ensemble des campagnes de mesure

III.2.1. Fréquence de détection

La figure III-11 regroupe les fréquences de détection calculées à partir des résultats obtenus sur les stations suivies par l'Agence de l'Eau Adour-Garonne (fréquence de prélèvement supérieure ou égale à un). Sur l'ensemble des différentes campagnes, vingt molécules sur les quarante recherchées ont été détectées au moins à une reprise. Le « spectre » thérapeutique des composés retrouvés dans plus de 50 % des cas est assez large puisqu'il inclut un analgésique, un diurétique, un anti-inflammatoire non stéroïdien, un hypolipidémiant, un antiépileptique et un anxiolytique.

Parmi les molécules les plus fréquemment détectées, la carbamazépine se place en tête avec une fréquence de 81,3 %. Bien qu'il s'agit d'un principe actif utilisé pour des pathologies particulières et n'étant disponible que sous prescription médicale, la molécule est connue pour être très persistante dans l'environnement et réfractaire aux traitements utilisés par les stations d'épuration [Ternes, 1998 ; Reemtsma *et al.*, 2006 ; Miège *et al.*, 2009]. D'usage plus répandu, le paracétamol et le diclofénac ont souvent été retrouvés durant ces campagnes. Ces principes actifs

sont principalement introduits par les systèmes d'assainissement et des rendements d'élimination du diclofénac par les stations d'épuration ont été déterminés comme pouvant varier de 0 à 80 % selon les filières. Cela peut expliquer sa présence dans les eaux naturelles des différents bassins étudiés [Reemstma *et al.*, 2006)]. En revanche, le cas du paracétamol est différent puisque plusieurs études ont montré que cette molécule était très bien éliminée par les stations d'épuration [Ternes, 1998 ; Benotti *et al.*, 2007]. Ainsi, la présence de paracétamol dans le milieu naturel peut être le signe d'un mauvais traitement épuratoire ou de rejets non traités [Budzinski *et al.*, 2006].

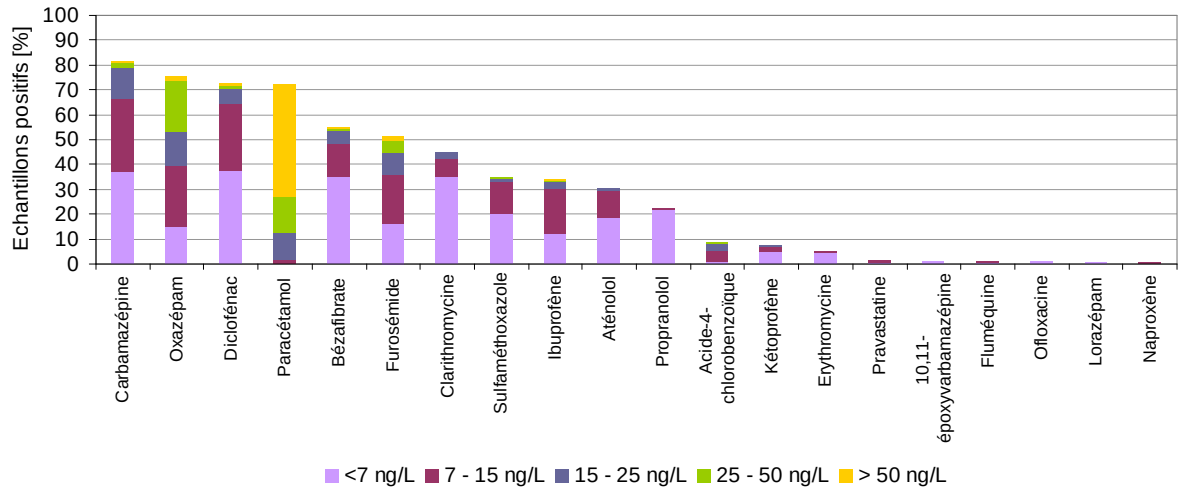


Figure III-11 Fréquence de détection des molécules recherchées lors des différentes campagnes de mesure organisées en 2011. La concentration minimale (7 ng.L^{-1}) correspond à la plus haute limite de détection (hors paracétamol qui a une limite de détection de 16 ng.L^{-1}).

Les résidus de médicaments les plus fréquemment détectés sont la carbamazépine, l'oxazépam et le diclofénac. Plusieurs études ont déjà mis en évidence la récurrence de la carbamazépine dans les eaux de surface. En France, Vulliet et Cren-Olivé (2011) ont retrouvé de la carbamazépine dans 61 % de leurs échantillons d'eau de surface tandis que Kim *et al.* (2007) l'ont quantifié dans 87,5 % des eaux de surface sud-coréenne. Ces données sont en accord avec le caractère persistant de cette molécule. *A contrario*, les données de présence de certaines molécules dans les eaux de surface comme le paracétamol sont très variables. En Allemagne, Ternes (1998) n'a pas détecté de paracétamol dans les eaux de surface alors qu'aux États-Unis, Kolpin *et al.* (2002) en ont retrouvé dans 23,8 % de leurs échantillons.

En prenant en considération certaines campagnes exploratoires qui ont déjà été menées sur le territoire français et en se basant sur un panel de molécules recherchées similaires, les composés les plus fréquemment retrouvés sont majoritairement les mêmes. Par exemple, lors de la campagne exploratoire de 2010 réalisée par l'Agence de l'Eau Artois-Picardie, sur les cinquante-quatre composés recherchés, huit ont été quantifiés dont la carbamazépine, le diclofénac, l'aténolol, le propranolol, l'érythromycine et le sulfaméthoxazole (l'acide fénofibrique et la metformine ont aussi été retrouvés mais n'ont pas été recherchés lors de notre étude).

En France, les eaux brutes destinées à la production d'eau potable (ressources superficielles et souterraines) ont fait l'objet d'une étude publiée en 2009 par l'Agence de l'eau Seine-Normandie et d'une autre étude publiée en 2011 par l'Anses. Parmi les molécules retrouvées, l'oxazépam, le bézafibrate, le kétoprofène et le furosémide s'ajoutent aux composés cités précédemment. Enfin, seule l'étude organisée par l'Anses (2011) a révélée la présence de paracétamol et d'ibuprofène dans ses échantillons. Cependant, il est nécessaire de nuancer ces constatations pour deux raisons. La première est qu'il existe des disparités entre les sites d'étude.

La seconde concerne les performances analytiques des protocoles utilisés lors de ces études qui ne sont pas toujours comparables. A titre d'exemple, les limites de quantification de l'ibuprofène étaient de 50 et 500 $ng.L^{-1}$ (selon le laboratoire prestataire) pour la campagne de l'Agence Artois-Picardie contre une limite de quantification de 10 $ng.L^{-1}$ pour le protocole développé par l'Anses ce qui met particulièrement en exergue l'importance des performances analytiques notamment pour l'analyse des résidus de médicaments dans l'environnement.

La clarithromycine (antibiotique de la famille des macrolides) est une molécule qui n'a pas été recherchée lors des études mentionnées ci-dessus. En 2011, les différentes campagnes réalisées dans le département de la Dordogne ont montré que 45 % des échantillons analysés contenaient de la clarithromycine à de faibles concentrations (inférieures à 25 $ng.L^{-1}$). Certaines études ont également recherché cette molécule [POSEIDON, 2004]. La présence de clarithromycine avec des niveaux de concentrations allant de 20 à 60 $ng.L^{-1}$ a été mise en évidence dans des cours d'eau allemands. Dans le sud de la France, Feitosa-Felizzola et Chiron (2009) ont retrouvé de la clarithromycine dans l'Arc à des concentrations comprises entre 8 et 1 560 $ng.L^{-1}$.

Parmi les quarante molécules qui ont été recherchées, seulement onze résidus ont été retrouvés dans plus de 10 % des échantillons. L'intérêt de rechercher l'ensemble des molécules de la liste qui a été définie peut être discuté et mener, *in fine*, à une réduction du nombre de composés étudiés pour des raisons économiques, par exemple. Néanmoins, cette étude ne comprend que l'étude de la phase dissoute des eaux de surface et a exclu la phase particulaire. La répartition des composés entre ces deux phases va varier selon les propriétés physico-chimiques des composés. Par ailleurs, ces travaux ont été réalisés sur une zone rurale et les résidus de médicaments peuvent varier d'une région à une autre. En effet, Vulliet et Cren-Olivé (2011) ont retrouvé de la testostérone dans 96 % de leurs échantillons d'eaux de surface (région Rhône-Alpes) alors que cette molécule n'a pas été détectée lors de notre étude.

Aujourd'hui, réduire la liste des composés recherchés semble difficile mais si l'objectif est de définir si un site est contaminé par la présence de résidus de médicaments, l'analyse de composés indicateurs semble être une alternative intéressante.

Pour conclure, il est important de préciser que la détection des molécules dans le milieu aquatique varie selon :

- la localisation des stations de prélèvement (proximité STEP, etc.) ;
- les conditions climatiques (étiage, fortes pluies, etc.) ;
- la consommation « locale » ;
- les capacités (EH) et les efficacités des filières d'assainissement ;
- et les performances analytiques des méthodes de dosage.

Ces considérations sont d'autant plus importantes qu'elles conditionnent les résultats obtenus ce qui rend la comparaison entre différentes études peu aisée.

Concernant les stations ayant été utilisées pour les campagnes de mesure, il est important de souligner qu'aucun échantillon n'a été prélevé à proximité (moins d'un km) de rejets de stations d'épuration. La volonté initiale étant de définir l'état chimique des cours d'eau, les stations de prélèvement n'ont pas été sélectionnées en fonction des apports de pollution directs mais essentiellement d'après l'apport global d'un affluent (avant la confluence) ou d'un bassin versant. Cette stratégie permet d'obtenir une vision plus globale de l'état de la contamination, de mettre en avant les composés les plus rémanents mais aussi d'être le plus représentatif possible.

III.2.2. Contamination des bassins étudiés et traitements statistiques

III.2.2.1. Principales classes pharmacologiques retrouvées

Les figures III-12 et III-13 représentent les classes pharmacologiques les plus fréquemment retrouvées par bassin étudié (concentration). Sur l'ensemble des représentations graphiques, le bassin de la Dronne est globalement peu contaminé malgré la présence de quelques valeurs atypiques observées pour les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les anxiolytiques, par exemple.

Pour les bassins de l'Isle et de la Dordogne[9], une forte dispersion des concentrations en antibiotiques est observée avec des valeurs atypiques de 37 et 22 ng.L^{-1}. Cependant, la dispersion reste plus restreinte pour le bassin de la Dordogne. Cette différence s'explique, en partie, par la présence de sulfaméthoxazole à des concentrations plus fortes et variables dans le bassin de l'Isle.

La figure III-12 qui représente les résultats obtenus pour le furosémide (seul diurétique analysé) met en évidence la présence de nombreuses valeurs atypiques pour le bassin de l'Isle. Le bassin de la Dordogne ne propose pas le même profil. Les concentrations du furosémide sont moins importantes que celles retrouvées dans le bassin de l'Isle. Cependant, en comparant la médiane des deux bassins, le furosémide est plus fréquemment détecté dans les échantillons du bassin de la Dordogne.

Les antiépileptiques, et plus précisément la carbamazépine, sont couramment détectés dans les bassins de l'Isle et de la Dordogne. Pour ces deux zones, les valeurs médianes sont relativement proches puisqu'elles s'élèvent à 8 ng.L^{-1} pour le bassin de l'Isle et 7 ng.L^{-1} pour le bassin de la Dordogne.

Concernant les anxiolytiques, représentés principalement par l'oxazépam, les profils sont similaires pour les deux bassins malgré une dispersion plus importante pour le bassin de l'Isle après le second quartile. Une valeur atypique a été mesurée pour les bassins de l'Isle et la Dordogne. Pour le bassin de l'Isle, la valeur exceptionnelle correspond à la station « la Loue à Saint-Martial-d'Albarède » (novembre 2011). Ce prélèvement concorde également avec les concentrations les plus élevées des antiépileptiques, diurétique, hypolipidémiants et antibiotiques. La donnée atypique des anxiolytiques relevée pour le bassin de la Dordogne a été obtenue pour la station « la Vézère à Aubas » (novembre 2011). Ce prélèvement correspond aussi à la concentration maximale (85 ng.L^{-1}) de l'antiépileptique.

[9] Le bassin de la Vézère est inclus dans le bassin de la Dordogne.

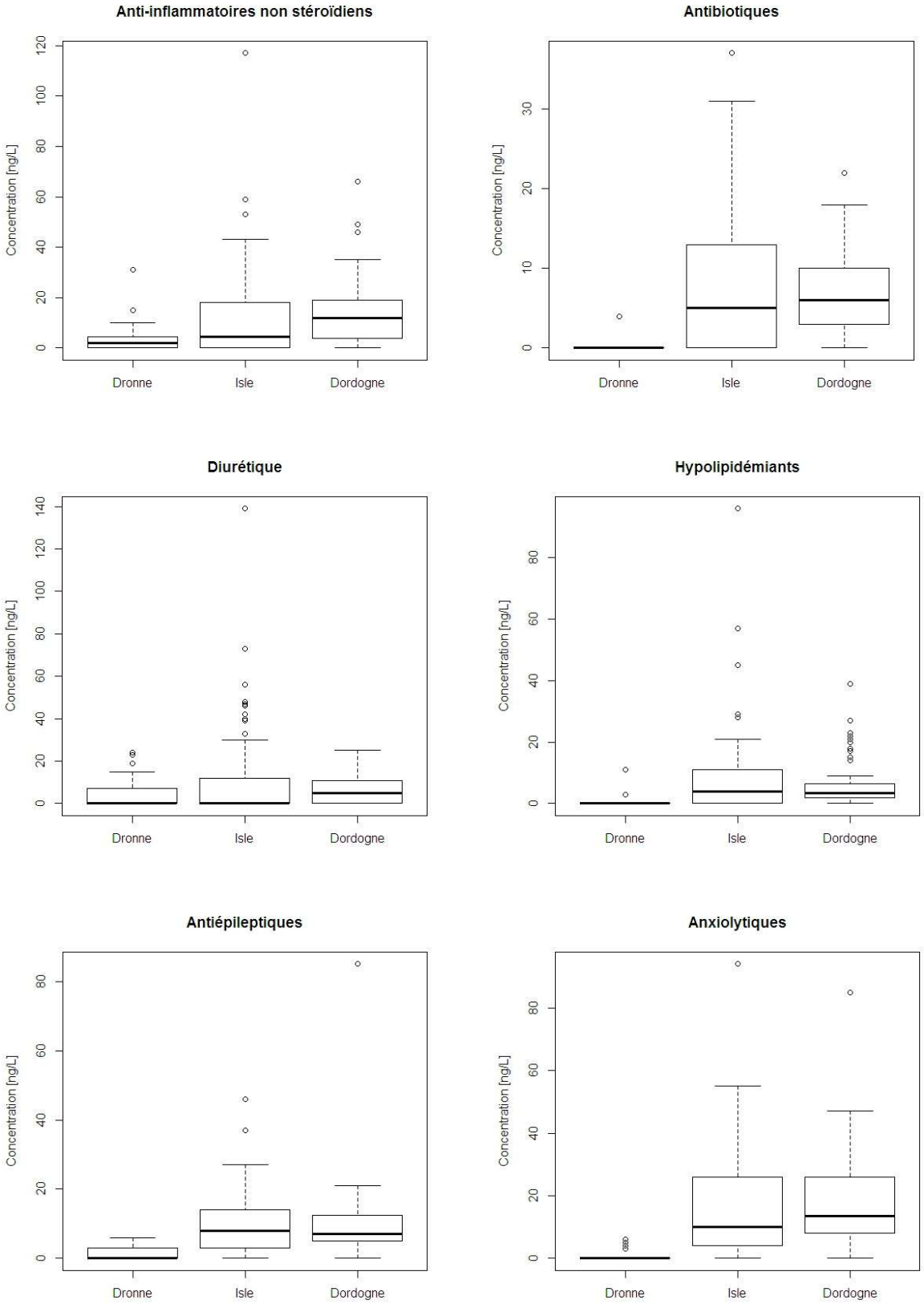


Figure III-12 Concentrations (ng.L^{-1}) des classes pharmacologiques les plus fréquemment détectées par bassin.

Le cas du paracétamol (analgésique) a été traité individuellement car il s'agit du seul composé qui ait été retrouvé à des niveaux de concentrations très variés (quelques ng à quelques µg). Ainsi, dans un souci de lisibilité, les bassins ont été réalisés dans différents graphiques (figure III-13).

Le paracétamol a été détecté dans moins de 50 % des échantillons provenant du bassin de la Dronne (médiane nulle). Pour 75 % des prélèvements analysés, la concentration mesurée n'excède pas 55,5 $ng.L^{-1}$ (3e quartile) ce qui est comparable au bassin de l'Isle (3e quartile de 66,7 $ng.L^{-1}$). Cependant, la représentation graphique révèle la présence de quatre valeurs atypiques dont trois qui sont de l'ordre du $\mu g.L^{-1}$. Parmi ces trois valeurs, la plus élevée a été mesurée à la station « la Lizonne au Marchais » tandis que les deux autres ont été quantifiées dans « la Dronne à Valeuil » pendant les mois de janvier et décembre.

La fréquence de détection du paracétamol dans les échantillons du bassin de l'Isle est plus importante que celle de la Dronne. Toutefois, la moyenne des concentrations du bassin de l'Isle reste plus faible (60 $ng.L^{-1}$ pour l'Isle et 149 $ng.L^{-1}$ pour la Dronne). La figure III-13 met également en avant la présence d'un grand nombre de valeurs atypiques provenant du bassin de l'Isle avec une valeur maximale ne dépassant pas les 800 $ng.L^{-1}$. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que la majorité des valeurs atypiques du bassin de la Dordogne mais sont inférieures aux concentrations les plus élevées du bassin de la Dronne qui atteignent le $\mu g.L^{-1}$.

Le bassin de la Dordogne révèle une plus grande dispersion par rapport aux deux autres bassins. La médiane est de 97 $ng.L^{-1}$ ce qui fait du bassin de la Dordogne un site fortement impacté par la présence de paracétamol par rapport aux autres sites d'étude. La représentation graphique fait aussi état de plusieurs valeurs atypiques provenant de la Vézère et de la Dordogne (à Trémolat). Il est intéressant de noter que la concentration mesurée la plus importante (12 351 $ng.L^{-1}$ - non représentée sur la figure III-13) correspond au prélèvement réalisé sur « la Vézère à Aubas » en novembre 2011. C'est dans ce même échantillon qu'ont été mesurées les concentrations en anxiolytiques et antiépileptiques les plus élevées dans ce bassin. Ces valeurs singulières coïncident également avec la conductivité inhabituelle qui a été relevée sur ce site. Une valeur de 580 $\mu S.cm^{-1}$ a été mesurée sur cet échantillon d'eau alors que la conductivité usuelle de « la Vézère à Aubas » est comprise entre 100 et 200 $\mu S.cm^{-1}$.

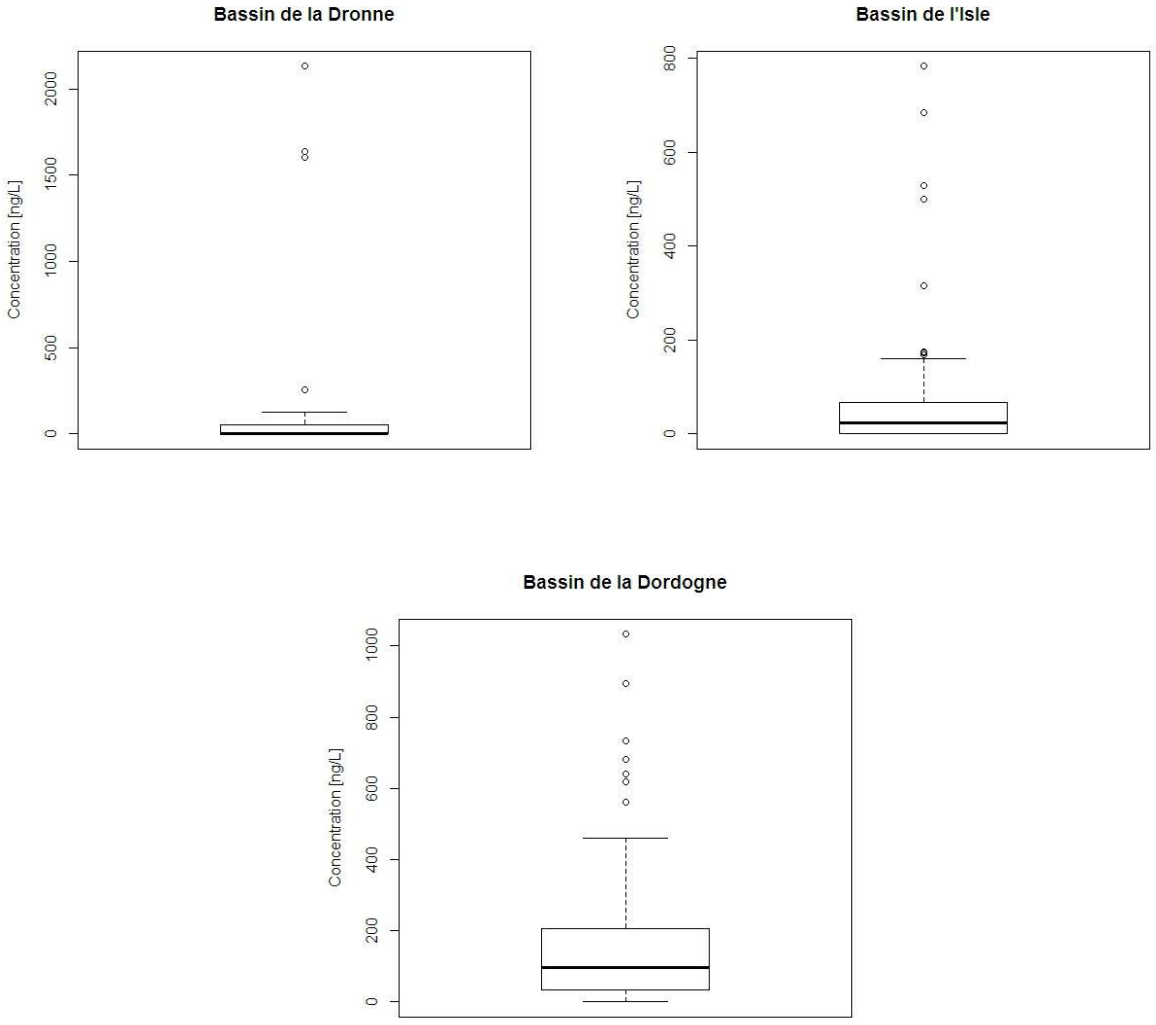


Figure III-13 Concentrations du paracétamol (analgésique) pour chaque bassin étudié. La valeur maximale (12 351 ng.L^{-1}) mesurée dans le bassin de la Dordogne a été retirée afin d'améliorer la lisibilité du graphique.

III.2.2.2. Corrélations linéaires

La figure III-14 permet de mettre en évidence l'existence d'une corrélation linéaire positive entre la carbamazépine et l'oxazépam (r = 0,8995). Ces molécules, les plus fréquemment détectées sur l'ensemble des campagnes de mesure, s'avèrent être rémanentes dans les eaux de surface. La carbamazépine est considérée, à juste titre, comme un marqueur environnemental de la contamination médicamenteuse par l'activité humaine. Aussi, la liaison linéaire qui existe entre ces deux composés pourrait permettre de proposer l'oxazépam comme un autre marqueur potentiel de l'activité humaine. L'oxazépam est une molécule provenant de plusieurs sources puisqu'il est un principe actif ainsi que le métabolite de plusieurs benzodiazépines [Besse et Garric, 2007]. À l'opposé, la carbamazépine est un principe actif qui tend à être substitué par d'autres antiépileptiques en France [Perrot et Le Jeunne, 2006]. De ce fait, disposer de plusieurs marqueurs est un atout non négligeable puisque cela permet de s'adapter aux habitudes de consommation et à l'évolution des prescriptions médicales dans le temps. Cependant, il est important de souligner que seules les eaux de surface ont été analysées et que des études plus

approfondies sont nécessaires afin de confirmer ou non le choix de cette molécule (analyse eaux souterraines, différents bassins, etc.).

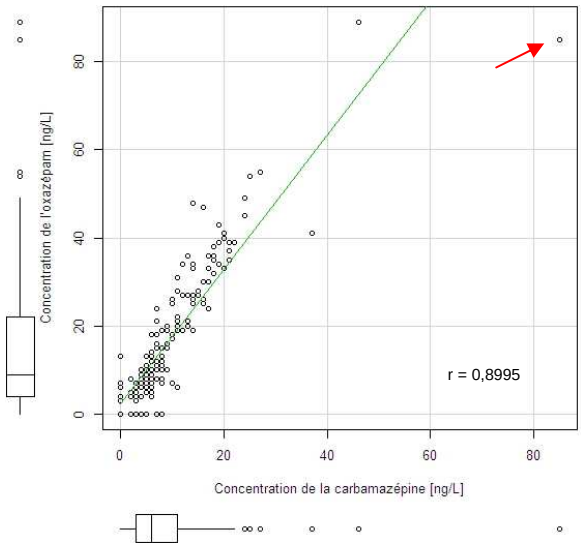
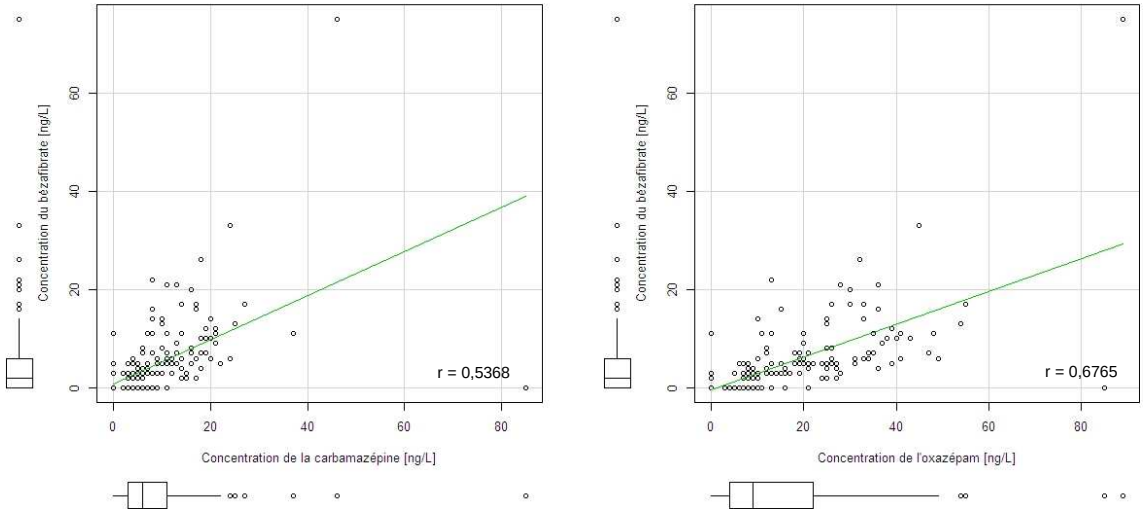


Figure III-14 Corrélation entre la carbamazépine et l'oxazépam présents dans l'ensemble des eaux de surface des bassins étudiés (n = 209 ; $p^{10} < 2{,}2.10^{-16}$). La valeur atypique indiquée par la flèche rouge correspond à l'échantillon « la Vézère à Aubas » prélevé en novembre 2011 et qui a fait l'objet d'une remarque dans la partie « III.2.2.1 Principales classes pharmacologiques retrouvées ».

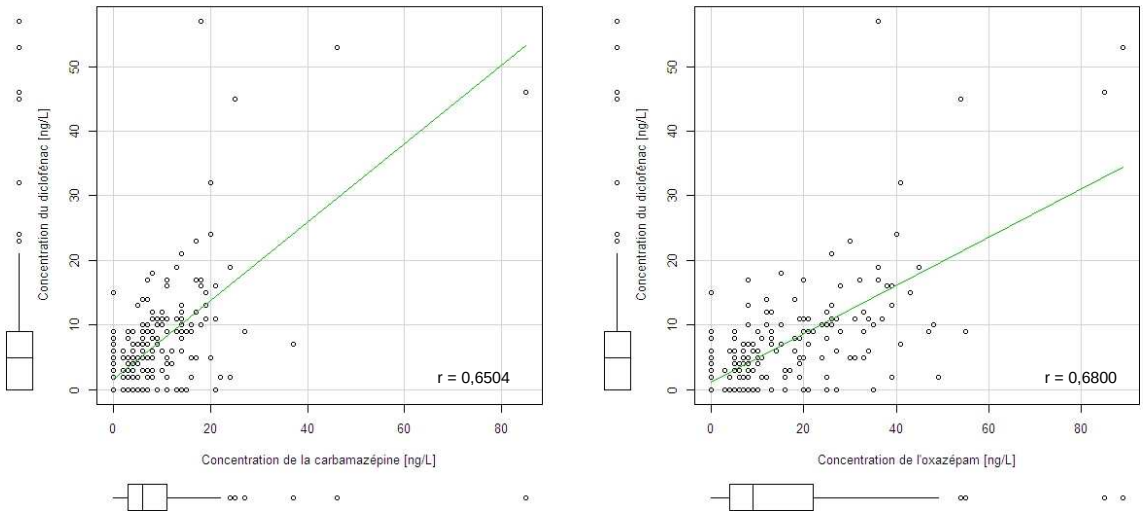
Afin d'étudier les relations potentielles entre la carbamazépine et l'oxazépam, une étude de corrélation linéaire entre les différentes molécules retrouvées et la carbamazépine puis l'oxazépam a été réalisée (figure III-15). Seules les corrélations ayant un coefficient de corrélation de Pearson supérieur à 0,5 et une valeur $p < 0{,}05$ ont été retenues. D'après la figure III-15 et en comparaison avec la carbamazépine, l'oxazépam propose une meilleure corrélation positive notamment dans le cas du bézafibrate ($r = 0{,}6765$). Enfin, l'ensemble des molécules corrélées sont destinées à la médecine humaine excepté le sulfaméthoxazole qui peut être prescrit en médecine vétérinaire.

[10] La valeur p (p-value en anglais) associée à l'observation d'une statistique de test correspond à la probabilité d'obtenir un résultat aussi extrême que la valeur observée sous l'hypothèse nulle. Pour une valeur p inférieure à 0,05, l'hypothèse nulle est rejetée et le résultat est statistiquement significatif.

a.



b.



c.

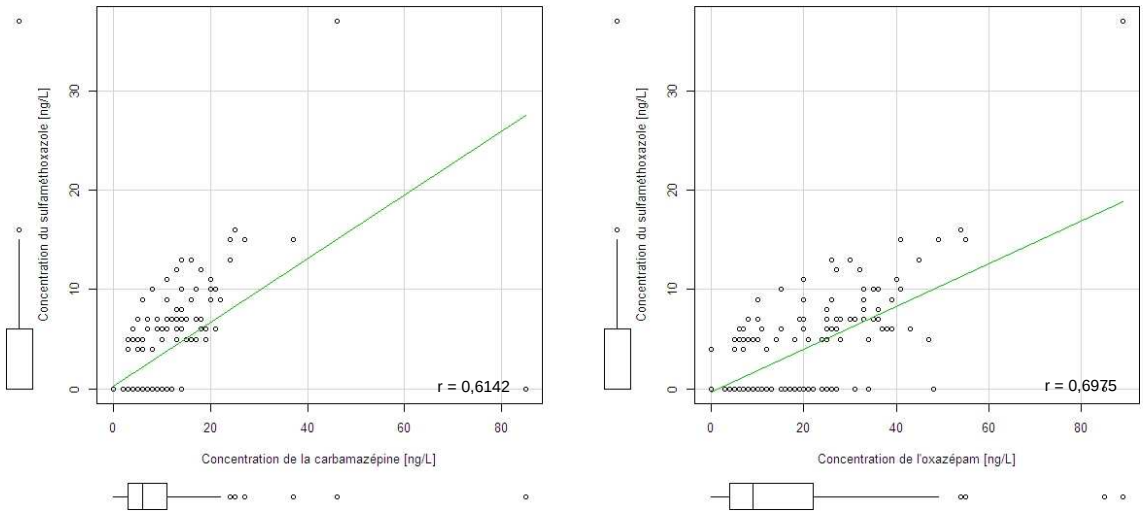


Figure III-15 Corrélations entre (a.) carbamazépine/bézafibrate et oxazépam/bézafibrate, (b.) carbamazépine/diclofénac et oxazépam/diclofénac et (c.) carbamazépine/sulfaméthoxazole et oxazépam/sulfaméthoxazole (n = 209).

III.2.2.3. Régression linéaire simple

Un modèle linéaire reliant les concentrations de carbamazépine et d'oxazépam a été calculé de telle sorte à obtenir une droite de type $y = \beta_1 x + \beta_0$ qui puisse décrire la tendance observée sur la figure III-14 et prédire les concentrations de carbamazépine (variable prédite, y) à partir de celles d'oxazépam (variable prédictive, x) dans les eaux de surface.

L'équation de la droite calculée est la suivante : $y = 0{,}42656\,x + 1{,}95336$ ($p < 2{,}2.10^{-16}$, $r = 0{,}9342$, $n = 168$). L'hypothèse nulle selon laquelle la valeur du coefficient β_1 n'est pas significativement différent de 0 a été testée en appliquant le test de Student ($t = 33{,}727$). La valeur p associée à ce test ($p = < 2{,}2.10^{-16}$) permet de rejeter l'hypothèse nulle et de conclure sur l'existence d'une relation linéaire entre les variables prédictive et prédite.

La vérification du modèle prédictif a été réalisée en étudiant la normalité des résidus[11]. Avant de vérifier la normalité des résidus par un test statistique approprié, la représentation graphique de la distribution des résidus (figure III-16) permet d'observer une répartition des erreurs se rapprochant de l'allure d'une courbe de Gauss. L'hypothèse de normalité des résidus a été testée en utilisant le test statistique de Shapiro-Wilk ($W = 0{,}9876$, $p = 0{,}1434$). La valeur de p, supérieure au seuil des 5 % qui a été fixé, permet de conclure sur le fait que la normalité des résidus est une hypothèse acceptable.

Les différents tests statistiques utilisés pour caractériser la régression linéaire ont permis de démontrer le caractère satisfaisant du modèle prédictif qui relie les concentrations de carbamazépine et d'oxazépam. L'utilisation de ce modèle dans le cadre de campagnes de mesure sur le département de la Dordogne peut générer un gain de temps appréciable (préparation des standards, traitement des données, etc.). Toutefois, une vérification régulière de la validité du modèle dans le temps sera nécessaire afin de contrôler la précision des résultats prédits.

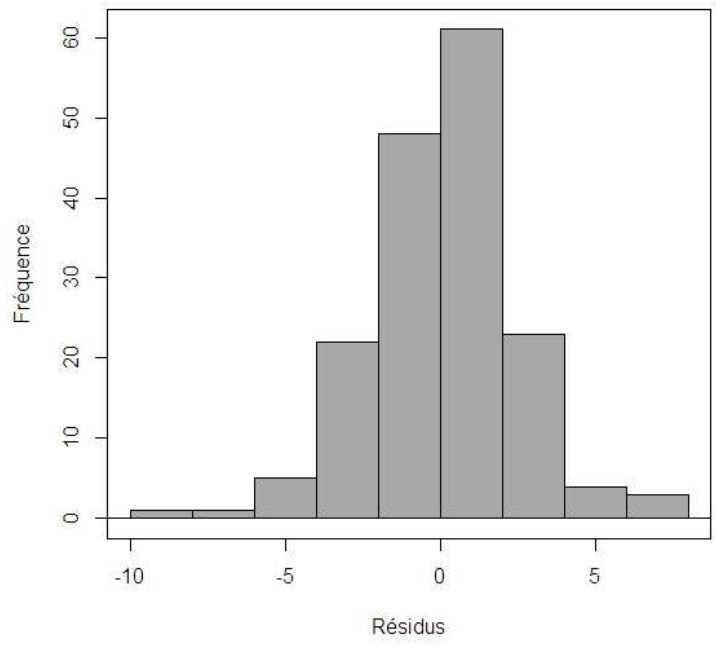


Figure III-16 Distribution des résidus du modèle prédictif reliant la concentration d'oxazépam à la concentration de carbamazépine.

[11] En statistique, le résidu correspond à l'écart entre la valeur prédite par le modèle et la valeur réellement observée.

III.2.2.4. Données brutes

Les valeurs minimales, maximales, les moyennes ainsi que les médianes ont été déterminées pour chaque molécule et regroupés par bassin d'étude dans le tableau III-VII. Les données confirment que le bassin de la Dronne est moins impacté par les résidus de médicaments alors que les bassins de l'Isle et la Dordogne sont plus soumis à une contamination par les résidus de médicaments d'origine humaine.

Parmi les molécules retrouvées sur l'ensemble des bassins, les teneurs mesurées lors de cette étude sont similaires à celles obtenues suite à divers travaux à l'exception du paracétamol. En effet, Gros *et al.* (2006) ont calculé une valeur moyenne de 42 $ng.L^{-1}$ pour cette molécule en analysant les eaux de la rivière Ebro (Espagne) tandis que Vulliet et Cren-Olivé (2011) ont mesuré une moyenne de 14,7 $ng.L^{-1}$ en étudiant les eaux de surface de la région Rhône-Alpes. Les moyennes des concentrations en paracétamol obtenues pour l'étude réalisée sur les différents bassins du département de la Dordogne sont nettement supérieures puisqu'elles sont comprises entre 179 $ng.L^{-1}$ (pour le bassin de l'Isle) et 457 $ng.L^{-1}$ (pour le bassin de la Dordogne). Pour des molécules comme la carbamazépine, nos résultats sont comparables à ceux qui ont été obtenus lors d'études ayant un plan d'échantillonnage contenant des zones peu urbanisées. Wu *et al.* (2009) ont calculé une valeur médiane de 2 $ng.L^{-1}$ ($n = 161$) pour la carbamazépine tandis que Vulliet et Cren-Olivé (2011) ont déterminé une moyenne de 13,9 $ng.L^{-1}$. Enfin, le fénofibrate, le chloramphénicol et le lorazépam n'ont pas été retrouvés lors de notre étude ce qui rejoint les résultats obtenus par Silva *et al.* (2011).

Certains antibiotiques, utilisés exclusivement en médecine vétérinaire, n'ont pas été retrouvés au cours des différentes campagnes de prélèvement. En dehors de toutes considérations analytiques, l'absence de certaines de ces molécules, déjà retrouvé lors de précédentes études [Wu *et al.*, 2009 ; Veach et Bernot, 2011 ; Silva *et al.*, 2011], peut s'expliquer par le plan d'échantillonnage très général (zones d'élevage non ciblées) mais aussi par la faible pluviométrie de l'année 2011 qui a limité le lessivage des sols. L'absence de familles d'antibiotiques très utilisées dans le domaine vétérinaire comme les tétracyclines peut également engendrer une perte d'informations.

Tableau III-VII Concentrations maximales, minimales, médianes et moyennes des résidus de médicaments par bassin d'étude (n = nombre de stations de mesure).

		Bassin de la Dronne (n = 5)				Bassin de l'Isle (n = 13)				Bassin de la Dordogne (n = 7)			
		min.	max.	méd.[12]	moy.[12]	min.	max.	méd.	moy.	min.	max.	méd.	moy.
Analgésique	Paracétamol	nd	2132	74	427	nd	783	104	179	nd	12351[13]	170	457
Anti-inflammatoires non stéroïdiens	Diclofénac	nd	15	8	9	nd	53	12	16	nd	57	10	11
	Ibuprofène	nd	22	22	22	nd	107	17	29	nd	27	15	17
	Kétoprofène	nd	<LQ	-	-	nd	16	<LQ	<LQ	nd	<LQ	<LQ	<LQ
	Naproxène	nd	nd	-	-	nd	<LQ	<LQ	<LQ	nd	nd	-	-
Antibiotiques	Acide oxolinique	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Chloramphénicol	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Clarithromycine	nd	nd	-	-	nd	11	7	7	nd	18	8	9
	Enrofloxacine	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Érythromycine	nd	nd	-	-	nd	8	7	7	nd	<LQ	<LQ	<LQ
	Érythromycine-H_2O	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Fluméquine	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	7	7	7
	Monensin	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Norfloxacine	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Ofloxacine	nd	nd	-	-	nd	<LQ	<LQ	<LQ	nd	nd	-	-
	Sulfadiazine	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Sulfaméthazine	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Sulfaméthoxazole	nd	<LQ	<LQ	<LQ	nd	37	13	14	nd	<LQ	<LQ	<LQ
	Triméthoprime	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
Anticancéreux	Cyclophosphamide	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Ifosfamide	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
Antiépileptiques	*10,11 époxycarbamazépine*	nd	nd	-	-	nd	<LQ	<LQ	<LQ	nd	nd	-	-
	Carbamazépine	nd	6	6	6	nd	46	11	13	nd	85	9	12
Antifongique	Clotrimazole	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
Antihistaminique H2	Ranitidine	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
Anxiolytiques	Alprazolam	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Bromazépam	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Diazépam	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Lorazépam	nd	nd	-	-	nd	<LQ	<LQ	<LQ	nd	nd	-	-
	Oxazépam	nd	<LQ	<LQ	<LQ	nd	89	26	29	nd	85	20	23

[12] La médiane et la moyenne ont été calculées à partir des concentrations supérieures à la limite de quantification.

[13] Cette concentration est l'unique valeur supérieure à 10 $\mu g.L^{-1}$ qui a été mesurée dans le bassin de la Dordogne.

		Bassin de la Dronne (n = 5)				Bassin de l'Isle (n = 13)				Bassin de la Dordogne (n = 7)			
		min.	max.	méd.[12]	moy.[12]	min.	max.	méd.	moy.	min.	max.	méd.	moy.
Béta-bloquants	Aténolol	nd	nd	-	-	nd	17	12	12	nd	12	11	11
	Propranolol	nd	nd	-	-	nd	8	6	6	nd	6	5	5
Diurétique	Furosémide	nd	24	15	17	nd	139	29	35	nd	25	14	15
Hormones stéroïdiennes	Progestérone	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Testostérone	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
Hypolipidémiants	*Acide-4-chlorobenzoïque*	nd	nd	-	-	nd	21	21	21	nd	39	30	30
	Bézafibrate	nd	11	11	11	nd	75	11	14	nd	12	6	7
	Fénofibrate	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Gemfibrozil	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Pravastatine	nd	nd	-	-	nd	<LQ	-	-	nd	nd	-	-

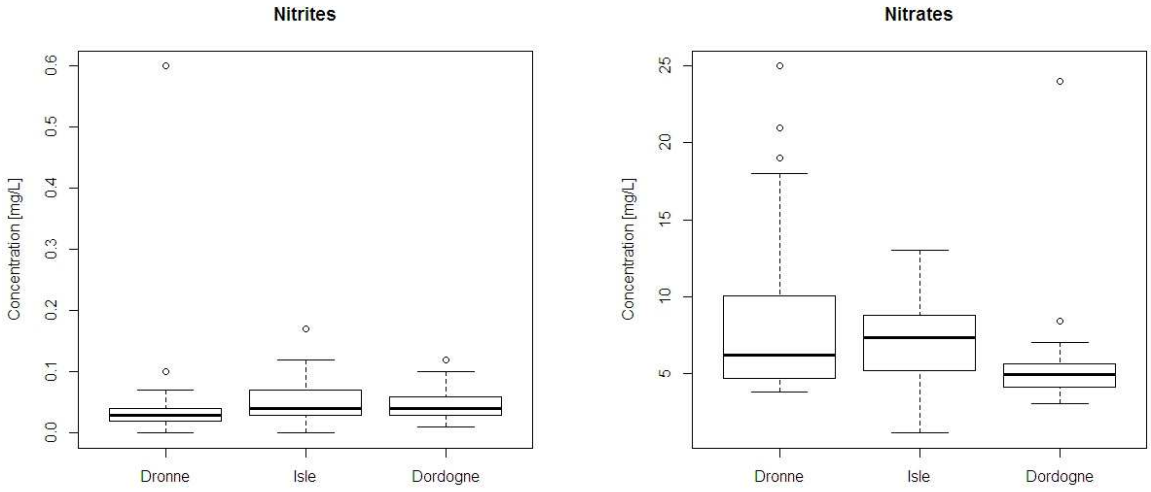
nd : non détecté
<LQ : inférieur à la limite de quantification

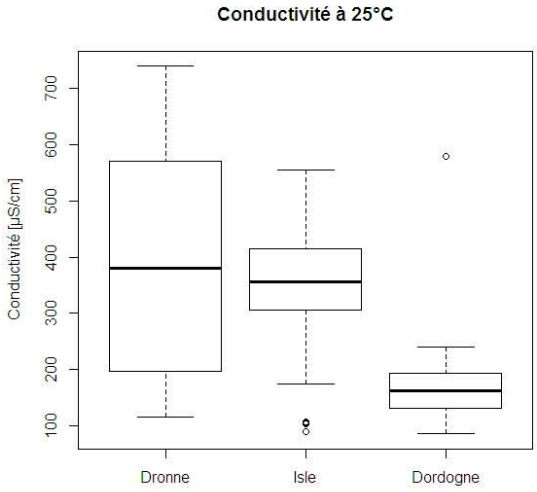
III.2.3. Paramètres physico-chimiques

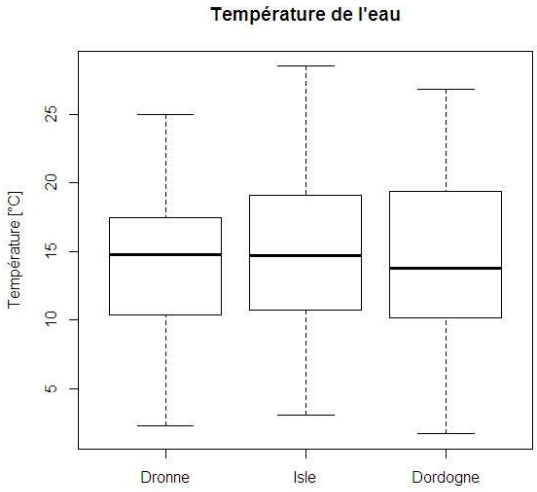
Plusieurs paramètres physico-chimiques ont été suivis parallèlement aux résidus de médicaments lors des campagnes de mesure afin de caractériser les cours d'eau étudiés. Certains de ces paramètres sont utilisés comme indicateurs des pollutions azotées, phosphorées et organiques des ressources en eau.

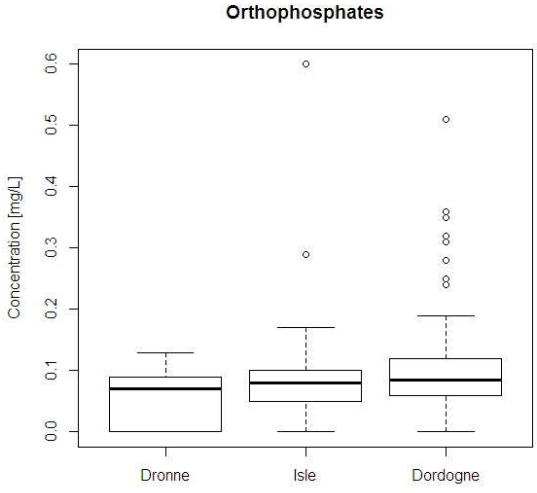
Parmi les différents paramètres physico-chimiques mesurés, la dispersion des ions nitrates, observée sur la figure III-17 est plus importante pour le bassin de la Dronne. En effet, ce bassin est soumis à une forte pression agricole dominée par la présence de cultures notamment céréalières contrairement aux autres bassins. Ainsi, cette différence de profil peut expliquer la présence de teneurs en ions nitrates plus importantes sur ce site d'étude.

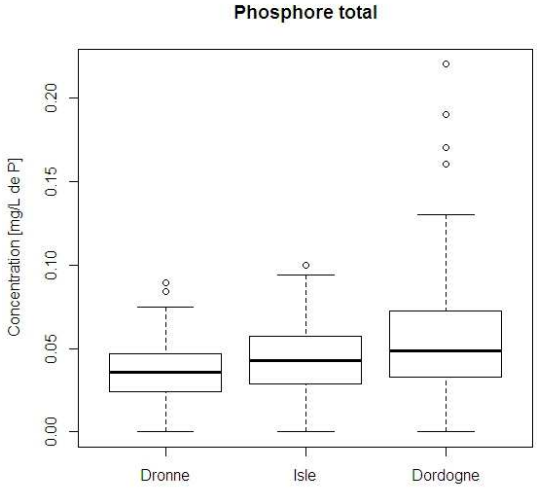
La figure III-17 montre que la conductivité mesurée sur les eaux de surface des bassins peut varier considérablement selon la situation géologique des cours d'eau. Par exemple, dans le cas du bassin de la Dronne, la partie amont du bassin est située sur un sol granitique tandis que la partie aval du bassin est localisée sur une zone calcaire. Ces deux pans génèrent des fluctuations de conductivité sur un même bassin pouvant aller de 115 $\mu S.cm^{-1}$ à 740 $\mu S.cm^{-1}$. La nature des sols explique également les fluctuations observées pour le bassin de l'Isle. Néanmoins, sur une même station, la conductivité doit rester relativement constante dans le temps et une augmentation importante est souvent le signe d'une pollution.

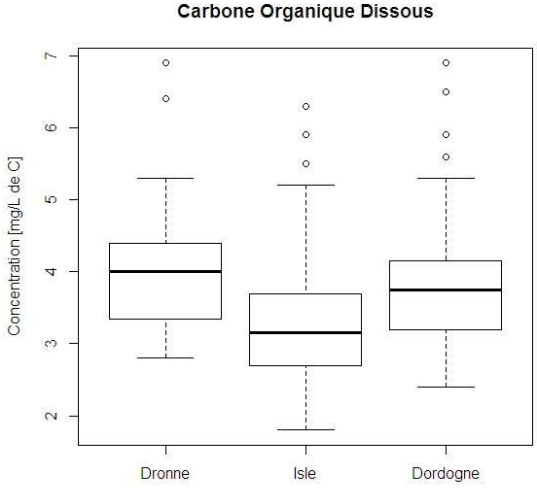


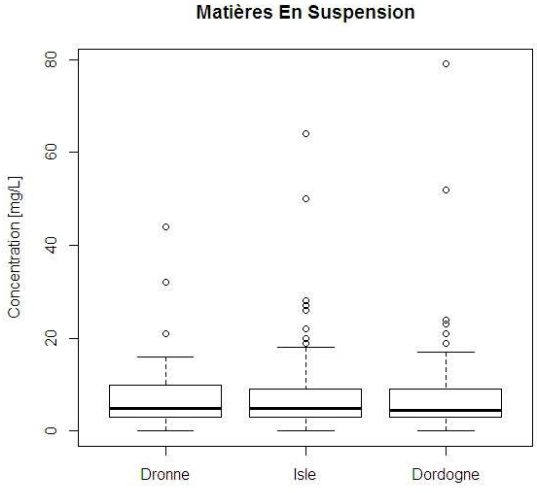

Conductivité à 25°C
Conductivité [µS/cm]
100
200
300
400
500
600
700
Dronne
Isle
Dordogne


Température de l'eau
Température [°C]
5
10
15
20
25
Dronne
Isle
Dordogne


Orthophosphates
Concentration [mg/L]
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
Dronne
Isle
Dordogne


Phosphore total
Concentration [mg/L de P]
0.00
0.05
0.10
0.15
0.20
Dronne
Isle
Dordogne


Carbone Organique Dissous
Concentration [mg/L de C]
2
3
4
5
6
7
Dronne
Isle
Dordogne


Matières En Suspension
Concentration [mg/L]
0
20
40
60
80
Dronne
Isle
Dordogne

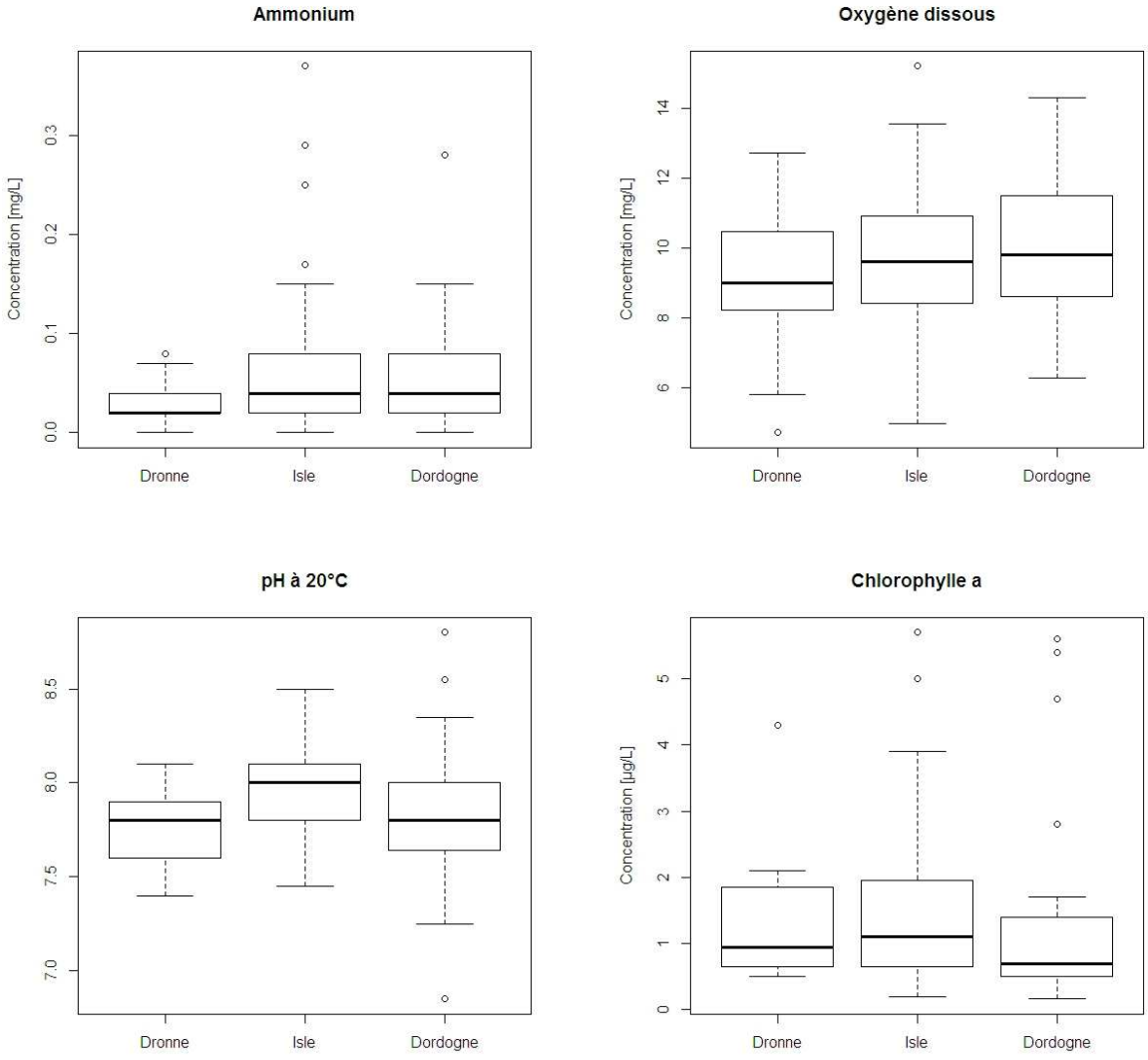


Figure III-17 Variations des différents paramètres physico-chimiques mesurés dans les bassins de la Dronne, de l'Isle et de la Dordogne entre janvier 2011 et décembre 2011 (209 mesures sauf pour la chlorophylle a où n = 65).

Des corrélations ont été recherchées entre les différents paramètres physico-chimiques mesurés et les concentrations en résidus de médicaments. Le tableau III-VIII montre que l'ensemble des résidus de médicaments sont corrélés positivement avec les ions ammonium excepté le paracétamol. Si la présence d'ions ammonium dans les eaux naturelles peut être due au lessivage des terres agricoles, ces ions sont essentiellement introduits par les rejets des eaux usées municipales et industrielles, principales voies d'introduction des résidus de médicaments dans les milieux aquatiques (chapitre 1). La seule molécule où la valeur p (> 0,05) permet d'affirmer qu'il n'y a pas de corrélation est le paracétamol. Classiquement, il s'agit d'une molécule bien éliminée lors des traitements secondaires. Toutefois, les résultats des différentes campagnes de mesure réalisées en Dordogne ont montré que le paracétamol était détecté à des niveaux comparables voire bien supérieurs aux molécules réfractaires aux traitements des stations d'épuration comme la carbamazépine. Les valeurs p calculées indiquent également l'existence de corrélations positives entre certaines molécules et d'autres indicateurs de rejets d'effluents urbains comme les ions orthophosphates et le phosphore total.

Les tests statistiques révèlent :

- une corrélation négative entre plusieurs résidus de médicaments et la température de l'eau. D'après Vieno *et al.* (2005), le phénomène de biodégradation s'accroit avec l'augmentation de la température et favorise l'élimination de certains composés. L'année 2011 ayant été sèche et ensoleillée, l'augmentation de la température de l'eau sur une longue période a probablement participée à la dégradation de certaines molécules organiques présentes dans les eaux du département de la Dordogne.
- une teneur en oxygène dissous corrélée positivement avec six résidus de médicaments. Ce paramètre est également un indicateur lié à la dégradation puisque une faible concentration en oxygène dissous révèle une forte dégradation de la matière organique par les bactéries.
- des matières en suspension corrélées négativement avec le sulfaméthoxazole. Plus la concentration en MES est importante dans l'échantillon et moins la teneur de sulfaméthoxazole est élevée dans la phase dissoute.

Veach et Bernot (2011) ont réalisé des tests statistiques sur les résultats obtenus lors de campagnes de mesure réalisées en milieux urbain (n = 13) et agricole (n = 12). Parmi les molécules communes recherchées, une tendance similaire est observée avec l'oxygène dissous et le paracétamol, la carbamazépine et l'ibuprofène. En revanche, le sulfaméthoxazole est corrélé avec l'oxygène dissous alors que nos essais ont révélé l'absence de relations. Sur ces mêmes molécules, Veach et Bernot n'ont observé aucune corrélation statistiquement significative avec la chlorophylle a, le pH et les ions nitrates comme cela a été constatée lors de notre étude. Le devenir des résidus de médicaments dans l'environnement aquatique étant multifactoriel, il est difficile d'interpréter les différences observées entre cette étude et nos travaux pour une même molécule. En effet, plusieurs paramètres comme les interactions entre micropolluants ou l'environnement biologique peuvent potentiellement influencer le comportement d'une molécule dans le milieu aquatique. Toutefois, il est important de souligner que nos tests statistiques ont été réalisés sur un nombre d'échantillons plus important (n = 209).

Tableau III-VIII Valeur p et coefficient de Pearson pour les résidus de médicaments détectés dans plus de 20 % des échantillons. Les valeurs en caractère gras correspondent aux paramètres où la valeur p est inférieure à 0,05 (5 %).

	Carbamazépine		Oxazépam		Diclofénac		Paracétamol	
	p	r	p	r	p	r	p	r
COD	0,9488	0,0045	0,8114	0,0166	0,0829	0,1202	0,9127	-0,0076
MES	0,0602	-0,1302	0,0652	-0,1278	0,8712	-0,0113	0,8333	0,0146
NO_2^-	0,3040	0,0714	0,0754	0,1233	**0,0466**	**0,1378**	0,3329	0,0673
NO_3^-	0,0510	-0,1352	0,1000	-0.1141	0,1728	-0,0947	0,6154	-0,0350
PO_4^{3-}	**4.10^{-9}**	**0,3918**	**3.10^{-6}**	**0,3181**	**0,0001**	**0,2613**	**7.10^{-8}**	**0,3627**
Phosphore total	**3.10^{-10}**	**0,4170**	**1.10^{-5}**	**0,2947**	**5.10^{-5}**	**0,2769**	**2.10^{-6}**	**0,3204**
NH_4^+	**0,0092**	**0,1798**	**0,0003**	**0,2502**	**2.10^{-5}**	**0,2895**	0,9651	0,0030
O_2 dissous	0,1643	0,0966	**0,0021**	**0,2120**	0,0923	0,1168	0,2033	0,0884
Conductivité	0,4751	-0,0497	**0,0232**	**-0,1571**	**0,0180**	**-0,1635**	0,1420	0,1019
Temp. de l'eau	0,0721	-0,1247	**0,0068**	**-0,1868**	**0,0001**	**-0,2628**	**0,0449**	**-0,1389**
Chlorophylle a	0,5523	-0,0751	0,9941	0,0009	0,4044	-0,1052	0,5421	-0,0770
pH à 20°C	0,7861	0,0189	0,8959	0,0091	**0,0190**	**-0.1622**	0,5747	0,0390

	Bézafibrate		Furosémide		Clarithromycine		Sulfaméthoxazole	
	p	r	p	r	p	r	p	r
COD	0,8316	-0,0148	**0,0255**	**0,1545**	0,8869	0,0099	0,6815	0,0286
MES	0,3562	-0,0641	0,5798	0,0385	0,6668	0,0300	**0,0187**	**-0,1629**
NO_2^-	**0,0077**	**0,1838**	0,2691	0,0768	0,5105	0,0458	**0,0027**	**0,2067**
NO_3^-	0,1629	0,0969	0,7118	0,0257	0,5811	-0,0384	0,5399	-0,0427
PO_4^{3-}	0,1762	0,0939	0,5389	0,0427	0,2458	0,0806	**0,0105**	**0,1770**
Phosphore total	0,4615	0,0512	0,6965	0,0271	0,6135	-0,0351	**0,0008**	**0,2305**
NH_4^+	**1.10^{-7}**	**0,3573**	**2.10^{-5}**	**0,2877**	**0,0002**	**0,2529**	**0,0013**	**0,2220**
O_2 dissous	**0,0333**	**0,1474**	0,0545	0,1332	**8.10^{-13}**	**0,4692**	0,1355	-0,1039
Conductivité	0,6205	-0,0344	**0,0468**	**-0,1377**	**3.10^{-6}**	**-0,3147**	0,7896	0,0186
Temp. de l'eau	**0,0176**	**-0,1640**	**3.10^{-5}**	**-0,2846**	**4.10^{-10}**	**-0,4158**	0,1185	0,1086
Chlorophylle a	0,5338	-0,0786	0,2802	-0,1360	0,7412	0,0418	0,8244	-0,0281
pH à 20°C	0,5988	-0,0366	**0,0045**	**-0,1957**	0,9482	-0,0045	0,9312	-0,0060

	Ibuprofène		Aténolol		Propranolol	
	p	r	p	r	p	r
COD	0,3076	-0,0709	0,8465	0,0135	0,1445	0,1013
MES	0,2234	0,0846	0,5874	-0,0377	0,9420	0,0051
NO_2^-	0,9855	-0,0013	**0,0046**	**0,1953**	**0,0027**	**0,2062**
NO_3^-	0,5815	-0,0383	0,3330	0,0673	0,9645	0,0031
PO_4^{3-}	0,4329	0,0545	0,0570	0,1318	**0,0042**	**0,1975**
Phosphore total	0,5838	0,03811	0,5782	0,0387	**0,0018**	**0,2152**
NH_4^+	**1.10^{-7}**	**0,3566**	**6.10^{-7}**	**0,3380**	**7.10^{-5}**	**0,2721**
O_2 dissous	**0,0151**	**0,1679**	**4.10^{-5}**	**0,2793**	**0,0213**	**0,1593**
Conductivité	0,2518	-0,0796	**0,0325**	**-0,1479**	**0,0176**	**-0,1641**
Temp. de l'eau	**3.10^{-6}**	**-0,3181**	**8.10^{-5}**	**-0,2686**	**0,0015**	**-0,2180**
Chlorophylle a	0,6079	-0,0648	0,1597	-0,1764	0,6852	-0,0512
pH à 20°C	0,2778	-0,0754	0,4521	-0,0523	0,215	-0,0861

III.3. Présence et devenir des résidus de médicaments

Cette partie s'attache à décrire les résultats obtenus pour chaque bassin versant. Pour des raisons pragmatiques, le paracétamol a volontairement été séparé de l'ensemble des molécules recherchées lors de l'interprétation.

Pour la suite de ce chapitre, les représentations graphiques des résultats différencient les molécules uniquement détectées de celles quantifiées. Ainsi, sur les histogrammes, le remplissage hachuré correspond à la détection tandis que le remplissage simple représente la quantification. Enfin, les stations sont placées sur l'axe des abscisses de l'amont du cours d'eau vers l'aval.

III.3.1. La Dronne et son affluent la Lizonne

III.3.1.1. Localisation des stations de mesure du bassin

Les stations de prélèvement ainsi que les stations hydrométriques du bassin de la Dronne sont illustrées sur la figure III-18.

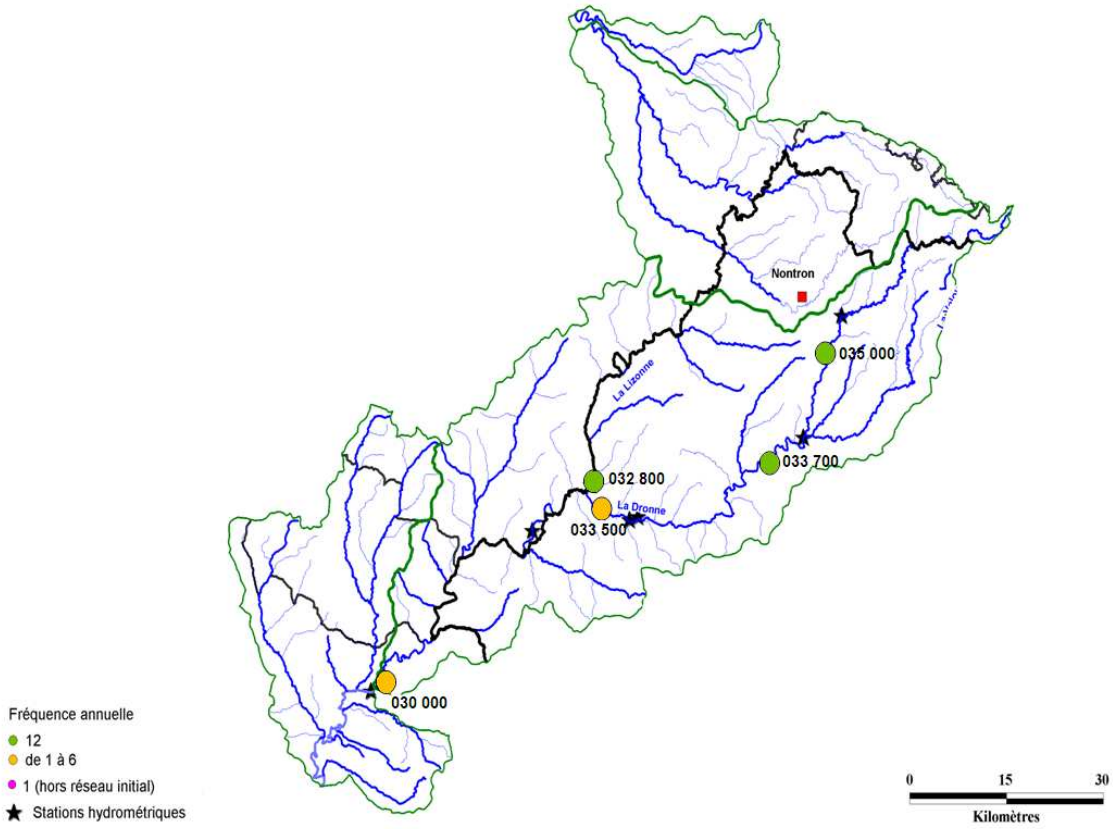


Figure III-18 Localisation des stations de prélèvement et des stations hydrométriques présentes sur le bassin de la Dronne.

III.3.1.2. Contamination du bassin de la Dronne

L'étude du bassin de la Dronne met en évidence la faible contamination par les résidus de médicaments. La figure III-19 représente les concentrations cumulées des résidus de médicaments (hors paracétamol) des trois stations suivies en janvier 2011. Les prélèvements

réalisés ce mois montrent une concentration cumulée maximale de 53 ng.L^{-1} à la station « la Dronne à Valeuil » (033 700). Il s'agit également du maximum retrouvé parmi l'ensemble des campagnes menées en 2011 sur ce bassin. Cependant, cette contamination reste minime et n'est que le reflet des faibles pressions domestiques présentes sur ce territoire. Ainsi, les molécules ont le plus souvent été retrouvées à des seuils de concentrations inférieurs à la limite de quantification et majoritairement représentées par la présence de carbamazépine et de diclofénac.

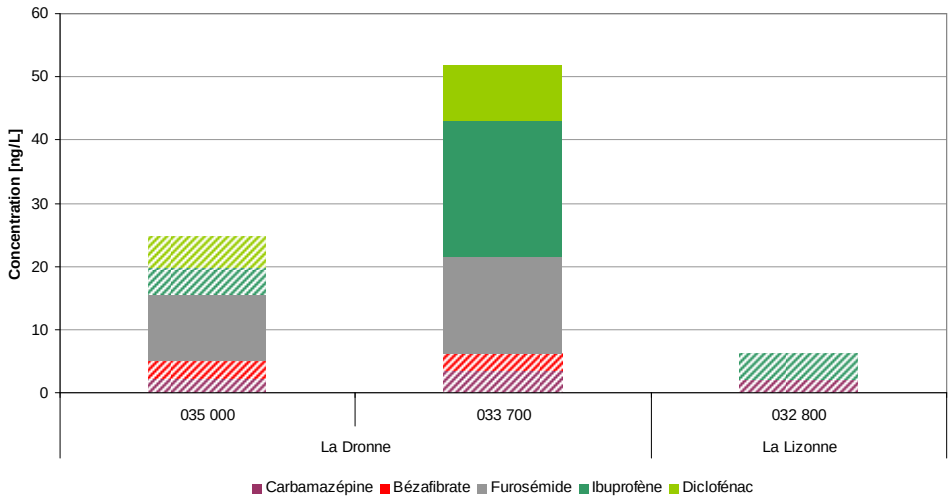


Figure III-19 Concentrations cumulées retrouvées en janvier 2011 aux différentes stations du bassin de la Dronne.

Les concentrations en paracétamol retrouvées sur les différentes stations du bassin de la Dronne sont représentées sur la figure III-20. Les teneurs mesurées sont très contrastées puisqu'elles peuvent varier de la dizaine de ng.L^{-1} aux µg.L^{-1} sur une même station de prélèvement. Les plus fortes concentrations (de l'ordre du µg.L^{-1}) ont été retrouvées sur les stations de « la Dronne à Valeuil » (033 700) et de « la Lizonne au Marchais » (032 800) tandis que sur ces mêmes points, le paracétamol a majoritairement été non détecté ou retrouvé à des valeurs en dessous de sa limite de quantification. Aucune interprétation concrète n'a pu être proposée concernant ces pics ponctuels de paracétamol. Indépendamment de ces trois prélèvements, les concentrations en paracétamol n'ont pas excédé 250 ng.L^{-1} sur l'ensemble des mesures.

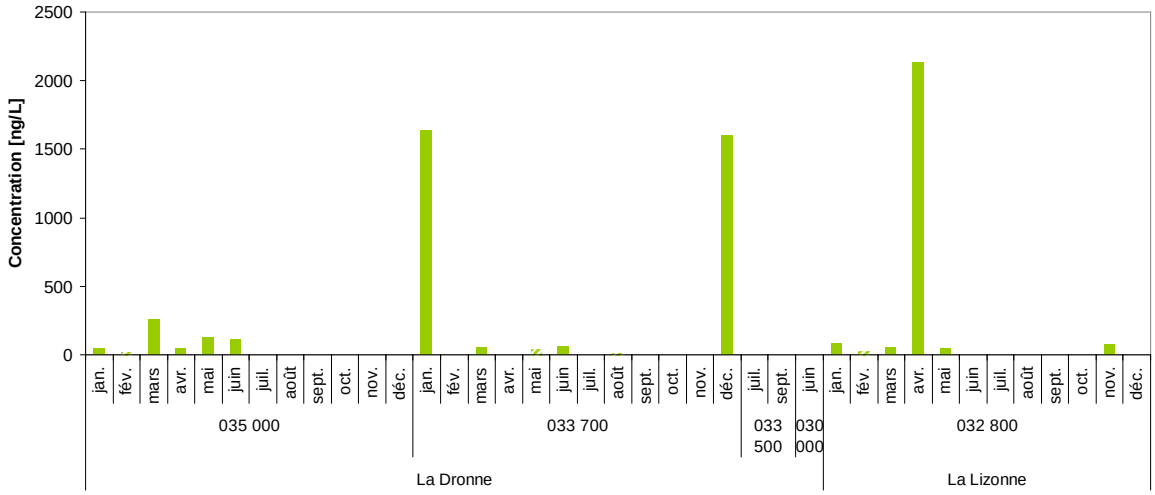


Figure III-20 Concentrations en paracétamol retrouvées dans le bassin de la Dronne suite aux différentes campagnes de mesure réalisées entre janvier et décembre 2011.

III.3.2. L'Isle et ses principaux affluents

III.3.2.1. Localisation des stations de mesure du bassin

Les stations de prélèvement ainsi que les stations hydrométriques du bassin de l'Isle sont illustrées sur la figure III-21.

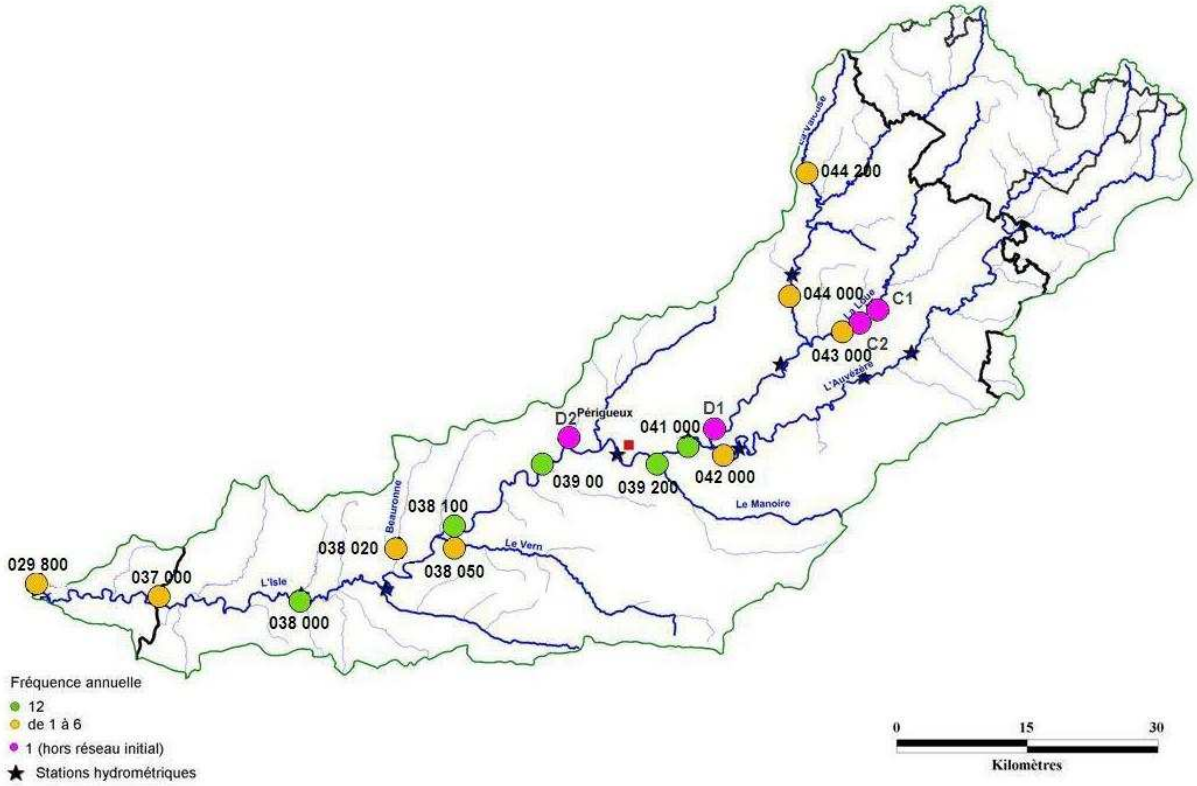


Figure III-21 Localisation des stations de prélèvement et des stations hydrométriques présentes dans le bassin de l'Isle.

III.3.2.2. Contamination de l'Isle

Les campagnes réalisées le long de l'Isle ont permis de suivre régulièrement l'évolution des concentrations de résidus de médicaments sur, au maximum, 165 km environ. La figure III-22 regroupe les résultats obtenus suite au suivi longitudinal réalisé sur environ 132 km en août et octobre 2011. Ces deux mois sont assimilables à des conditions estivales et hivernales (malgré le climat exceptionnel de 2011). La station de prélèvement qui présente la plus grande diversité de résidus de médicaments retrouvés est celle située au niveau de la commune de Razac sur l'Isle (039 000). Cette station est localisée à quelques kilomètres de l'agglomération périgourdine. Aussi, elle est à l'image de l'impact causé par Périgueux et les communes limitrophes. Ce constat est d'autant plus vrai que la station en amont de l'agglomération périgourdine « l'Isle à Charrieras » (041 000) est très faiblement impactée par la présence de résidus de médicaments.

Les mois d'août et d'octobre ont été sélectionnés afin de comparer des conditions estivales et hivernales. Les concentrations les plus élevées sont retrouvées en période hivernale alors qu'en période estivale, elles sont beaucoup moins importantes. *A fortiori*, les teneurs en résidus de médicaments devraient être plus importantes en août car la dilution des composés est plus faible. Cependant, la température de l'eau est plus élevée et le temps de séjour plus long ce qui peut favoriser certains phénomènes liés à la dégradation des résidus. D'autre part, les prescriptions médicales et les flux migratoires durant l'année peuvent influencer la consommation

de médicaments sur un territoire donné. Des cas similaires ont été observés sur des cours d'eau finlandais, suédois et nord américain où les concentrations en résidus de médicaments étaient plus importantes en période hivernale [Vieno *et al.*, 2005 ; Daneshvar *et al.*, 2010 ; Veach et Bernot, 2011].

La tendance générale observée sur la figure III-22 permet d'affirmer que le principal apport de résidus se situe entre les stations 041 000 et 039 000. La zone géographique où l'introduction des résidus de médicaments dans le milieu récepteur est observée correspond à l'agglomération de Périgueux. Un profil similaire a également été constaté pour les autres mois de l'année 2011.

Les résultats obtenus au mois d'octobre mettent en évidence la rémanence de la carbamazépine, de l'oxazépam et du sulfaméthoxazole ainsi que le caractère peu persistant de certains composés comme le furosémide.

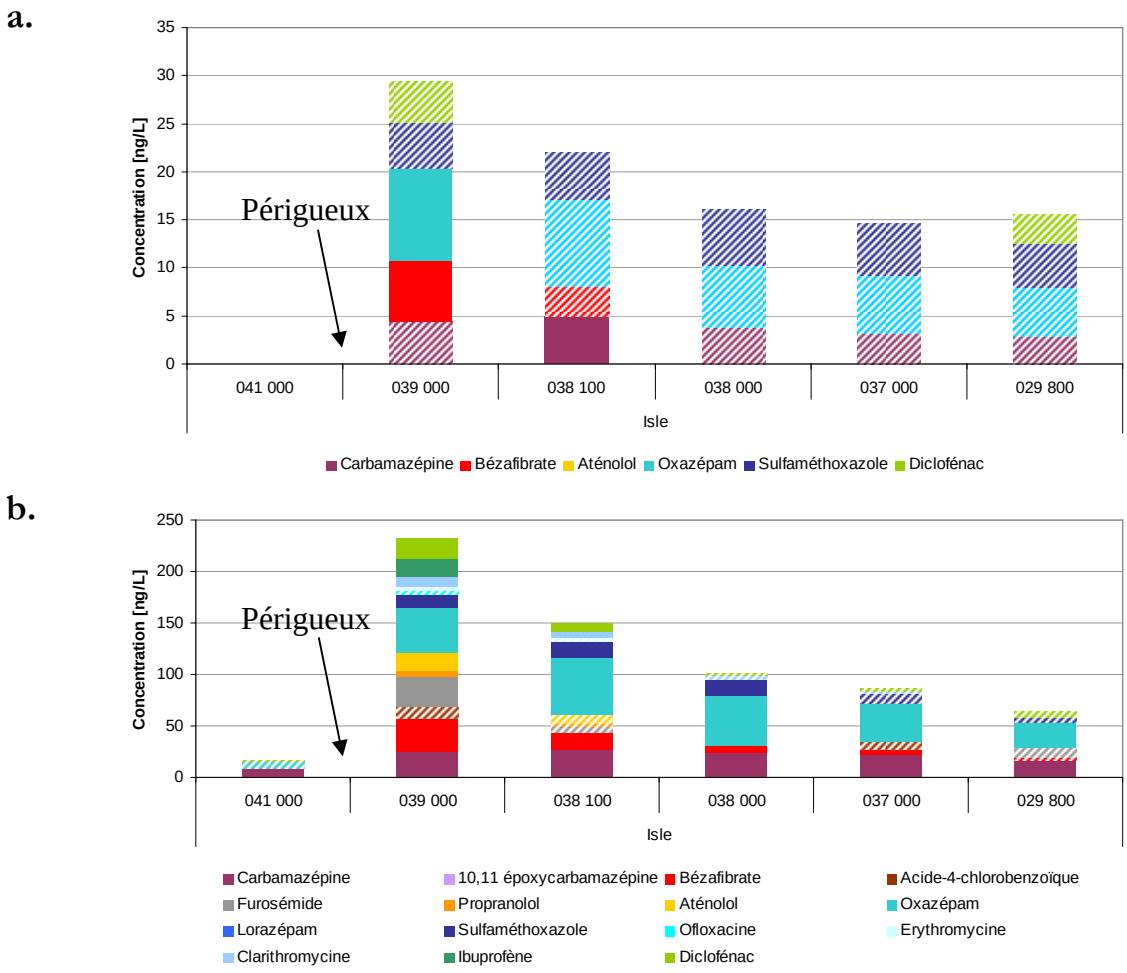


Figure III-22 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées dans l'Isle en (a.) août 2011 et (b.) octobre 2011.

Les concentrations en paracétamol retrouvées à différents points de l'Isle (figure III-23) sont inférieures à 200 $ng.L^{-1}$ dans la plupart des cas. Des pics de contamination, proches du $\mu g.L^{-1}$, ont été constatés à deux reprises. Globalement, les concentrations retrouvées n'excèdent pas 150 $ng.L^{-1}$. C'est à partir de la station 039 000 (l'Isle à Razac) que la présence de paracétamol devient plus fréquente. Comme cela a été indiqué précédemment, ce lieu d'échantillonnage est localisé à quelques kilomètres de l'agglomération de Périgueux et de ses stations d'épuration.

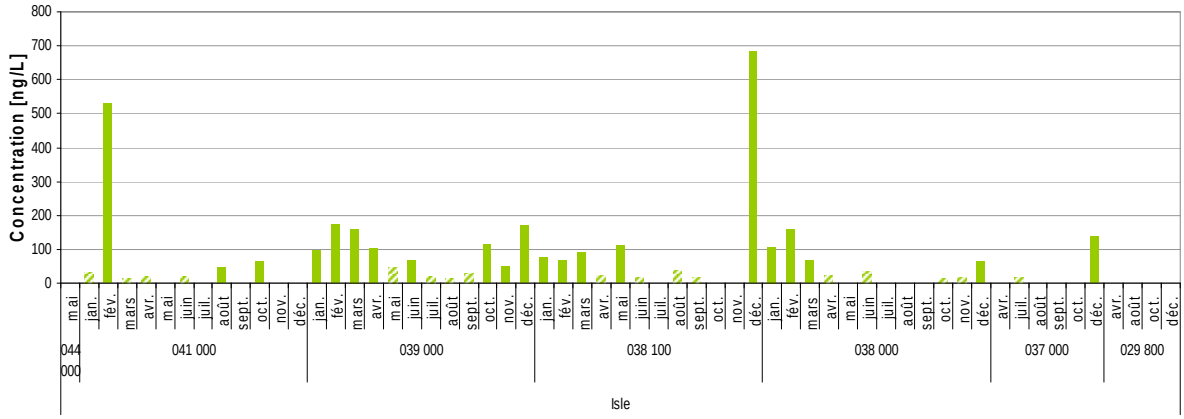


Figure III-23 Concentrations en paracétamol retrouvées dans le l'Isle suite aux différentes campagnes de mesure réalisées entre janvier et décembre 2011.

III.3.2.3. Contamination des principaux affluents de l'Isle

Les teneurs mesurées dans les affluents de l'Isle (figure III-24) sont différentes et dépendent presque exclusivement des pressions domestiques présentes à proximité des stations étudiées. La contribution du Manoire, par exemple, est faible alors que celle de la Loue est la plus importante. Tandis que le Manoire parcourt une zone industrielle sans rejet urbain à proximité de la station de prélèvement, la Loue reçoit les rejets urbains de la station d'épuration de Saint-Médard-d'Excideuil (1 930 EH) ce qui explique les fortes concentrations présentes à l'aval de cette commune. Enfin, le faible débit de la Loue participe grandement aux niveaux de concentrations des résidus retrouvés puisque l'effet de dilution joue un rôle négligeable (débit mesuré à Saint-Médard-d'Excideuil : 0,24 $m^3.s^{-1}$). Le même constat est observé avec la Valouse (044 200). La présence de la station d'épuration de la commune la Coquille (1 400 EH) en amont du prélèvement ainsi que le faible débit participe à la présence des fortes concentrations mesurées.

Sur la majorité des échantillons étudiés, le Manoire, le Vern, l'Auvézère (non représenté sur la figure III-24) ainsi que la Beauronne sont faiblement touchés par la présence des résidus. Toutefois, ces résultats indiquent que des cours d'eau de faibles débits (la Loue et la Valouse) et traversant des zones rurales peuvent être impactés par la présence de STEP de faibles capacités (< 2 000 EH).

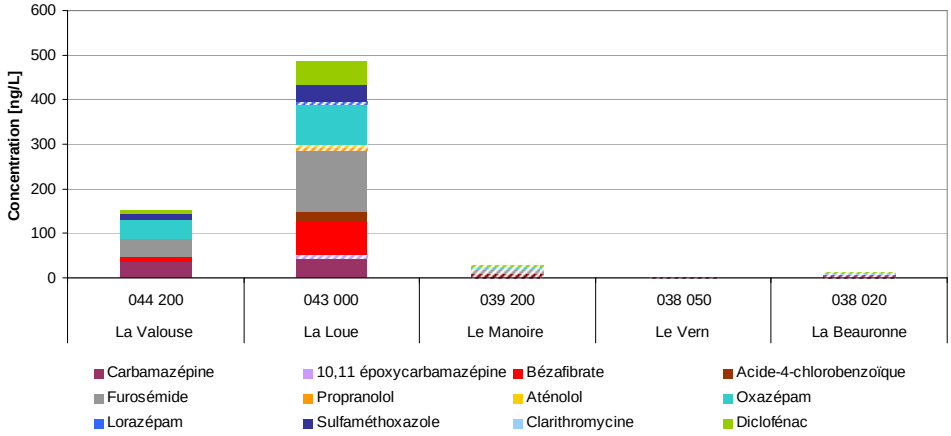


Figure III-24 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées en octobre 2011 des différents affluents de l'Isle.

Seules les mesures réalisées sur le Manoire (figure III-25) révèlent la présence de paracétamol avec des concentrations bien supérieures à la limite de quantification (47 ng.L^{-1}) alors que les autres résidus ne sont que très peu voire pas quantifiés au cours des différentes campagnes effectuées en 2011.

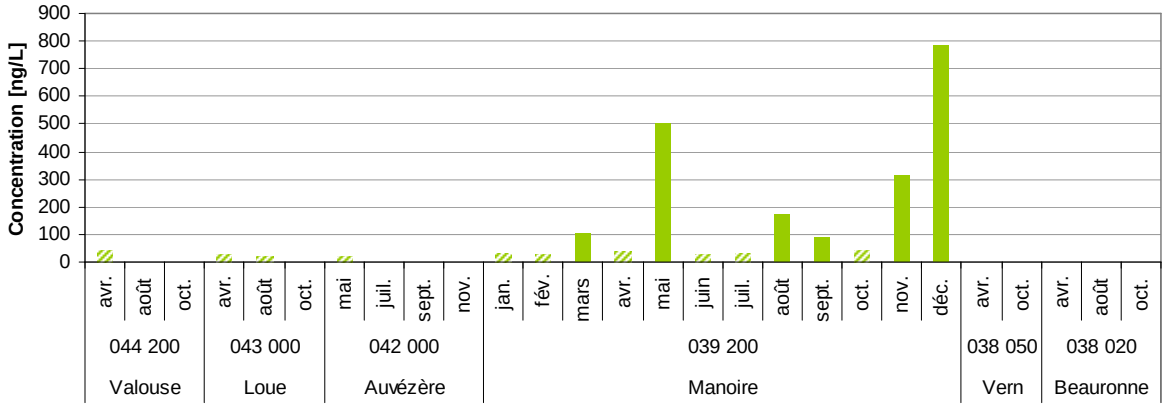


Figure III-25 Concentrations en paracétamol retrouvées dans plusieurs affluents de l'Isle suite aux différentes campagnes de mesure réalisées entre janvier et décembre 2011.

III.3.2.4. Campagne supplémentaire

Une campagne supplémentaire a été organisée en juin 2011 sur la partie amont du bassin de l'Isle (figure III-26) afin d'identifier l'impact de la ville de Saint-Médard d'Excideuil sur la Loue ainsi que celui de l'Auvézère sur l'Isle.

La présence de la station d'épuration (1 930 EH) de la ville de Saint-Médard-d'Excideuil a été confirmée comme étant la principale source d'introduction des résidus de médicaments dans la Loue. Cependant, la station de prélèvement localisée en amont de la commune n'est pas exempt de résidus à usage humain (sept molécules détectées). Les pressions domestiques notables sont faibles dans cette zone mais la ville de Saint-Yrieix-la-Perche (Haute-Vienne) qui est située à proximité de la source de la Loue dispose d'une station d'épuration d'une capacité plus importante (18 000 EH). Ainsi, les molécules retrouvées sont très probablement issues du rejet de cette commune dans la Loue.

D'après les mesures réalisées, l'Auvézère est un cours d'eau qui n'impacte pas l'Isle. Les pressions domestiques, industrielles et agricoles sont faibles sur cette zone ce qui peut expliquer la faible contribution de l'Auvézère dans la contamination de l'Isle.

Le paracétamol (non représenté sur la figure III-26) n'a pas été détecté sur l'ensemble des prélèvements à l'exception de l'aval de la commune de Périgueux (74 ng.L^{-1}).

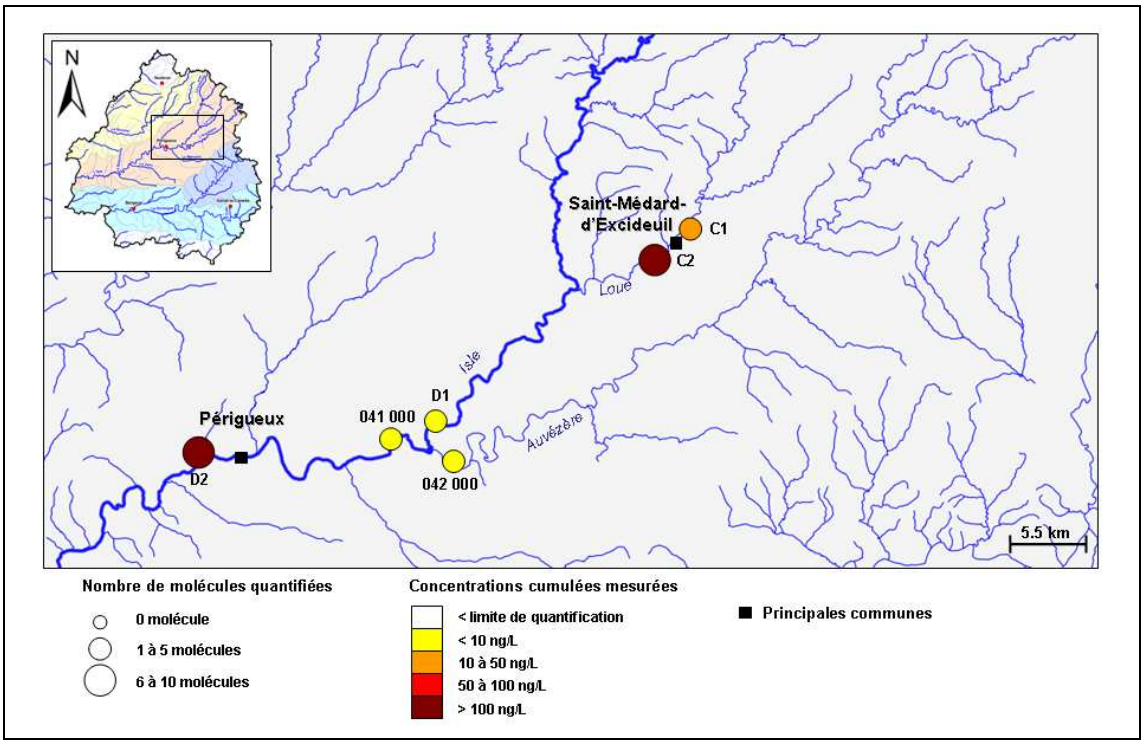


Figure III-26 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées lors de la campagne supplémentaire réalisée sur la partie amont du bassin de l'Isle.

III.3.2.5. Variation saisonnière

La variation saisonnière en flux des résidus de médicaments détectés au niveau de la station « l'Isle à Bénévent » est présentée sur les figures III-27 et III-28. Le calcul des flux permet de caractériser la charge polluante présente dans le milieu aquatique à un instant donné et de définir les quantités véhiculées par les cours d'eau. Cependant, il ne permet pas d'évaluer le risque environnemental puisque un flux élevé n'est pas forcément synonyme d'une concentration importante en résidus de médicaments.

La tendance observée sur la figure III-27, révèle des flux totaux (hors paracétamol) supérieurs à 150 $g.j^{-1}$ en janvier, février, mars et décembre tandis qu'entre les mois d'avril et novembre, les flux sont inférieurs à 60 $g.j^{-1}$. Il est difficile d'identifier des comportements saisonniers propres à chaque molécule. Les flux de résidus de médicaments calculés dans les eaux de surface sont fortement influencés par plusieurs facteurs comme la consommation, le taux d'élimination des stations d'épuration ou les dégradations biotiques et abiotiques survenant dans le milieu naturel. Le furosémide a été détecté seulement les mois de janvier, février et décembre bien que la prescription de ce diurétique de l'anse, utilisé afin de traiter l'hypertension et les œdèmes, soit constante durant l'année et ne dépende pas directement des conditions climatiques comme cela est le cas pour certains antibiotiques. Néanmoins, Castiglioni *et al.* (2006) ont constaté que le furosémide était mieux éliminé en période estival par les stations d'épuration. En effet, les températures plus élevées qui interviennent durant les périodes chaudes ont pour effet d'augmenter l'activité microbienne et donc l'abattement de certains composés. Le furosémide est également photodégradable [Isodori *et al.*, 2006 et références citées dans cet article : Bundgaard *et al.*, 1988 ; Zanocco *et al.*, 1998 ; DellaGreca *et al.*, 2004] ce qui participe à son élimination dans le milieu naturel.

Enfin, il est important de préciser que les conditions climatiques de l'année 2011 ont probablement participées au conditionnement des flux saisonniers. L'effet de dilution causé par la pluie a été minime et la faible pluviométrie a également pu influencer l'efficacité des systèmes

d'assainissement. L'ensoleillement important ainsi que les hautes températures ont probablement avantagé certaines réactions de dégradation. Ainsi, d'après la figure III-27, il est intéressant de constater que les flux les plus faibles sont observés pour des températures de l'eau supérieures à 14 °C.

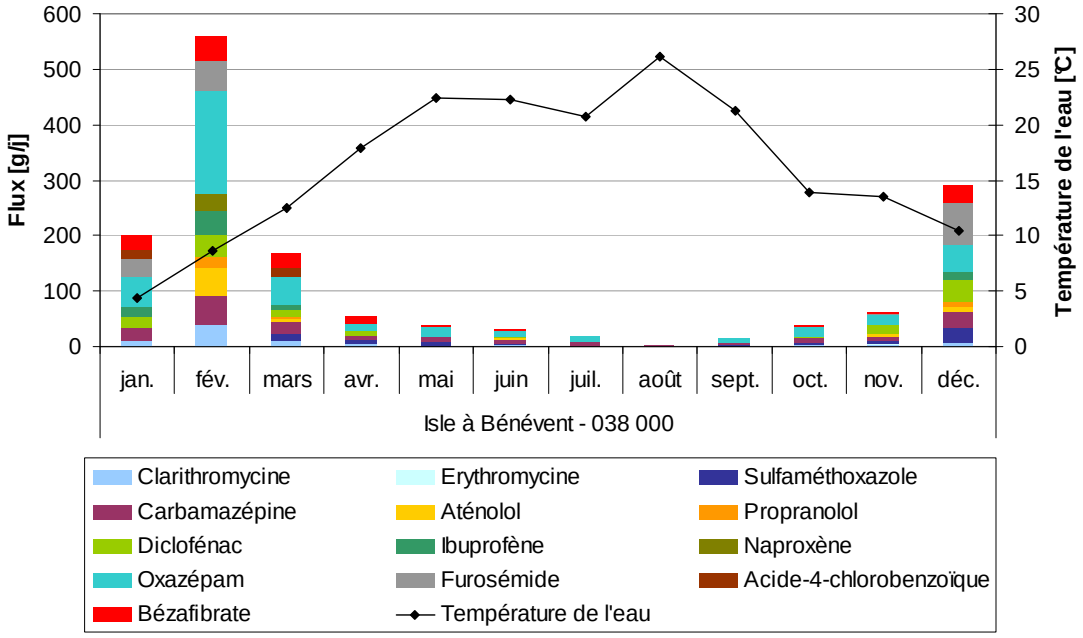


Figure III-27 Variation saisonnière des flux (g.j^{-1}) de résidus de médicaments calculés et températures de l'eau mesurées pour la station « l'Isle à Bénévent » en 2011.

Pour le paracétamol (figure III-28), la tendance est similaire à celle observée pour les autres résidus de médicaments. Toutefois, les flux de paracétamol sont du même ordre de grandeur que ceux provenant de la somme des autres résidus de médicaments. Par exemple, au mois de janvier le flux des résidus de médicaments était de 201 g.j^{-1} alors que celui du paracétamol était de 224 g.j^{-1}.

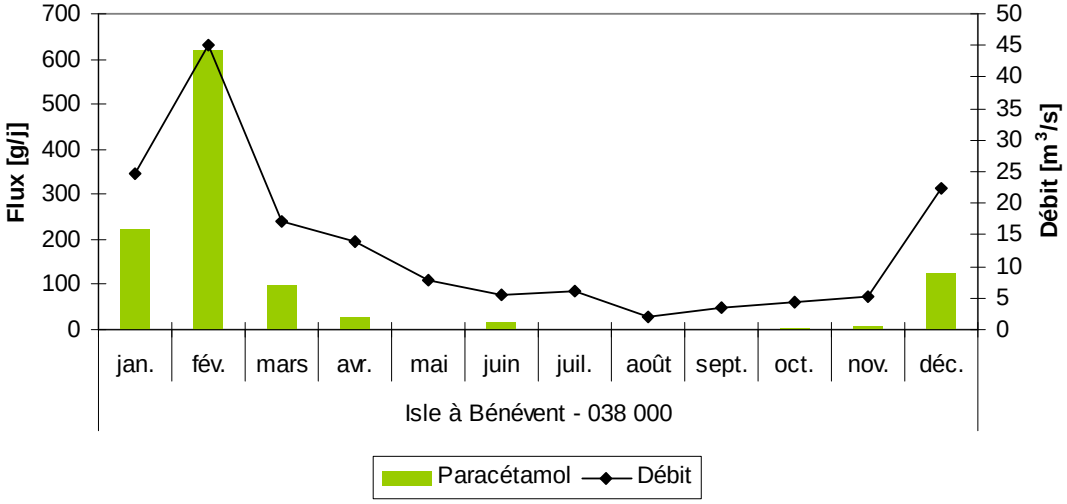


Figure III-28 Variation saisonnière des flux (g.j^{-1}) de paracétamol calculés et débits relevés pour la station « l'Isle à Bénévent » en 2011.

III.3.3. La Dordogne et son affluent la Vézère

III.3.3.1. Localisation des stations de mesure du bassin

Les stations de prélèvement ainsi que les stations hydrométriques du bassin de la Dordogne sont illustrées sur la figure III-29.

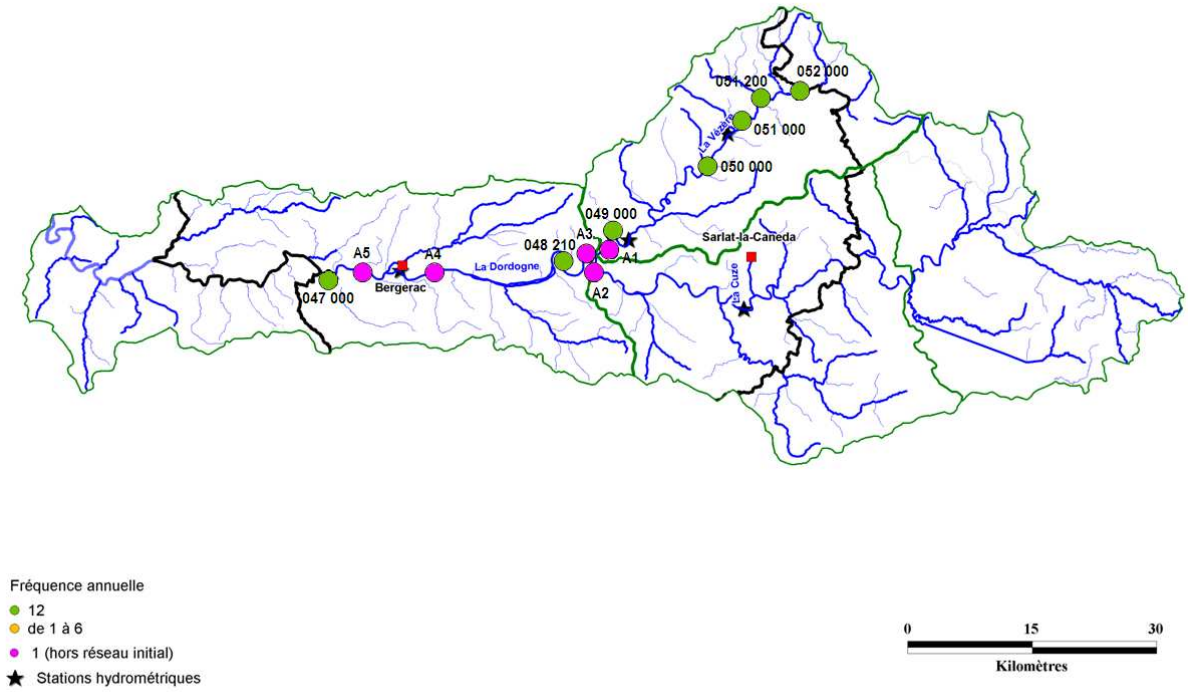


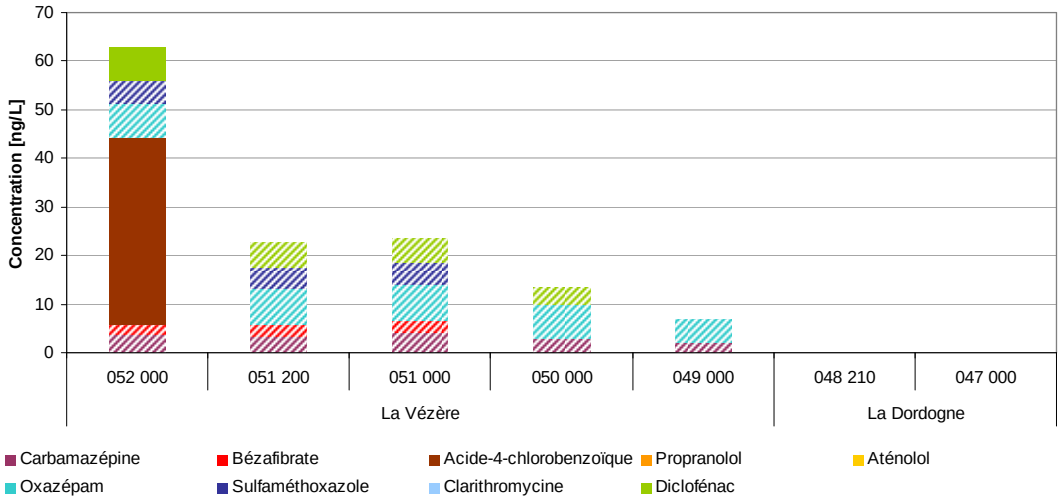
Figure III-29 Localisation des stations de prélèvement et des stations hydrométriques présentes dans les bassins de la Vézère et de la Dordogne.

III.3.3.2. Contamination de la Dordogne et de la Vézère

La figure III-30 montre que les concentrations cumulées mesurées au mois d'août sont plus faibles que celles mesurées au mois d'octobre. Le panel des molécules détectées dans la Vézère est plus vaste que celui de la Dordogne. Ce contraste entre la Dordogne et son affluent s'explique très aisément par la différence de débits qui existe entre ces deux cours d'eau et qui entraîne un phénomène de dilution plus important pour la Dordogne. A titre d'exemple, le débit mensuel calculé en octobre 2011 de la Vézère (le Bugue) était de 10,90 $m^3.s^{-1}$ alors que celui de la Dordogne à proximité de Bergerac était de 60,60 $m^3.s^{-1}$.

Les résidus détectés sur la globalité des stations de prélèvements présents sur la Vézère sont semblables. Aucune pression domestique n'est remarquable sur cette partie du cours d'eau et les concentrations cumulées excèdent les 90 $ng.L^{-1}$ en octobre sur l'ensemble du territoire étudié. Ces résultats confirment, d'une part, la persistance de certaines molécules telles que la carbamazépine ou l'oxazépam et, d'autre part, la présence d'une source d'introduction de résidus de médicaments en amont de la station de prélèvement 052 000 (« la Vézère en aval de la Corrèze »).

a.



b.

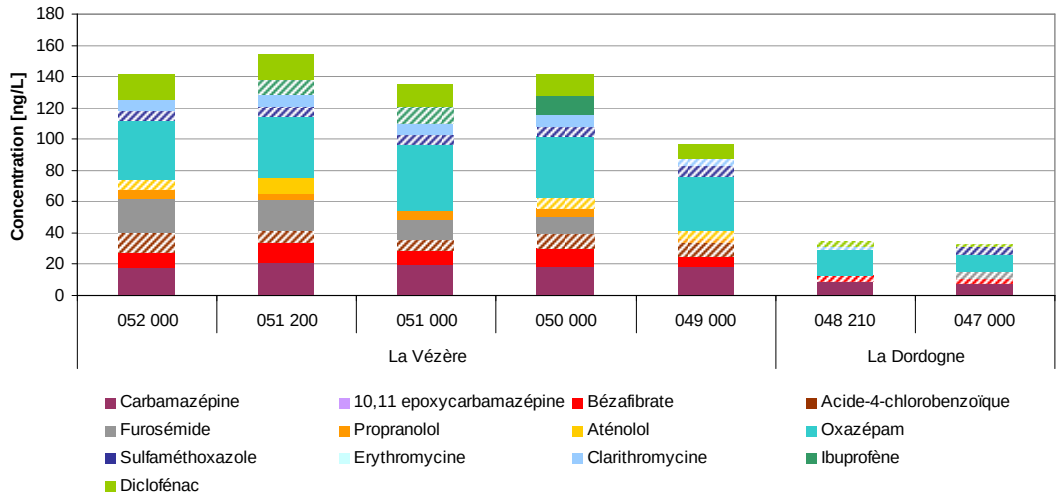


Figure III-30 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées dans le bassin de la Dordogne en (a.) août 2011 et (b.) octobre 2011.

Le paracétamol a régulièrement été retrouvé sur l'ensemble des stations à des concentrations majoritairement supérieures à 100 $ng.L^{-1}$ dans la Vézère et à des niveaux de concentrations moindre dans la Dordogne (figure III-31). Ce composé s'avère fortement impacter la Vézère avec, notamment, des pics ponctuels de pollution pouvant atteindre plusieurs centaines voire dépasser le $\mu g.L^{-1}$ comme cela a été le cas au mois de novembre 2011 à la station 051 000. Comme nous l'avons déjà signalé, les fortes concentrations en paracétamol mesurées révèlent la présence de rejets directs et/ou de systèmes d'assainissement défaillants. Ainsi, des efforts devront certainement être menés sur la Vézère afin d'améliorer la qualité de l'eau.

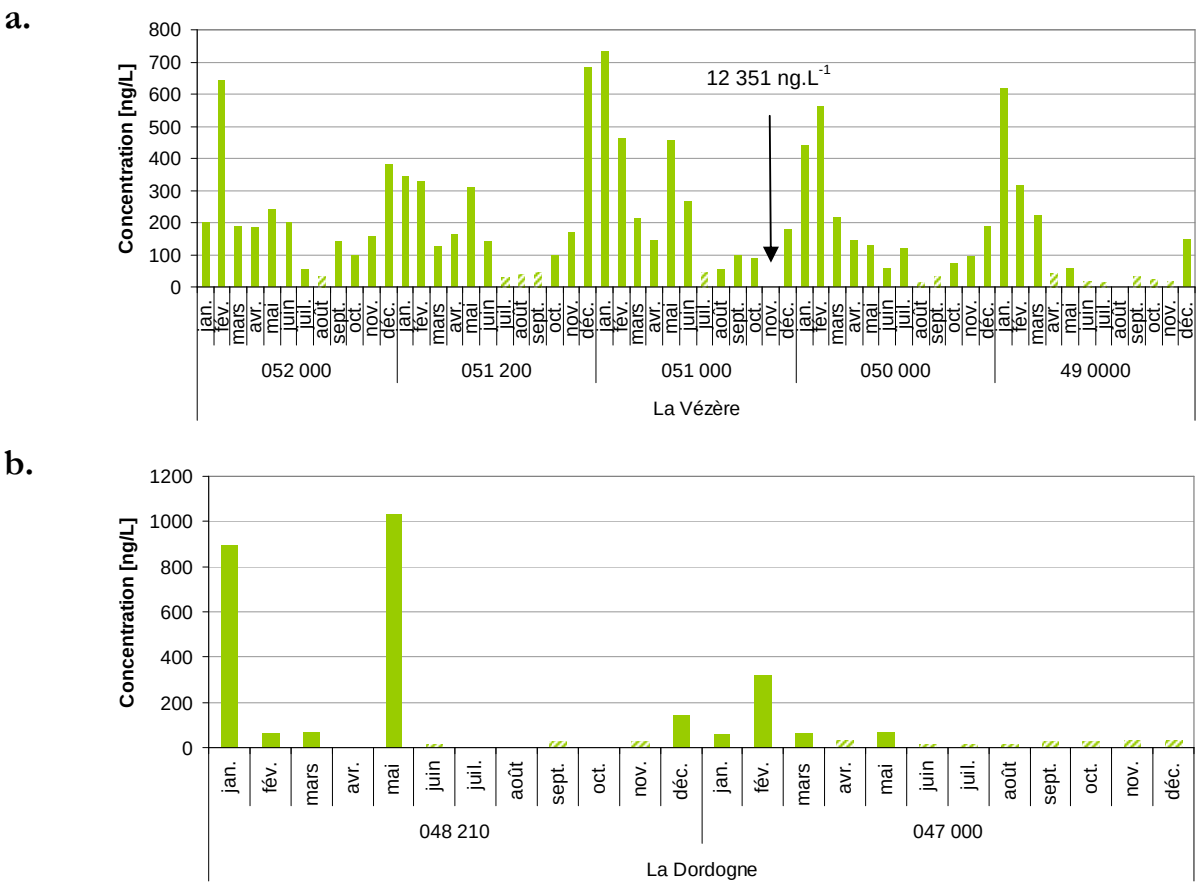


Figure III-31 Concentrations en paracétamol retrouvées dans (a.) la Vézère et (b.) la Dordogne suite aux différentes campagnes de mesure réalisées entre janvier et décembre 2011.

III.3.3.3. Campagnes supplémentaires

Des campagnes de prélèvements supplémentaires ont été réalisées afin de mieux identifier les sources d'introduction des résidus de médicaments dans le bassin de la Dordogne. Deux campagnes ont été mises en place :

- La première (figure III-32) a pour objectif de caractériser l'impact de la Vézère sur la Dordogne ainsi que l'impact de la ville de Bergerac, 2e agglomération du département en termes de population.
- La seconde (figure III-33) a pour but d'identifier la principale source d'introduction de résidus de médicament dans la Vézère.

Pour la première campagne, l'analyse de l'échantillon provenant de la Vézère permet de confirmer la présence de résidus de médicaments. Néanmoins, les résultats obtenus ne permettent pas de conclure sur l'impact qu'a la Vézère sur la contamination de la Dordogne. En effet, les débits de la Dordogne sont environ quatre fois plus importants que ceux de la Vézère et la dilution des concentrations y est plus élevée. De plus, les concentrations mesurées dans la Dordogne sont très souvent proches des limites de quantification des résidus de médicaments ce qui entraîne une perte d'informations.

Les prélèvements qui encadrent l'agglomération de Bergerac révèlent une nuance entre l'amont et l'aval de la ville. Cependant, les mêmes molécules ont été détectées et les concentrations en résidus varient peu entre les deux prélèvements. Ce constat permet de conclure sur le faible impact de l'agglomération de Bergerac sur la Dordogne. Le débit élevé de la

Dordogne provoque un effet de dilution qui contribue grandement aux faibles niveaux de concentrations mesurés.

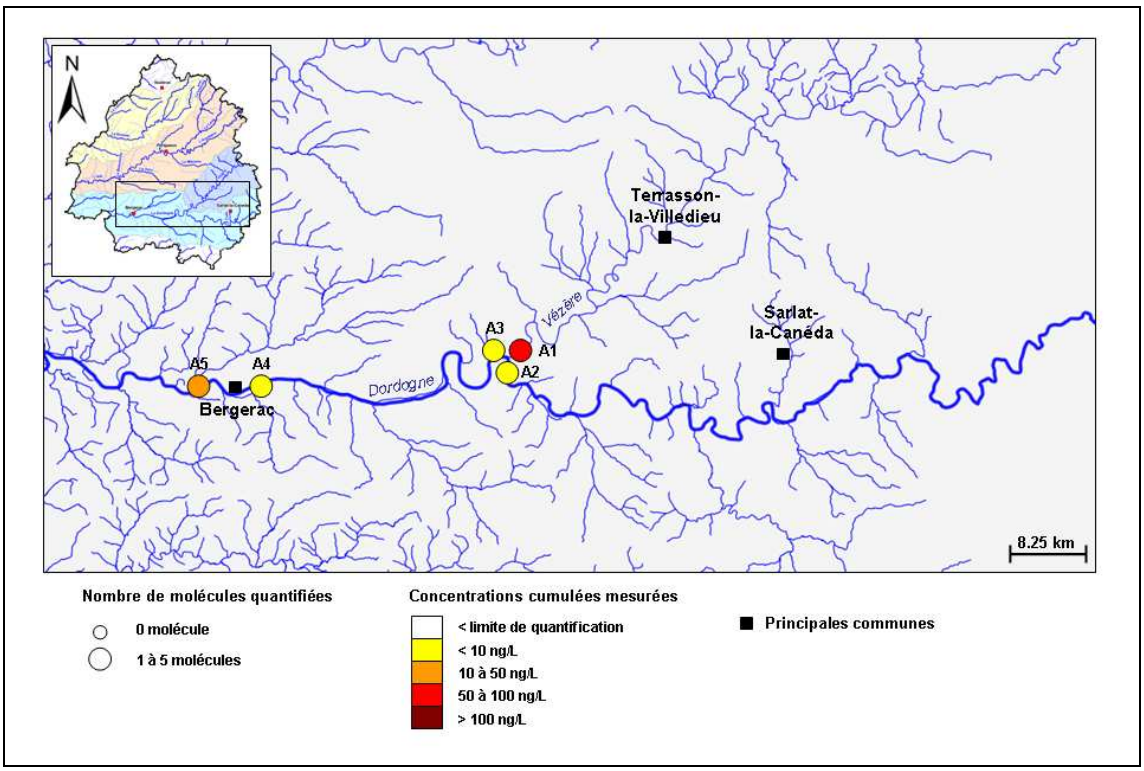


Figure III-32 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées lors de la campagne supplémentaire réalisée sur le bassin de la Dordogne.

La figure III-33 met en évidence l'impact de l'agglomération de Brive (Corrèze) sur la Vézère. Cette commune dispose d'une station d'épuration urbaine d'une capacité de 250 000 EH. Ainsi, la principale source d'introduction de résidus de médicaments est identifiée puisque l'amont de cette ville est peu voire pas soumis à une contamination liée aux résidus de médicaments (station B1 et B2). Cette carte permet également de constater la rémanence des contaminants puisque les concentrations retrouvées le long de la Vézère avoisinent les 50 $ng.L^{-1}$.

Pour le paracétamol, le même schéma est constaté. Cette molécule n'a pas été détectée en amont de Brive-la-Gaillarde. Elle a été quantifiée à hauteur de 200 $ng.L^{-1}$ en aval proche de Brive-la-Gaillarde puis à des concentrations qui varient entre 80 et 100 $ng.L^{-1}$ dans les échantillons prélevées en aval du bassin de la Vézère.

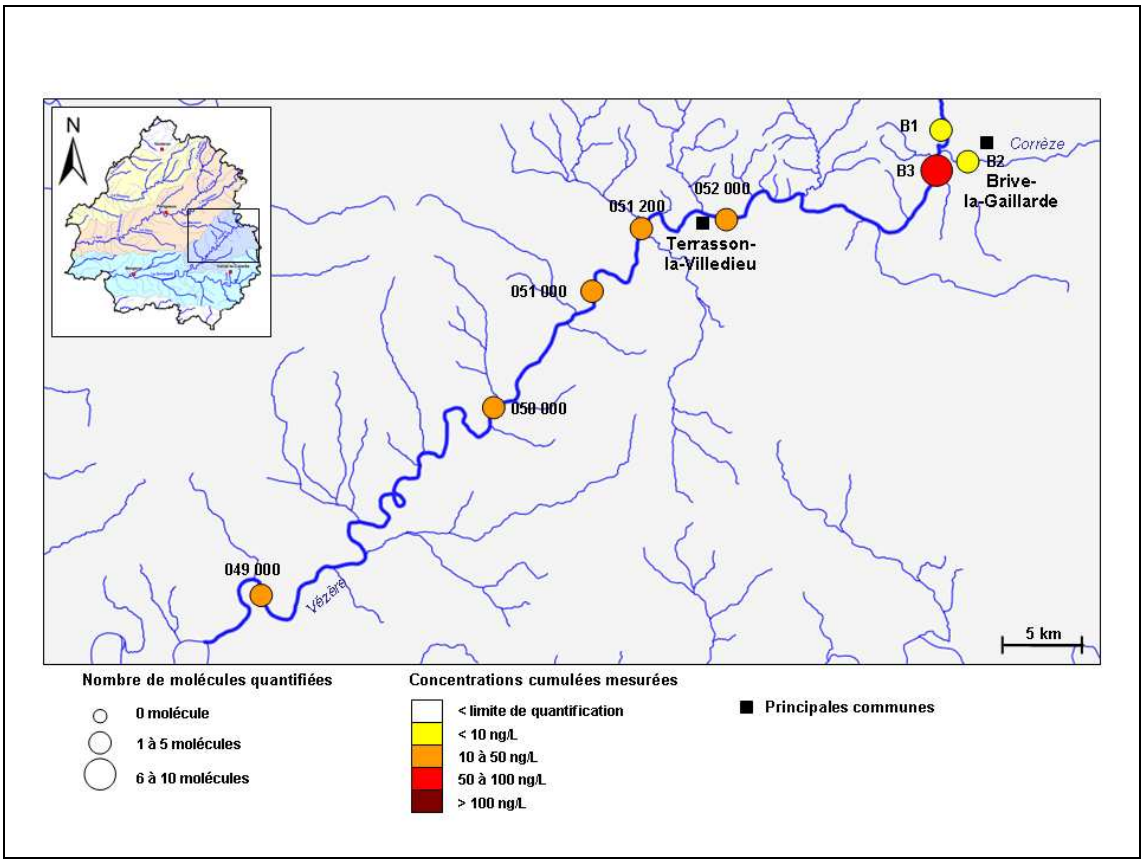


Figure III-33 Concentrations cumulées (hors paracétamol) retrouvées lors de la campagne supplémentaire réalisée sur le sous bassin de la Vézère.

III.3.3.4. Variation saisonnière

Les figures III-34 et III-35 représentent les flux des résidus de médicaments et de paracétamol calculés des stations « la Vézère à Aubas » et « la Vézère à Le Bugue » en 2011. De manière générale, les flux de résidus de la station d'Aubas sont supérieurs à ceux de la station de Le Bugue. Cette différence peut, en partie, s'expliquer par la faible pression domestique sur ce tronçon de la Vézère mais également par la proximité de la station « la Vézère à Aubas » avec l'agglomération de Brive-la-Gaillarde.

Au cours de l'année 2011, l'évolution des flux a été similaire à celle observée pour « l'Isle à Bénévent ». Les flux les plus conséquents correspondent aux mois de janvier, février, mars et décembre bien que le mois de novembre pour « la Vézère à Aubas » ait présenté un flux comparable à celui du mois de mars (hors paracétamol).

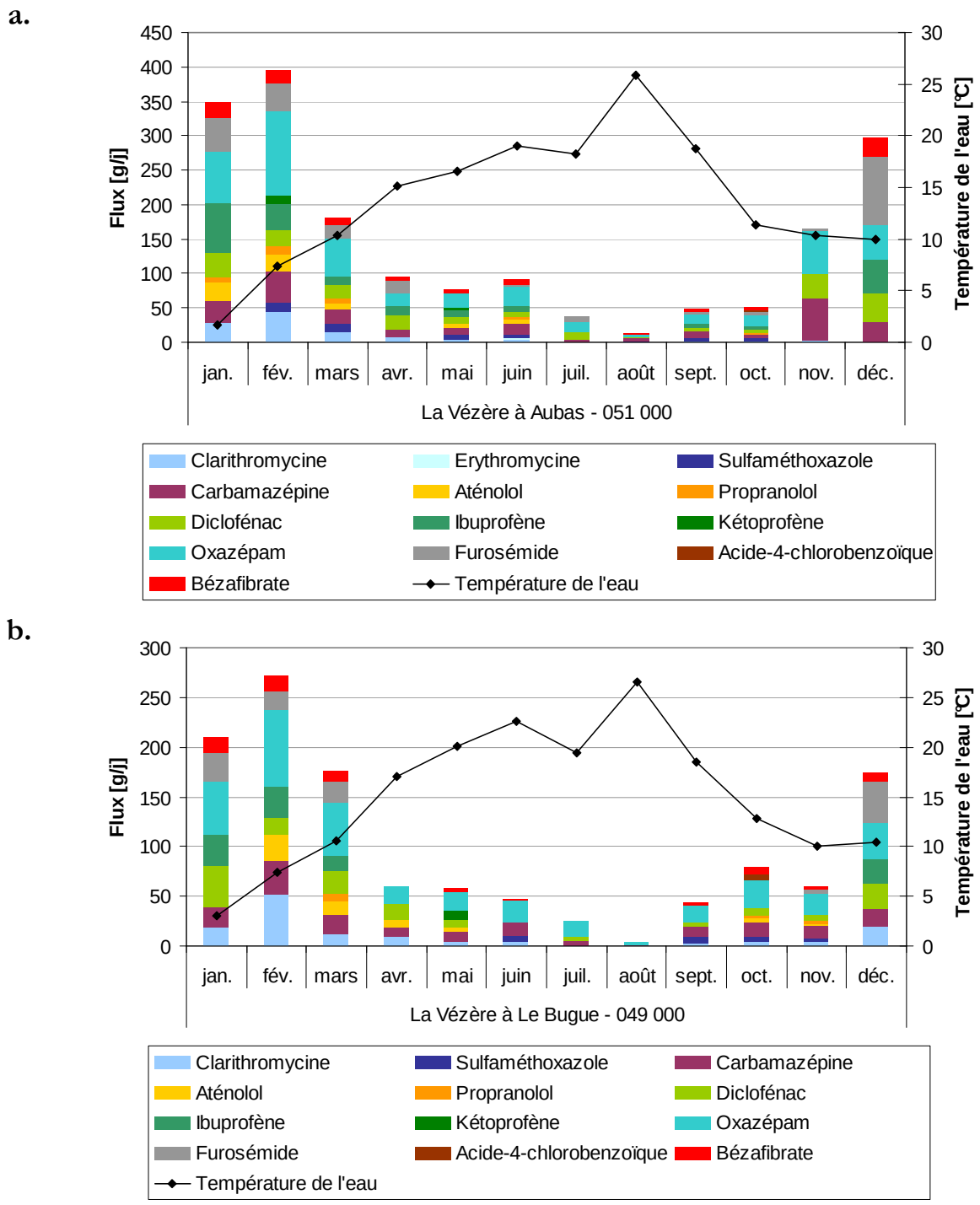


Figure III-34 Variation saisonnière des flux (g.j^{-1}) de résidus de médicaments calculés et températures de l'eau mesurées pour (a.) la station « la Vézère à Aubas » et (b.) la station « la Vézère à Le Bugue » en 2011.

La figure III-35 montre que les flux de paracétamol présentent un profil saisonnier quasi-semblable. Néanmoins, il est important de noter que les apports de paracétamol aux stations étudiées sont beaucoup plus importants que l'ensemble des autres résidus de médicaments réunis. A titre d'exemple, le flux de résidus de médicaments (hors paracétamol) était de 350 g.j^{-1} au mois de janvier et de 2 220 g.j^{-1} pour le paracétamol à « la Vézère à Aubas ».

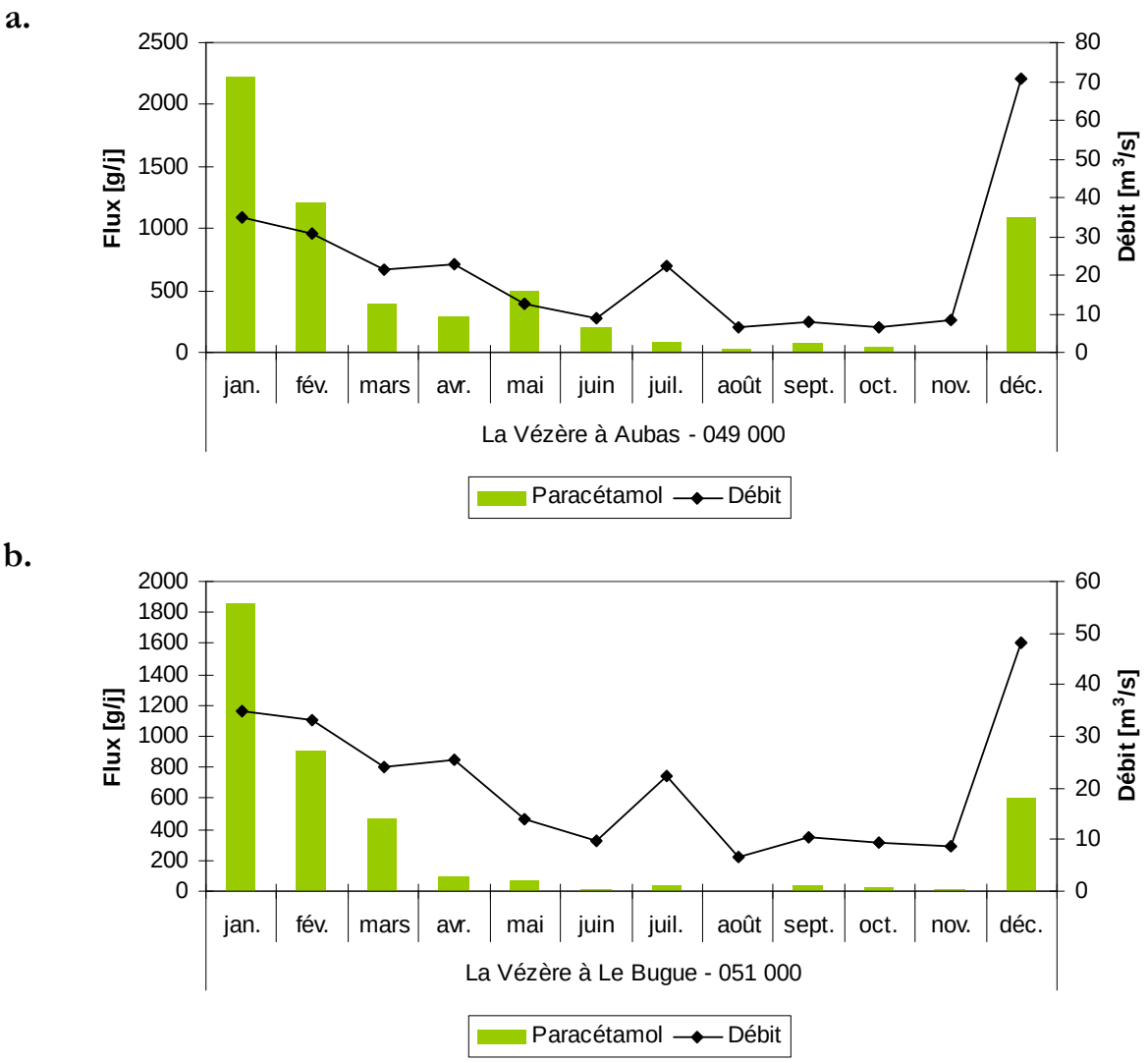


Figure III-35 Variation saisonnière des flux (g.j^{-1}) de paracétamol calculés et les débits relevés pour (a.) la station « la Vézère à Aubas » et (b.) la station « la Vézère à Le Bugue » en 2011.

III.4. Synthèse

La carte de densité de population du département de la Dordogne (figure III-36) a été couplée aux moyennes des concentrations cumulées obtenues sur l'ensemble des campagnes de mesure de 2011 (hors paracétamol). Parmi les zones les plus impactées par les résidus de médicaments, le bassin aval de l'Isle est une des zones les plus urbanisées. La figure III-36 met clairement en avant l'impact de l'agglomération de Périgueux sur l'Isle tandis que les principaux affluents sont peu contaminés. Cependant, la Loue et la Valouse présentent des concentrations élevées par rapport aux autres affluents. Ce tronçon est peu urbanisé mais la présence de stations d'épuration urbaines sur ces cours d'eau ainsi que le faible débit engendre des niveaux de concentrations importants.

Malgré l'absence de pressions domestiques remarquables, le tronçon de la Vézère suivi est marqué par la présence de résidus de médicaments à usage humain. Une campagne supplémentaire réalisée dans le département limitrophe (Corrèze) a permis d'identifier la source d'introduction des résidus de médicaments dans ce cours d'eau (agglomération de Brive-la-Gaillarde).

Enfin, la Dordogne est un cours d'eau peu contaminé. L'importance de l'effet de dilution le préserve, en termes de concentration, des conséquences induites par la présence de l'agglomération bergeracoise ainsi que par le rejet de la Vézère.

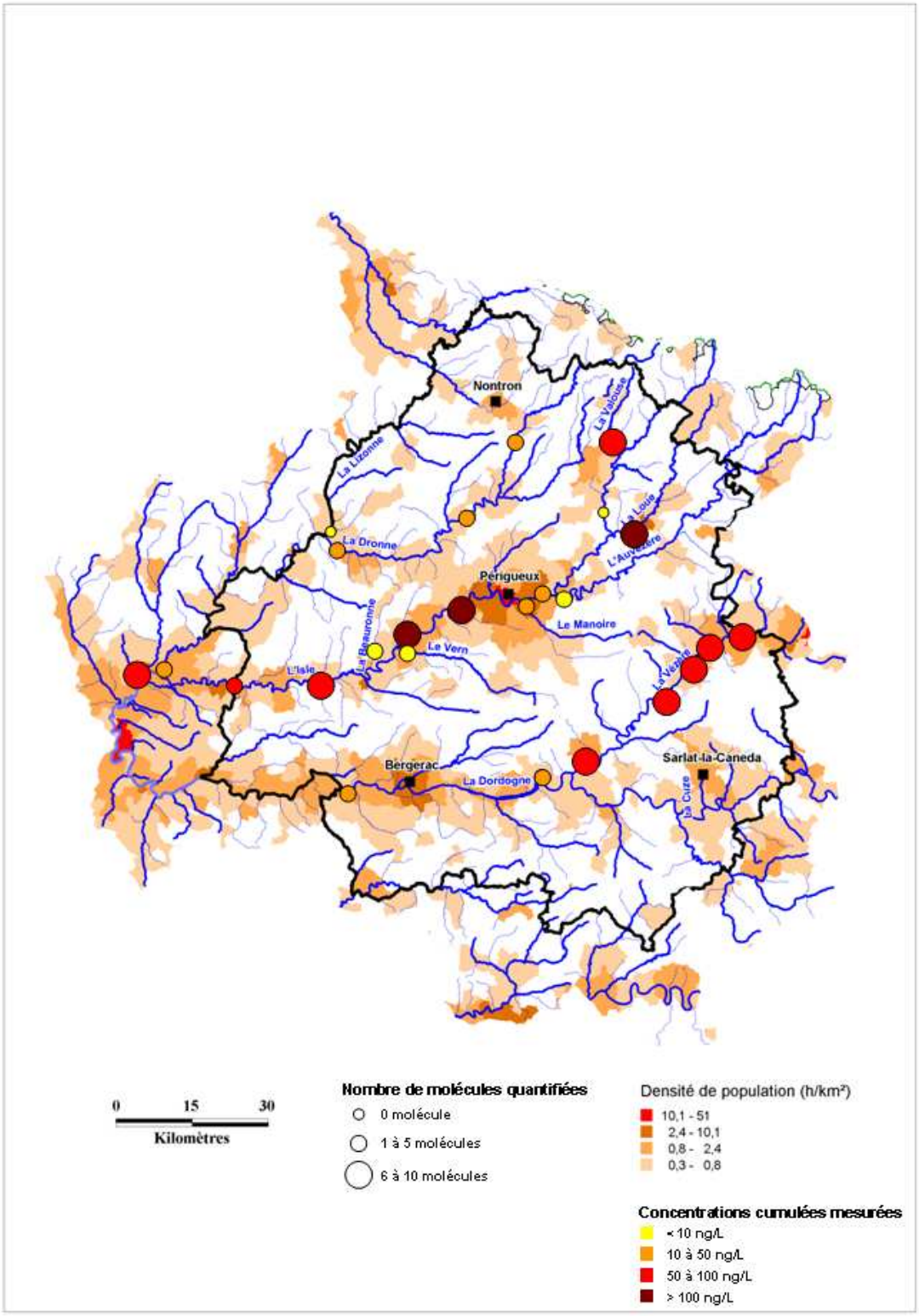


Figure III-36 Densité de population du département de la Dordogne et moyennes des concentrations cumulées en résidus de médicaments. Le calcul de la moyenne a été réalisé à partir des données obtenues sur l'ensemble des campagnes de mesure organisées en 2011.

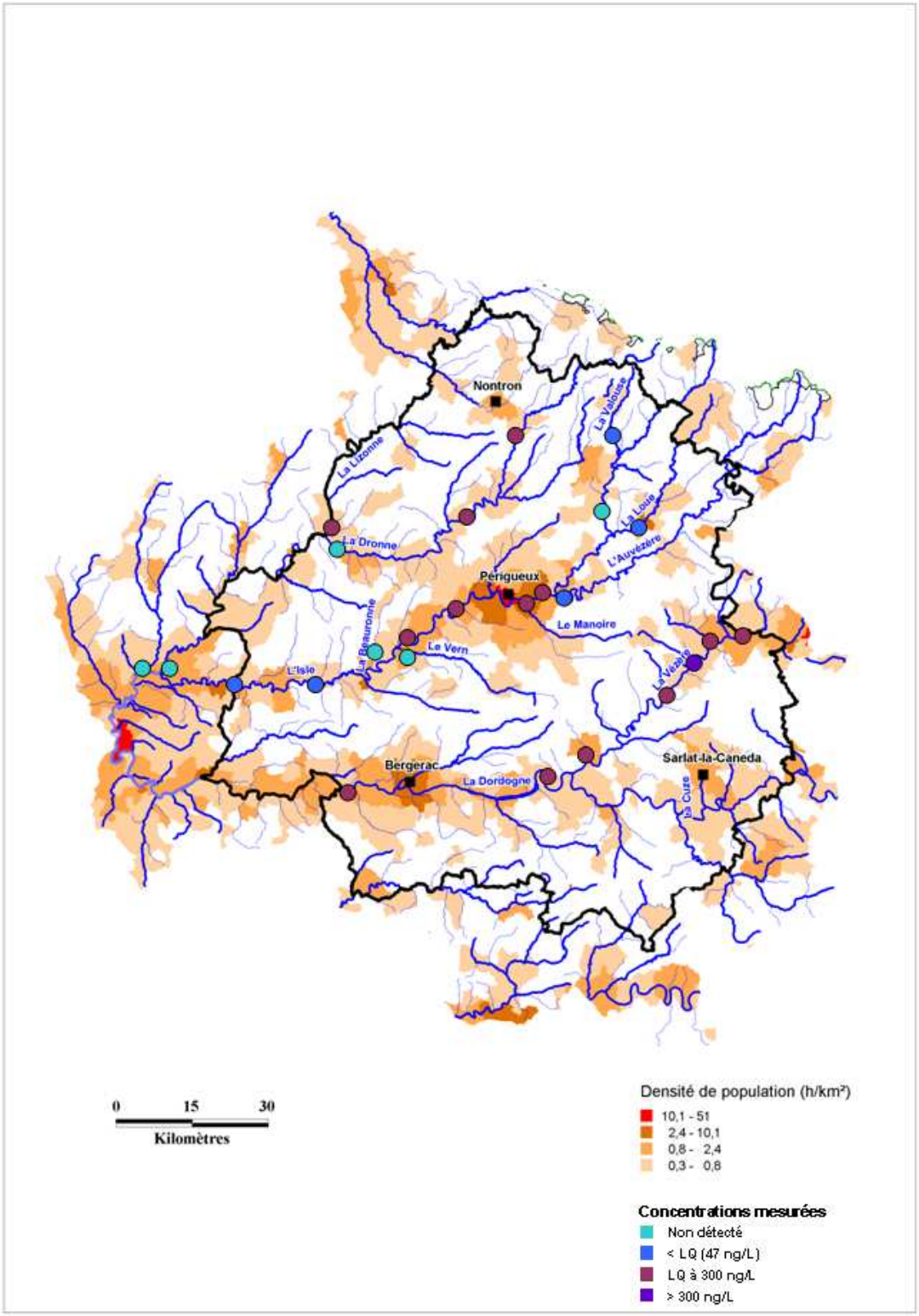


Figure III-37 Densité de population du département de la Dordogne et moyennes des concentrations en paracétamol. Le calcul de la moyenne a été réalisé à partir des données obtenues sur l'ensemble des campagnes de mesure organisées en 2011.

Les niveaux moyens des concentrations en paracétamol (figure III-37) sont supérieurs à ceux observés pour les autres résidus. Les stations de mesure impactées par la présence de paracétamol ne sont pas toujours semblables à celles des autres contaminants. Cette différence

peut s'expliquer par la présence ponctuelle de paracétamol à des teneurs très élevées comme cela a été le cas avec certaines stations du bassin de la Dronne. Bien que le bassin de la Dordogne semble être imprégné dans sa globalité par la présence de paracétamol, le bassin de l'Isle est moins touché et la contamination plus diffuse.

Les différentes campagnes réalisées sur l'ensemble des bassins du département de la Dordogne ont permis de définir la contamination de plusieurs cours d'eau par les résidus de médicaments. Bien que ces molécules aient été détectées sur la majorité des stations étudiées, « l'Isle à Corgnac » (044 000) se démarque des autres puisque aucun résidu, y compris le paracétamol, n'a été mesuré. Pour le bassin de l'Isle, cette station pourrait être utilisée comme un site de référence afin d'étudier la dégradation du milieu, par exemple. Néanmoins, pour conclure de manière définitive sur cette station, des prélèvements supplémentaires sont nécessaires car elle n'a été échantillonnée qu'à une seule reprise en 2011.

CHAPITRE IV

IV Introduction des résidus de médicaments dans l'Isle autour de l'agglomération de Périgueux

L'agglomération périgourdine est la plus importante aire urbaine du département de la Dordogne. Elle se situe également parmi les aires urbaines les plus peuplées d'Aquitaine puisqu'elle occupe la 5e position derrière Bordeaux, Bayonne, Pau et Agen (Insee, données de 2008). La majorité de l'agglomération de Périgueux dispose d'un réseau d'assainissement unitaire composé de trois stations d'épuration de capacité moyenne (< 50 000 EH). Ces stations (Saltgourde, Boulazac et Trélissac) font également partie des cinq plus importantes filières de traitement du département en termes de capacité.

L'étude des eaux de surface du département de la Dordogne a permis de mettre en évidence certaines zones d'introduction de résidus de médicaments au niveau départemental. Parmi les différents points localisés sur ce territoire, l'agglomération périgourdine s'est avérée être la source majeure de dissémination des composés pharmaceutiques dans l'Isle. Suite à ces résultats et afin d'approfondir la problématique établie précédemment, un maillage plus fin a été réalisé au sein de la zone urbaine de Périgueux de manière à mieux comprendre les voies d'introduction des résidus de médicaments.

IV.1. Matériels et méthodes

IV.1.1. Sites d'échantillonnage

Les stations de prélèvement ont été localisées afin d'assurer un encadrement des potentielles voies d'introduction de résidus de médicaments de l'agglomération de Périgueux (figure IV-1). Elles englobent l'ensemble des stations d'épuration situées dans Périgueux et les communes voisines. Le plan d'échantillonnage comprend des prélèvements dans l'Isle, dans quelques uns de ses affluents mais également dans les eaux traitées de deux de ses trois stations d'épuration rejetant dans l'Isle. Les eaux usées traitées ont fait l'objet de prélèvements ponctuels afin de rendre compte de l'apport direct du rejet dans le cours d'eau lors des journées de prélèvements.

Les stations de mesure peuvent être séparées en trois groupes selon la fréquence des prélèvements et le type de matrice :

- Les prélèvements de l'Isle ont été réalisés en mars, mai, juin, septembre et novembre 2011. Ils comprennent les stations suivantes (d'amont en aval) :
  - le site I – 1 situé en amont de l'agglomération ;
  - les sites I – 2 et I – 3 qui encadrent le rejet de la STEP de Trélissac ;
  - le site I – 4 localisé au centre de Périgueux ;
  - les sites I – 5 et I – 6 qui encadrent le rejet de la STEP de Saltgourde,
  - et le site I – 7 situé en aval de l'agglomération périgourdine.

- Les prélèvements des eaux traitées des stations d'épuration (caractéristiques décrites dans le tableau IV-I) ont été effectués en mai, juin, septembre et novembre 2011 sur les stations d'épuration de :
  - Trélissac (10 000 EH - boues activées) ;
  - Saltgourde (48 330 EH - physico-chimique et filtre biologique).

- Les prélèvements des affluents ont été menés sur :
  - la Beauronne qui a été prélevée en novembre (ce cours d'eau n'a été échantillonné qu'à une seule reprise car souvent à sec) ;
  - le Manoire qui a bénéficié d'un prélèvement mensuel pendant un an (chapitre 3).

Parmi les affluents présents sur ce tronçon de l'Isle, le Got (3,7 km de longueur) n'a pas été échantillonné car il s'agit d'un ruisseau préservé de toutes pressions anthropiques et sur lequel aucune installation importante n'est présente.

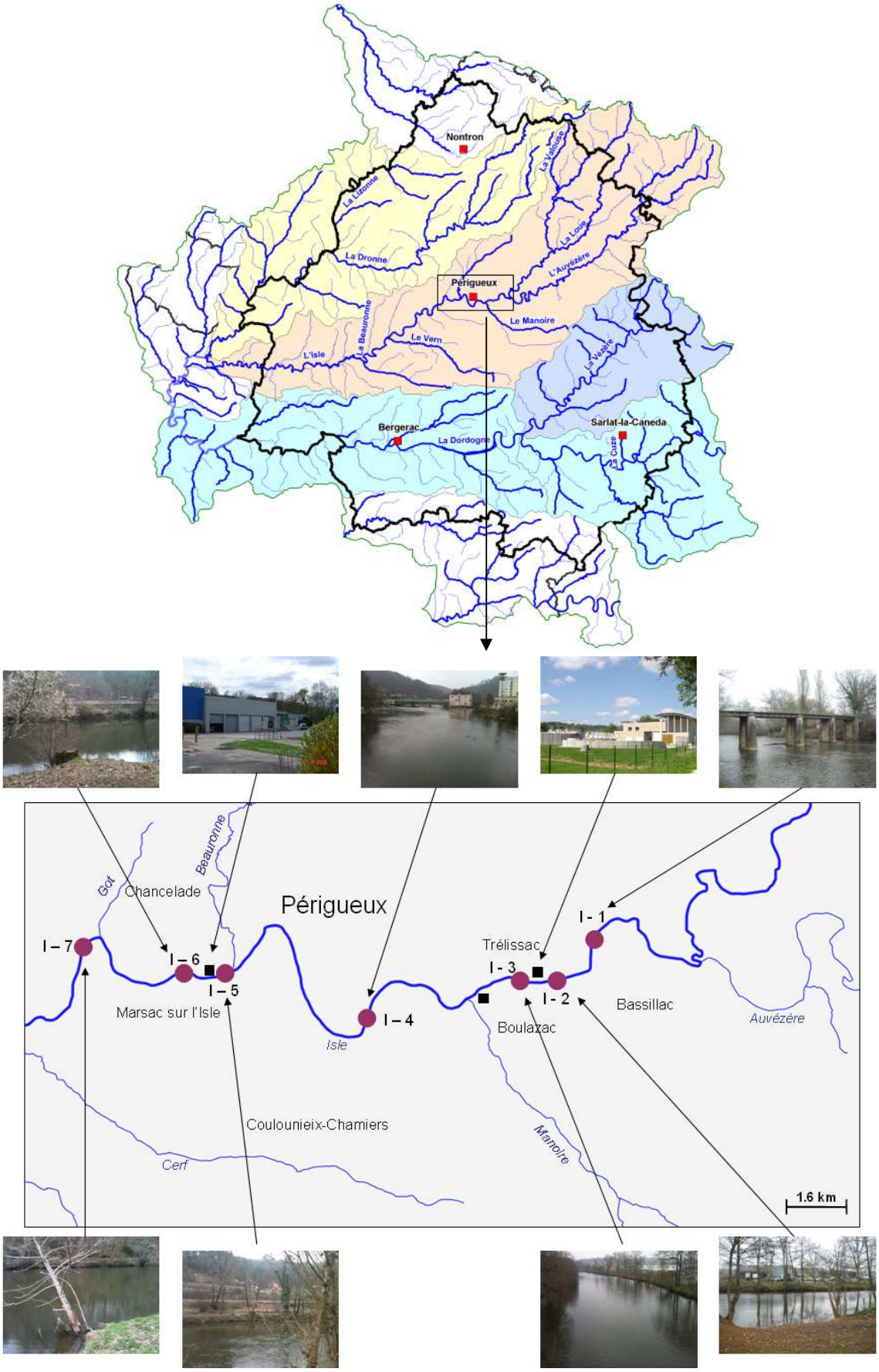


Figure IV-1 Sites d'échantillonnage.

Tableau IV-I Caractéristiques des stations d'épuration de Saltgourde et Trélissac (d'après www.eau-adour-garonne.fr).

STEP	Capacité (EH)	Type de traitement	Communes raccordées	Industries raccordées
Saltgourde (Marsac sur l'Isle)	48 333	Physico-chimique et filtre biologique	▪ Atur ▪ Champcevinel ▪ Chancelade (en partie) ▪ Coulounieix-Chamiers ▪ Marsac sur l'Isle ▪ Notre Dame de Sanilhac ▪ Périgueux ▪ Trélissac (en partie)	▪ Blanchisserie inter-hospitalière ▪ Blanchisserie industrielle ▪ Centre hospitalier de Périgueux ▪ E.I. du Périgord S.N.C.F. (métallurgie mécanique) ▪ Polyclinique de Francheville ▪ S.A.R.L. Nettis (Blanchisserie industrielle) ▪ S.N.C.F. Conventionnée (métallurgie mécanique ▪ TE pointes (métallurgie mécanique)
Trélissac	10 000	Boues activées (aération prolongée)	▪ Trélissac (en partie)	▪ Centre hospitalier annexe médicale de Trélissac

IV.1.2. Caractéristiques de l'agglomération périgourdine

IV.1.2.1. Agglomération

Périgueux, chef-lieu du département de la Dordogne, est une ville de 29 273 habitants (aire urbaine de 100 399 habitants) avec une densité de population qui s'élève à 2 981 hab. / km^2 (Insee, données de 2009). L'agglomération de Périgueux est traversée par l'Isle qui est le principal affluent de la Dordogne (rivière).

L'assainissement collectif est géré par la Communauté d'Agglomération Périgourdine (CAP). Cette structure intercommunale d'une superficie de 320 km^2 compte 72 000 habitants répartis sur 16 communes (www.pcet-ademe.fr). Ses compétences sont multiples puisque qu'elle gère des projets d'intérêts collectifs relatifs aux transports urbains ou au développement économique, par exemple. Au niveau de l'assainissement, la CAP s'occupe de la gestion des stations d'épuration de la zone urbaine (Saltgourde et Trélissac) ainsi que des dix stations de la zone péri-urbaine.

IV.1.2.2. Démographie

Le profil démographique d'une commune influence la consommation de médicaments. En 2001, 39 % de la consommation de médicaments en ville provenaient des personnes âgées de plus de 65 ans [Cour des comptes, 2003]. Par ailleurs l'ANSM (ex Afssaps) a publié un rapport qui décrit l'évolution de la consommation d'antibiotiques au cours de ces dix dernières années

[Afssaps, 2011]. L'étude révèle que la consommation d'antibiotiques augmente avec l'âge et les niveaux sont beaucoup plus importants pour les personnes âgées. Elle indique également que la consommation de médicaments par les femmes est plus importante surtout pour la population active.

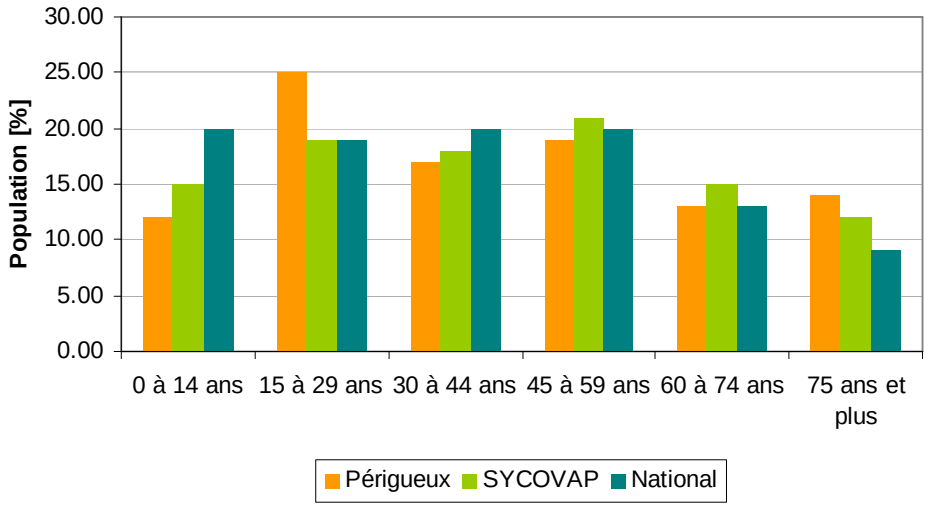


Figure IV-2 Répartition de la population par tranche d'âge en 2008 (Insee, données de 2008).

La figure IV-2 illustre les répartitions de la population nationale, du Sycovap[14] (Syndicat mixte pour la mise en œuvre du Contrat de Ville de l'Agglomération Périgourdine) et de la population périgourdine par tranche d'âge (2008). Par rapport à la moyenne nationale, la proportion de personnes de 15 à 29 ans ainsi que celle de plus de 75 ans est plus importante à Périgueux. Ainsi, malgré la surreprésentation de la tranche 15 – 29 ans, la population périgourdine reste plus âgée que la moyenne nationale et déficitaire au niveau de la population des moins de 14 ans. La pyramide des âges représentée sur la figure IV-3 montre également que les femmes âgées de plus de 45 ans sont plus nombreuses que les hommes à Périgueux.

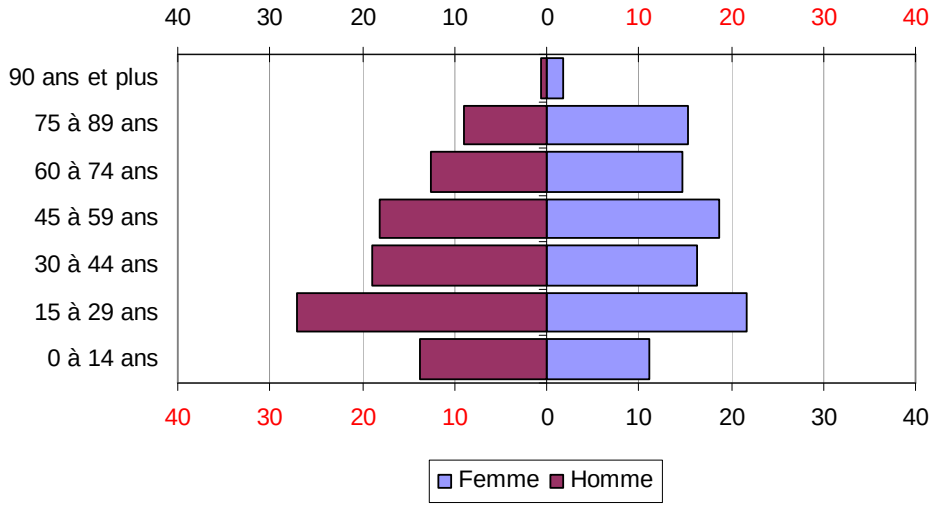


Figure IV-3 Pyramide des âges à Périgueux en 2009 (pourcentage) (Insee, données de 2009).

[14] Le Sycovap regroupe les communes de Boulazac, Coulounieix-Chamiers, Périgueux et de la CAP qui sont, pour une grande partie, raccordées aux systèmes d'assainissement dont les rejets se situent au niveau du tronçon de l'Isle étudié.

IV.1.2.3. Qualité des cours d'eau

Le tableau IV-II regroupe quelques caractéristiques des cours d'eau qui traversent l'agglomération périgourdine. Les pressions domestiques, industrielles et agricoles varient d'un état moyen à fort selon la localisation du cours d'eau excepté pour le ruisseau le Got qui est relativement bien préservé (www.eau-adour-garonne.fr).

Tableau IV-II Qualité des cours d'eau, pressions et rejets de STEP (d'après l'Agence de l'Eau Adour Garonne).

Cours d'eau	Pression domestique	Pression industrielle	Pression agricole	Rejet de STEP	Qualité du cours d'eau
Isle	●●●	●●	●●	▪ Saltgourde (48 333 EH) ▪ Boulazac (18 000 EH) ▪ Trélissac (10 000 EH)	▪ Bon état écologique et chimique ▪ État biologique moyen
Manoire	●●	●●●	●●	▪ Fossemagne (600 EH) ▪ Saint-Pierre-de-Chignac (700 EH) ▪ STEP industrielle S.A. Pierre Champion (préparation industrielle de produits à base de viande)	▪ Bon état écologique et biologique
Beauronne	●●	●●	●●	▪ Chancelade (20 EH) ▪ Agonac (1 000 EH)	▪ État écologique moyen
Got	●	●	●	-	▪ Bon état écologique et chimique

● Pression faible
●● Pression moyenne
●●● Pression forte

IV.1.3. Techniques de prélèvement de l'échantillon et caractérisation de l'année 2011

Les techniques de prélèvements ainsi que le matériel employés pour l'échantillonnage des eaux de surface sont semblables à ceux décrits dans le chapitre 3. Selon le site, les échantillons ont été prélevés :

- dans le cours d'eau à l'aide de pontonnières :
- depuis un pont ;
- depuis la berge au moyen d'une perche télescopique.

Afin de vérifier si l'emplacement de la station de prélèvement I – 6 (située à environ 300 m du rejet de Saltgourde) ne se situe pas au niveau de la zone de mélange du rejet urbain, les effluents de la STEP de Saltgourde ont été tracés à la fluorescéine (figure IV-4). Les prélèvements ont été réalisés sur une section de l'Isle tous les 5 m et à différents niveaux de profondeur. Les

résultats ont montré que dans des conditions de faibles débits (4 $m^3.s^{-1}$), la répartition des résidus de médicaments sur cette section de l'Isle était homogène. L'étude n'a été réalisée qu'en période d'étiage puisque, au vu des conditions climatiques de l'année 2011, les débits mesurés lors des campagnes de prélèvement n'ont pas excédé 20 $m^3.s^{-1}$ entre les mois de mars et novembre. Enfin, il est important de préciser qu'en période de hautes eaux, le débit de l'Isle peut être supérieur à 100 $m^3.s^{-1}$ au niveau de Périgueux.

Figure IV-4 Traçage du rejet de la STEP de Saltgourde à la fluorescéine.

Les prélèvements réalisés en sortie de STEP ont été effectués directement au niveau de la buse de rejet. Des flacons en verre brun préalablement calciné à 550°C pendant 2 heures ont été utilisés pour l'échantillonnage.

Enfin, les conditions climatiques sont également similaires à celles rapportées dans le chapitre 3 avec une année 2011 sèche par rapport aux années précédentes.

IV.1.4. Paramètres supplémentaires

Comme pour l'étude menée sur le département de la Dordogne, les analyses des paramètres physico-chimiques suivants ont été réalisées parallèlement au dosage des résidus de médicaments :

- l'oxygène dissous ;
- le pH ;
- la conductivité ;
- la turbidité ;
- le carbone organique dissous (COD) ;
- les ions ammonium (NH_4^+).

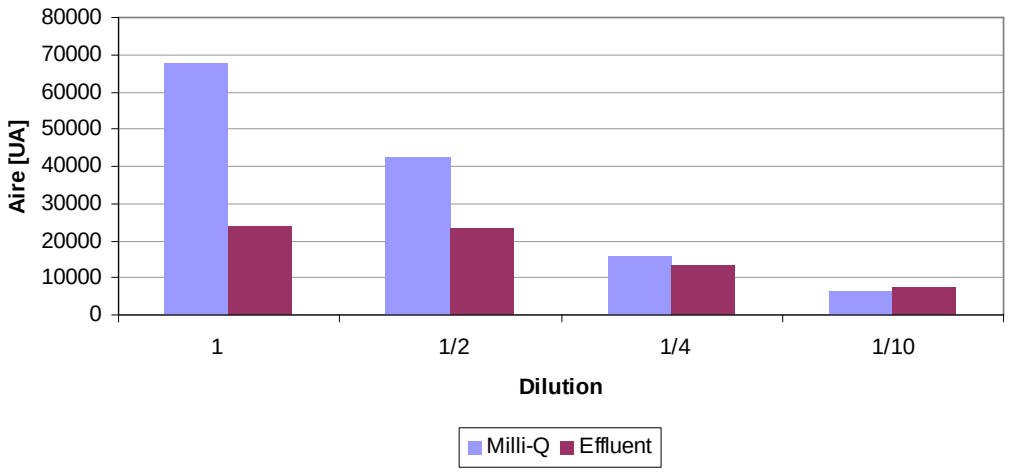
La caractérisation physico-chimique des échantillons et le suivi sur une période donnée de ces paramètres sur un même échantillon permettent d'identifier une variation de la qualité des eaux.

La mesure de ces paramètres a été réalisée selon des méthodes normées et accréditées par le Cofrac. Les valeurs obtenues durant les différentes campagnes ainsi que les limites de quantification des méthodes de dosage sont fournies en annexe 6.

IV.1.5. Analyse des eaux résiduaires

La méthode de dosage des résidus de médicaments dans les eaux résiduaires (eaux traitées) n'a pas fait l'objet d'une validation selon la NF T90-210. Une limite de quantification de 60 ng.L^{-1} a été fixée pour l'ensemble des molécules puis vérifiée dans un échantillon dopé d'eau résiduaire (sortie de STEP). Le protocole expérimental développé pour ce type de matrice comprend une voire plusieurs dilutions de l'échantillon ainsi que des ajouts de 100 ng.L^{-1} sur échantillons dilués et/ou non dilués pour contrôler les taux de recouvrement. L'avantage de la dilution ici est qu'elle permet d'atténuer l'effet de matrice comme le montre nos essais réalisés dans une eau résiduaire supplémentée à 500 ng.L^{-1} et diluée au demi, au quart et au dixième (figure IV-5).

a.



b.

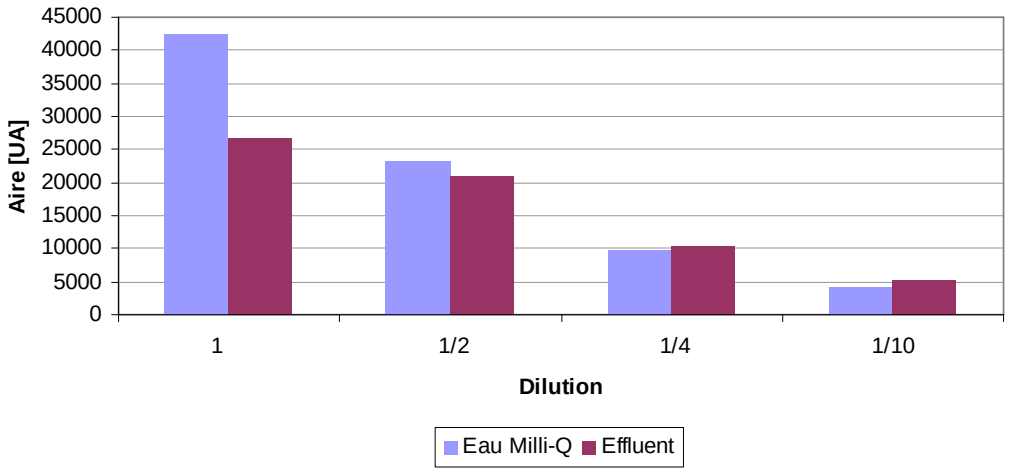


Figure IV-5 Signal obtenu suite à des dilutions au demi, au quart et au dixième pour une concentration initiale (a.) en pravastatine et (b.) en chloramphénicol de 500 ng.L^{-1} dans une eau Milli-Q et un effluent de sortie de STEP.

Enfin, l'analyse des résidus de médicaments dans les eaux résiduaires bénéficie des mêmes contrôles qualité que le protocole utilisé pour les eaux naturelles (vérification des LQ, contrôles qualité, etc.).

IV.1.6. Traitement statistique des données

Les données obtenues lors des différentes campagnes de prélèvement sont représentées au moyen de graphiques type « boîtes à moustaches ». Ces représentations graphiques permettent de mettre en évidence la médiane, les quartiles et valeurs atypiques des séries quantitatives.

Le modèle prédictif entre la concentration de carbamazépine et la concentration d'oxazépam proposé dans le chapitre 3 a été appliqué aux campagnes réalisées au niveau de l'agglomération de Périgueux afin de le tester.

IV.1.7. Calcul des flux

IV.1.7.1. L'Isle

Les débits utilisés pour le calcul des flux de résidus de médicaments dans l'Isle sont issus des stations de mesure localisées au point de prélèvement I – 1 (P7001510) et au centre de l'agglomération périgourdine (P7041510). Les deux stations hydrométriques présentes au niveau de l'agglomération périgourdine sont représentées sur la figure IV-6.

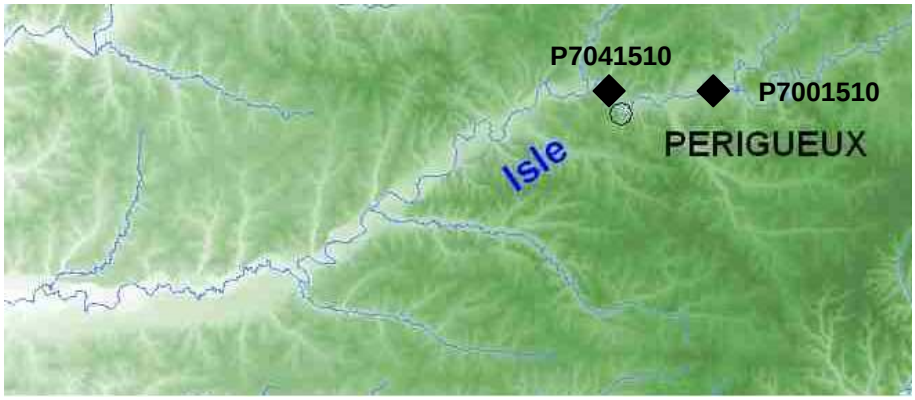


Figure IV-6 Localisation des stations hydrométriques situées sur l'Isle (entre l'amont de la confluence avec l'Auvézère et l'aval de l'agglomération de Périgueux).

Au regard des débits calculés aux différentes stations et des faibles variations observées entre elles (tableau IV-III), il a été décidé d'appliquer pour :

- les sites de prélèvements situés entre le point I – 1 (Charrieras) et la confluence avec le Manoire, les débits provenant de la station P7001510 ;
- les sites de prélèvements situés après la confluence avec le Manoire, les débits provenant de la station P7041510. Sur ce dernier point, il a été admis que les apports de la Beauronne, souvent à sec, et le Got (ruisseau de moins de 4 km de faibles débits) étaient négligeables.

Les flux ($g.j^{-1}$) ont été calculés à partir de l'équation 7 (chapitre 3) et le débit a été considéré comme homogène sur l'ensemble de la colonne d'eau.

Tableau IV-III Débits journaliers calculés le jour de l'échantillonnage aux niveaux des stations de mesure situées sur la zone de prélèvements et en aval de l'agglomération périgourdine (d'après la banque hydro France[15]).

	P7001510	P7041510
17 mars 2011	16,50 $m^3.s^{-1}$	16,40 $m^3.s^{-1}$
6 mai 2011	6,35 $m^3.s^{-1}$	7,68 $m^3.s^{-1}$
8 juin 2011	8,75 $m^3.s^{-1}$	10,70 $m^3.s^{-1}$
14 septembre 2011	5,07 $m^3.s^{-1}$	3,71 $m^3.s^{-1}$ *
29 novembre 201	5,84 $m^3.s^{-1}$	2,29 $m^3.s^{-1}$*

* valeur estimée (mesurée ou reconstituée) que le gestionnaire[16] juge incertaine

IV.1.7.2. Les stations d'épuration

Les flux de résidus de médicaments par équivalent-habitants issus des eaux traitées des STEP ont été calculés à partir de l'équation suivante :

$$\text{Flux}\,(g/j.EH) = \frac{\text{Concentration}\,(g/m^3) \times \text{Débit}\,(m^3/j)}{\text{Capacité de la STEP}\,(EH)}$$

Équation 9 – Calcul du flux en g/j.EH

La caractérisation des flux a été réalisée sur la phase dissoute en utilisant les débits moyens journaliers mesurés le jour du prélèvement (tableau IV-IV).

Tableau IV-IV Débits moyens journaliers mesurés aux STEP de Saltgourde et Trélissac.

	STEP Saltgourde	STEP Trélissac
6 mai 2011	8 163 $m^3.j^{-1}$	894 $m^3.j^{-1}$
8 juin 2011	9 164 $m^3.j^{-1}$	767 $m^3.j^{-1}$
14 septembre 2011	7 744 $m^3.j^{-1}$	843 $m^3.j^{-1}$
29 novembre 201	8 733 $m^3.j^{-1}$	862 $m^3.s^{-1}$

IV.2. Données générales sur l'ensemble des prélèvements

IV.2.1. Fréquence de détection

IV.2.1.1. L'Isle

Les résultats de cette étude sont présentés sur la figure IV-7 en fréquence de détection des molécules recherchées sur les 35 échantillons de l'Isle (hors affluents) par intervalle de concentrations. Parmi les 40 composés recherchés, 21 ont été détectés au moins à une reprise dans la zone d'étude. La figure IV-7 permet de séparer les résidus de médicaments retrouvés en trois groupes :

- les molécules détectées dans plus de 50 % des cas (oxazépam, carbamazépine, diclofénac, furosémide, paracétamol et bézafibrate) ;
- celles retrouvées entre 20 et 50 % des cas (ibuprofène, aténolol, clarithromycine et sulfaméthoxazole) ;
- et celles détectées dans moins de 20 % des échantillons.

[15] Les débits instantanés issus de la banque hydro France sont calculés grâce à une courbe de tarage.
[16] Le gestionnaire est la direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement (DREAL).

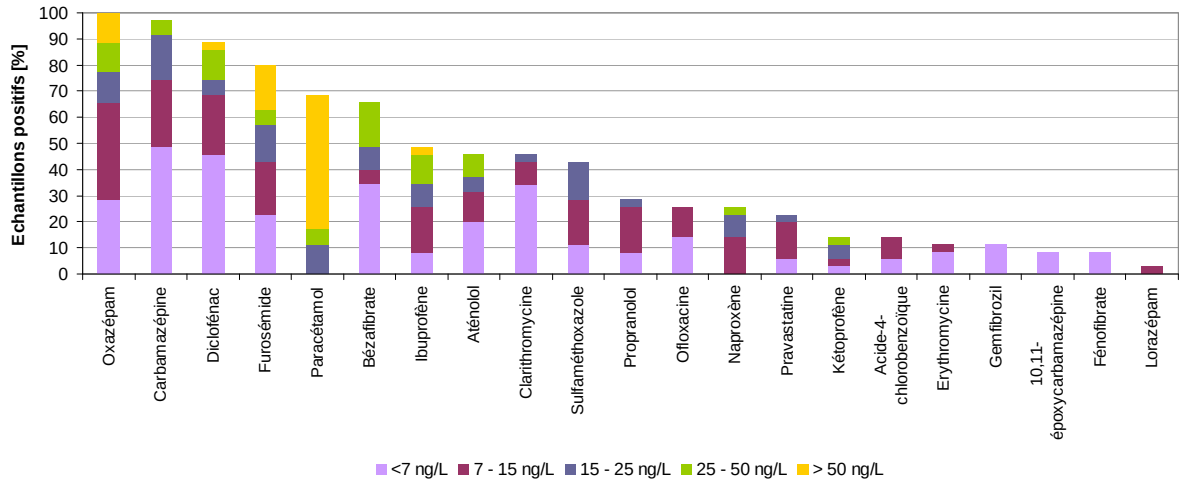


Figure IV-7 Fréquence de détection des molécules recherchées dans les eaux de surface lors des campagnes de mesure réalisées au niveau de l'agglomération périgourdine. La concentration minimale (7 ng.L^{-1}) correspond à la plus haute limite de détection (hors paracétamol qui a une limite de détection de 16 ng.L^{-1}).

Les campagnes de mesure réalisées sur l'ensemble du département de la Dordogne (chapitre 3) révèlent un nombre de molécules détectées assez similaire (20 molécules). Néanmoins, quelques différences sont notables au niveau des fréquences et des composés retrouvés. A titre d'exemple, le gemfibrozil (11,4 %) et le fénofibrate (8,6 %) ont été détectés lors de cette étude alors qu'ils n'avaient pas été retrouvés dans les échantillons provenant des ressources en eau du département de la Dordogne. D'autres molécules comme l'ofloxacine, le naproxène et la pravastatine ont été plus fréquemment détectées lors des campagnes ciblées sur l'agglomération périgourdine. Ces différences peuvent s'expliquer par la présence de deux stations de mesure à proximité du rejet de la plus grande station d'épuration du département (< 3 km) contrairement au plan d'échantillonnage du département de la Dordogne. Ainsi, ces observations peuvent traduire une éventuelle instabilité de ces composés dans la phase dissoute (sorption, dégradations abiotique et biotique).

IV.2.1.2. Les stations d'épuration

Les figures IV-8 et IV-9 présentent la fréquence de détection des intervalles de concentrations mesurées dans les effluents des STEP de Saltgourde et Trélissac respectivement. L'analyse des eaux traitées de Saltgourde a permis de mettre en évidence la présence de 29 molécules dont 24 détectées dans tous les échantillons (n = 4) tandis que pour la STEP de Trélissac 22 molécules sur les 28 détectés ont été retrouvées sur l'ensemble des prélèvements (n = 4). Ces composés sont quantifiés à des concentrations élevées, supérieures au µg.L^{-1} pour neuf molécules. Ce résultat est en accord avec le fait que l'introduction de ces composés dans le milieu naturel implique les rejets de STEP. Aussi, parmi les molécules retrouvées, seules celles présentes à des concentrations supérieures à 100 ng.L^{-1} sont détectées dans le milieu récepteur (excepté la ranitidine). La majorité des molécules retrouvées dans les effluents de Saltgourde sont également celles détectées à Trélissac. Toutefois, il est intéressant de noter que le paracétamol n'a été détecté que dans les eaux traitées de la station de Saltgourde (fréquence de 100 %), alors qu'il est présent dans l'Isle entre les deux STEP.

Les molécules retrouvées sont réparties sur l'ensemble des classes pharmacologiques recherchées pour ces travaux à l'exception des hormones (progestérone et testostérone). Parmi les familles de composés identifiées, certaines sont moins documentées que d'autres. Par

exemple, le nombre d'articles faisant état de la présence des anti-inflammatoires non stéroïdiens dans les rejets de stations d'épuration est élevé tandis que la recherche d'anxiolytiques est plus disparate. Calisto *et al.* (2009) mettent en avant le manque de connaissance concernant ce type de médicaments alors qu'ils sont très largement prescrits dans le monde. Sur les cinq anxiolytiques recherchés, nos travaux ont montré la présence de l'ensemble des benzodiazépines dont une, l'oxazépam, qui a été retrouvée dans l'Isle.

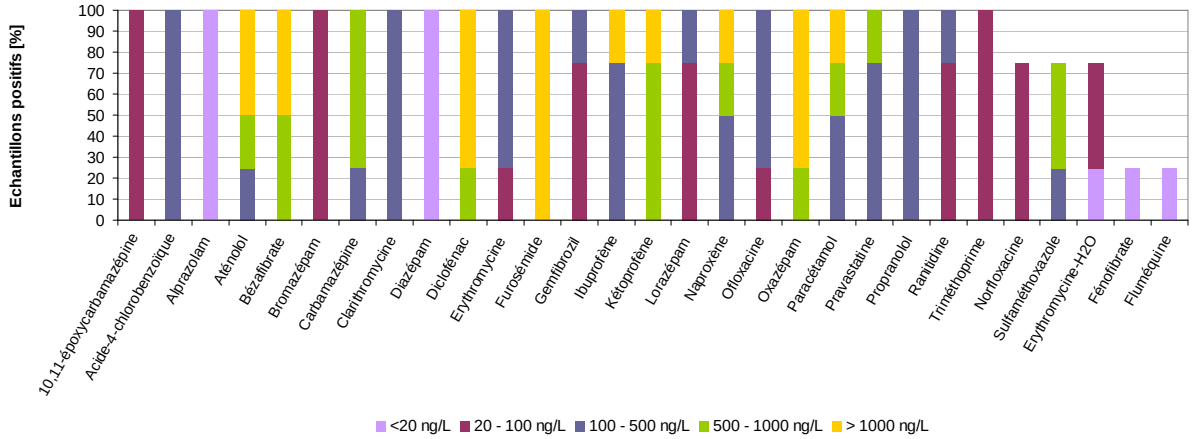


Figure IV-8 Fréquence de détection des molécules recherchées dans les eaux résiduaires traitées de la station d'épuration de Saltgourde. La concentration minimale (20 ng.L^{-1}) correspond à la limite de détection qui a été fixée pour l'ensemble des molécules. Toutefois, les molécules détectées à des concentrations inférieures à 20 ng.L^{-1} avec des critères d'acceptation valides (chapitre 3) ont également été prises en compte.

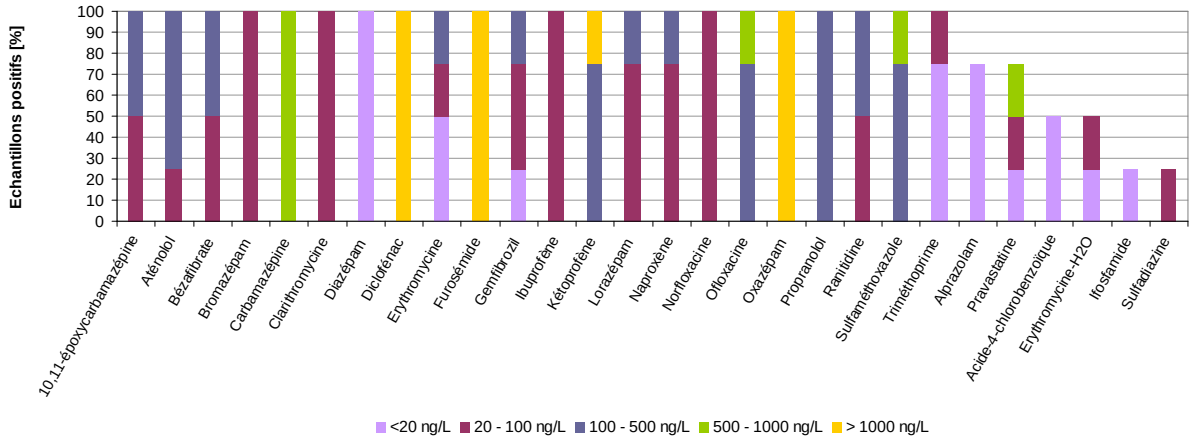


Figure IV-9 Fréquence de détection des molécules recherchées dans les eaux résiduaires traitées de la station d'épuration de Trélissac. La concentration minimale (20 ng.L^{-1}) correspond à la limite de détection qui a été fixée pour l'ensemble des molécules. Toutefois, les molécules détectées à des concentrations inférieures à 20 ng.L^{-1} avec des critères d'acceptation valides (chapitre 3) ont également été prises en compte.

IV.2.2. Classes pharmacologiques

IV.2.2.1. L'Isle

Les données issues des campagnes de mesure de l'Isle ont été représentées sur des figures de type « boîtes à moustaches » (figure IV-10). Les résidus de médicaments les plus fréquemment détectés ont été regroupés par classe pharmacologique.

Les valeurs médianes de certaines classes sont proches de 10 ng.L^{-1} excepté pour les antibiotiques, les béta-bloquants et les hypolipidémiants où les valeurs médianes sont inférieures à 5 ng.L^{-1}. Le fort contraste entre le 3^{e} quartile et la médiane s'explique par la présence importante d'échantillons peu contaminés par les résidus de médicaments. La dispersion des concentrations mesurées est plus conséquente pour les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Elle s'explique par le nombre plus important de résidus appartenant à cette classe mais également par le fait que certains composés n'ont été détectés qu'à proximité directe (environ 300 m) du rejet de la STEP de Saltgourde. Plusieurs valeurs atypiques sont présentes selon les différentes classes pharmacologiques retrouvées dans l'Isle. Elles correspondent principalement aux échantillons prélevées entre le centre de l'agglomération de Périgueux et l'amont de la STEP de Saltgourde. Enfin, les concentrations les plus élevées n'excèdent pas 150 ng.L^{-1} (hors analgésique).

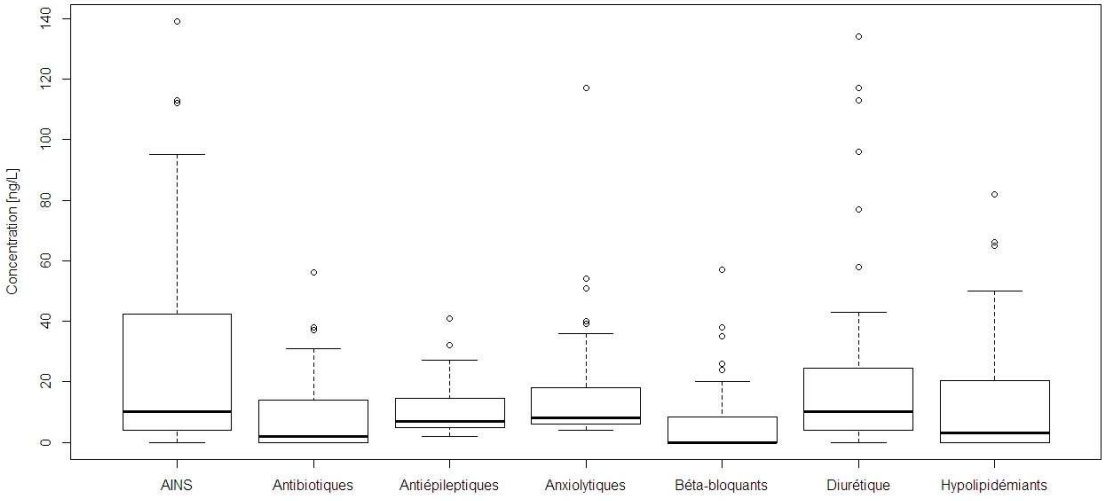


Figure IV-10 Concentrations (ng.L^{-1}) des classes pharmacologiques les plus fréquemment retrouvées dans l'Isle (n = 35).

Le paracétamol (seul analgésique) a été représenté séparément dans un souci de clarté (figure IV-11). La médiane de l'ensemble des teneurs est de 56 ng.L^{-1} avec une concentration n'excédant pas 150 ng.L^{-1} dans la majorité des échantillons. Toutefois, la représentation graphique révèle la présence de quatre valeurs atypiques comprises entre 500 et 2 000 ng.L^{-1}. Ces valeurs particulières ont majoritairement été mesurées en aval de la STEP de Saltgourde à l'exception d'une concentration qui a été relevée en amont de cette STEP. Ce dernier point s'explique aisément par une déviation des effluents de la STEP de Saltgourde survenue à la suite d'un problème technique (*by-pass*) et dont le rejet est situé en amont.

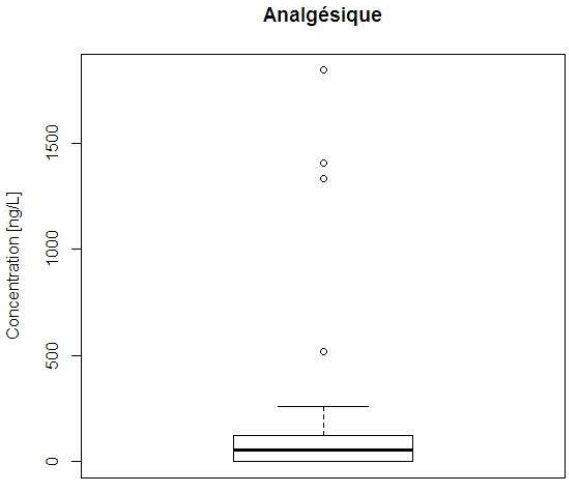


Figure IV-11 Concentrations (ng.L^{-1}) du paracétamol (analgésique) dans l'Isle (n = 35).

IV.2.2.2. Les stations d'épuration

Les concentrations des classes pharmacologiques mesurées dans les effluents de sortie de la STEP de Saltgourde sont représentées sur les figures IV-12 et IV-13. Les médianes des AINS et du diurétique (furosémide) sont les plus élevées avec des valeurs comprises entre 2 500 et 3 000 ng.L^{-1}. Pour les autres classes, les médianes vont de 700 à 1 700 ng.L^{-1} sauf pour l'analgésique (461 ng.L^{-1}). Enfin, de fortes dispersions sont observées uniquement pour les antibiotiques, l'analgésique (paracétamol), les AINS et les hypolpidémiants. Cette dispersion est engendrée par les concentrations du prélèvement réalisé au mois de mai (valeurs maximales observées sur les figures IV-12 et IV-13).

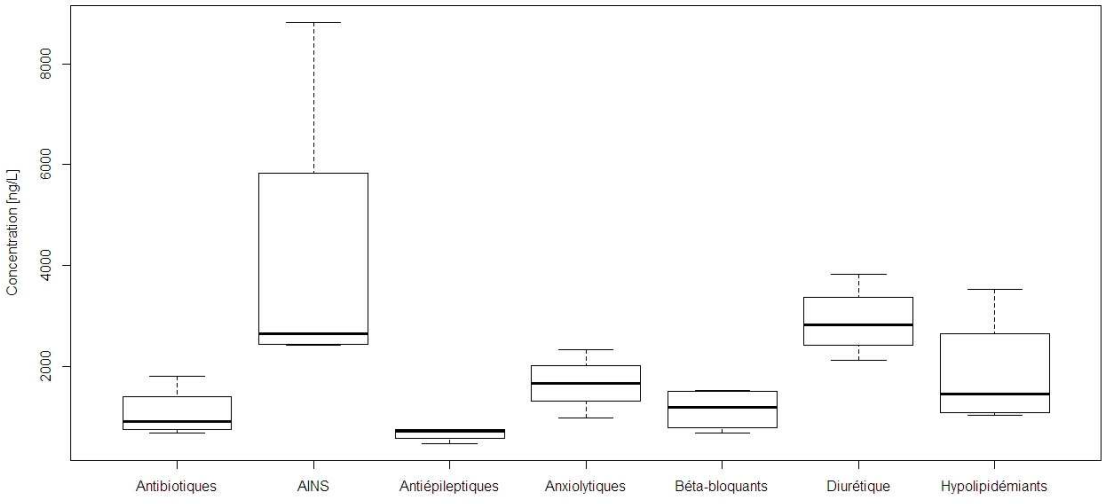


Figure IV-12 Concentrations (ng.L^{-1}) des classes pharmacologiques les plus fréquemment retrouvées dans les effluents de sortie de Saltgourde (n = 4).

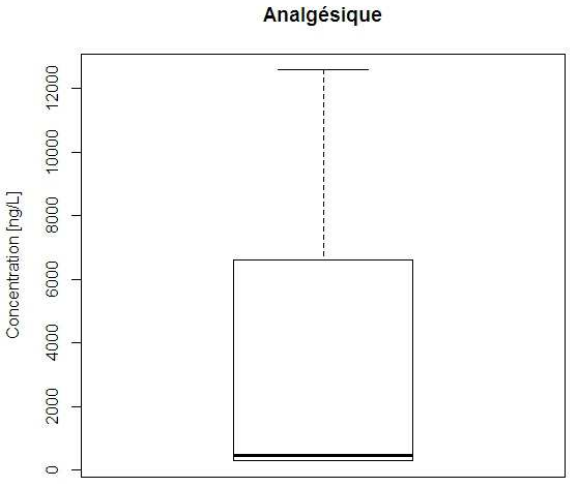


Figure IV-13 Concentrations (ng.L^{-1}) mesurées en paracétamol (analgésique) dans les effluents de sortie de Saltgourde (n = 4).

Pour les concentrations mesurées dans les effluents de sortie de la STEP de Trélissac (figure IV-14), la médiane calculée pour les antibiotiques est similaire à celle de la STEP de Saltgourde. En revanche, les concentrations des AINS et des hypolipidémiants sont plus importantes dans les effluents de sortie de Saltgourde (différence d'environ 1 µg.L^{-1} entre les médianes) tandis que le diurétique est plus concentré à Trélissac avec une différence de 611 ng.L^{-1} entre la médiane de Trélissac et celle de Saltgourde. Les capacités des STEP de Saltgourde et Trélissac peuvent, en partie, expliquer les différences observées pour certaines classes mais les filières de traitement ne sont pas similaires et l'abattement de ces molécules n'a pas fait l'objet d'une étude ce qui ne nous permet pas de conclure sur cet aspect.

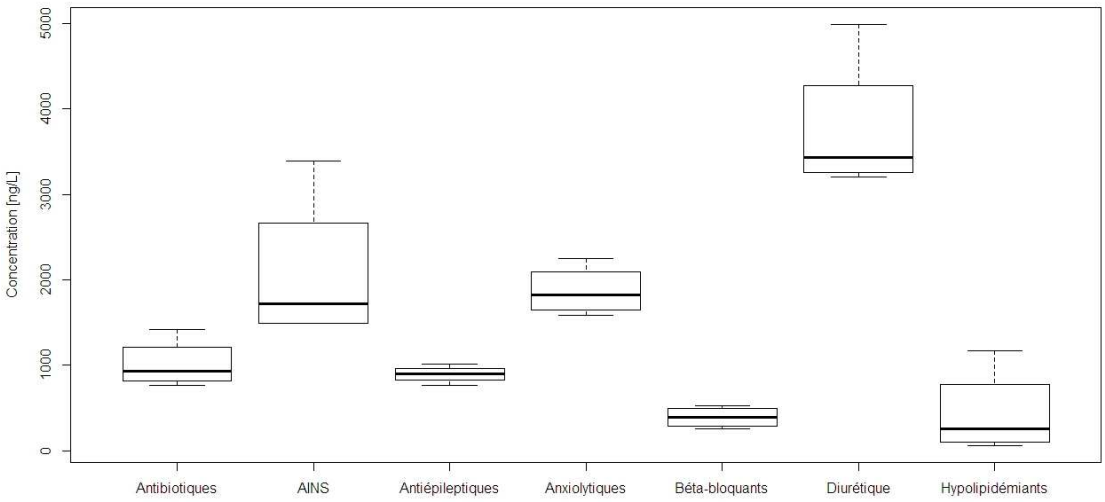
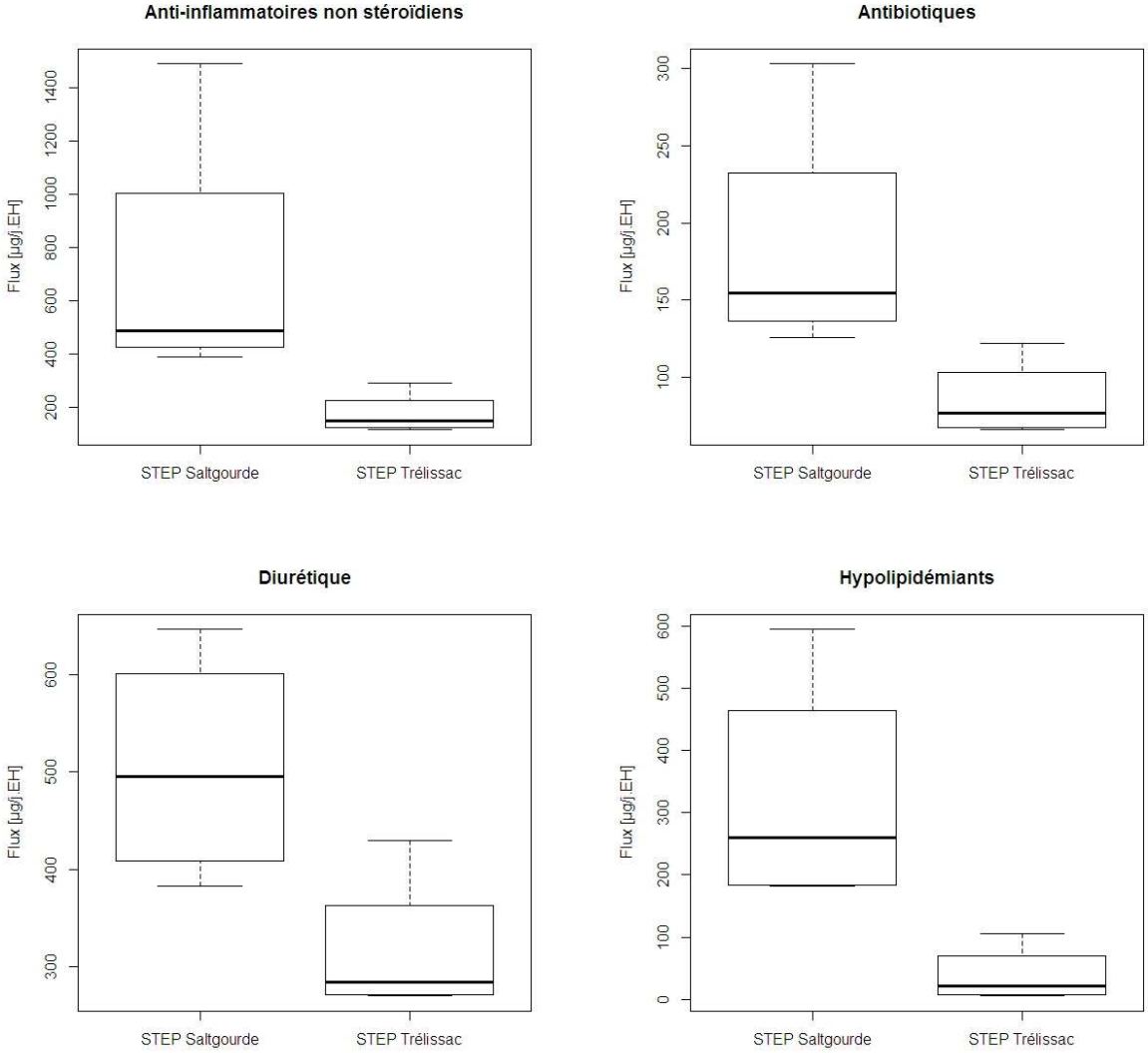


Figure IV-14 Concentrations (ng.L^{-1}) des classes pharmacologiques les plus fréquemment retrouvées dans les effluents de sortie de Trélissac (n = 4).

La figure IV-15 représente les flux des eaux traitées des stations d'épuration de Trélissac et Saltgourde par classe pharmacologique. Ces représentations graphiques mettent en évidence l'importance des apports de la STEP de Saltgourde vis-à-vis de la STEP de Trélissac. Les flux

calculés pour les deux STEP sont variables d'une molécule à l'autre. En effet, dans le cas des béta-bloquants, la médiane des flux délivrés par Saltgourde est de 200 µg/j.EH tandis que celle de Trélissac est de 32 µg/j.EH. Ces flux, ramenés en équivalents-habitants, prennent en compte les différentes capacités des deux stations.

L'analyse des eaux traitées de la STEP de Trélissac n'a pas révélé la présence de paracétamol (analgésique) au dessus de la limite de détection (20 $ng.L^{-1}$) contrairement aux effluents de Saltgourde. Toutefois, sur les quatre prélèvements réalisés, les flux n'ont pas excédés 120 µg/j.EH (médiane : 83 µg/j.EH). Ainsi, l'importante dispersion observée sur la figure IV-15 est uniquement engendrée par le flux de 2 125 µg/j.EH qui a été calculé en mai.



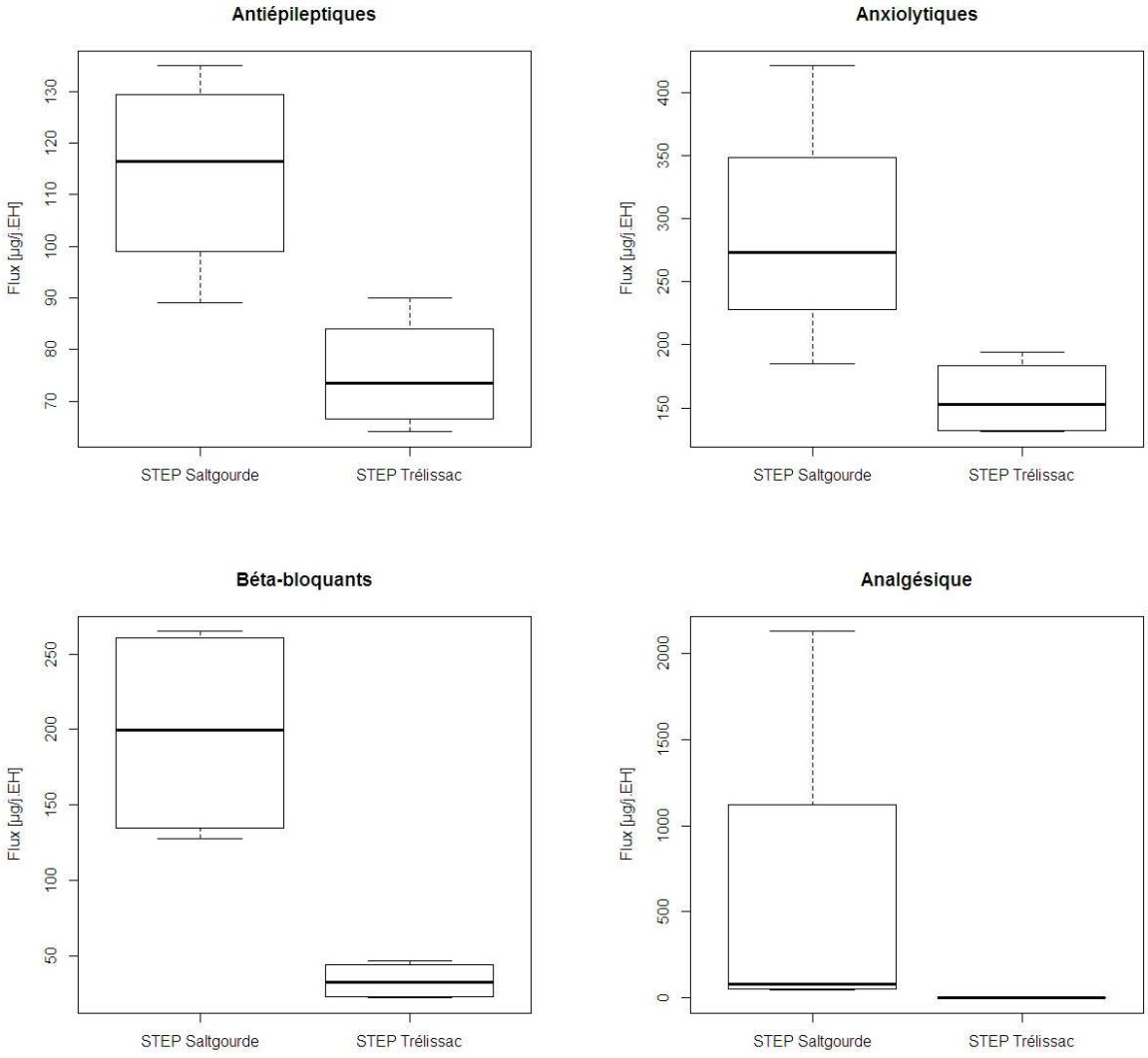


Figure IV-15 Flux (µg/j.EH) des classes pharmacologiques les plus fréquemment retrouvées dans les STEP de Saltgourde et Trélissac (n = 4 pour chaque STEP).

IV.2.3. Application du modèle linéaire

Les campagnes de mesure réalisées sur le département de la Dordogne ont permis de calculer un modèle prédictif qui relie les concentrations en carbamazépine avec celles en oxazépam dans les eaux de surface. Ce modèle a été testé sur les valeurs obtenues pour les concentrations en oxazépam supérieures à la limite de quantification (10 ng.L^{-1}). Les résultats sont regroupés dans le tableau IV-V (équation de la droite : $y = 0{,}42656\,x + 1{,}95336$, avec x : concentration en oxazépam et y : concentration en carbamazépine, $r^2 = 0{,}8727$).

Tableau IV-V Concentrations en carbamazépine prédites (ng.L^{-1}) à partir des concentrations en oxazépam mesurées dans l'Isle.

	Échantillons														
	C1	**C2**	**C3**	**C4**	**C5**	**C6**	**C7**	**C8**	**C9**	**C10**	**C11**	**C12**	**C13**	**C14**	**C15**
Oxazépam mesuré	10	14	14	17	16	51	39	40	51	109	17	19	29	36	54
Carbamazépine prédite	6	8	8	9	9	24	18	19	24	48	9	10	14	17	25
Carbamazépine mesurée	7	12	10	16	10	19	21	29	23	36	7	13	19	19	26

L'ensemble des échantillons testés propose des concentrations prédites en carbamazépine satisfaisantes. Toutefois, le nombre d'échantillons testés étant insuffisant (n = 15), ces résultats doivent être perçus comme une piste d'étude concernant l'élaboration de modèles prédictifs.

IV.2.4. Données brutes

La médiane, la moyenne, les maxima ainsi que les minima des concentrations par composé mesuré sur l'ensemble des campagnes de prélèvement (l'Isle et les STEP de Saltgourde et Trélissac) sont rassemblés dans le tableau IV-VI.

IV.2.4.1. L'Isle

Les concentrations de certaines molécules analysées sur ce tronçon de l'Isle sont comparables à celles retrouvées dans différents pays européens. Au Royaume-Uni, Kasprzyk-Horden *et al.* (2008) ont retrouvé du sulfaméthoxazole à hauteur de 4 ng.L^{-1} dans des eaux de surface tandis qu'au Luxembourg, Pailler *et al.* (2009) ont relevé une concentration maximale de 22 ng.L^{-1}.

Lors des campagnes de mesure réalisées sur l'Isle, les teneurs les plus élevées en paracétamol étaient de l'ordre du µg.L^{-1}. Des concentrations maximales similaires ont été mesurées dans des eaux de surface galloises [Kasprzyk-Horden *et al.*, 2008]. En revanche, Vulliet et Cren-Olivé (2011) ont obtenu une moyenne de 14,7 ng.L^{-1} sur l'ensemble de leurs campagnes de prélèvement (Rhône-Alpes, France) tandis qu'une moyenne de 362 ng.L^{-1} a été calculée lors de notre étude. Enfin, les concentrations de certains composés mesurés dans l'Isle comme l'ibuprofène, restent inférieures aux valeurs généralement retrouvées dans la littérature internationale [Kasprzyk-Horden *et al.,* 2008 ; Pailler *et al.*, 2009 ; Lopez-Serna *et al.*, 2010].

IV.2.4.2. Les stations d'épuration

Les concentrations présentes dans les effluents des STEP de Saltgourde et Trélissac sont variables. En considérant le cas du paracétamol, il est intéressant de noter que la médiane des concentrations mesurées dans les effluents de sortie de Saltgourde était de 461 ng.L^{-1} alors qu'il n'a pas été détecté dans les effluents de Trélissac. En comparant les résultats obtenus pour certains résidus avec ceux que Miège *et al.* (2009) ont répertorié dans une base de données regroupant plusieurs études internationales (traitement par boues activées), nous pouvons observer les trois tendances suivantes :

- La première tendance concerne des molécules retrouvées à des concentrations supérieures aux moyennes et médianes calculées par Miège *et al.* (2009). A titre d'exemple, les valeurs moyennes et médianes du diclofénac à Saltgourde et

Trélissac sont supérieures à 1 000 $ng.L^{-1}$ tandis que les moyennes et médianes calculées, sur une base de 101 données, sont de 680 et 420 $ng.L^{-1}$ respectivement.

- La seconde tendance représente les composés dont la concentration mesurée dans notre étude est inférieure à celle issue de la base de données (*e.g.* ibuprofène et naproxène).
- Enfin, la troisième tendance met en évidence des moyennes et médianes comparables à celles obtenues lors de nos travaux (*e.g.* carbamazépine et propranolol).

Les concentrations mesurées dans les effluents de la STEP de Saltgourde sont, dans certains cas, plus élevées que dans les effluents de Trélissac comme c'est le cas pour certains anti-inflammatoires non stéroïdiens (ibuprofène, kétoprofène et naproxène) et les hypolipidémiants. En revanche, le constat est plus nuancé pour les antibiotiques. La clarithromycine et le sulfaméthoxazole ont été mesurés à des concentrations plus élevées à Saltgourde tandis que pour l'ofloxacine, la médiane des valeurs de Trélissac (428 $ng.L^{-1}$) est plus importante que celle de Saltgourde (196 $ng.L^{-1}$).

Tableau IV-VI Fréquence de détection et concentrations maximales, minimales, médianes et moyennes (ng.L^{-1}) des résidus de médicaments (n = nombre de stations de mesure).

		Isle (n = 7)					STEP Saltgourde					STEP Trélissac				
		Fq. Isle (%)	min.	max.	méd.[17]	moy.[17]	Fq. STEP (%)	min.	max.	méd.	moy.	min.	max.	méd.	moy.
Analgésique	Paracétamol	68,57	nd	1843	117	362	50	286	12579	461	3447	nd	nd	-	-
Anti-inflammatoires non stéroïdiens	Diclofénac	88,57	nd	72	12	20	100	888	1413	1156	1153	1183	1948	1366	1465
	Ibuprofène	48,57	nd	59	23	26	100	156	3197	255	966	<LQ	76	63	63
	Kétoprofène	14,29	nd	27	19	20	100.	639	3020	886	1358	146	1102	259	441
	Naproxène	25,71	nd	31	27	27	100	218	1409	504	659	<LQ	297	99	155
Antibiotiques	Acide oxolinique	0	nd	nd	-	-	0	nd		-	-	nd	nd	-	-
	Chloramphénicol	0	nd	nd	-	-	0	nd		-	-	nd	nd	-	-
	Clarithromycine	45,71	nd	20	12	13	100	101	283	212	202	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Enrofloxacine	0	nd	nd	-	-	0	nd		-	-	nd	nd	-	-
	Érythromycine	11,43	nd	11	8	8	100	98	255	129	153	<LQ	116	116	116
	Érythromycine-H_2O	0	nd	nd	-	-	75	nd	<LQ	<LQ	<LQ	nd	61	61	61
	Fluméquine	0	nd	nd	-	-	12,50	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Monensin	0	nd	nd	-	-	0	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Norfloxacine	0	nd	nd	-	-	87,50	nd	73	67	67	<LQ	89	77	77
	Ofloxacine	25,71	nd	10	7	8	100	<LQ	270	196	180	410	569	428	459
	Sulfadiazine	0	nd	nd	-	-	12,50	nd	nd	-	-	nd	<LQ	-	6
	Sulfaméthazine	0	nd	nd	-	-	0	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Sulfaméthoxazole	42,86	nd	19	17	16	87,50	nd	851	513	547	214	643	331	380
	Triméthoprime	2,86	nd	nd	-	-	100	<LQ	92	75	75	<LQ	<LQ	-	-
Anticancéreux	Cyclophosphamide	0	nd	nd	-	-	0	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
	Ifosfamide	0	nd	nd	-	-	12,50	nd	nd	-	-	nd	<LQ	-	-
Antiépileptiques	*10,11époxycarbamazépine*	8,57	nd	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	75	75	75	76	126	99	100
	Carbamazépine	97,14	<LQ	36	8	12	100	416	691	640	597	687	885	806	796
Antifongique	Clotrimazole	0	nd	nd	-	-	0	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
Antihistaminique H2	Ranitidine	0	nd	nd	-	-	100	<LQ	105	96	85	<LQ	239	111	130
Anxiolytiques	Alprazolam	0	nd	nd	-	-	87,50	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	nd	<LQ	<LQ	<LQ
	Bromazépam	0	nd	nd	-	-	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

[17] La médiane et la moyenne ont été calculées à partir des concentrations supérieures à la limite de quantification.

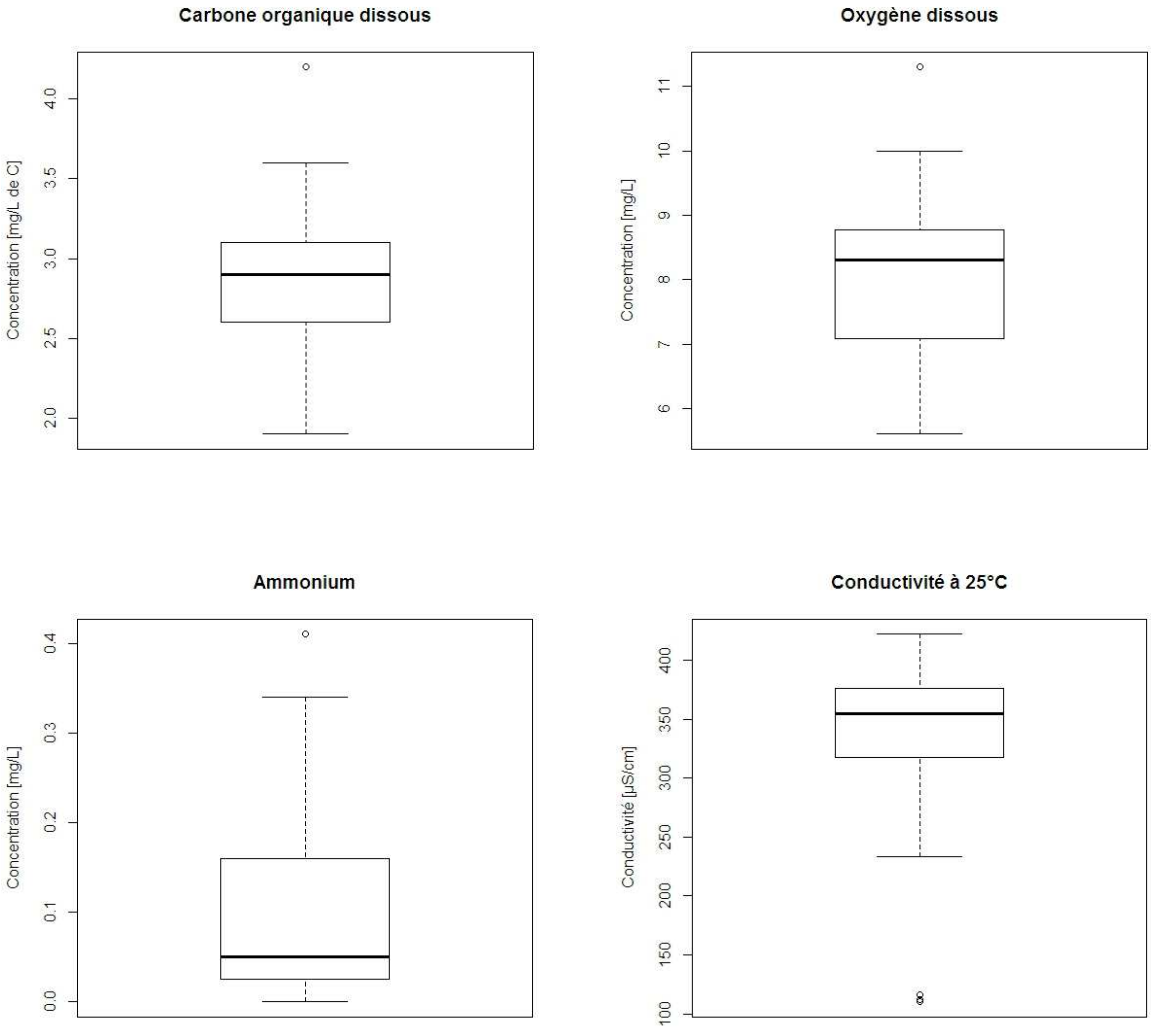
		Isle (n = 7)					STEP Saltgourde					STEP Trélissac				
		Fq. Isle (%)	min.	max.	méd.[17]	moy.[17]	Fq. STEP (%)	min.	max.	méd.	moy.	min.	max.	méd.	moy.
	Diazépam	0	nd	nd	-	-	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Lorazépam	2,86	nd	nd	-	-	100	<LQ	113	86	84	87	129	91	99
	Oxazépam	100	<LQ	109	29	34	100	896	2170	1533	1533	1456	2080	1686	1727
Béta-bloquants	Aténolol	45,71	nd	38	17	20	100	493	1147	852	836	80	228	157	156
	Propranolol	28,57	nd	18	9	10	100	181	374	325	301	140	330	240	238
Diurétique	Furosémide	80	nd	134	25	48	100	2119	3826	2821	2896	3205	4985	3431	3763
Hormones	Progestérone	0	nd	nd	-	-	0	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
stéroïdiennes	Testostérone	0	nd	nd	-	-	0	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
Hypolipidémiants	*Acide-4-chlorobenzoïque*	14,29	nd	<LQ	<LQ	<LQ	87,50	141	374	233	245	nd	<LQ	<LQ	<LQ
	Bézafibrate	65,71	nd	50	17	23	100	668	2209	943	1191	53	215	127	137
	Fénofibrate	8,57	nd	<LQ	<LQ	<LQ	12,50	nd	<LQ	<LQ	<LQ	nd	nd	-	-
	Gemfibrozil	11,43	nd	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	216	85	120	<LQ	133	83	93
	Pravastatine	22,86	nd	19			87,50	137	722	218	323	nd	944	944	944

nd : non détecté
<LQ : inférieur à la limite de quantification
Fq. : fréquence de détection

IV.2.5. Paramètres physico-chimiques

IV.2.5.1. L'Isle

La représentation graphique en boîtes à moustaches des paramètres physico-chimiques mesurés lors des campagnes sur l'Isle est présentée figure IV-16. L'analyse des valeurs du carbone organique dissous et de les ions ammonium révèlent la présence d'une valeur atypique issue de la station de mesure I – 6 (aval STEP Saltgourde au mois de mars). Les concentrations en ions ammonium les plus élevées ont été mesurées sur des échantillons prélevés aux stations I – 6 et I – 7, stations sur lesquelles les concentrations en résidus de médicaments sont les plus élevées. La conductivité relevée sur ce tronçon de l'Isle varie peu (écart interquartile de 58,5). Néanmoins, sept valeurs atypiques, inférieures à la médiane (355 $\mu S.cm^{-1}$), ont toutes été mesurées lors d'une même campagne (mars 2011), laissant supposer un problème technique. Enfin, les températures de l'eau ont peu fluctué entre les différents mois de prélèvement (médiane de 18 °C) excepté pour le mois de novembre où la température mesurée était inférieure (environ 10°C).



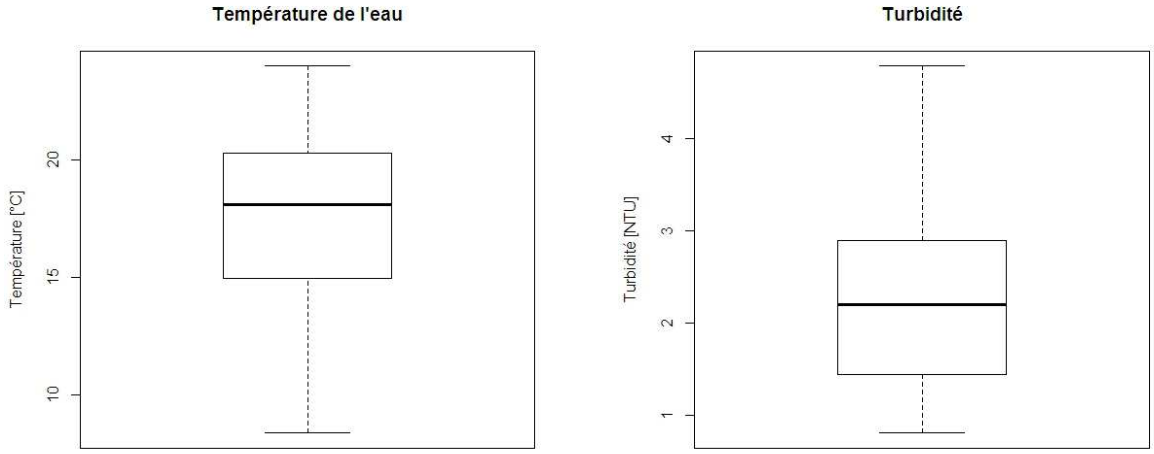
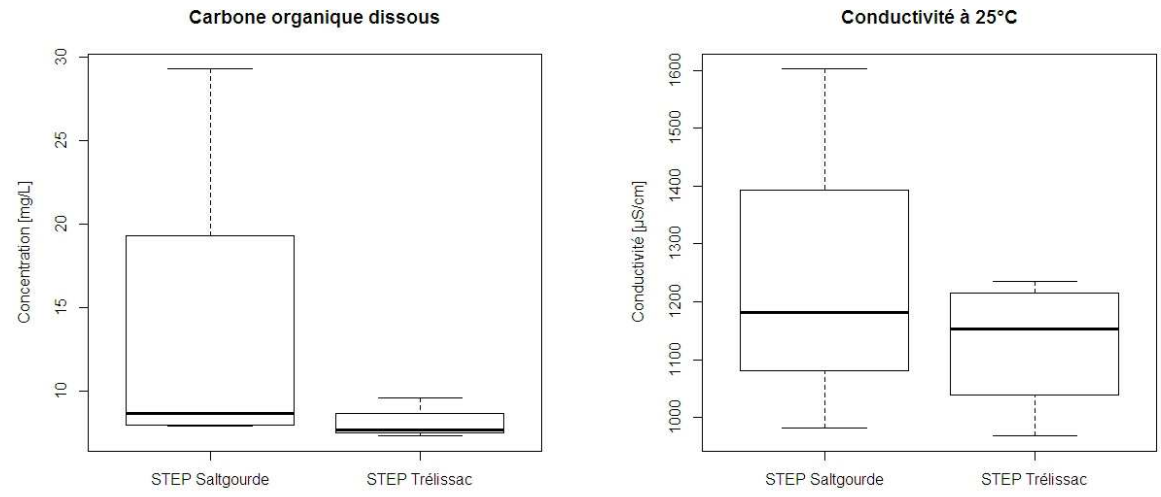


Figure IV-16 Variation des différents paramètres physico-chimiques mesurés dans l'Isle (n = 35 sauf pour le COD où n = 24). Les valeurs inférieures à la LQ ont été considérées comme étant nulles.

IV.2.5.2. Les stations d'épuration

Les paramètres physico-chimiques mesurés dans les échantillons d'eaux résiduaires de Saltgourde et Trélissac sont présentés sur la figure IV-17. D'après cette figure, les valeurs maximales du carbone organique dissous (29,3 $mg.L^{-1}$), de la turbidité (27,2 NTU) et de la conductivité (1 602 $\mu S.cm^{-1}$) sont éloignées de la valeur médiane pour la STEP de Saltgourde. Ces valeurs élevées, mesurées au mois de mai, peuvent provenir d'un problème survenu au niveau de l'épuration des eaux le jour du prélèvement.

En comparant les résultats provenant de Saltgourde avec ceux de Trélissac, les représentations graphiques révèlent une différence importante entre les valeurs médianes de l'ion ammonium. Ces résultats mettent en avant une meilleure élimination de la pollution azotée par la STEP de Trélissac.



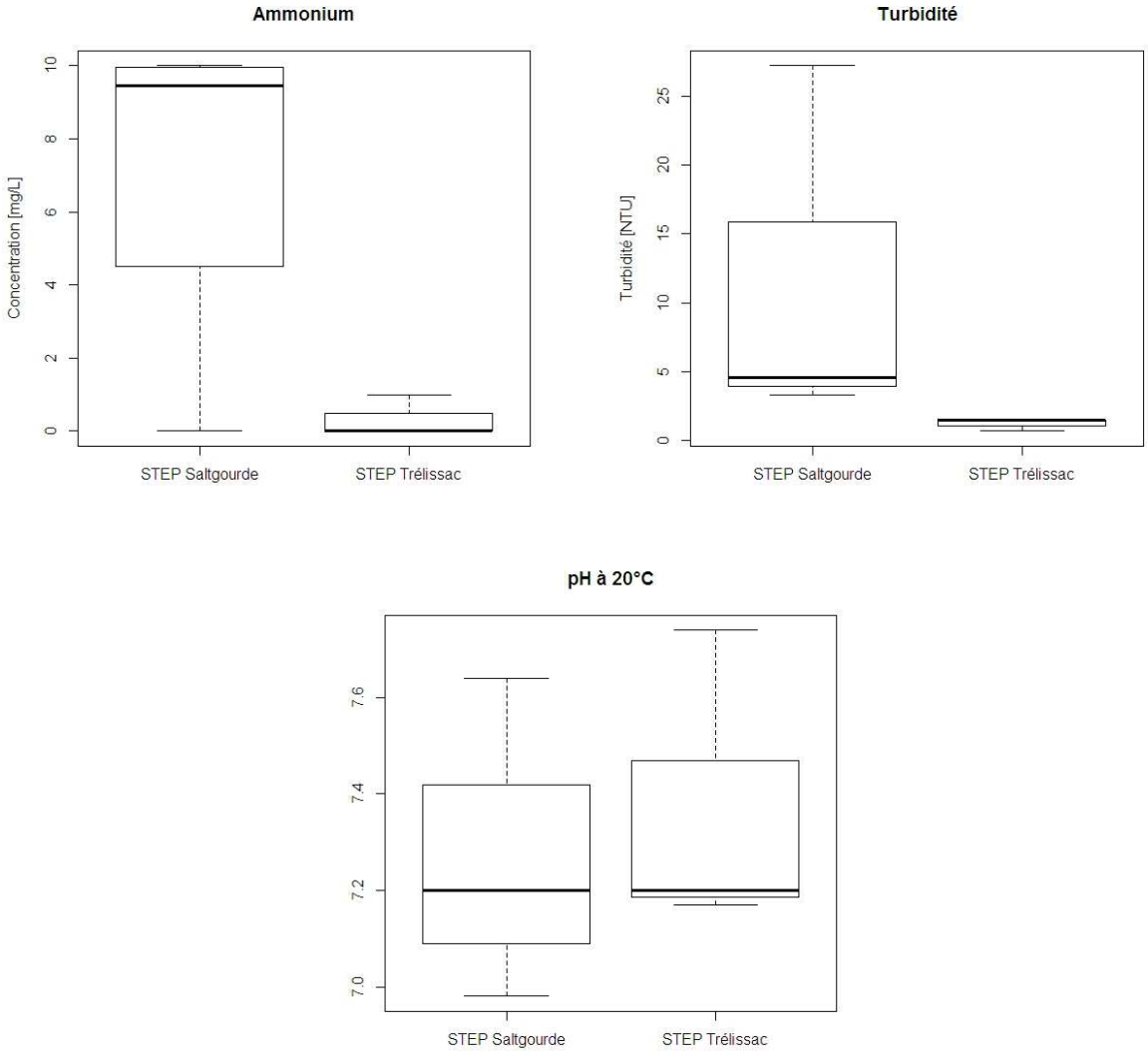


Figure IV-17 Variation des différents paramètres physico-chimiques mesurés dans les STEP de Saltgourde et Trélissac (n = 4 sauf pour la turbidité où n = 3). Les valeurs inférieures à la LQ ont été considérées comme étant nulles.

IV.3. Identification des sources d'introduction

Cette partie décrit l'apport des principales sources d'introduction présentes à Périgueux ainsi que le suivi des résidus de médicaments dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération périgourdine à sa sortie. L'expression des résultats est en $g.j^{-1}$ pour les eaux de surface (sauf affluents de l'Isle) et en g/j.EH pour les eaux résiduaires. Le remplissage hachuré présent sur les représentations graphiques des résultats correspond aux composés détectés mais non quantifiés dans la phase dissoute.

Chaque campagne de prélèvement a été réalisée le même jour de l'amont vers l'aval. Compte tenu des faibles débits et des moyens disponibles, il n'a pas été possible de suivre les masses d'eau. Le planning des prélèvements a été élaboré pour couvrir les différents débits hydrologiques (étiage et crue).

IV.3.1. Caractérisation de l'Isle

IV.3.1.1. Suivi longitudinal

Sept stations de prélèvements situées sur l'Isle ont été suivies entre mars et novembre 2011 (figure IV-18). Ces points sont répartis entre l'entrée et la sortie de l'agglomération de manière à encadrer les zones d'introduction déjà identifiées que sont les stations d'épuration de Trélissac et Saltgourde. La figure IV-19 représente les flux de résidus de médicaments (hors paracétamol) calculés sur l'ensemble des stations de mesure pour chaque campagne. La tendance globale indique clairement le rôle conséquent que joue la STEP de Saltgourde (entre I – 5 et I – 6) dans l'introduction des résidus de médicaments dans l'Isle. De plus, en amont de la STEP les contributions des autres intrants identifiés restent faibles par rapport à Saltgourde. La station d'épuration située le plus en aval de l'agglomération étoffe la diversité des classes pharmacologiques retrouvées dans le milieu naturel. Dans la partie amont de Périgueux, la figure IV-19 indique que les molécules les plus fréquemment quantifiées sont la carbamazépine et le diclofénac. Néanmoins, les apports sont relativement faibles puisqu'au mois de mars l'apport total de la phase dissoute au point I – 1 a été de 27 $g.j^{-1}$ alors que celui observé à la station I – 6 a été de 600 $g.j^{-1}$.

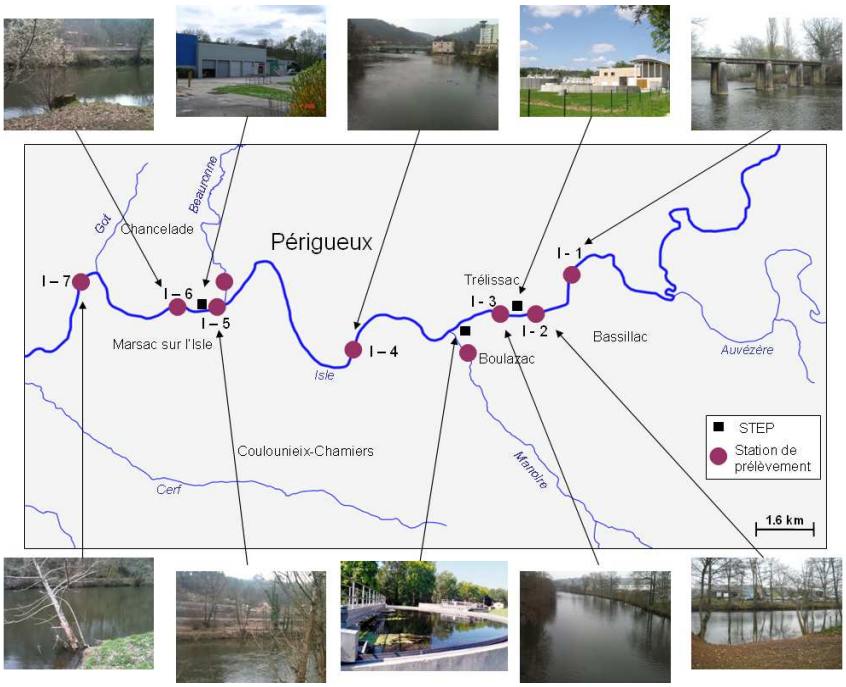


Figure IV-18 Sites d'échantillonnage.

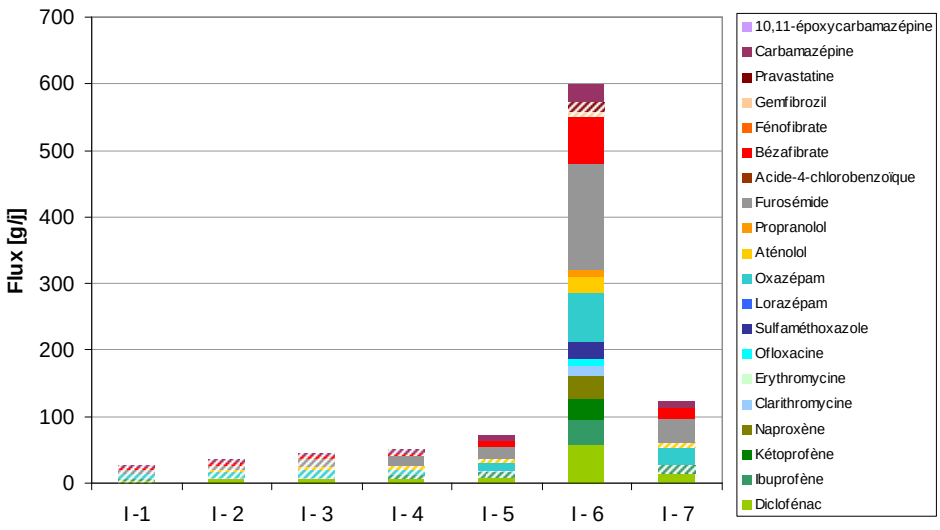
Au mois de juin (figure IV-19c), le profil des résidus de médicaments sur ce tronçon de l'Isle est différent puisqu'une voie d'introduction supplémentaire apparaît entre les stations I – 4 et I – 5. Cet intrant a été identifié comme étant le déversoir d'orage de Coutras (localisé entre I – 4 et I – 5) grâce à une communication avec l'exploitant de la STEP de Saltgourde. En effet, le jour du prélèvement, une partie des effluents non traités de cette STEP a du être déviée puis rejetée par le biais du déversoir de Coutras suite à un problème technique.

Les apports cumulés calculés au mois de mars à la station I – 6 (600 $g.j^{-1}$) sont plus importants que ceux observés pour les autres mois de l'étude. Il est intéressant de noter que pour cette même date de prélèvement, des valeurs élevées pour les ions ammonium et pour la turbidité ont été relevées avec une concentration en ions ammonium de 0,41 $mg.L^{-1}$ et une turbidité de 4,79 NTU.

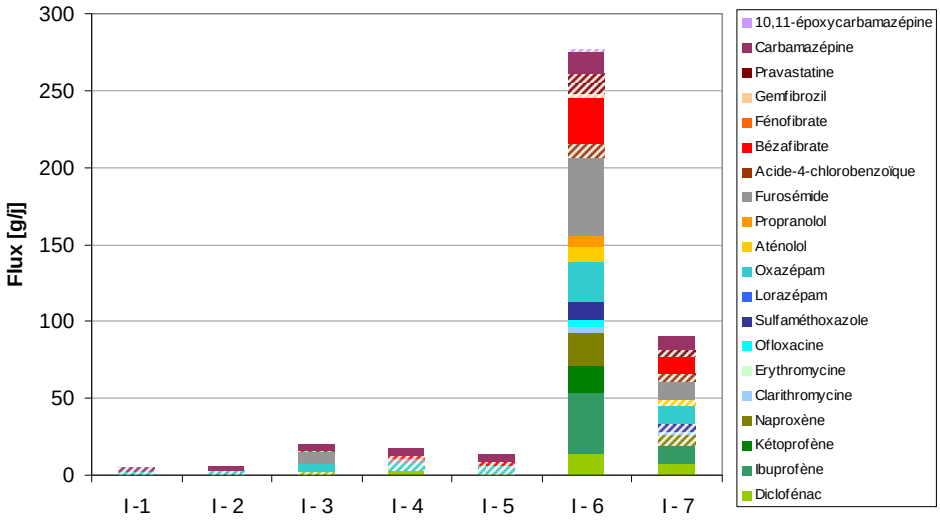
Ces différents profils mettent en évidence le rôle important que joue la STEP de Saltgourde dans la dissémination des résidus de médicaments dans l'Isle. Ainsi, certaines

molécules comme le sulfaméthoxazole, le naproxène ou le kétoptofène, non présentes en amont de l'agglomération, sont introduites par le rejet de cette STEP. Toutefois, le suivi permet également de constater une atténuation des flux cumulés à la station I – 7, située à la sortie de l'agglomération périgourdine. Sur cette faible portion de l'Isle (environ 4 km), au mois de mai, par exemple, le flux de carbamazépine est passé de 14 $g.j^{-1}$ à 9 $g.j^{-1}$ entre ces deux points tandis que le flux de furosémide, composé moins stable [Isodori *et al.*, 2006 et références citées dans cet article : Bundgaard *et al.*, 1988 ; Zanocco *et al.*, 1998 ; DellaGreca *et al.*, 2004], était de 51 $g.j^{-1}$ au point I – 6 et de 12 $g.j^{-1}$ au point I – 7. De plus, entre ces deux stations, l'abattement d'une campagne à l'autre peut également être très différent ce qui laisse suggérer une variabilité des capacités d'auto-épuration du cours d'eau. Enfin, il est important de préciser que ce constat doit être pris avec un certain recul puisque les prélèvements n'ont pas été réalisés sur les mêmes masses d'eau ce qui peut générer quelques disparités au niveau des résultats même si le prélèvement a été effectué de l'amont vers l'aval.

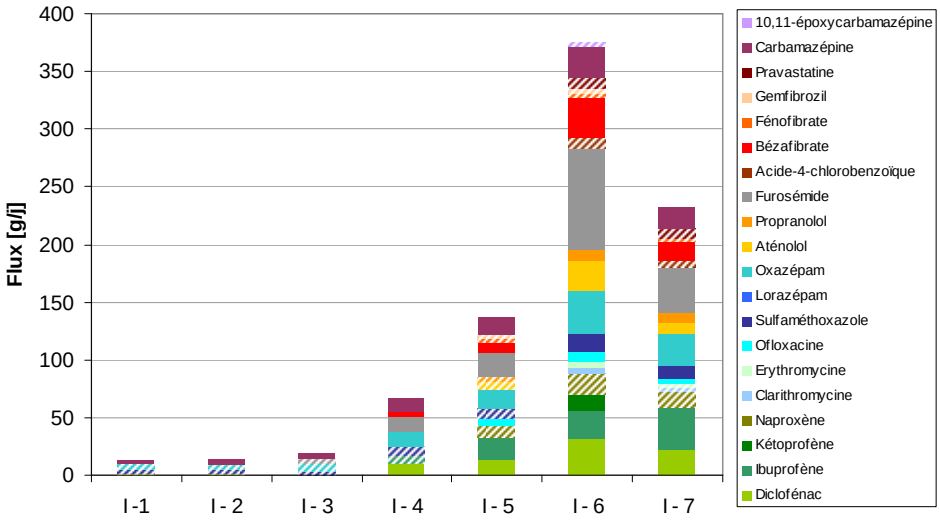
a.



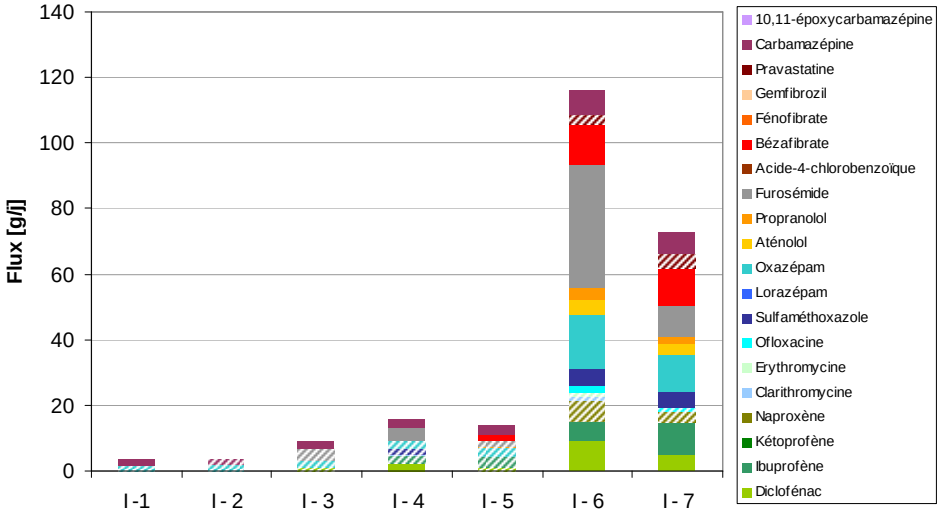
b.



c.



d.



e.

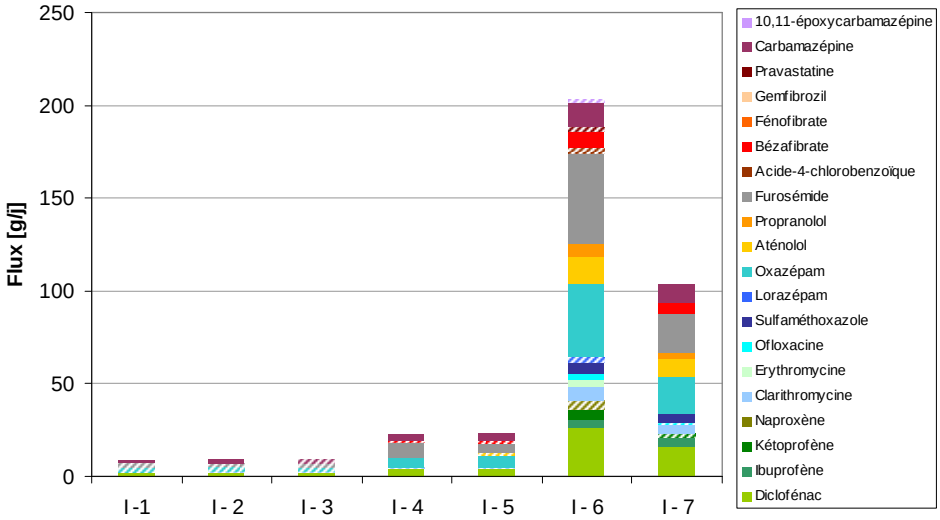


Figure IV-19 Suivi longitudinal des flux de résidus de médicaments (hors paracétamol) présents dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de (a.) mars, (b.) mai, (c.) juin, (d.) septembre et (e.) novembre. La STEP de Trélissac se situe entre les stations de mesure I – 2 et I – 3, celle de Boulazac entre I – 3 et I – 4 et celle de Saltgourde entre I – 5 et I – 6.

IV.3.1.2. Focus sur le paracétamol et la carbamazépine

Un focus du suivi longitudinal des flux et des concentrations en paracétamol et carbamazépine obtenus suite aux différentes campagnes est présenté figures IV-20, IV-21, IV-22 et IV-23. Le choix de ces molécules n'est pas anodin puisque ces composés représentent deux comportements extrêmes. En effet, le paracétamol est une molécule référencée comme étant aisément éliminée par les STEP [Benotti et Brownawell, 2007 ; Behara *et al.*, 2011] tandis que la carbamazépine est une molécule réfractaire aux traitements et persistante dans le milieu naturel [Clara *et al.*, 2004]. Un récapitulatif de leurs propriétés physico-chimiques et de leurs comportements dans les systèmes épuratoires est présenté dans le tableau IV-VII.

Tableau IV-VII Caractéristiques physico-chimiques et abattement moyen du paracétamol et de la carbamazépine (références citées dans le tableau I-III et II-II).

	MM ($g.mol^{-1}$)	pK_a à 25°C	Log K_{ow}	S dans l'eau à 25°C ($mg.L^{-1}$)	Abattement moyen
Paracétamol	151,17	9,38	0,46	14000	91 – 99 %
Carbamazépine	236,28	13,9	2,45	17,7	7 – 37 %

D'après la figure IV-20, les profils longitudinaux des flux de paracétamol diffèrent de ceux observés pour les autres résidus de médicaments. Au mois de juin, l'apport en paracétamol a fortement augmenté puisque le flux dépasse les 1 000 $g.j^{-1}$ alors que les autres mois, il n'a jamais dépassé les 300 $g.j^{-1}$. Cette constatation s'explique par la déviation des effluents de Saltgourde rejetés entre les stations I – 4 et I – 5. Il est également intéressant de noter la présence d'une source d'introduction non identifiée entre I – 4 et I – 5 (mars) car le flux de paracétamol est similaire à celui calculé après le rejet de la STEP de Saltgourde. Un constat semblable est réalisé entre I – 6 et I – 7 au mois de juin et septembre. Les variations de flux de paracétamol étant plus importantes que celles des autres résidus de médicaments, il est plus aisé de déceler des sources d'introduction de rejets non traité d'origine anthropique.

Enfin, les concentrations en paracétamol (figure IV-21) peuvent être très supérieures à celles déjà mesurées pour les autres résidus sur ce tronçon de l'Isle comme cela a été le cas au mois de juin où les concentrations pouvaient dépasser le $\mu g.L^{-1}$.

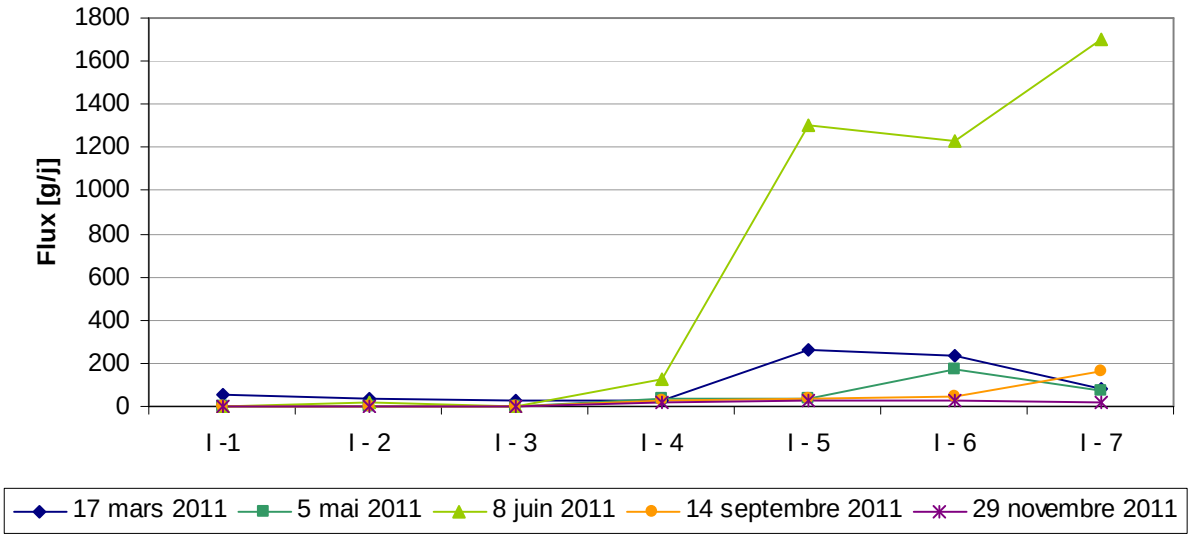


Figure IV-20 Suivi longitudinal du flux de paracétamol ($g.j^{-1}$) présent dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de mars, mai, juin, septembre et novembre 2011.

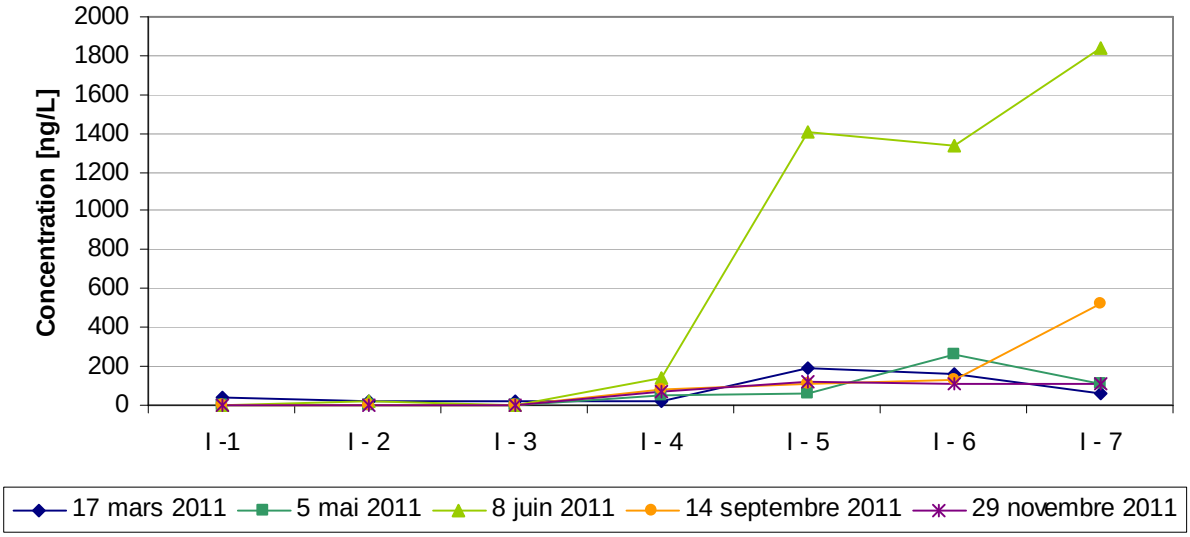


Figure IV-21 Suivi longitudinal de la concentration en paracétamol (ng.L^{-1}) dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de mars, mai, juin, septembre et novembre 2011.

Les profils longitudinaux des mois de mars, mai, septembre et novembre de la carbamazépine (figure IV-22) révèle une tendance similaire aux autres résidus avec un apport qui augmente progressivement après la STEP de Trélissac puis un maximum qui est atteint après le rejet de la STEP de Saltgourde. Contrairement au cas du paracétamol, l'impact de l'épisode de déviation des effluents survenu au mois de juin est moins important pour la carbamazépine. En effet, à la station I – 6, le flux du mois de juin n'excède pas celui du mois de mars malgré l'introduction d'effluents en amont de Saltgourde.

Pour les concentrations (figure IV-23), la carbamazépine est quantifiée en entrée d'agglomération à des valeurs proches de la LQ (5 ng.L^{-1}). Les concentrations les plus élevées ont été mesurées en aval de la STEP de Saltgourde (I – 6) avec des concentrations pouvant atteindre 35 ng.L^{-1}.

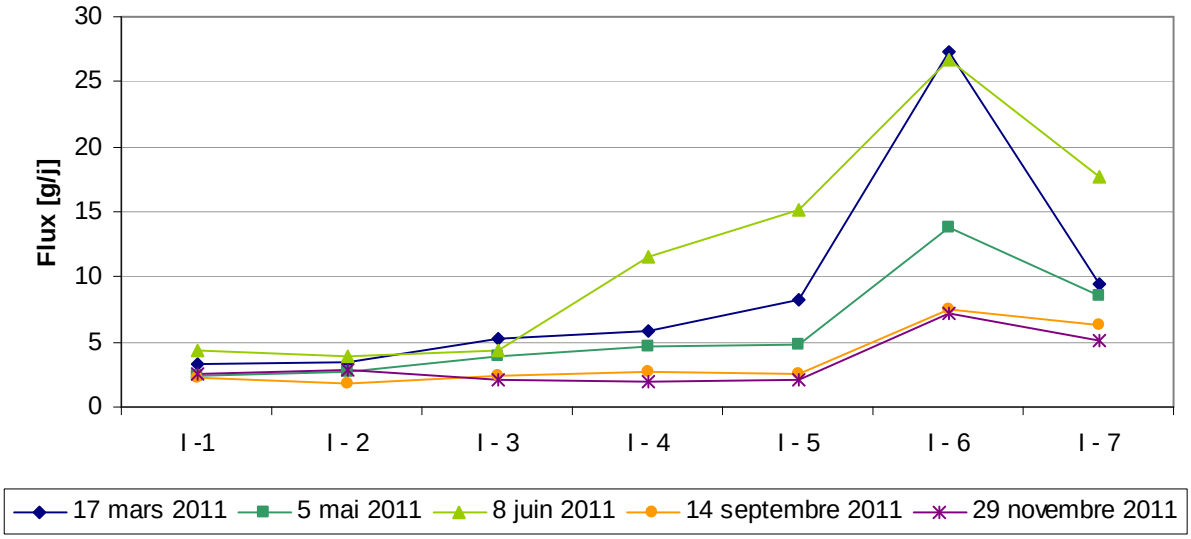


Figure IV-22 Suivi longitudinal du flux de carbamazépine (g.j^{-1}) présent dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de mars, mai, juin, septembre et novembre 2011.

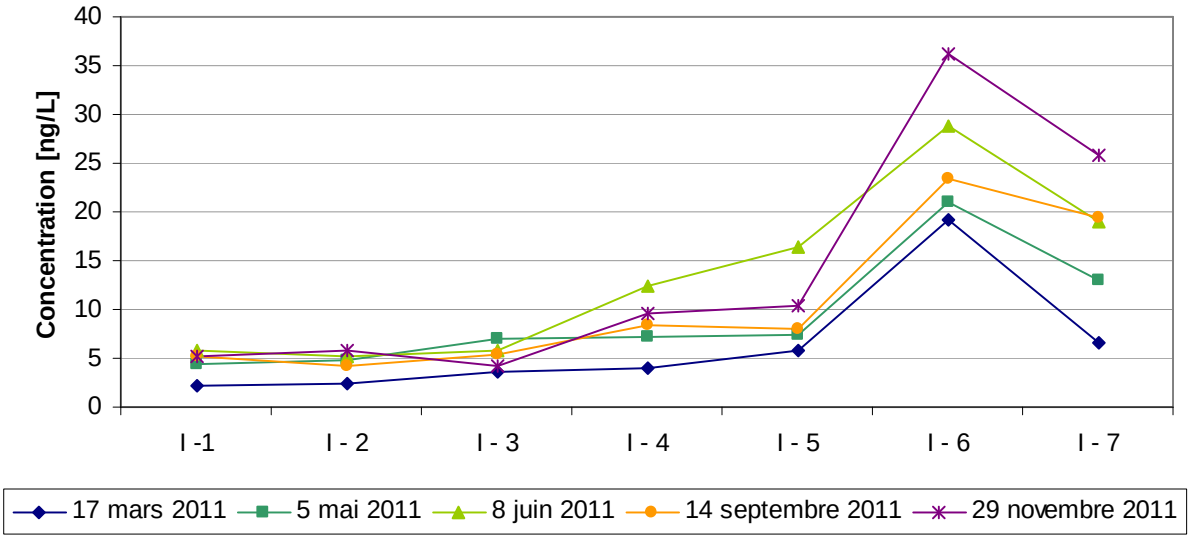


Figure IV-23 Suivi longitudinal de la concentration en carbamazépine (ng.L^{-1}) dans l'Isle de l'entrée de l'agglomération (I – 1) à sa sortie (I – 7) pour les mois de mars, mai, juin, septembre et novembre 2011.

Le suivi des flux de carbamazépine et de paracétamol sur une zone ciblée de l'agglomération périgourdine ont permis de mettre en évidence les trois points suivants :

- la station d'épuration de Saltgourde est la principale voie de dissémination des résidus de médicaments provenant de Périgueux et ses communes voisines ;
- l'existence de sources d'introduction supplémentaires identifiées (déversoir de Coutras) ou non grâce à la présence de paracétamol, signe d'un rejet d'eaux usées non traitées par des filières de traitements secondaires ;
- les flux journaliers de paracétamol les plus conséquents ont atteint le kg.j^{-1} ce qui correspond à plus de 1 000 comprimés par jour pour un dosage de 1 g. Pour la carbamazépine et en considérant un comprimé dosé à 200 mg, il faut compter environ 100 comprimés pour le flux journalier le plus élevé.

IV.3.1.3. Variation saisonnière

La comparaison des flux observés sur l'ensemble des campagnes de prélèvement de la station I – 7 (écluse de la Roche) est présentée sur la figure IV-24. Cette station de mesure a été choisie car elle est prend en compte l'apport en résidus de médicaments de l'agglomération périgourdine ainsi que les affluents situés sur la zone d'étude.

Excepté pour le mois de juin, les flux cumulés de résidus de médicaments sont compris entre 55 g.j^{-1} et 125 g.j^{-1}. Les molécules retrouvées au cours des cinq mois de campagne sont sensiblement identiques. Aucune tendance remarquable ne se dessine à partir de ces résultats. Les flux des molécules détectées varient peu d'une campagne à l'autre. Pour la carbamazépine, les résultats sont compris entre 9 et 5 g.j^{-1} tandis que pour le diclofénac, le maximum est observé au mois de mars (16 g.j^{-1}) et le minimum au mois de novembre (9 g.j^{-1}). Enfin, pour des molécules comme les antibiotiques, les concentrations mesurées, proches des limites de détection, n'ont fait l'objet d'aucune interprétation car les flux étaient trop faibles.

L'étude de la variation des flux liée aux saisons peut mettre en évidence certains phénomènes en relation aves les habitudes de prescription, par exemple. Néanmoins, pour ce type d'approche, le prélèvement ponctuel ne semble pas être approprié puisque le résultat obtenu correspond à l'état du cours d'eau à un instant précis. De ce fait, si une pollution ponctuelle « inhabituelle » intervient au cours des campagnes de prélèvement, cela peut rendre

l'interprétation des résultats plus complexe. Ainsi, dans le but de faire émerger une tendance générale et répondre à ce genre de problématique, l'utilisation d'échantillonneurs intégratifs pourrait être une alternative intéressante.

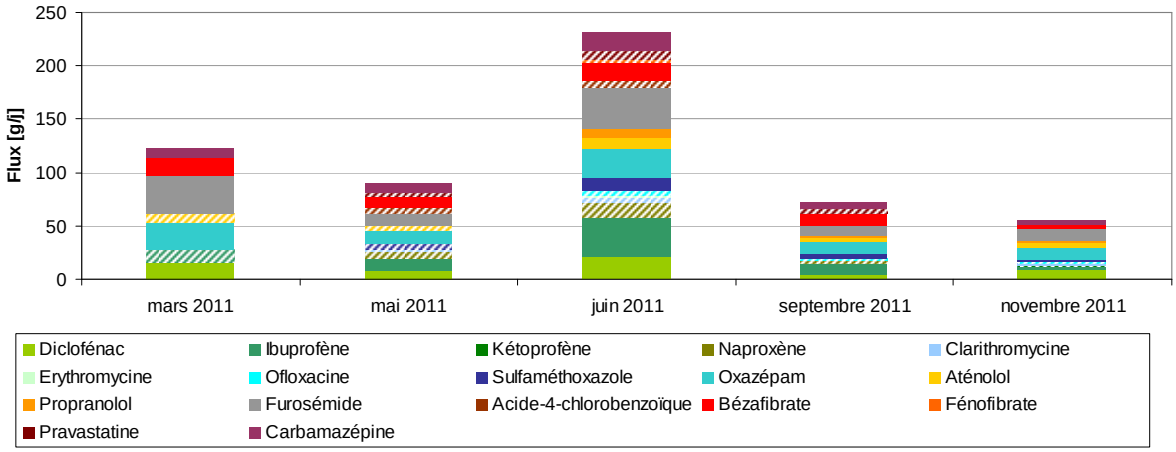


Figure IV-24 Variation saisonnière (flux en g.j^{-1}) observée en 2011 au niveau de la station I – 7 située à la sortie de la zone urbaine de périgueux.

Les concentrations cumulées en résidus de médicaments (hors paracétamol) mesurées à la station I – 7 (figure IV-25) montrent des concentrations comprises entre 80 et 150 ng.L^{-1} pour les mois de mars et mai et des concentrations comprises entre 200 et 300 ng.L^{-1} pour les mois de juin, septembre et novembre. Les valeurs plus faibles mesurées en mars et mai peuvent, en partie, s'expliquer par une dilution plus importante dans l'Isle avec des débits supérieurs à 7 m^3.s^{-1}. Au mois de juin, le débit calculé était supérieur à 10 m^3.s^{-1} mais le by-pass a pu contribuer aux fortes teneurs présentes le jour du prélèvement. Enfin, les concentrations cumulées des mois de septembre et novembre sont comparables (226 et 281 ng.L^{-1}) avec, toutefois, des concentrations en résidus de médicaments plus importantes lors du prélèvement de novembre (diclofénac, oxazépam, aténolol, furosémide, etc.).

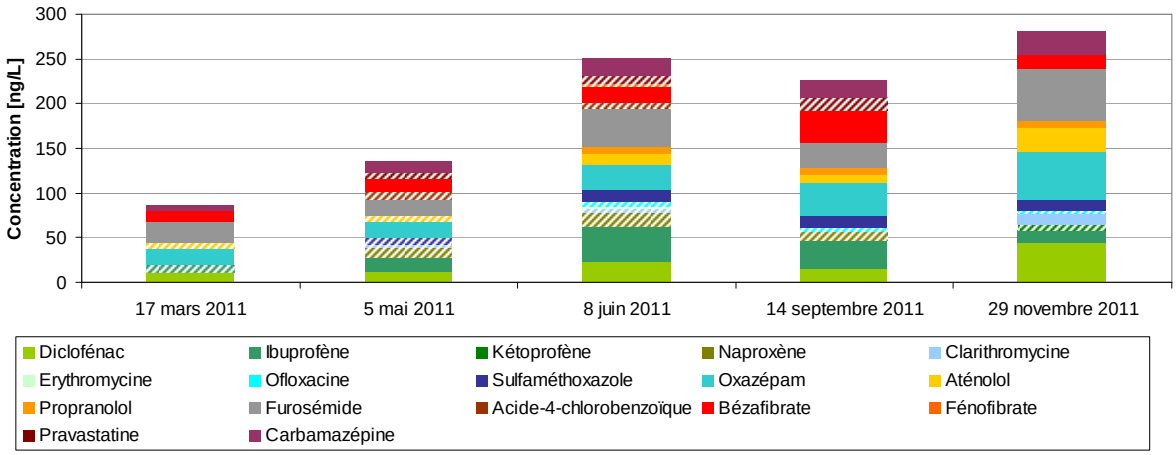


Figure IV-25 Variation des concentrations (ng.L^{-1}) mesurées en 2011 au niveau de la station I – 7 située à la sortie de la zone urbaine de périgueux.

IV.3.2. Caractérisation des affluents

La figure IV-26 présente les concentrations de résidus de médicaments obtenues lors de l'étude du Manoire et de la Beauronne, deux des trois affluents de l'Isle situés sur la zone d'étude.

Le Got, troisième affluent, n'a pas fait l'objet d'un suivi car aucune pression et aucun établissement remarquable sont présents à proximité de ce ruisseau. L'échantillonnage de la Beauronne n'a pu être réalisé qu'à une seule reprise car ce cours d'eau a régulièrement été à sec en 2011.

Les niveaux de concentrations cumulées du Manoire sont peu élevés (< 30 $ng.L^{-1}$) à l'exception du mois de novembre où une concentration de 107 $ng.L^{-1}$ en ibuprofène a été mesurée au Manoire. Ainsi, la part du Manoire dans la contamination de l'Isle par les résidus de médicaments est faible. La STEP de Saltgourde est donc la principale source d'introduction identifiée des résidus de médicaments dans l'Isle au niveau de l'agglomération périgourdine.

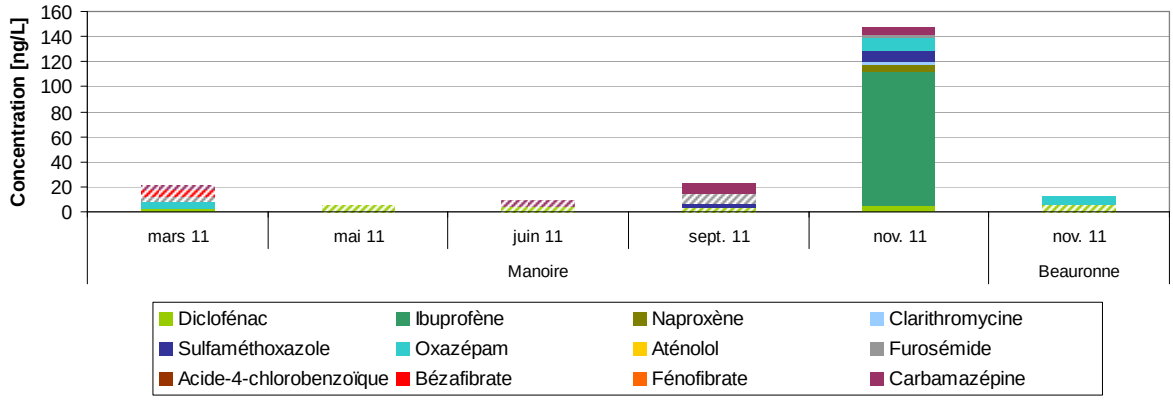


Figure IV-26 Concentrations des résidus de médicaments mesurées dans deux affluents de l'Isle en 2011.

IV.3.3. Caractérisation des eaux résiduaires traitées

Le détail des flux de résidus de médicaments calculés suite aux prélèvements réalisés en mai, juin, septembre et novembre 2011 est présenté sur les figures IV-27, IV-28 et IV-29 pour la STEP de Saltgourde et Trélissac, respectivement.

Les flux cumulés calculés à la sortie de Saltgourde sont similaires pour les mois de juin (1 897 µg/j.EH), septembre (1 698 µg/j.EH) et novembre (2 063 µg/j.EH). Une différence notable est cependant constatée pour le mois de mai avec une valeur de 3 707 µg/j.EH. Ce type de profil est également observé sur la figure IV-28 représentant le flux de paracétamol. En effet, une valeur de 2 125 µg/j.EH est observée au mois de mai alors qu'elle est inférieure à 150 µg/j.EH les autres mois. Enfin, il est intéressant de préciser que des valeurs supérieures à la médiane calculée sur les quatre mois (« IV.2.5 Paramètres physico-chimiques » et tableau IV-VIII) ont été observées en mai pour la conductivité, la turbidité et le carbone organique dissous, paramètre directement lié à l'efficacité du traitement de la STEP.

Tableau IV-VIII Paramètres physico-chimiques mesurés dans les effluents de la STEP de Saltgourde.

	Conductivité à 25°C (µS.cm^{-1})	Turbidité (NTU)	COD (mg.L^{-1})
5 mai 2011	1602	27,2	29,3
8 juin 2011	982	4,6	9,3
14 septembre 2011	1180	nm*	7,9
29 novembre 2011	1185	3,3	8

*nm : non mesuré

En terme d'efficacité et en considérant le cas de la carbamazépine, les flux calculés au cours des quatre campagnes de prélèvement sont relativement stables (entre 79 et 125 µg/j.EH). En revanche, pour le paracétamol, le kétoprofène ou l'ibuprofène, par exemple, les flux de sortie diminuent de manière significative entre le mois de mai et les mois de juin, septembre et novembre. A titre d'exemple, le flux de l'ibuprofène calculé au mois de mai était de 540 µg/j.EH tandis que ceux des autres mois étaient inférieurs à 50 µg/j.EH. En excluant les variations liées à la consommation, cette différence s'explique par un dysfonctionnement de la STEP de Saltgourde (*by-pass*) survenu le jour du prélèvement et qui a entraîné une épuration des eaux moins efficace qu'à l'accoutumée. Dans ce cas présent, la déviation est intervenue au niveau des filières de traitement de Saltgourde (bio-filtration) ce qui diffère du cas observé dans la partie « IV.3.1.2. Focus sur le paracétamol et la carbamazépine » au mois de juin où le rejet d'eaux brutes provenait du réseau d'assainissement de l'agglomération de Périgueux (déversoir d'orage de Coutras situé en amont de la STEP de Saltgourde).

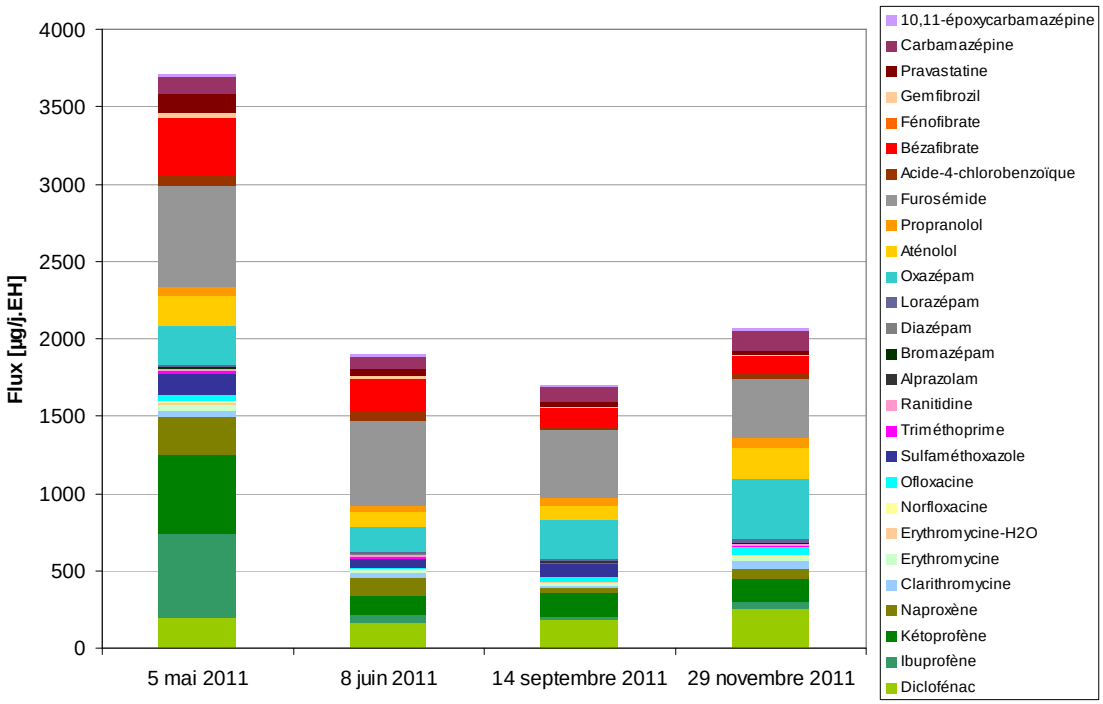


Figure IV-27 Flux cumulés de résidus de médicaments (µg/j.EH) dans les effluents de la station d'épuration de Saltgourde (hors paracétamol).

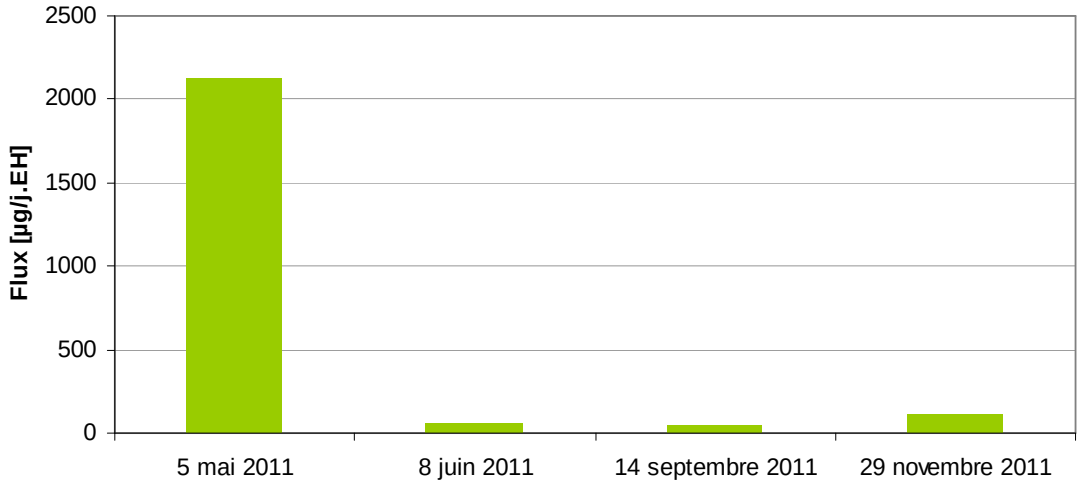


Figure IV-28 Flux de paracétamol (µg/j.EH) dans les effluents de la station d'épuration de Saltgourde.

Les flux de résidus de médicaments calculés à partir des différents prélèvements des eaux résiduaires traitées de Trélissac (figure IV-29) varient de 688 à 1 212 µg/j.EH selon l'échantillon. En comparant les apports de chaque molécule en fonction des jours de prélèvement, les résultats ne mettent pas en évidence des variations drastiques d'un mois à l'autre excepté pour certains composés comme le kétoprofène où le flux du mois de novembre a été plus important que ceux des autres mois.

Parmi les résidus de médicaments détectés, les quantités journalières les plus notables proviennent du diclofénac, de l'oxazépam, de la carbamazépine et du furosémide avec des flux pouvant atteindre 370 µg/j.EH pour la molécule ayant la plus forte contribution.

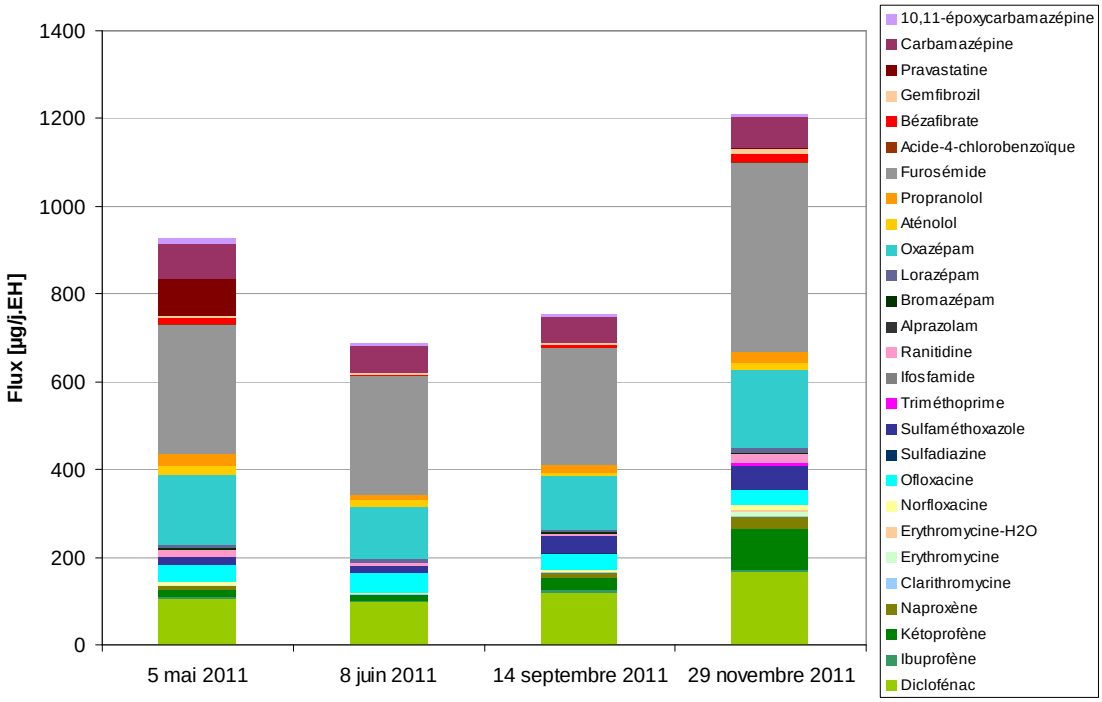


Figure IV-29 Flux cumulés de résidus de médicaments (µg/j.EH) dans les effluents de la station d'épuration de Trélissac.

Les flux journaliers par équivalent-habitants de la STEP de Saltgourde sont environ deux fois plus importants que ceux de la STEP de Trélissac sauf au mois de mai où les flux sont

environ quatre fois plus élevés. Dans l'ensemble, les mêmes molécules sont retrouvées dans les effluents de ces deux stations à l'exception du paracétamol qui n'a pas été détecté dans les eaux de Trélissac. L'un des éléments de réponses pouvant expliquer cette différence peut provenir de leurs systèmes de traitement. En effet, le traitement biologique de la STEP de Trélissac est réalisé par boue activée (bactéries libres), connue pour être efficace vis-à-vis du paracétamol, alors que celui de Saltgourde est effectué par bio-filtration (bactéries fixées). De plus, il est important de préciser que les eaux traitées par la STEP de Trélissac sont majoritairement issues d'un réseau collecteur séparatif (réseau pseudo-séparatif) tandis que celles de la STEP de Saltgourde proviennent d'un réseau collecteur unitaire (eaux résiduaires et eaux pluviales). Aussi, l'un des points noirs du réseau unitaire provient du fait qu'une partie des eaux brutes collectées est détournée par des déversoirs d'orage pour ensuite être rejetée dans le milieu naturel lors d'une surcharge du système d'assainissement.

IV.3.4. Bilan des apports

Les résultats précédents ont permis de mettre en exergue l'importance de la STEP de Saltgourde dans l'introduction des résidus de médicaments dans l'Isle. Ils ont également permis d'affirmer qu'en 2011, l'apport de résidus de médicaments provenant des affluents était négligeable par rapport aux rejets des stations urbaines.

Les figures IV-30 et IV-31 présentent la contribution des rejets urbains étudiés (Trélissac et Saltgourde) dans l'Isle vis-à-vis de la contamination en composés pharmaceutiques observée à la sortie de l'agglomération périgourdine. Néanmoins, il est important de préciser qu'il s'agit d'une image non précise de la situation puisque la variabilité des apports entre le prélèvement effectué à l'entrée de la zone urbain et la sortie n'a pas été prise en compte.

La figure IV-30 permet de visualiser la forte contribution des rejets urbains de la station de Saltgourde (entre 65 et 80 %) dans la contamination de l'Isle à l'exception du mois de juin où ses effluents ont représenté 25 % des résidus présents dans l'Isle. Cette faible contribution a été justifiée précédemment par la déviation des effluents bruts provenant du réseau d'assainissement de Périgueux (*by-pass*). Enfin, il est important de préciser que les effluents de sortie de la STEP de Boulazac (18 000 EH) n'ont pas été caractérisés lors de notre étude et ne sont pas pris en compte dans la partie « STEP ». De ce fait, l'apport de son rejet dans l'Isle est inclus dans la partie « Autres sources » de la figure IV-30.

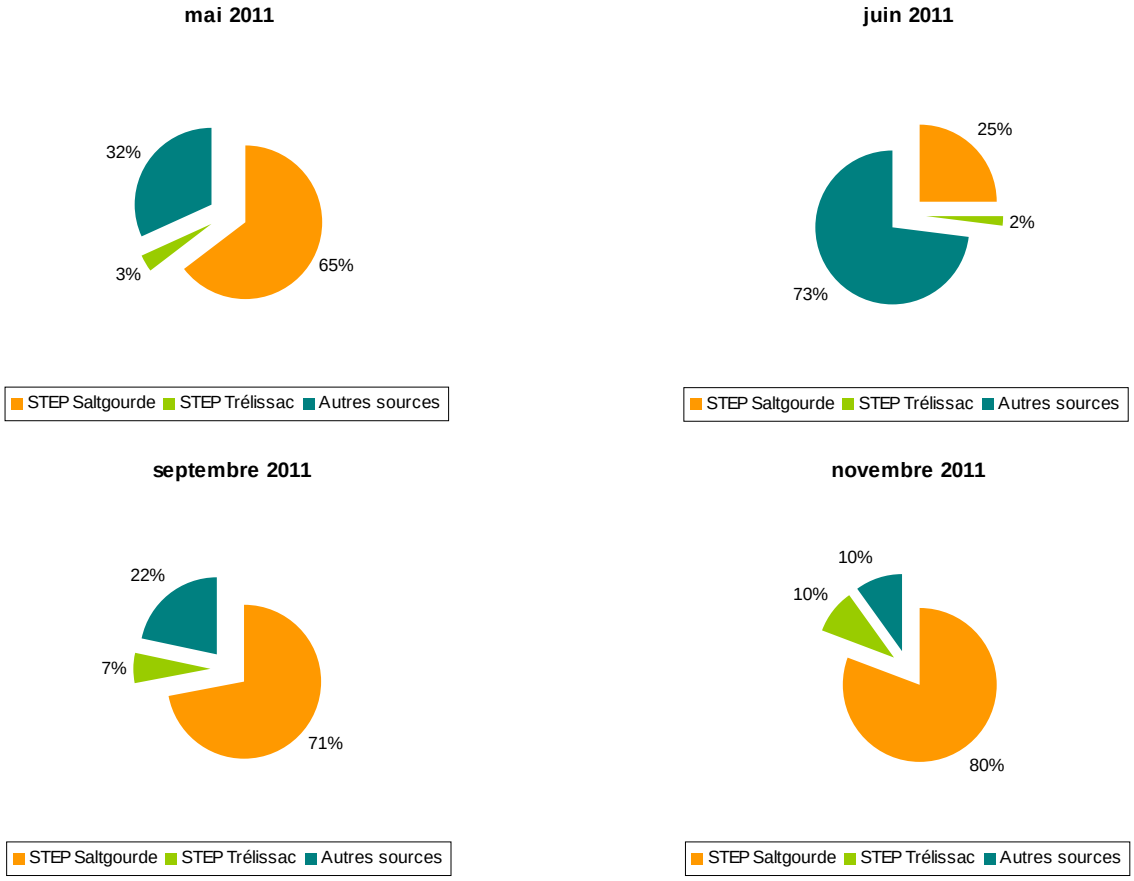


Figure IV-30 Contribution des sources d'introduction (en %) dans la contamination par les résidus de médicaments du tronçon de l'Isle étudié. Les graphiques illustrent les résultats obtenus pour l'ensemble des résidus de médicaments (hors paracétamol) obtenus au mois de mai, juin, septembre et novembre.

Pour le paracétamol (figure IV-31), la tendance observée diffère de celle des autres résidus de médicaments. A l'exception du mois de mai où l'épuration des eaux de la STEP de Saltgourde s'est avérée moins efficace que les autres mois étudiés (« IV.3.3. Caractérisation des eaux résiduaires traitées »), cette STEP se révèle ne pas être la principale voie d'introduction dans l'Isle. En effet, en prenant en considération les mois de septembre et novembre, les STEP ont représenté 5 et 24 % de la contamination en paracétamol le jour du prélèvement. Il faut également préciser que des rejets directs dans l'Isle se situent également au niveau de l'agglomération périgourdine. Parmi les différentes hypothèses pouvant être évoquées afin d'expliquer les flux de paracétamol, l'implication de voies d'introduction non maîtrisées est une piste à ne pas négliger.

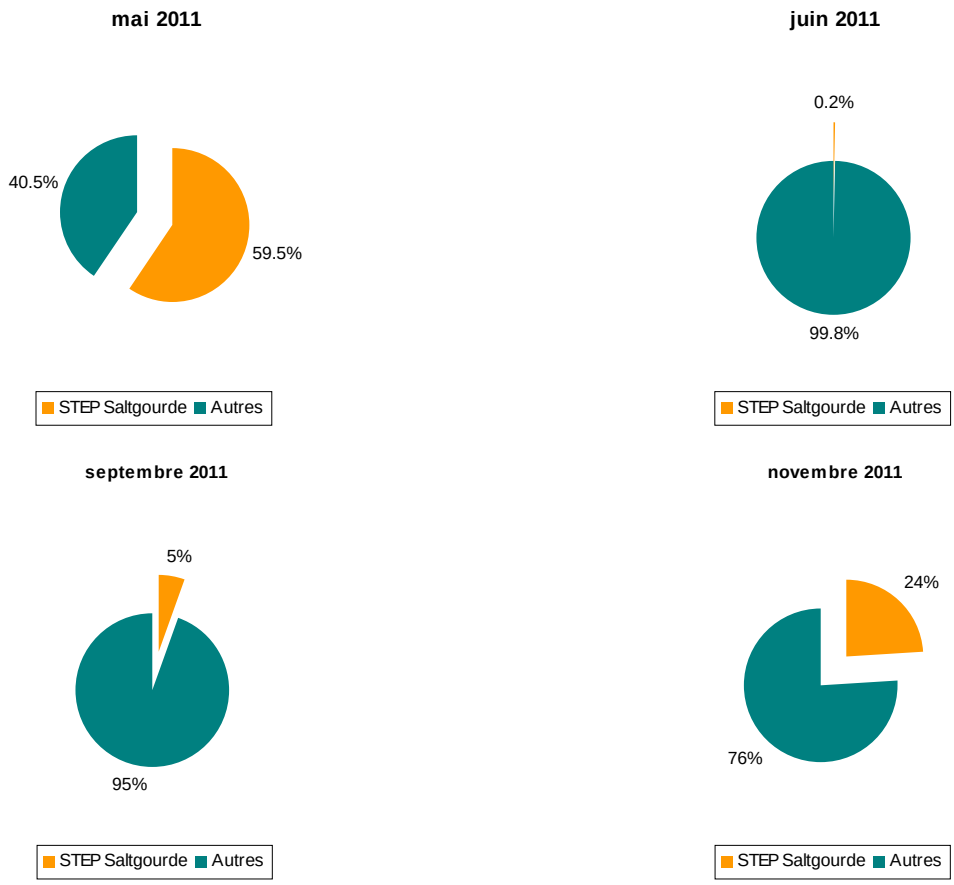


Figure IV-31 Contribution des sources d'introduction (en %) dans la contamination par le paracétamol du tronçon de l'Isle étudié. Les graphiques illustrent les résultats obtenus pour les mois de mai, juin, septembre et novembre. Le paracétamol a été quantifié uniquement dans les effluents de la STEP de Saltgourde.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les travaux réalisés au cours de ce doctorat ont été construits autour de trois objectifs majeurs. Le premier était de définir une liste de résidus de médicaments pertinents et appartenant à différentes classes pharmacologiques, ainsi que de développer une méthode analytique pour les quantifier dans le milieu aquatique à l'état d'ultra-traces. Le choix de ces résidus a été effectué selon des critères comme les consommations nationale et locale et la présence de certaines molécules dans les compartiments aquatiques (étude bibliographique). Suite à cette première étape, 40 résidus de médicaments aux propriétés variées ont été sélectionnés. Pour le dosage de ces molécules, la pré-concentration en ligne, une technique d'extraction encore peu développée dans le domaine de l'analyse des résidus de médicaments dans les matrices environnementales, a été utilisée. Ce système a permis de mettre au point une méthode de dosage par CL-SM/SM rapide et adaptée à l'analyse de routine qui ne nécessite qu'un faible volume d'échantillon (1 mL). De plus, les limites de quantification obtenues dans les eaux de surface, comprises entre 5 et 13 $ng.L^{-1}$ pour la majorité des molécules, sont très satisfaisantes pour les applications environnementales qui lui sont réservées. L'approche par étalonnage interne a été privilégiée pour la quantification des composés de manière à nous affranchir, entre autres, des effets de matrice pouvant intervenir au cours de l'analyse. Enfin, cette méthode de dosage a été validée selon le référentiel français T90-210 puis accréditée par le Cofrac.

La mise en place d'un outil analytique robuste a été une des pièces maîtresses nécessaire au bon déroulement du deuxième objectif : l'état des lieux de la contamination par les résidus de médicaments des principaux cours d'eau du département de la Dordogne. L'étude d'un territoire aussi vaste, à dominante rurale, sur une périodicité d'un an reste inédite en France. Le suivi longitudinal des différents bassins étudiés a mis en exergue la présence de zones d'introduction de résidus de médicaments situées en Dordogne mais également en Corrèze, département limitrophe à l'Est du département de Dordogne. Si les eaux superficielles du bassin de la Dronne sont peu soumises à la présence des résidus de médicaments, les bassins de l'Isle et de la Vézère sont principalement impactés par les agglomérations de Périgueux et Brive-la-Gaillarde (Corrèze) avec des concentrations totales en résidus pouvant dépasser 200 $ng.L^{-1}$ (hors paracétamol). Toutefois, ces propos sont à nuancer car les résultats obtenus pendant les campagnes de mesure réalisées sur le bassin de l'Isle mettent également en évidence l'impact de petites communes sur le cours d'eau qui les traversent. En effet, l'apport des zones fortement urbanisées est souvent plus élevé que celui de petites communes mais l'impact d'une commune rurale sur la faune et la flore aquatiques peut être important en fonction du rendement épuratoire des STEP et de la dilution du milieu récepteur. Cette particularité est d'autant plus vraie lors de fortes sécheresses où les rejets d'eaux traitées d'une STEP peuvent devenir la principale source d'alimentation d'un cours d'eau. Le cas du bassin de la Vézère propose un tout autre schéma. En plus de subir une forte pression de la part de l'agglomération de Brive-la-Gaillarde, de nombreuses stations d'épuration d'une capacité pouvant aller jusqu'à 10 000 équivalent-habitants sont localisées au niveau de l'axe Vézère en Dordogne (environ 70 km). Il s'agit également d'une zone touristique où plusieurs campings sont implantés. Les résultats obtenus sur ce tronçon révèlent la présence de plusieurs résidus comme le paracétamol (médiane : 143 $ng.L^{-1}$) connu pour être bien éliminé par les traitements de type secondaire. La pression domestique sur cette partie de la Vézère n'est pas

forte mais l'identification du paracétamol met l'accent sur la présence de rejets d'eaux usées mal épurées ou de sources d'introduction non identifiées et/ou maîtrisées (hors STEP).

Les différentes campagnes de mesure n'ont pas permis de détecter la présence de résidus de médicaments à usage principalement vétérinaire malgré l'existence de stations de prélèvement au niveau de zones d'élevages (bassin de la Dronne et partie amont du bassin de l'Isle). Les composés pharmaceutiques provenant d'élevages (hors pisciculture) sont essentiellement introduits dans le milieu aquatique lors des lessivages des sols. Or, il est probable que la faible pluviométrie observée durant l'année 2011 n'ait pas favorisé le transfert des composés pharmaceutiques vers les eaux de surface.

Cette étude a également mis en avant la présence de molécules habituellement peu recherchées telles que le furosémide et l'oxazépam. Ce dernier a été quantifié à des fréquences comparables à celles de la carbamazépine (> 70 %) ce qui laisse suggérer une pseudo-persistance dans les eaux de surface. Nous avons mis en évidence une corrélation linéaire entre ces deux molécules et défini un modèle prédictif qui permet d'estimer les concentrations de carbamazépine à partir des concentrations d'oxazépam mesurée dans le milieu aquatique (eaux de surface). De plus, les corrélations linéaires réalisées entre les résidus de médicaments détectés et certains paramètres physico-chimiques ont montré l'existence de relations entre les ions ammonium, le paramètre phosphore total ou l'oxygène dissous (indicateurs de pollution dans les cours d'eau) avec certains composés.

Les conditions climatiques de l'année 2011 ont difficilement permis de différencier, au niveau hydrologique, les régimes de hautes et basses eaux. Les concentrations totales en résidus de médicaments se sont avérées moins élevées en période estivale où l'effet de la dilution est normalement moins important. Les phénomènes de dégradation (accentués par le temps de séjour de l'eau plus long, la température de l'eau et l'ensoleillement) et le profil de consommation annuel sont autant de facteurs qui ont pu contribuer à l'obtention de la tendance observée.

Le troisième objectif de ce travail s'est matérialisé suite aux premiers résultats des campagnes de mesure effectuées sur les principaux cours d'eau du département de la Dordogne. Il consistait à étudier plus précisément les apports autour de l'agglomération de Périgueux avec l'objectif d'identifier les sources d'introduction en résidus de médicaments dans l'Isle. L'étude plus approfondie de cette aire urbaine a permis d'observer qu'un des points majeurs de dissémination des résidus de médicaments dans l'Isle était une des stations d'épuration. La présence d'autres sources de dissémination a également été constatée au niveau des stations de mesure situées en amont de cette STEP. Néanmoins, les informations relatives à l'assainissement de l'agglomération n'ont pas permis d'identifier spécifiquement l'origine de ces apports. Cette campagne a également confirmé les conclusions issues des travaux réalisés sur le département de la Dordogne et qui montraient que la détection de paracétamol dans les eaux de surface pouvait permettre d'identifier la présence d'eaux usées mal épurées.

Les perspectives relatives à la problématique des résidus de médicaments dans les milieux aquatiques et leur présence dans le département de la Dordogne se structurent autour de questionnements méthodologiques et environnementaux. En effet, dans le cadre de ce projet, le développement analytique s'est focalisé sur l'analyse de la phase dissoute des ressources superficielles. Toutefois, cela ne permet pas d'intégrer toute la charge polluante présente dans le milieu aquatique. Pour cela, il faudrait adapter le protocole de dosage des résidus de médicaments de la phase dissoute à la phase particulaire et aux sédiments pour déterminer la charge polluante et caractériser le devenir des résidus de médicaments dans les compartiments aquatiques.

Les travaux réalisés pendant ce doctorat se sont essentiellement concentrés sur les eaux de surface du département de la Dordogne. De manière à compléter les connaissances sur la présence et le devenir des résidus de médicaments sur ce territoire, l'étude des eaux souterraines ainsi que celles destinées à la consommation humaine est nécessaire. Pour la production d'eau potable, peu de prises d'eau sont réalisées dans l'Isle pour la partie aval de Périgueux et la

majorité des ressources en eau provient de nappes superficielles et souterraines. Enfin, pour ce type de département à dominante rurale et très touristique, étudier la capacité des STEP à gérer l'arrivée massive des touristes ainsi que l'impact de certains systèmes d'assainissement non collectif (campings, etc.) notamment au niveau du bassin de la Vézère permettrait également de compléter les conclusions obtenues suite à nos travaux.

L'étude réalisée au niveau de l'agglomération de Périgueux a permis d'identifier la principale voie d'introduction des résidus de médicaments dans le milieu naturel. Cependant, de manière à compléter ces travaux, l'analyse des eaux brutes et traitées des stations d'épuration de Saltgourde et Trélissac permettrait d'obtenir des informations sur l'élimination de ces molécules par ces filières de traitement (boues activées et bio-filtration). Il serait aussi intéressant d'étudier, de manière plus fine, les eaux collectées par le réseau d'assainissement et d'analyser les rejets des différents établissements raccordés afin d'identifier leurs apports. À terme, ces travaux pourraient être élargis aux autres filières de traitement peu documentées et très répandues dans les espaces ruraux comme les filtres à sable et les lits plantés de roseaux, par exemple.

Réduire à la source les résidus de médicaments est relativement compliqué puisque ces molécules, aux propriétés préventives et curatives, sont difficilement substituables. Cependant, des axes d'amélioration sont envisageables comme la réduction à la source incluant la lutte contre la surmédicamentation, par exemple. Néanmoins, une élimination plus efficace de ces micropolluants nécessite l'amélioration des systèmes d'assainissement actuels qui n'ont pas été conçus pour traiter ce type de pollution.

De plus, l'un des aspects de la problématique des résidus de médicaments dans les milieux aquatiques encore peu développé concerne l'identification et le devenir des métabolites. Ces molécules parfois excrétées à des taux supérieurs à celui de la molécule mère peuvent également impacter les systèmes aquatiques. Les produits de dégradation générés par l'assainissement des eaux résiduaires (déconjugaison, biodégradation), la potabilisation des eaux destinées à la consommation (oxydation par le chlore ou l'ozone) ainsi que les dégradations des résidus dans le milieu naturel (biotique et abiotique) sont parfois identifiés mais également encore peu recherchés actuellement par manque d'échantillons authentiques commerciaux. Approfondir ces différents axes de recherche mènera à une vision plus globale de la problématique et donc à une meilleure compréhension du devenir des résidus de médicaments dans l'environnement. L'impact environnemental engendré par ce type de micropolluants organiques en serait ainsi mieux évalué.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AFNOR, NF T 90-210, Water quality – Protocol for the initial method performance assessment in a laboratory, la Plaine Saint-Denis, France, May 2009, pp. 1 – 43.

AFSSA (2008). Hiérarchisation des résidus de médicaments d'intérêt pour l'analyse des ressources et des eaux traitées. Décembre 2008, pp 1 – 31.

AFSSAPS (2011).Ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux de France : chiffres clés 2010. Rapport d'expertise. Septembre 2011, pp 1 – 28.

AFSSAPS (2012). Etat des lieux de la consommation des benzodiazépines en France. Rapport d'expertise. Janvier 2012, pp 1 – 48.

AGENCE DE L'EAU ARTOIS-PICARDIE (2010). Les médicaments dans les cours d'eau du bassin Artois-Picardie – Résultats de la campagne exploratoire 2010. Rapport final. AEAP / DRM / SEM, 25 p.

AGENCE DE L'EAU LOIRE-BRETAGNE (2006). Le prélèvement d'échantillons en rivière – Techniques d'échantillonnage en vue d'analyses physico-chimiques. Guide technique, 130 p.

AHEL M., MIKAC N., COSOVIC B., PROHIC E. & SOUKUP V. (1998). The impact of contamination from a municipal solid waste landfill (Zagreb, Croatia) on underlying soil. *Water Science and Technology* 37, 203 – 210.

ANDREOZZI R., RAFFAELE M. & PAXEUS N. (2003). Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 50, 1319 – 1330.

ANSES (2011). Campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine, Mars 2011, pp. 1 – 31.

ARAUJO L., VILLA N., CAMARGO N., BUSTOS M., GARCIA T. & PRIETO A. (2011). Persistence of gemfibrozil, naproxen and mefenamic acid in natural waters. *Environmental Chemistry Letters* 9, 13 – 18.

BALAKRISHNAN V. K., TERRY K. A. & TOITO J. (2006). Determination of sulfonamide antibiotics in wastewater: A comparison of solid phase microextraction and solid phase extraction methods. *Journal of Chromatography A* 1131, 1 – 10.

BATT A. L. & AGA D. S. (2005). Simultaneous Analysis of Multiple Classes of Antibiotics by Ion Trap LC/MS/MS for Assessing Surface Water and Groundwater Contamination. *Analytical Chemistry* 77, 2940 – 2947.

BEDNER M. & MACCREHAN W. A. (2006). Transformation of Acetaminophen by Chlorination Produces the Toxicants 1,4-Benzoquinone and *N*-Acetyl-*p*-benzoquinone Imine. *Environmental. Science & Technology* 40, 516 – 522.

BEHERA S. K., KIM H. W., OH J.-E. & PARK H.-S. (2011). Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korean. *Science of the Total Environment* 409, 4351–4360.

BENOTTI M. J. & BROWNAWELL B. J. (2007). Distributions of pharmaceuticals in an urban estuary during both dry and wet-weathers conditions. *Environmental Science & Technology* 41, 5795 – 5802.

BENOTTI M. J., TRENHOLM R. A., VANDERFORD B. J., HOLADY J. C., STANFORD B. D. & SNYDER S. A. (2009). Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water, *Environmental. Science & Technology. 43,* 597 – 603.

BESSE J.-P. (2010). Impact environnemental des médicaments à usage humain sur le milieu récepteur : évaluation de l'exposition et des effets biologiques pour les écosystèmes d'eau douce. Thèse, pp 1 – 309.

BESSE J.-P. & GARRIC J. (2007). *Médicaments à usage humain: risque d'exposition et effets sur les milieux récepteurs. Proposition d'une liste de médicaments à usage humain à surveiller dans les eaux de surface continentales.* Agence de l'Eau R.M.C., Lyon, 241 p.

BESSE J.-P., KAUSCH-BARRETO C. & GARRIC J. (2008). Exposure Assessment of Pharmaceuticals and Their Metabolites in the Aquatic Environment: Application to the French Situation and Preliminary Prioritization. *Human and Ecological Risk Assessment* 14, 665 – 695.

BILLETORTE D. (2007). *Recherche de perturbateurs endocriniens dans les eaux destinées à la consommation humaine du bassin Adour Garonne.* Rapport final. DRASS de Midi-Pyrénées et Agence de l'Eau Adour Garonne, 42 p.

BOUND J. P. & VOULVOULIS N. (2005). Household Disposal of Pharmaceuticals as a Pathway for Aquatic Contamination in the United Kingdom. Environmental Health Perspectives 113, 1705 – 1711.

BROWN K. D., KULIS J., THOMSON B., CHAPMAN T. H. & MAWHINNEY D. B. (2006). Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. *Science of the Total Environment* 366, 772 – 783.

BUCHBERGER W. W. (2007). Novel analytical procedures for screening of drug residues in water, waste water, sediment and sludge. *Analytica Chimica Acta* 593, 129 – 139.

BUCHBERGER W. W. (2011). Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. *Journal of Chromatography A* 1218, 603 – 618.

BUDZINSKI H., AUGAGNEUR S., LE MENACH K., TOGOLA A. & LARDY S. (2006). *Nouvelles classes de contaminants de l'estuaire de la Seine : Alkylphénols, hormones stéroïdiennes, antibiotiques, analgésiques et hypolipidémiants*. Rapport Scientifique Seine-Aval 3, 32 p.

BUNDGAARD H., NORGAARD T. & NIELSEN N. M. (1988). Photodegradation and hydrolysis of furosemide and furosemide esters in aqueous solutions. *International Journal of Pharmaceutics* 42, 217 – 224.

BUSER H.-R., POIGER T. & MÜLLER M. D. (1998). Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake. *Environmental Science & Technology* 32, 3449 – 3456.

CAHILL J. D., FURLONG E. T., BURKHARDT M. R., KOLPIN D. & ANDERSON L. G. (2004). Determination of pharmaceutical compounds in surface- and ground-water samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1041, 171 – 180.

CALISTO V., DOMINGUES M. R. M. & ESTEVES V. I. (2011). Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments - Kinetics and photodegradation products. *Water Research* 45, 6097 – 6106.

CARRARA C., PTACEK C. J., ROBERTSON W. D., BLOWES D. W., MONCUR M. C., SVERKO E. & BACKUS S. (2008). Fate of pharmaceutical and trace organic compounds in three septic system plumes, Ontario, Canada. *Environmental Science & Technology 42,* 2805 – 2811.

CASTIGLIONI S., BAGNATI R., CALAMARI D., FANELLI R. & ZUCCATO E. (2005). A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. *Journal of Chromatography A* 1092, 206 – 215.

CASTIGLIONI S., BAGNATI R., FANELLI R., POMATI F., CALAMARI D. & ZUCCATO E. (2006). Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environmental Science & Technology* 40, 357 – 363.

CHANG X., MEYER M. T., LIU X., ZHAO Q., CHEN H., CHEN J.-A., QIU Z., YANG L., CAO J. & SHU W. (2010). Determination of antibiotics in sewage from hospitals, nursery and slaughter house, wastewater treatment plant and source water in Chongqing region of Three Gorge Reservoir in China. *Environmental Pollution* 158, 1444 – 1450.

CHEN H.-S., WANG P.-L. & DING W.-H. (2008). Using liquid chromatography–ion trap mass spectrometry to determine pharmaceutical residues in Taiwanese rivers and wastewaters. *Chemosphere* 72, 863 – 869.

CHEVANCE A. & MOULIN G. (2009). Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France. Anses-ANMV, 44 p.

CHOI K.-J., KIM S.-G., KIM C.-W. & KIM S.-H. (2007). Determination of antibiotic compounds in water by on-line SPE-LC/MSD. *Chemosphere* 66, 977 – 984.

CLANCHÉ F. & RASCOL O. (2011). Le découpage en unités urbaines de 2010. L'espace urbain augmente de 19 % en une décennie. *Insee Première* n°1364. Août 2011.

CLARA M., KREUZINGER N., STRENN B., GANS O. & KROISS H. (2005). The solids retention time—a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove Micropollutants. *Water Research* 39, 97 – 106.

CLARA M., STRENN B. & KREUZINGER N. (2004). Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Research* 38, 947 – 954.

CLEUVERS M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters* 142, 185 – 194.

CLEUVERS M. (2004). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59, 309 – 315.

CNAMTS. Points de repère n°6, La consommation d'antibiotiques : situation en France au regard des autres pays européens. Novembre 2006, pp 1 – 8.

CODE DE LA SANTÉ PUBLIQUE. Article L5111 (V)-1. Modifié par Loi n° 2007-248 du 26 février 2007 portant diverses dispositions d'adaptation au droit communautaire dans le domaine du médicament (1).

CONLEY J. M., SYMES S. J., KINDELBERGER S. A., RICHARDS S. M.. (2008). Rapid liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of a broad mixture of pharmaceuticals in surface water. *Journal of Chromatography A* 1185, 206 – 215.

CONN K. E., BARBER L. B., BROWN G. K. & SIEGRIST R. L. (2006). Occurrence and fate of organic contaminants during onsite wastewater treatment. *Environmental Science & Technology* 40, 7358 – 7366.

CONSEIL ÉCONOMIQUE SOCIAL ET ENVIRONNEMENTAL RÉGIONAL AQUITAINE (2012). Espaces ruraux : une chance pour l'Aquitaine – Évolutions et perspectives. Février 2012, 175 p.

CONSEIL GÉNÉRAL DE LA DORDOGNE (2009). Schéma départemental d'élimination des matières de vidance. Rapport simplifié. Juin 2009, 16 p.

DALLA-LONGA M. & DUBREUIL J.-M. (2011). La Dordogne en bref. Insee Aquitaine, n°2 – Février 2011.

DANESHVAR A. SVANFELT J., KRONBERG L. & WEYHENMEYER G. A. (2010). Winter accumulation of acidic pharmaceuticals in a Swedish River. *Environmental Science & Pollution Research* 17, 908 – 916.

DELLAGRECA M., IESCE M. R., PREVITERA L., RUBINO M. & TEMUSSI F. (2004). A new photoproduct of the drug furosemide in aqueous media. *Environmental Chemistry Letters* 2, 155 – 158.

DIAZ-CRUZ M. S., LOPES DE ALDA M. J. & BARCELO D. (2003). Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trends in Analytical Chemistry* 22, 340 – 351.

DING J., REN N., CHEN L. & DING L. (2009). On-line coupling of solid-phase extraction to liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of macrolide antibiotics in environmental water. *Analytica Chimica Acta* 634, 215 – 221.

DUPAS S., SCRIBE P. & DUBERNET J.-F. (1996). On-line and off-line solid-liquid extraction and liquid chromatographic analysis at trace levels, for monitoring of herbicides and their degradation products in river and fluvioestuarine freshwater-seawater interfaces. *Journal of Chromatography A* 737,117 – 126.

ECKEL W.P., ROSS B. & ISENSEE R. K. (1993). Pentobarbitol found in groundwater. *Groundwater* 31, 801 – 804.

EGUCHI K., NAGASE H., OZAWA M., ENDOH Y. S., GOTO K., HIRATA K., MIYAMOTO K. & YOSHIMURA H. (2004). Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. *Chemosphere* 57, 1733 – 1738.

ÉTATS GÉNÉRAUX DES INDUSTRIES (2011). Rapport du Groupe de travail Industries de santé, pp 1 – 138.

FAN C., LEE P. K. L., NG W. J., ALVAREZ-COHEN L., BRODIE E. L., ANDERSEN G. L. & HE J. (2009). Influence of trace erythromycin and erythromycin-H2O on carbon and nutrients removal and on resistance selection in sequencing batch reactors (SBRs). *Applied Microbiology and Biotechnology* 85, 185 – 195.

FATTA D., NIKOLAOU A., ACHILLEOS A. & MERIC S. (2007). Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. *Trends in Analytical Chemistry* 26, 515 – 533.

FATTA-KASSINOS D., VASQUEZ M. I. & KÜMMERER K. (2011). Transformation products of pharmaceuticals in surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes – Degradation, elucidation of byproducts and assessment of their biological potency. *Chemosphere* 85, 693 – 709.

FEITOSA-FELIZZOLA J. & CHIRON S. (2009). Occurrence and distribution of selected antibiotics in a small Mediterranean stream (Arc River, Southern France). *Journal of Hydrology* 364, 50 – 57.

FLIPPIN J. L., HUGGETT D. & FORAN C. M. (2007). Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquatic Toxicology* 81, 73 – 78.

FOLMAR L. C., DENSLOW N. D., KROLL K., ORLANDO E. F., ENBLOM J., MARCINO J., METCALFE C. &. GUILLETTE JR. L. J. (2001). Altered serum sex steroids and vitellogenin induction in Walleye (*Stizostedion vitreum*) collected near a metropolitan sewage treatment plant. *Archives of Environmental Contamination and. Toxicology* 40, 392 – 398.

GARCÍA-GALÁNA M. J., DÍAZ-CRUZ M. S. & BARCELÓ D. (2010.) Determination of 19 sulfonamides in environmental water samples by automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography–tandem mass spectrometry (SPE-LC–MS/MS). *Talanta* 81, 355 – 366.

GARCÍA-GALÁN M. J., GARRIDO T., FRAILE J., GINEBREDA A., DÍAZ-CRUZ M. S. & BARCELÓ B. (2011). Application of fully automated online solid phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry for the determination of sulfonamides and their acetylated metabolites in groundwater. *Analytical Bioanalytical Chemistry* 399, 795 – 806.

GERRITY D., TRENHOLM R. A. & SNYDER S. A. (2011). Temporal variability of pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater and the effects of a major sporting event. *Water Research* 45, 5399 – 5411.

GIULIANI F., KOLLER T., WÜRGLER F. E. & WIDMER R. M. (1996). Detection of genotoxic activity in native hospital waste water by the umuC test. *Mutation Research* 368, 49 – 57.

GÖBEL A., MCARDELL C. S., JOSS A., SIEGRIST H. & GIGER W. (2007). Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Science of the Total Environment* 372, 361–371.

GODFREY E., WOESSNER W. W. & BENOTTI M. J. (2007). Pharmaceuticals in On-Site Sewage Effluent and Ground Water, Western Montana. *Groundwater* 45, 263 – 271.

GOMEZ M. J., PETROVIC M., FERNANDEZ-ALBA A. R. & BARCELO D. (2006). Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *Journal of Chromatography A* 1114, 224 – 233.

GRACIA-LOR E., SANCHO J. V., HERNÁNDEZ F. (2010). Simultaneous determination of acidic, neutral and basic pharmaceuticals in urban wastewater by ultra high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217, 622 – 632.

GROS M., PETROVIC M. & BARCELO D. (2006). Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70, 678 – 690.

GROS M., PETROVIC M. & BARCELO D. (2009). Tracing pharmaceutical residues of different therapeutic classes in environmental waters by using liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and automated library searching. *Anaytical Chemistry* 81, 898 – 912.

GROS M., PETROVIC M., GINEBREDA A. & BARCELO D. (2010). Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environment International* 36, 15 – 26.

GU C. & KARTHIKEYAN K. G. (2005). Sorption of the antimicrobial ciprofloxacin to aluminum and iron hydrous oxides. *Environmental Science & Technology* 39, 9166 – 9173.

GUARDABASSI L., DALSGAARD A., RAFFATELLU M. & OLSEN J. E. (2000). Increase in the prevalence of oxolinic acid resistant *Acinetobacter* spp. observed in a stream receiving the effluent from a freshwater trout farm following the treatment with oxolinic acid-medicated feed. *Aquaculture* 188, 205 – 218.

HALLING-SORENSEN B., NORS NIELSEN S., LANZKY P. F., INGERSLEV F., HOLTEN LIITZHOFL H. C. & JORGENSEN S. E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - a review. *Chemosphere* 36, 357 – 393.

HEBERER T. (2002a). Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters* 131, 5 – 17.

HEBERER T. (2002b). Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *Journal of Hydrology* 266, 175 – 189.

HENNION M.-C (1999). Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 856, 3 – 54.

HENSCHEL K.-P., WENZEL A., DIEDRICH M. & FLIEDNER A. (1997). Environmental Hazard Assessment of Pharmaceuticals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 25, 220 – 225.

HERNANDO M. D., PETROVIC M., FERNANDEZ-ALBA A. R. & BARCELO D (2004). Analysis by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for β-blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples. *Journal of Chromatography* A 1046, 133–140.

HIGNITE C. & AZARNOFF D. L. (1977). Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sciences* 20, 337 – 342.

HIRSCH R., TERNES T., HABERER K. & KRATZ K.-L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *The Science of the Total Environment* 225, 109 – 118.

HIRSCH R., TERNES T. A., HABERER K., MEHLICH A., BALLWANZ F. & KRATZ K.-L. (1998). Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 815, 213 – 223.

HOLM J. V., RUGGE K., BJERG P. L. & CHRISTENSEN T. H. (1995). Occurrence and distribution of pharmaceutical compounds in the groundwater downgradient of a landfill (Grinstead, Denmark). *Environmental Science & Technology* 29, 1415 – 1420.

HUERTA-FONTELA M., GALCERAN M. T. & VENTURA F. (2011). Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. *Water Research* 45, 1432 – 1442.

ISIDORI M., NARDELLI A., PARRELLA A., PASCARELLA L. & PREVITERA L. (2006). A multispecies study to assess the toxic and genotoxic effect of pharmaceuticals: Furosemide and its photoproduct. *Chemosphere* 63, 785 – 793.

JOBLING S., NOLAN M., TYLER C. R.,BRIGHTY G. & SUMPTER J. P. (1998). Widespread sexual disruption in wild fish. *Environmental Science & Technology* 32, 2498 – 2506.

JONES O. A. H., VOULVOULIS N. & LESTER J. N. (2007). The occurrence and removal of selected pharmaceutical compounds in a sewage treatment works utilising activated sludge treatment. *Environmental Pollution* 145, 738 – 744.

JOSS A., ZABCZYNSKIB S., GÖBEL A., HOFFMANN B., LÖFFLER D., MCARDELL C. S., TERNES T. A., THOMSEN A. & SIEGRIST H. (2006). Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme. *Water Research* 40, 1686 – 1696.

KASPRZYK-HORDEN B., DINSDALE R. M. & GUWY A. J. (2008). The effect of signal suppression and mobile phase composition on the simultaneous analysis of multiple classes of acidic/neutral pharmaceuticals and personal care products in surface water by solid-phase

extraction and ultra performance liquid chromatography–negative electrospray tandem mass spectrometry. *Talanta* 74, 1299 – 1312.

KASPRZYK-HORDERN B., DINSDALE R. M. & GUWY A. J. (2009). The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Research* 43, 363 – 380.

KEMPER N. (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators* 8, 1 – 13.

KIM S. D., CHO J., KIM I. S., VANDERFORD B. J. & SNYDER S. A. (2007). Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water Research* 41, 1013 – 1021.

KOCH D. E., BHANDARI A., CLOSE L., HUNTER R. P. & DAVID E. (2005). Azithromycin extraction from municipal wastewater and quantitation using liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1074, 17 – 22.

KOLPIN D. W., FURLONG E. T., MEYER M. T., THURMAN E. M., ZAUGG S. D., BARBER L. D. & BUXTON H. T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environmental Science & Technology 36,* 1202 – 1211.

KÜMMERER K., STEGER-HARTMANN T. & MEYER M. (1997). Biodegradability of the anti-tumour agent ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage. *Water Research* 31, 2705 – 2710.

LACEY C, MCMAHON G., BONES J., BARRON L., MORRISSEY A. & TOBIN J. M. (2008) An LC–MS method for the determination of pharmaceutical compounds in wastewater treatment plant influent and effluent samples. *Talanta* 75, 1089 – 1097.

LAI H.-T. & LIN J.-J. (2009). Degradation of oxolinic acid and flumequine in aquaculture pond waters and sediments. *Chemosphere* 74, 462 – 468.

LANGFORD K. H. & THOMAS K. V. (2009). Determination of pharmaceutical compounds in hospital effluents and their contribution to wastewater treatment works. *Environment International* 35, 766 – 770.

LARSSON D. G. J., ADOLFSSON-ERICI M., PARKKONEN J., PETTERSSON M., BERG A. H., OLSSON P.-E. & FÖRLIN L. (1999). Ethinyloestradiol — an undesired fish contraceptive? *Aquatic Toxicology* 45, 91 – 97.

LARSSON D. G. J., DE PEDRO C. & PAXEUS N. (2007). Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *Journal of Hazardous Materials* 148, 751 – 755.

LECLERCQ M., MATHIEU O., GOMEZ H., CASELLAS C., FENET H. & HILLAIRE-BUYS D. (2009). Presence and fate of carbamazepine, oxcarbazepine, and seven of their metabolites at wastewater treatment plants. *Archives of Environmental Contamination and. Toxicology* 56, 408 – 415.

LEE H.-B., PEART T. E. & SVOBODA M. L. (2005). Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1094, 122 – 129.

LEEM. La consommation médicamenteuse dans 5 pays européens : une réévaluation. Avril 2007, pp 1 – 59.

LI D., YANG M., HU J., ZHANG Y., CHANG H. & JIN F. (2008). Determination of penicillin G and its degradation products in a penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river. *Water Research* 42, 307 – 317.

LIN A. Y.-C., LIN C.-A., TUNG H.-H. & CHARY N. S. (2010). Potential for biodegradation and sorption of acetaminophen, caffeine, propranolol and acebutolol in lab-scale aqueous environments. *Journal of Hazardous Materials* 183, 242 – 250.

LINDBERG R., JARNHEIMER P. A., OLSEN B., JOHANSSON M. & TYSKLIND M. (2004). Determination of antibiotic substances in hospital sewage water using solid phase

extraction and liquid chromatography/mass spectrometry and group analogue internal standards. *Chemosphere* 57, 1479 – 1488.

LINDQVIST N., TUHKANEN T. & KRONBERG L. (2005). Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. *Water Research* 39, 2219 – 2228.

LINDSEY M. E., MEYER M. & THURMAN E. M. (2001). Analysis of trace levels of sulfonamide and tetracycline antimicrobials in groundwater and surface water using solid-phase Extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 73, 4640 – 4646.

LISHMAN L., SMYTH S. A., SARAFIN K., KLEYWEGT S., TOITO J., PEART T., LEE B., SERVOS M., BELAND M. & SETO P. (2006). Occurrence and reductions of phamaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada. *Science of Total Environment* 367, 544 – 558.

LOCATELLI M. A. F., SODRÉ F. F. & JARDIM W. F. (2011). Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Archives of Environmental Contamination and. Toxicology* 60, 385 – 393.

LÖFFLER D., RÖMBKE J., MELLER M. & TERNES T. A. (2005). Environmental fate of pharmaceuticals in water/sediment systems. *Environmental Science & Technology* 39, 5209 – 5218.

LOOSER M. O., PARRIAUX A. & BENSIMON M. (1999). Landfill underground pollution detection and characterization using inorganic traces. *Water Research* 33, 3609 – 3616.

LÓPEZ-SERNA R., PÉREZ S., GINEBREDA A., PETROVIC A. & BARCELÓ D. (2010). Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction–liquid chromatography-electrospray–tandem mass spectrometry. *Talanta* 83, 410 – 424.

MAHNIK S. N., LENZ K., WEISSENBACHER N., MADER R. M. & FUERHACKER M.. Fate of 5-fluorouracil, doxorubicin, epirubicin, and daunorubicin in hospital wastewater and their elimination by activated sludge and treatment in a membrane-bio-reactor system. *Chemosphere* 66, 30 – 37.

MANISALI I., CHEN D. D. Y. & SCHNEIDER B. B. (2006). Electrospray ionization source geometry for mass spectrometry: past, present, and future. *Trends in Analytical Chemistry* 25, 243 – 256.

MATAMOROS V., DUHEC A., ALBAIGES J. & BAYONA J. M. (2009). Photodegradation of Carbamazepine, Ibuprofen, Ketoprofen and 17 α-Ethinylestradiol in Fresh and Seawater. *Water, Air and Soil Pollution* 196, 161 – 168.

MCARDELL C. S., MOLNAR E., SUTER M. J.-F. & GIGER W. (2003). Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland Environnemental. *Science & Technology* 37, 5479 – 5486.

MIÈGE C., CHOUBERT J. M., RIBEIRO L., EUSÈBE M. & COQUERY M. (2009). Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants – Conception of a database and first result. *Environmental Pollution* 157, 1721 – 1726.

MIÈGE C., FAVIER M., BROSSE C., CANLER J.-P. & COQUERY M. (2006). Occurrence of betablockers in effluents of wastewater treatment plants from the Lyon area (France) and risk assessment for the downstream rivers. *Talanta* 70, 739 – 744.

MOMPELAT S., LE BOT B. & THOMAS O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment International* 35, 803 – 814.

MULLOT J.-U., KAROLAK S., FONTOVA A., HUART B. & LEVI Y. (2009). Development and validation of a sensitive and selective method using GC/MS-MS for quantification of 5-fluorouracil in hospital wastewater. Analytical and Bioanalytical Chemistry 394, 2203 – 2212.

NAGARNAIK P., BATT A. & BOULANGER B. (2011). Source characterization of nervous system active pharmaceutical ingredients in healthcare facility wastewaters. *Journal of Environmental Management* 92, 872 – 877.

OPPEL J., BROLL G., LÖFFLER D., MELLER M., RÖMBKE J. & TERNES TH. (2004). Leaching behaviour of pharmaceuticals in soil-testing-systems: a part of an environmental risk assessment for groundwater protection. *Science of the Total Environment* 328, 265 – 273.

ORT C., LAWRENCE M. G., REUNGOAT J., EAGLESHAM G., CARTER S. & KELLER J. (2010). Determining the fraction of pharmaceutical residues in wastewater originating from a hospital. *Water Research* 44, 605 – 615.

PAILLER J.-Y, KREIN A., PFISTER L., HOFFMANN L. & GUIGNARD C. (2009). Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamides, tetracyclines, analgesics and hormones in surface water and wastewater in Luxembourg. *Science of the Total Environment* 407, 4736 – 4743.

PERROT S. & LE JEUNNE C. (2006). Les antiépileptiques à action antalgique. *Médecine Thérapeutique* 12, 240 – 248.

PETROVIC M., GROS M. & BARCELO D. (2006). Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by ultra-performance liquid chromatography–quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1124, 68 – 81.

PETROVIC M., HERNANDO M. D., DIAZ-CRUZ M. S. & BARCELO D. (2005). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *Journal of Chromatography A* 1067, 1 – 14.

PITARCH E., HERNANDEZ F., HOVE J., MEIRING H., NIESING W., DIJKMAN E., STOLKER L. & HOGENDOORN E. (2004). Potential of capillary-column-switching liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the quantitative trace analysis of small molecules. Application to the on-line screening of drugs in water. *Journal of Chromatography A* 1031, 1 – 9.

POSEIDON. Assessment of technologies for the removal of pharmaceuticals and personal care products in sewage and drinking water facilities to improve the indirect potable water reuse. Contract No. EVK1-CT-2000-00047. August 2004, pp 1 – 61.

POULIQUEN H., DELÉPÉE R., LARHANTEC-VERDIER M., MORVAN M.-L. & LE BRIS H. (2007). Comparative hydrolysis and photolysis of four antibacterial agents (oxytetracycline oxolinic acid, flumequine and florfenicol) in deionised water, freshwater and seawater under abiotic conditions. *Aquaculture* 262, 23 – 28.

POZO O. J., GUERRERO C., SANCHO J. V., IBANEZ M., PITARCH E., HOGENDOORN E. & HERNANDEZ F. (2006). Efficient approach for the reliable quantification and confirmation of antibiotics in water using on-line solid-phase extraction liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1103, 83 – 93.

PURDOM C. E., HARDIMAN P. A., BYE V. J., ENO N. C., TYLER C. R. & SUMPTER J. P. (1994). Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemistry and Ecology* 8, 275 – 285.

QUINTANA J. B., RODIL R., MUNIATEGUI-LORENZO S., LOPEZ-MAHIA P. & PRADA-RODRIGUEZ D. (2007). Multiresidue analysis of acidic and polar organic contaminants in water samples by stir-bar sorptive extraction–liquid desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1174, 27 – 39.

QUINTANA J. B., RODIL R. & REEMTSMA T. (2004). Suitability of hollow fibre liquid-phase microextraction for the determination of acidic pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry without matrix effects. *Journal of Chromatography A* 1061, 19 – 26.

REEMTSMA T., WEISS S., MUELLER J., PETROVIC M., GONZALEZ S., BARCELO D., VENTURA F. & KNEPPER T. P. (2006). Polar pollutants entry into the water cycle by municipal wastewater: a European perspective. *Environmental Science & Technology* 40, 5451 – 5458.

RENEW J. E. & HUANG C.-H. (2004). Simultaneous determination of fluoroquinolone, sulfonamide, and trimethoprim antibiotics in wastewater using tandem solid phase extraction and liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1042, 113 – 121.

RICHARDSON M. L. & BOWRON J. M. (1985). The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 37, 1 – 12.

RODIL R., QUINTANA J. B., LÓPEZ-MAHÍA P., MUNIATEGUI-LORENZO S. & PRADA-RODRÍGUEZ D. (2009). Multi-residue analytical method for the determination of emerging pollutants in water by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216, 2958 – 2969.

RODRIGUEZ-MOZAZ S., ALDA M. J. L. & BARCELÓ D. (2004). Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction–liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1045, 85 – 92.

ROUTLEDGE E. J., SHEAHAN D., DESBROW C., BRIGHTY G. C., WALDOCK M. & SUMPTER J. P. (1998). Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environmental Science & Technology* 32, 1559 – 1565.

SACHER F., LANGE F. T., BRAUCH H.-J. & BLANKENHORN I. (2001). Pharmaceuticals in groundwaters Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Wu¨rttemberg, Germany. *Journal of Chromatography A* 938, 199 – 210.

SANCHO J. V., POZO O. J. & HERNÁNDEZ F. (2004). Liquid chromatography and tandem mass spectrometry: a powerful approach for the sensitive and rapid multiclass determination of pesticides and transformation products in water. *Analyst* 129, 38 – 44.

SANTOS L. H. M. L. M, ARAUJO A. N., FACHINI A., PENA A., DELERUE-MATOS C & MONTENEGRO M. C. B. S. M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials* 175, 45 – 95.

SCHMITT M. O. & SCHNEIDER S. (2000). Spectroscopic investigation of complexation between various tetracyclines and Mg^{2+} or Ca^{2+}. *PhysChemComm* 3, 42 – 55.

SCHNELL S., BOLS N. C., BARATA C. & PORTE C. (2009). Single and combined toxicity of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) on the rainbow trout liver cell line RTL-W1. *Aquatic Toxicology* 93, 244 – 252.

SCHWARZBAUER J., HEIM S., BRINKER S. & LITTKE R. (2002). Occurrence and alteration of organic contaminants in seepage and leakage water from a waste deposit landfill. *Water Research* 36, 2275 – 2287.

SEBOK A., VASANITS-ZSIGRAI A., HELENKAR A., ZARAY GY. & MOLNAR-PERL I. (2009). Multiresidue analysis of pollutants as their trimethylsilyl derivatives, by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216, 2288 – 2301.

SEGURA P. A., GAGNON C. & SAUVÉ S. (2007). A fully automated on-line preconcentration and liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the analysis of anti-infectives in wastewaters. *Analytica Chimica Acta* 604, 147 – 157.

SEIFRTOVA M., NOVAKOVA L., LINO C., PENA A. & SOLICH P. (2009). An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. *Analytica Chimica Acta* 649, 158 – 179.

SHAO B., CHEN D., ZHANG J., WU Y. & SUN C. (2009). Determination of 76 pharmaceutical drugs by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in slaughterhouse wastewater. *Journal of Chromatography A* 1216, 8312 – 8318.

SILVA B. F., JELIC A., LÓPEZ-SERNA R., MOZETO A. A., PETROVIC M. & BARCELÓ D. (2011). Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere* 85, 1331 – 1339.

SIM W.-J., LEE J.-W., LEE E.-S., SHIN S.-K., HWANG S.-R. & OH J.-E. (2011). Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures. *Chemosphere* 82, 179 – 186.

STACKELBERG P. E., GIBS J., FURLONG E. T., MEYER M. T., ZAUGG S. D. & LIPPINCOTT R. L. (2007). Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. *Science of the Total Environment* 377, 255 – 272.

STEIN K., RAMIL M., FINK G., SANDER M. & TERNES T. A. (2008). Analysis and Sorption of Psychoactive Drugs onto Sediment. *Environmental Science & Technology 42,* 6415 – 6423.

STOOB K., SINGER H. P., GOETZ C. W., RUFF M. & MUELLER S. R. (2005). Fully automated online solid phase extraction coupled directly to liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Quantification of sulfonamide antibiotics, neutral and acidic pesticides at low concentrations in surface waters. *Journal of Chromatography A* 1097, 138 – 147.

STUMPF M., TERNES T. A., WILKEN R. D., RODRIGUES S. V. & BAUMANN W. (1999). Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *The Science of the Total Environment* 225, 135–141.

TABAK H. H. & BRUNCH R. L. (1970). Steroid hormones as water pollutants I. Metabolism of natural and synthetic ovulation inhibiting hormones by micro-organisms of activated sludge and primary settled sludge. *Development in Industrial Microbiology* 11, 367 – 376.

TAMTAM F., MERCIER F., EURIN J., CHEVREUIL M. & LE BOT B. (2009). Ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry performance evaluation for analysis of antibiotics in natural waters. *Analytical Bioanalytical Chemistry* 393, 1709 – 1718.

TAUXE-WUERSCH A., DE ALENCASTRO L. F., GRANDJEAN D. & TARRADELLAS J. (2005). Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Research* 39, 1761 – 1772.

TECHNIQUES DE L'INGÉNIEUR (1974). Traitements des eaux usées. Réf. c670, 23 – 69.

TERNES T. A. (1998). Occurrence of drugs in german sewage treatment plants and river. *Water Research* 32, 3245 – 3460.

TERNES T. A. (2001). Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry* 20, 419 – 434.

TERNES T. A., JANEX-HABIBI M.-L., KNACKER T., KREUZINGER N. & SIEGRIST H. (2004). Assessment of technologies for the removal of pharmaceuticals and personal care products in sewage and drinking water facilities to improve the indirect potable water reuse. Rapport final projet POSEIDON. Contract No. EVK1-CT-2000-00047, 58 p.

TERNES T. A., ST UBER J., HERRMANN N., MCDOWELL D., RIED A., KAMPMANN M. & TEISER B. (2003). Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water Research* 37, 1976 – 1982.

THIBAUD Y. (1971). Teneur en mercure dans quelques poissons de consommation courante. *Sciences et Pêche* 209, 1 – 10.

THORPE J. E., TALBOT C., MILES M. S., RAWLINGS C. & KEAY D. S. (1990). Food consumption in 24 hours by Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) in a sea cage. *Aquaculture* 90, 41 – 47.

TOGOLA A. (2006). Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques. Thèse, pp. 1 – 316.

TOGOLA A., AMALRIC L. & BRISTEAU S. (2008). *Les substances pharmaceutiques dans les eaux superficielles et souterraines du bassin Loire-Bretagne*. Rapport final. BRGM/RP-55578-FR, 51 p.

TOGOLA A. & BUDZINSKI H. (2008). Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *Journal of Chromatography A* 1177, 150 – 158.

TRACOL R. & DUCHEMIN J. (2009). *Évaluation de l'occurrence des résidus de médicaments dans un échantillon de nappes souterraines vulnérables du bassin Seine-Normandie utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine*. Rapport final. DRASS Basse Normandie et Agence de l'Eau Seine Normandie, 12 p.

TRENHOLM R. A., VANDERFORD B. J., HOLADY J. C., REXING D. J. & SNYDER S. A. (2006). Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 65, 1990 – 1998.

TRENHOLM R. A., VANDERFORD B. J. & SNYDER S. A. (2009). On-line solid phase extraction LC–MS/MS analysis of pharmaceutical indicators in water: A green alternative to conventional methods. *Talanta* 79, 1425–1432.

VAN DE STEENE J. C., MORTIER K. A. & LAMBERT W. E. (2006). Tackling matrix effects during development of a liquid chromatographic–electrospray ionisation tandem mass

spectrometric analysis of nine basic pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *Journal of Chromatography A* 1123, 71 – 81.

VAN DE STEENE J. C. & LAMBERT W. Y. (2008). Validation of a solid-phase extraction and liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometric method for the determination of nine basic pharmaceuticals in wastewater and surface water samples. *Journal of Chromatography A* 1182, 153 – 160.

VAN DE STEENE J. C., MORTIER K. A. & LAMBERT W. E. (2006). Tackling matrix effects during development of a liquid chromatographic–electrospray ionisation tandem mass spectrometric analysis of nine basic pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *Journal of Chromatography A* 1123, 71 – 81.

VANDERFORD B. J., PEARSON R. A., REXING D. J. & SNYDER S. A. (2003). Analysis of Endocrine Disruptors, Pharmaceuticals, and Personal Care Products in Water Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 75, 6265 – 6274.

VAZQUEZ-ROIG P., SEGARRA R., BLASCO C., ANDREU V. & PICÓ Y. (2010). Determination of pharmaceuticals in soils and sediments by pressurized liquid extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217, 2471 – 2483.

VEACH A. M. & BERNOT M. J. (2011). Temporal variation of pharmaceuticals in an urban and agriculturally influenced stream. *Science of the Total Environment* 409, 4553 – 4563.

VERENITCH S. S., LOWE C. J. & MAZUMDER A. (2006). Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography–ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1116, 193 – 203.

VIENO N. M., TUHKANEN T. & KRONBERG L. (2005). Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water. *Environmental Science & Technology* 39, 8220 – 8226.

VIENO N. M., TUHKANEN T. & KRONBERG L. (2006). Analysis of neutral and basic pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A* 1134, 101 – 111.

VIENO N., TUHKANEN T. & KRONBERG L. (2007). Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland. *Water Research* 41, 1001 – 1012.

VIGLINO L., ABOULFADL K., PRÉVOST M. & SAUVE S. (2008). Analysis of natural and synthetic estrogenic endocrine disruptors in environmental waters using online preconcentration coupled with LC-APPI-MS/MS. *Talanta* 76, 1088 – 1096.

VULLIET E. & CREN-OLIVÉ C. (2011). Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. *Environmental Pollution* 159, 2929 – 2934.

WESSELS J. M., FORD W. E., SZYMCZAK W. & SCHNEIDER S. (1998). The Complexation of Tetracycline and Anhydrotetracycline with Mg^{2+} and Ca^{2+}: A Spectroscopic Study. *The Journal of Physical Chemistry B* 102, 9323 – 9331.

WORLD WATER ASSESSMENT PROGRAMME (2012). The united nations world water development report :. *Managing Water under Uncertainty and Risk* (Vol. 1), *Knowledge Base* (Vol. 2) and *Facing the Challenges* (Vol. 3). Paris, UNESCO. 866 p.

WU C., WITTER J. D., SPONGBERG A. L. & CZAJKOWSKI K. P. (2009). Occurrence of selected pharmaceuticals in an agricultural landscape, western Lake Erie basin. *Water Research* 43, 3407 – 3416.

WU J., QIAN X., YANG Z. & ZHANG L. (2010). Study on the matrix effect in the determination of selected pharmaceutical residues in seawater by solid-phase extraction and ultra-high-performance liquid chromatography–electrospray ionization low-energy collision-induced dissociation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217, 1471 – 1475.

YAMAMOTO H., NAKAMURA Y., MORIGUCHI S., NAKAMURA Y., HONDA Y., TAMURA I., HIRATA Y., HAYASHI A. & SEKIZAWA J. (2009). Persistence and partitioning of eight selected

pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. *Water Research* 43, 351 – 362.

YAMAMOTO H., HAYASHI A., NAKAMURA Y. & SEKIZAWA J. (2005). Fate and partitioning of selected pharmaceuticals in aquatic environment. *Environmental Sciences* 12, 347 – 358.

YANG L., LUAN T. & LAN C. (2006). Solid-phase microextraction with on-fiber silylation for simultaneous determinations of endocrine disrupting chemicals and steroid hormones by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1104, 23 – 32.

YE Z. & WEINBERG H. S. (2007). Trace Analysis of Trimethoprim and Sulfonamide, Macrolide, Quinolone, and Tetracycline Antibiotics in Chlorinated Drinking Water Using Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 79, 1135 – 1144.

YU Z., PELDSZUS S. & PETER M. HUCK P. M. (2007). Optimizing gas chromatographic–mass spectrometric analysis of selected pharmaceuticals and endocrine-disrupting substances in water using factorial experimental design. *Journal of Chromatography A* 1148, 65 – 77.

ZANOCCO A., GUNTHER G., LEMP M. E., DE LA FUENTE J. R. & PIZARRO N. U. (1998). Kinetics and mechanism of the photosensitized oxidation of furosemide. *Photochemistry and Photobiology* 68, 487 – 493.

ZEPP R. G. & CLINE D. M. (1977). Rates of direct photolysis in aquatic environment. *Environmental Science & Technology* 11, 359 – 366.

ZEPP R. G., BAUGHMAN G. L. & SCHLOTZHAUER, P. F. (1981). Comparison of photochemical behaviour of various humic substances in water: I Sunlight induced reactions of aquatic pollutants photosensitized by humic substances. *Chemosphere* 10, 109 – 117.

ZHANG Z. L. & ZHOU J. L. (2007). Simultaneous determination of various pharmaceutical compounds in water by solid-phase extraction–liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1154, 205 – 213.

ZUCCATO E., CALAMARI D., NATANGELO M. & FANELLI R. (2000). Presence of therapeutic drugs in the environment. *The Lancet* 355, 1789 – 1790.

ZUCCATO E., CASTIGLIONI S. & FANELLI R. (2005). Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials* 122, 205 – 209.

Directives :

Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and interpretation results, OJ L221, Brussels, Belgium, pp. 8 – 36.

Commission regulation n°37/2010 of 22 Decembre 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin, OJ L151, Brussels, Belgium, pp. 1 – 72.

Directive 81/852/EEC du 28 septembre 1981 concernant le rapprochement des législations des états membres relatives aux médicaments vétérinaires, JO L317, Bruxelles, Belgique, pp. 1 – 15.

Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. JO L327, Bruxelles, Belgique, pp. 1 – 77.

Directive 2001/82/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires, JO L311, Bruxelles, Belgique, pp. 1 – 66.

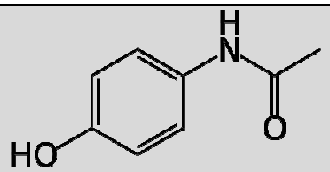
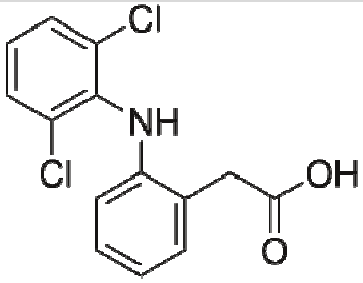
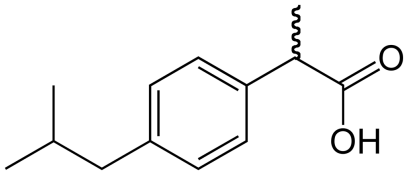
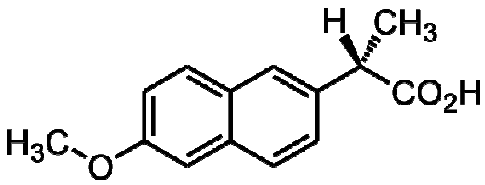
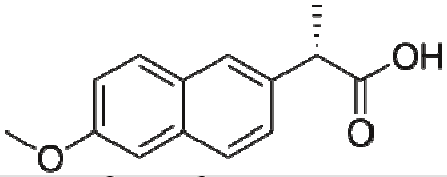
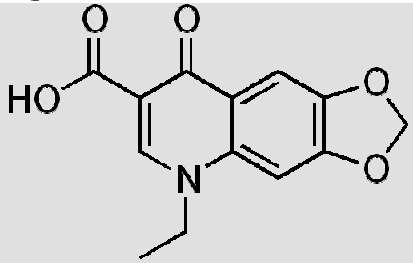
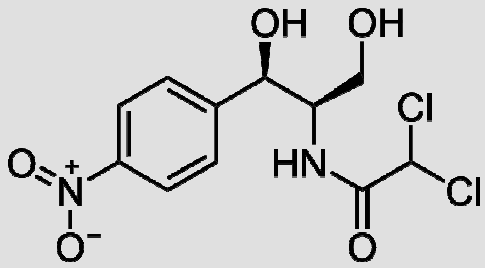
EMEA (1 juin 2006), Guideline on the environment risk assessment of medicinal products for human use, Londres, Royaume-Uni, pp. 1 – 12. Ref. EMEA/CHMP/SWP/4447/00.

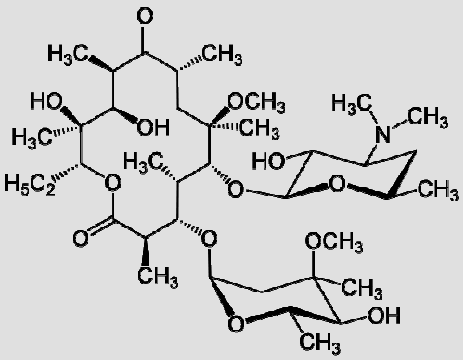
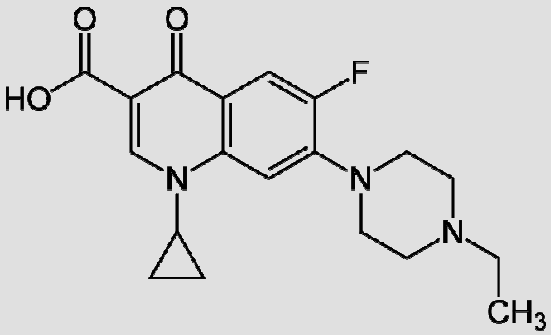
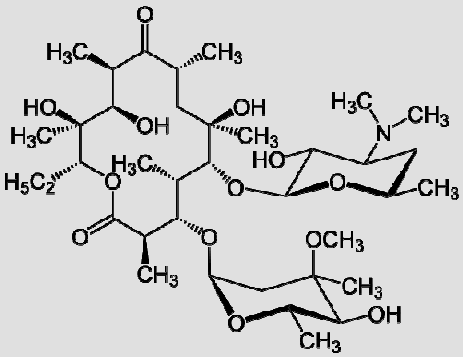
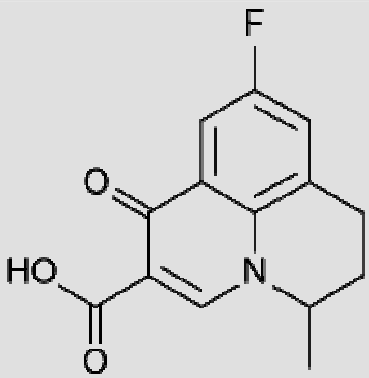
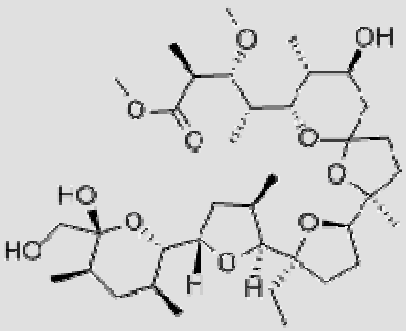
Ressources Internet :
projetamperes.cemagref.fr
public.meteofrance.com
www.assainissement-non-collectif.developpement-durable.gouv.fr
www.cg24.fr
www.cg24.fr/servir_les_citoyens/environnement/eau/rivieres/195
www.eau-adour-garonne.fr/fr/index.html
www.eptb-dordogne.fr
www.hydro.eaufrance.fr
www.insee.fr
www.leem.org/article/marche-interieur
www.legifrance.gouv.fr
www.meteociel.fr
www.meteo-climat-bzh.dyndns.org
www.pcet-ademe.fr
www.senat.fr
www.silicycle.com
www.syrres.com

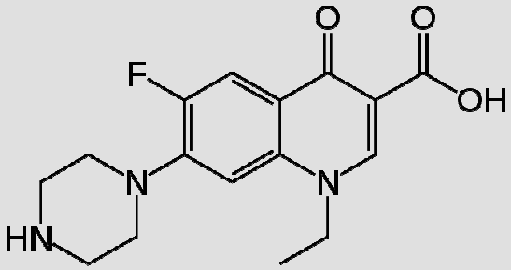
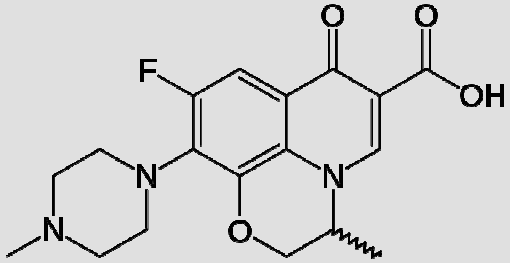
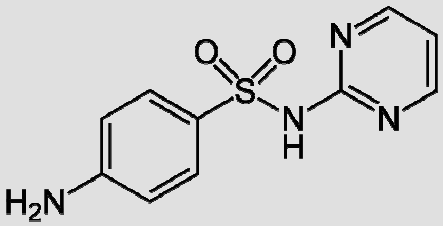
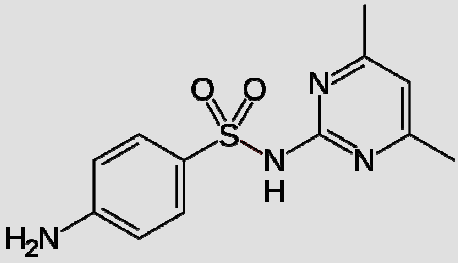
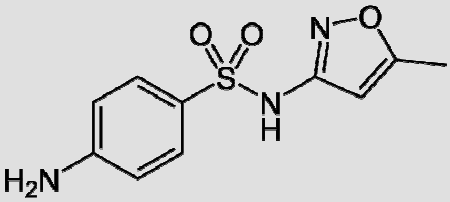
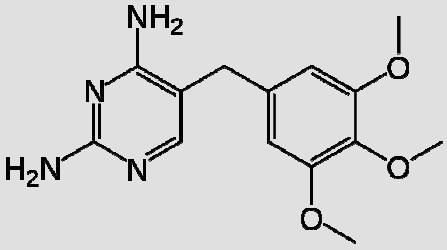
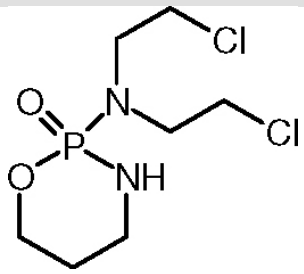
ANNEXES

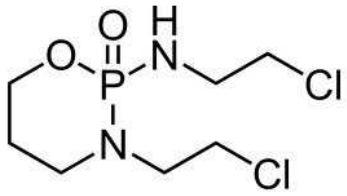
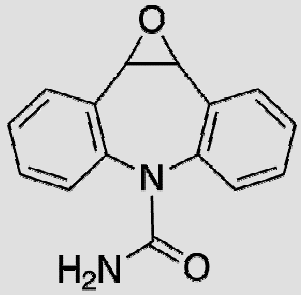
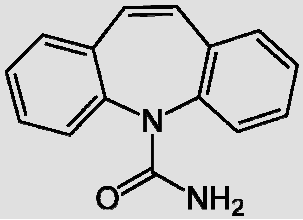
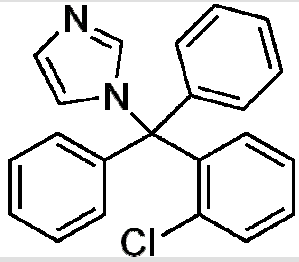
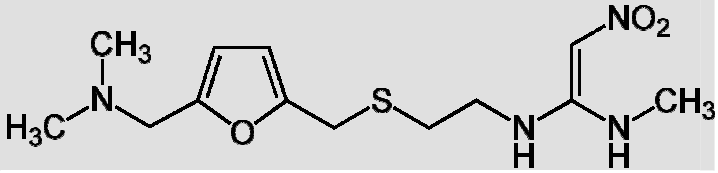
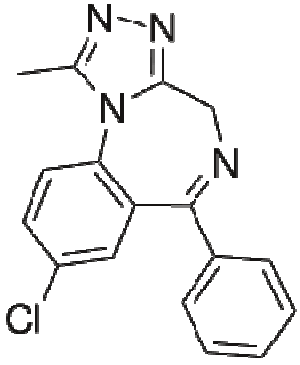
ANNEXE 1

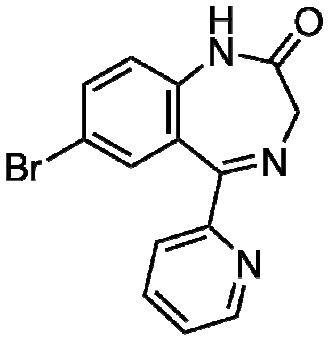
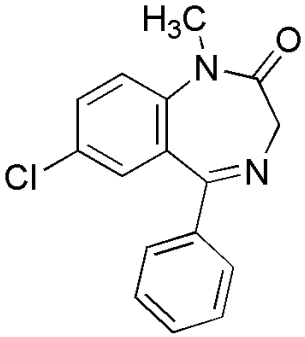
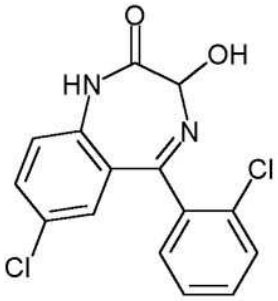
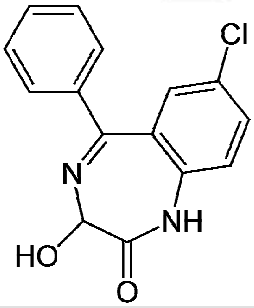
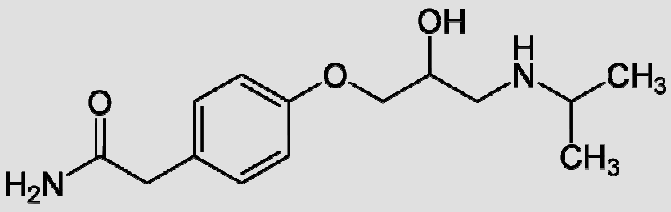
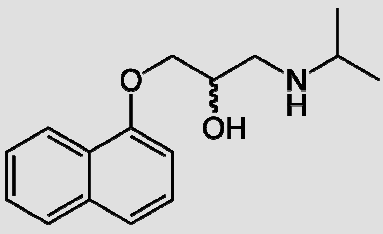
Formule topographique des molécules dosées par CL-SM/SM.

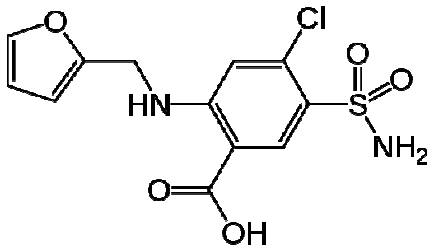
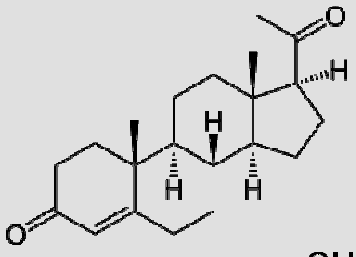
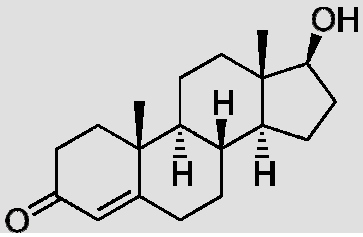
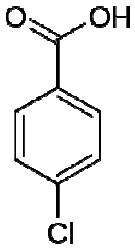
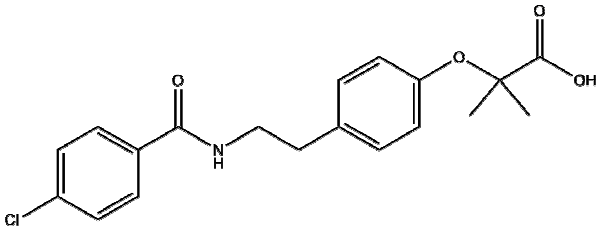
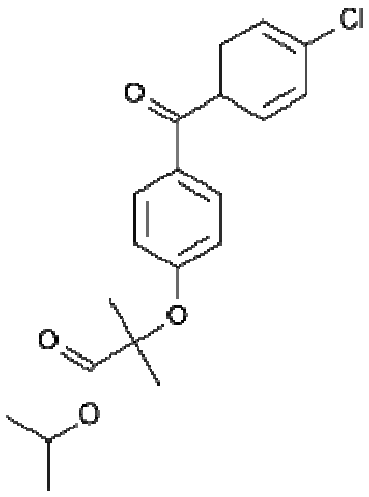
Classe pharmacologique	Composé	Structure de la molécule
Analgésique	Paracétamol	
AINS	Diclofénac	
	Ibuprofène	
	Kétoprofène	
	Naproxène	
Antibiotiques	Acide oxolinique	
	Chloramphénicol	

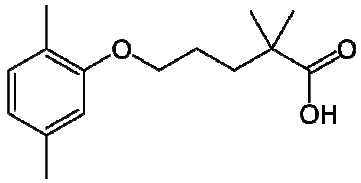
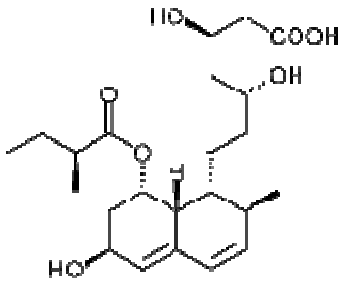
Classe pharmacologique	Composé	Structure de la molécule
	Clarithromycine	
	Enrofloxacine	
	Erythromycine	
	Erythromycine-H_2O	-
	Fluméquine	
	Monensin	

Classe pharmacologique	Composé	Structure de la molécule
	Norfloxacine	
	Ofloxacine	
	Sulfadiazine	
	Sulfaméthazine	
	Sulfaméthoxazole	
	Triméthoprime	
Anticancéreux	Cyclophosphamide	

Classe pharmacologique	Composé	Structure de la molécule
	Ifosfamide	
Antiépileptiques	*10,11 époxycarbamazépine*	
	Carbamazépine	
Antifongique	Clotrimazole	
Antihistaminique H2	Ranitidine	
Anxiolytiques	Alprazolam	

Classe pharmacologique	Composé	Structure de la molécule
	Bromazépam	
	Diazépam	
	Lorazépam	
	Oxazépam	
Béta-bloquants	Aténolol	
	Propranolol	

Classe pharmacologique	Composé	Structure de la molécule
Diurétique	Furosémide	
Hormones stéroïdiennes	Progestérone	
	Testostérone	
Hypolipidémiants	*Acide-4-chlorobenzoïque*	
	Bézafibrate	
	Fénofibrate	

Classe pharmacologique	Composé	Structure de la molécule
	Gemfibrozil	
	Pravastatine	

ANNEXE 2

Données physico-chimiques des eaux utilisées pour la validation de la méthode de dosage des résidus de médicaments dans les eaux naturelles.

n°échantillon	pH	MES ($mg.L^{-1}$)	COD ($mg.L^{-1}$)	Conductivité ($\mu S.cm^{-1}$)
20115	8.1	5	3.1	655
20117	8.3	3	2.5	425
20127	8.1	3	1.9	550
20128	7.7	2	2.3	270
20331	7.55	9	4.7	205
20987	8.1	3	2.9	250
21004	7.7	3	3.8	125
21113	7.75	6	3	335
21115	7.8	5	3.3	295
21277	8.05	8	1.8	435
21283	7.5	8	4.7	100
21608	7.9	12	1.6	485
21947	7.4	4	5.3	170
21998	7.9	<2	4.2	350
22017	8.2	3	4.2	210
22366	8	3	3.4	350
22367	7.8	5	4.4	195
22375	7.95	6	2.2	520
22376	8.05	2	8.81	330
22379	7.7	14	5.6	130
22746	7.6	5	4.2	150
22751	7.95	<2	1.8	490
22755	8.2	3	3.1	380
23281	7.6	6	5.5	230
23319	7.25	11	5.1	105
23325	7.9	8	5.1	285
23364	7.95	16	9.3	595
23635	7.5	8	6.8	135
23673	8.06	5	2.9	410
23685	8.2	5	4.9	600
23696	7.75	4	3.9	540
23698	7.95	6	5.9	420

ANNEXE 3

Étude des causes d'incertitude de mesure selon les 5M (Moyen, Méthode, Milieu, Mains-d'œuvre, Matière).

Explications pour les tableaux ci dessous :
Influence **F** : si **influence** de la cause jugée **forte**
Influence **f** : si **influence** de la cause jugée **faible**
Colonne **CI** : si prise en compte par les **contrôles internes**
Colonne **M** si la cause identifiée est **maîtrisée** (par contrôle interne ou méthode de travail)

CAUSES	INFLUENCE		CI	M	COMMENTAIRES
	F	f			
MAIN D'ŒUVRE (opérateur)					
Dextérité du manipulateur		X		X	Formation - habilitation
Préparation des étalons	X			X	Formation – habilitation
Organisation des échantillons		X		X	Séparation étalons – échantillons par blancs et encadrement des échantillons par des contrôles qualité
Inversion échantillon	X				Erreur humaine
Intégration des pics	X		X	X	Mode d'intégration constant au cours d'une série Personnel habilité
Erreur de calcul dans l'étalonnage	X		X	X	Vérification logiciel Contrôle qualité
Dilution d'échantillon	X			X	Connaissance de la valeur d'origine
Règle d'arrondi		X		X	Imposée par Excel®
MOYEN (APPAREIL)					
Balance		X		X	Contrôlée (étalonnage)
Extraction	X				Étalons et contrôles qualité dopés
Température congélateur		X	X	X	
Volume d'injection	X		X	X	Étalons internes
Suivi de la colonne chromatographique	X		X	X	Observation de l'allure des pics chromatographiques Pressions des colonnes
Répétabilité du système chromatographique	X		X	X	Suivi des contrôles qualité Mise en place de cartes de contrôle
Logiciel	X			X	Paramétrage effectué Stage de formation
MÉTHODE					
Vaisselle	X		X	X	Verrerie dédiée Blanc extrait
Solvants	X		X	X	Solvant de qualité suffisante Gestion des certificats qualité Gestion des stocks Respect des spécifications de conservation Blanc extrait et instrumental
Étalons	X			X	Étalon de qualité suffisante Gestion des certificats qualité Gestion des stocks Respect des spécifications de conservation

Domaine de travail	X		X	X	Domaine de travail validé Dilution des échantillons si nécessaire Utilisation de contrôles qualité pour vérifier les gammes Mise en place de carte de contrôle Blanc instrumental
Délai d'extraction	X			X	Respect du délai indiqué
Organisation de la séquence analytique		X	X	X	Alternance contrôles qualité, échantillons
Utilisation du logiciel	X				
Rendu de résultat		X		X	Respect de la procédure
MILIEU (environnement)					
Hotte de préparation		X			Contrôlée
Contamination	X		X	X	Conception des locaux Échantillons et étalons ne sont pas stockés aux mêmes endroits Locaux différents selon le type de matrices (eaux résiduaires et eaux naturelles) Blanc
Température, luminosité	X		X	X	
MATIÈRE (échantillon)					
Conservation de l'échantillon Stabilité	X			X	Utilisation de flaconnage adapté Transport en glacière Stockage en chambre froide Respect des délais d'extraction
Interférence, effet de matrice	X		X	X	Utilisation d'étalons internes, réalisation de contrôle qualité matrice pour rendements

ANNEXE 4

Feuille de terrain utilisée lors de prélèvements.

SUIVI DE LA RIVIÈRE

Station :…….. Date :..... Heure :.....

ASPECT VISUEL

Prélèvement/Seuil :	Amont	Aval				
Niveau de prélèvement :	Berge	Mi-courant				
Aspect des bords :	Propre	Sale				
Hydrocarbures :	Oui	Non				
Mousses :	Oui	Non				
Boues surnageantes :	Oui	Non				
Autre corps :	Oui	Non				
Couleur de l'eau :	Incolore	Légèrement colorée			Très colorée	
Limpidité :	Incolore	Légèrement colorée			Très colorée	
Odeur :	Sans	Légère			Forte	
Ombre :	Absente	Faible			Importante	
Conditions météo. :	Soleil	Couvert	Humide	Pluie	Orage	Neige

ANALYSE DE TERRAIN

Température de l'air :	°C	
Température de l'eau :	°C	
pH :		
Conductivité :	$\mu S.cm^{-1}$	
O^2 dissous :	$mg.L^{-1}$ et	%

ANNEXE 5

Valeurs des paramètres physico-chimiques mesurées lors des campagnes de mesure du département de la Dordogne et limites de quantification des méthodes d'analyse. Les stations sont notées de la manière suivante : « numéro de la station – mois du prélèvement ».

Station	pH à 20°C	Conductivité à 25°C ($\mu S.cm^{-1}$)	MES ($mg.L^{-1}$)	COD ($mg.L^{-1}$)	O_2 dissous ($mg.L^{-1}$)	Chlorophylle a ($\mu g.L^{-1}$)	NH_4^+ ($mg.L^{-1}$)	NO_2^- ($mg.L^{-1}$)	NO_3^- ($mg.L^{-1}$)	PO_4^{2-} (mgL^{-1})	Phosphore total ($mg.L^{-1}$)	Température de l'eau (°C)
LQ	-	-	2	0,5	-	0,1	0,01	0,01	0,5	0,05	0,022	-
35 000 – Jan.	7,5	160	3	3	8,9	1,3	0,01	0,02	7,7	0,08	<LQ	2,3
35 000 – Fév.	7,5	115	9	4,6	12,5	nm	0,02	0,02	6,5	<LQ	<LQ	6,6
35 000 – Mars	7,6	160	4	4,6	12,2	4,3	0,02	0,01	6	<LQ	<LQ	8,7
35 000 – Avr.	7,4	170	7	3,7	10,5	nm	0,05	0,03	5,5	<LQ	0,024	14,8
35 000 – Mai	7,6	140	16	4	9,2	2	0,07	0,04	6,1	0,08	0,048	13
35 000 – Juin	7,4	170	4	5,3	7,9	nm	0,04	0,05	6,1	0,09	0,089	16,3
35 000 – Juil.	7,8	195	5	4,4	10,4	1,7	0,02	0,03	4,4	0,07	0,031	16,4
35 000 – Août	7,6	230	4	4	5,8	nm	0,02	0,03	5,3	0,09	0,061	22
35 000 – Sept.	7,5	185	4	4,3	8,5	0,5	0,02	0,03	4,6	0,13	0,05	15,2
35 000 – Oct.	7,65	200	<LQ	4,1	9	nm	<LQ	0,02	4,6	0,05	0,037	11
35 000 – Nov.	7,4	190	<LQ	3,8	9,5	0,5	<LQ	<LQ	4,2	0,06	0,04	11,7
35 000 – Déc.	7,65	130	8	6,4	10,9	nm	0,02	0,02	5,9	<LQ	0,043	8,5
33 700 – Jan.	7,9	300	2	3,5	8,7	0,7	0,02	0,01	8,7	0,09	0,025	3,9
33 700 – Fév.	7,55	205	9	4,7	11	nm	0,03	0,02	6,9	0,06	0,038	7,9
33 700 – Mars	7,8	310	3	3,3	11,2	2,1	0,03	0,02	6,9	0,1	0,04	11
33 700 – Avr.	7,8	305	11	3,3	10	nm	0,07	0,04	6,5	0,06	0,036	16,3
33 700 – Mai	7,7	270	5	3,3	7,5	1,2	0,06	0,1	6,6	0,12	0,046	15,2
33 700 – Juin	7,75	395	3	4,2	8,2	nm	0,03	0,03	6,2	0,08	0,075	19,1
33 700 – Juil.	8	350	3	3,4	10,3	0,7	0,02	0,02	4,7	0,08	<LQ	17,7
33 700 – Août	7,8	510	<LQ	4	4,7	nm	0,05	0,03	4,6	0,09	0,041	25
33 700 – Sept.	7,8	380	32	2,8	8,4	0,7	0,02	0,02	4,2	0,13	0,051	17

33 700 – Oct.	7,85	480	<LQ	2,9	8,4	nm	<LQ	<LQ	3,8	0,09	0,03	10,8
33 700 – Nov.	7,8	405	<LQ	3,1	10,3	0,6	0,01	0,01	4	0,08	0,05	9,9
33 700 – Déc.	7,75	240	2	5,1	9,3	nm	0,03	0,03	6	0,09	0,058	10
33 500 – Juil.	8	430	3	2,8	8,81	nm	0,01	0,03	4,5	0,07	0,036	19,4
33 500 – Sept.	7,95	435	3	4,4	9,3	nm	0,08	0,07	4,1	0,09	0,053	17,3
32 800 – Janv.	8,1	655	5	3,1	12,7	nm	<LQ	0,02	25	0,06	<LQ	5,7
32 800 – Fév.	7,95	595	44	4,9	11,5	nm	0,04	0,03	19	0,07	0,023	8,8
32 800 – Mars	8	580	8	3,4	8,1	nm	0,01	0,04	21	<LQ	0,024	11,7
32 800 – Avr.	7,6	605	14	3,7	12,1	nm	0,05	0,6	18	0,05	<LQ	15,8
32 800 – Mai	7,9	585	14	4,2	8,8	nm	0,05	0,06	15	0,05	0,031	18,5
32 800 – Juin	8	635	21	6,9	7,4	nm	0,02	0,07	9,1	<LQ	0,035	18,3
32 800 – Juil.	7,85	560	13	4,4	8,24	nm	0,02	0,05	11	<LQ	<LQ	19,9
32 800 – Août	7,6	570	11	4,3	6,83	nm	0,03	0,05	6,6	<LQ	0,041	21,3
32 800 – Sept.	7,8	570	11	3,7	8,2	nm	0,06	0,04	11	<LQ	0,028	16,1
32 800 – Oct.	7,7	580	6	5,3	8,05	nm	0,02	0,03	12	<LQ	0,028	13
32 800 – Nov.	7,9	740	5	4,1	9,8	nm	0,03	0,06	12	<LQ	0,028	11,1
32 800 – Déc.	8	670	6	4,4	10,8	nm	0,02	0,04	13	<LQ	0,024	10,9
30 000 - Juin	8,05	455	6	3,2	8,4	nm	0,04	0,03	5,6	0,09	0,084	20,9
44 200 – Avr.	7,6	90	6	4	11,2	nm	0,02	0,03	6,6	0,06	0,026	14
44 200 – Août	7,45	105	4	6,3	6,3	nm	0,07	0,12	6,6	0,13	0,042	23
44 200 – Oct.	7,65	106	<LQ	4,8	10,1	nm	<LQ	<LQ	5,2	<LQ	0,034	10,6
44 000 - Mai	7,6	103	9	4,5	8,5	5,7	0,05	0,04	5,8	0,07	0,049	17,7
43 000 – Avr.	7,7	175	14	4,1	11	nm	0,07	0,04	7,3	0,06	0,029	14,3
43 000 – Août	7,65	260	8	5,2	6	nm	0,07	0,06	4,8	0,17	0,062	24
43 000 – Oct.	7,5	285	2	4,8	9,45	nm	0,08	0,07	5,9	0,07	0,046	11,9
42 000 - Mai	7,9	305	6	3,2	9,6	1,4	0,04	0,04	8,9	0,08	0,048	15
42 000 – Juil.	8,2	360	3	2,8	7,88	0,9	<LQ	0,03	5,7	0,05	0,05	16,9
42 000 – Sept.	8	421	<LQ	2,7	9,83	0,6	0,01	0,03	6,5	<LQ	0,035	15,6
42 000 – Nov.	7,67	299	2	4,5	10,1	0,4	0,01	0,01	4,8	0,05	0,041	10,1
41 000 – Janv.	7,7	270	2	2,3	12,9	0,6	<LQ	0,02	11	0,06	<LQ	3,1
41 000 – Fév.	8	235	4,5	2,7	12,2	nm	<LQ	0,02	8,8	0,09	0,025	7,4
41 000 – Mars	8,1	250	3	2,9	11,2	2,1	<LQ	0,02	8,5	<LQ	<LQ	10
41 000 – Avr.	7,8	295	5	3,3	10	nm	0,04	0,03	7,7	<LQ	0,031	15

41 000 – Mai	8,05	270	5	3,2	9,3	0,7	0,03	0,04	8,2	0,08	0,042	15,3
41 000 – Juin	7,8	360	4	4	6,7	nm	0,02	0,03	7,8	0,08	0,08	17,3
41 000 – Juil.	8,05	330	2	2,8	8,81	1,1	<LQ	0,02	6,2	<LQ	<LQ	17,6
41 000 – Août	8,2	380	3	3,1	6,5	nm	0,04	0,03	6,6	<LQ	0,035	27
41 000 – Sept.	8,21	365	2	2,6	10,3	1,1	<LQ	0,02	6,3	<LQ	0,028	17
41 000 – Oct.	7,9	390	<LQ	2,8	10,1	nm	<LQ	0,02	5,5	<LQ	<LQ	13
41 000 – Nov.	7,89	309	<LQ	3,9	9,85	3,9	0,01	0,02	5,6	<LQ	0,039	10,4
41 000 – Déc.	7,8	230	4	5,5	11,8	nm	0,03	0,03	7,3	<LQ	0,049	10,4
39 200 – Janv.	8,1	550	3	1,9	13,55	nm	0	0,01	13	0,08	0,025	4,4
39 200 – Fév.	8,5	550	7	1,9	13,4	nm	0,01	0,03	10	0,11	0,024	8,8
39 200 – Mars	8,3	495	9	1,9	15,2	nm	<LQ	0,02	9	<LQ	<LQ	9,2
39 200 – Avr.	8,5	550	64	2,2	10,5	nm	0,03	0,04	7,9	0,08	0,03	14,4
39 200 – Mai	8,1	512	17	1,8	10,6	nm	0,04	0,09	6,9	0,07	0,045	13,9
39 200 – Juin	7,85	540	19	2,1	6,1	nm	0,03	0,03	6,1	0,29	0,094	16,5
39 200 – Juil.	7,95	520	6	2,2	8,09	nm	0,02	0,03	4,6	0,08	0,031	17,3
39 200 – Août	8,3	530	28	3,5	6,8	nm	0,03	0,04	3,9	0,11	0,059	28,5
39 200 – Sept.	8,02	520	11	2,6	9,28	nm	0,09	0,03	3,9	0,13	0,089	16
39 200 – Oct.	7,95	545	19	2,6	9,6	nm	0,01	0,01	3,9	0,05	0,1	13,5
39 200 – Nov.	7,87	555	4	2,2	8,43	nm	0,17	0,02	2,8	0,11	0,065	9,1
39 200 – Déc.	7,9	550	26	2,9	7,9	nm	0,14	0,04	4,7	<LQ	0,087	10,5
39 000 – Janv.	7,95	315	<LQ	2,6	12,72	0,2	0,11	0,03	12	0,07	0,026	3,9
39 000 – Fév.	7,8	260	22	3,2	12,2	nm	0,05	0,03	9,1	0,09	0,025	5,7
39 000 – Mars	7,7	300	5	2,6	10,3	1,8	0,15	0,05	9,8	0,05	0,027	11,1
39 000 – Avr.	7,75	335	6	3	9,3	nm	0,37	0,09	8,8	0,07	0,041	17,1
39 000 – Mai	7,7	355	5	2,8	8,2	0,6	0,1	0,08	9,1	0,09	0,049	16,9
39 000 – Juin	8,1	365	3	3,1	7,7	nm	0,07	0,09	9,4	0,12	0,088	22,6
39 000 – Juil.	7,9	425	3	2,6	8,89	1,3	0,03	0,06	7,5	0,07	0,037	19,1
39 000 – Août	7,75	395	<LQ	3,1	7,55	nm	0,06	0,08	7,5	0,11	0,062	25,6
39 000 – Sept.	7,67	420	4	3,2	7,15	0,7	0,13	0,17	8,4	0,08	0,051	18,8
39 000 – Oct.	7,9	459	3	2,6	9,6	nm	0,07	0,09	8,4	0,08	0,04	13,1
39 000 – Nov.	7,68	348	2	5,5	8,4	0,4	0,11	0,17	8,1	0,09	0,054	11,4
39 000 – Déc.	7,8	270	9	5,1	11,2	nm	0,12	0,08	7,8	0,09	0,069	10,2
38 100 – Janv.	8,2	320	3	2,3	13,46	nm	0,02	0,03	12	0,6	0,023	4,7

38 100 – Fév.	7,85	295	28	3	11,1	nm	0,07	0,04	9,6	0,09	0,025	7,9
38 100 – Mars	8,2	307	10	3	12,3	nm	0,03	0,06	9,8	<LQ	0,025	13
38 100 – Avr.	8,3	330	6	3	9,4	nm	0,12	0,1	8,9	0,1	0,048	16,7
38 100 – Mai	8,1	355	2	2,9	9,8	nm	0,04	0,1	9	0,12	0,058	20,2
38 100 – Juin	7,9	350	<LQ	4,2	9,7	nm	0,02	0,08	8,8	0,12	0,087	21,7
38 100 – Juil.	8	410	2	2,7	8,84	nm	0,04	0,04	7	0,06	0,03	20,1
38 100 – Août	8	365	<LQ	3,4	7,18	nm	0,05	0,05	5,5	0,11	0,057	26,4
38 100 – Sept.	8,05	410	<LQ	3,3	8,49	nm	0,02	0,1	7,8	0,07	0,048	19,5
38 100 – Oct.	8,15	460	2	2,7	9,8	nm	0,01	0,02	8	<LQ	0,032	12,9
38 100 – Nov.	8,04	356	<LQ	4,8	9,99	nm	0,04	0,12	8,3	0,09	0,063	11,7
38 100 – Déc.	8,05	270	13	5,9	11,2	nm	0,07	0,09	8,4	0,11	0,074	10,4
38 050 – Avr.	8,1	505	18	2,4	9,9	nm	0,06	0,05	7,5	0,06	0,033	15,5
38 050 – Oct.	7,6	490	11	4,9	4,95	nm	<LQ	<LQ	1,1	<LQ	0,033	12,1
38 020 – Avr.	8,25	400	9	2,7	10,7	nm	0,04	0,04	5,6	<LQ	0,03	15,3
38 020 – Août	8	380	5	1,9	5,87	nm	0,03	0,05	5,1	0,08	0,049	21,4
38 020 – Oct.	8,06	410	5	2,9	9,77	nm	<LQ	0,01	4	<LQ	0,026	11,9
38 000 – Janv.	8,3	345	3	2,8	13,24	0,7	0,11	0,04	12	0,06	0,026	4,4
38 000 – Fév.	7,7	285	20	4,3	11,1	nm	0,12	0,07	9,3	0,05	<LQ	8,6
38 000 – Mars	8,4	325	5	2,9	12,1	2,3	0,03	0,05	9,7	<LQ	<LQ	12,5
38 000 – Avr.	8,15	335	6	3,3	10,9	nm	0,1	0,08	8,3	0,09	0,043	17,9
38 000 – Mai	8,3	355	10	3,3	9,58	5	0,03	0,09	8,5	0,1	0,055	22,4
38 000 – Juin	8,1	360	5	3,6	9,3	nm	0,02	0,05	6,4	0,09	0,079	22,3
38 000 – Juil.	8,15	390	4	3,1	9,16	2,9	0,04	0,03	5	<LQ	0,026	20,7
38 000 – Août	8,15	350	3	3,2	7,39	nm	0,07	0,04	3,1	<LQ	0,035	26,2
38 000 – Sept.	8,11	375	4	3,2	8,88	1,4	0,05	0,03	4,7	0,06	0,044	21,3
38 000 – Oct.	8,11	415	4	3,2	9,7	nm	0,02	0,02	4,8	<LQ	0,032	13,9
38 000 – Nov.	8,02	345	3	3,9	10,59	0,7	0,06	0,05	5,6	0,07	0,049	13,5
38 000 – Déc.	7,97	261	6	3,6	10,8	nm	0,05	0,05	6,4	0,08	0,055	10,4
37 000 – Avr.	7,95	325	12	3,8	9,6	nm	0,12	0,07	7,9	0,09	0,04	16,9
37 000 – Juil.	8	350	3	3,4	8,82	nm	0,05	0,07	3,7	0,09	0,046	21,2
37 000 – Août	7,95	340	3	3,4	6,22	nm	0,06	0,06	2,9	0,1	0,059	25,7
37 000 – Sept.	7,91	380	3	3,4	7,69	nm	0,1	0,06	4,1	0,11	0,063	21,2
37 000 – Oct.	8,1	400	5	3,3	9,31	nm	0,11	0,05	3,7	0,09	0,048	14,3

37 000 – Déc.	8,1	309	6	3,1	11,25	nm	0,1	0,07	6,9	0,1	0,054	10,7
29 800 – Avr.	8,15	375	11	3,7	9	nm	0,09	0,06	10	0,1	0,046	16,7
29 800 – Août	7,96	375	27	3,8	6,72	nm	0,08	0,03	1,7	0,1	0,063	25
29 800 – Oct.	7,91	425	50	3,6	8,1	nm	0,25	0,05	2,3	0,1	0,085	13,8
29 800 – Déc.	8,02	434	10	3,6	11,08	nm	0,29	0,06	7,3	0,15	0,072	10,8
52 000 – Jan.	7,35	95	3	2,4	13,88	0,5	0,07	0,02	5,8	0,06	<LQ	2
52 000 – Fév.	7,9	115	7	4,4	12	nm	0,06	0,03	5,6	0,07	<LQ	7,1
52 000 – Mars	7,85	95	7	3,3	9,8	4,7	0,02	0,02	4,6	<LQ	0,028	10
52 000 – Avr.	7,5	110	10	3,1	9	nm	0,11	0,05	5,3	0,06	0,034	15,1
52 000 – Mai	7,55	105	11	3,4	8,95	5,4	0,11	0,07	5,4	0,1	0,07	16,8
52 000 – Juin	7,4	130	6	4	8,1	nm	0,09	0,09	5,2	0,16	0,12	18,4
52 000 – Juil.	6,85	175	9	5,9	8,4	1,4	0,05	0,04	3,7	0,09	0,04	18,4
52 000 – Août	7,25	125	10	4	7,29	nm	0,11	0,05	3,5	0,13	0,073	25,3
52 000 – Sept.	7,4	115	11	2,7	8,51	1	0,08	0,03	3,5	0,12	0,057	18,7
52 000 – Oct.	7,36	137	8	4	9,79	nm	0,04	0,02	3,4	0,1	0,056	10,9
52 000 – Nov.	7,81	123	5	3,8	11,34	0,16	0,08	0,03	4,2	0,09	0,058	10,8
52 000 – Déc.	7,65	102	79	5,6	11	nm	0,12	0,03	4,8	<LQ	0,11	9,75
51 200 – Jan.	7,7	120	4	2,7	14,06	nm	0,08	0,02	5,8	0,08	0,032	1,7
51 200 – Fév.	8	145	9	5,6	12,8	nm	0,08	0,04	5,7	0,09	0,027	7,4
51 200 – Mars	7,9	110	9	3,8	11,5	nm	0,03	0,03	4,5	<LQ	0,031	10,3
51 200 – Avr.	7,65	140	10	3,5	9,5	nm	0,09	0,07	5,2	0,09	0,049	15,1
51 200 – Mai	7,7	130	17	3,6	9,1	nm	0,14	0,09	5,6	0,13	0,087	16,6
51 200 – Juin	7,7	160	9	4,6	8,3	nm	0,1	0,1	5,3	0,35	0,19	19
51 200 – Juil.	7,7	130	14	5,9	9,01	nm	0,04	0,05	3,6	0,11	0,05	18,2
51 200 – Août	7,6	150	5	4,2	8,04	nm	0,08	0,1	4	0,28	0,13	25,8
51 200 – Sept.	7,5	145	10	4	8,3	nm	0,07	0,04	3,6	0,12	0,16	18,7
51 200 – Oct.	7,52	175	5	3,3	9,79	nm	0,06	0,08	3,8	0,25	0,11	11,4
51 200 – Nov.	7,75	165	6	4	9,42	nm	0,06	0,07	3,9	0,09	0,057	10,3
51 200 – Déc.	7,9	130	52	5,6	9,8	nm	0,13	0,03	4,8	<LQ	0,085	9,9
51 000 – Jan.	8,1	85	3	2,9	13	nm	0,03	0,04	8,4	0,08	0,039	3,9
51 000 – Fév.	7,8	160	9	3,8	13	nm	0,08	0,04	5,9	0,1	0,032	7,2
51 000 – Mars	7,7	125	3	3,6	12,9	nm	0,04	0,02	4,7	<LQ	0,026	10,2
51 000 – Avr.	7,45	145	5	3,4	8,6	nm	0,1	0,06	5,3	0,08	0,044	15,7

51 000 – Mai	7,4	130	6	4,3	7,8	nm	0,15	0,1	5,4	0,19	0,1	21,6
51 000 – Juin	7,7	170	6	4,3	8,05	nm	0,28	0,12	5,5	0,36	0,19	20,5
51 000 – Juil.	7,65	130	7	5,9	10,2	nm	0,07	0,06	3,8	0,13	0,05	19,9
51 000 – Août	7,45	135	4	4,1	7,81	nm	0,09	0,08	4	0,19	0,099	26,4
51 000 – Sept.	7,6	150	7	4,4	7,5	nm	0,08	0,04	3,8	0,12	0,083	19
51 000 – Oct.	7,34	180	4	4	9,51	nm	0,05	0,1	4,2	0,24	0,11	11,8
51 000 – Nov.	8,1	580	5	3,5	10,5	nm	0,03	0,01	3	0,51	0,22	9,8
51 000 – Déc.	7,65	110	14	5,1	10,1	nm	0,06	0,02	5	<LQ	0,045	10
50 000 – Jan.	7,8	150	4	2,6	14,3	0,6	0,09	0,03	6,2	0,11	0,047	2,8
50 000 – Fév.	7,8	170	8	3,4	13,5	nm	0,06	0,04	6	0,1	0,028	7,3
50 000 – Mars	7,8	140	4	3,8	12,8	5,6	0,02	0,03	4,7	<LQ	0,023	10,5
50 000 – Avr.	7,6	165	5	3,2	8,7	nm	0,09	0,07	5,5	0,08	0,045	16,2
50 000 – Mai	7,45	155	13	4	8,45	0,9	0,07	0,09	5,8	0,11	0,068	19,3
50 000 – Juin	7,65	190	3	3,9	6,6	nm	0,03	0,09	6	0,32	0,17	18,9
50 000 – Juil.	7,7	140	19	6,5	9,9	1,7	0,08	0,09	4,1	0,13	0,052	19,4
50 000 – Août	7,65	190	2	3,8	8,9	nm	0,03	0,06	4,4	0,17	0,088	25,4
50 000 – Sept.	7,8	185	3	3,6	8,8	0,6	0,04	0,04	4,3	0,11	0,073	18,4
50 000 – Oct.	7,65	205	3	3,7	9,26	nm	0,05	0,08	4,8	0,14	0,072	12,2
50 000 – Nov.	7,8	195	3	3,6	11,7	0,5	0,05	0,04	4,6	0,07	0,047	10,3
50 000 – Déc.	7,6	115	24	5,3	9,2	nm	0,06	0,03	5	<LQ	0,051	10,2
49 000 – Jan.	8	170	3	2,6	13,15	0,5	0,06	0,03	6,4	0,09	0,032	3
49 000 – Fév.	8,1	195	4,1	2,7	14	nm	0,04	0,04	6,2	0,1	0,025	7,4
49 000 – Mars	7,85	160	2	3,2	12,9	1,2	<LQ	0,02	5	<LQ	0,023	10,6
49 000 – Avr.	8,1	190	5	3,3	10	nm	0,03	0,07	5,5	0,07	0,038	17
49 000 – Mai	7,7	150	4	6,9	8,2	0,7	0,05	0,12	6	0,13	0,081	20,1
49 000 – Juin	8,55	220	3	3,9	11,2	nm	0,01	0,05	5,7	0,31	0,17	22,6
49 000 – Juil.	7,9	160	23	5,9	9,8	2,8	0,02	0,04	4,3	0,13	0,061	19,4
49 000 – Août	8,25	215	<LQ	3,7	10	nm	0,02	0,03	3,8	0,14	0,071	26,6
49 000 – Sept.	8,2	230	5	3,8	9,4	1,4	0,03	0,02	3,7	0,1	0,071	18,5
49 000 – Oct.	8,07	236	<LQ	3,8	10,6	nm	0,02	0,01	3,8	0,07	0,047	12,8
49 000 – Nov.	8,2	220	2	4	10,8	0,4	0,01	0,03	4,4	0,08	0,052	10,1
49 000 – Déc.	7,8	120	21	5	9,4	nm	0,05	0,03	5,1	<LQ	0,055	10,4
48 210 – Jan.	8	150	3	2,8	11,5	0,5	0,03	0,02	5,6	0,11	0,043	4,2

48 210 – Fév.	8,1	170	2	2,7	13,2	nm	0,03	0,03	6	0,09	<LQ	7,3
48 210 – Mars	8	160	<LQ	3,9	12,4	1,7	<LQ	0,01	4,9	<LQ	0,029	9,5
48 210 – Avr.	8,25	180	4	3,3	10,3	nm	<LQ	0,04	5	<LQ	0,029	14,7
48 210 – Mai	8,3	165	2	3,1	8,6	0,7	0,03	0,05	4,9	0,06	0,038	21,1
48 210 – Juin	8,2	210	3	4,2	7,9	nm	0,02	0,03	4,2	0,07	0,073	22,7
48 210 – Juil.	8,3	230	<LQ	4,4	8,7	0,4	0,02	0,03	4,1	0,06	0,034	20,3
48 210 – Août	8,35	205	<LQ	2,7	8,7	nm	0,04	0,03	24	0,08	0,045	26,8
48 210 – Sept.	8,8	210	3	3,4	9,3	0,7	0,02	0,01	3,2	0,07	0,048	19
48 210 – Oct.	7,95	180	3	3,5	13,6	nm	<LQ	0,02	3,6	<LQ	0,025	12,9
48 210 – Nov.	8,3	186	4	3,2	10,3	0,5	0,02	0,01	3,6	0,08	0,052	11,2
48 210 – Déc.	7,8	160	10	4	11	nm	0,03	0,02	5,5	<LQ	0,035	10,5
47 000 – Jan.	7,8	185	<LQ	2,7	13,22	0,5	0,01	0,01	6,1	0,07	<LQ	3,3
47 000 – Fév.	7,5	190	7	2,9	10,8	nm	0,03	0,03	7	0,08	0,026	7,6
47 000 – Mars	8,1	175	3	3,2	11,7	0,9	0,01	0,02	5,7	<LQ	<LQ	11,6
47 000 – Avr.	7,95	200	4	3	11,88	nm	0,04	0,04	5,5	<LQ	0,026	15,2
47 000 – Mai	7,85	205	<LQ	3,1	8,6	0,4	0,03	0,06	5,4	0,08	0,042	20,2
47 000 – Juin	7,95	235	<LQ	3,9	7,7	nm	0,01	0,05	4,8	0,06	0,069	22,4
47 000 – Juil.	8	220	<LQ	3,3	8,52	1,2	0,02	0,05	4,9	0,06	0,034	20,1
47 000 – Août	7,9	230	2	2,8	6,28	nm	0,04	0,05	4,5	<LQ	0,034	25,3
47 000 – Sept.	7,73	228	<LQ	3,6	8	1	0	0,04	5,1	0,06	0,058	20,5
47 000 – Oct.	7,75	240	3	3,2	8,33	nm	0,01	0,02	3,8	0,06	0,041	11,7
47 000 – Nov.	7,63	212	<LQ	3,4	9,85	0,5	0,01	0,02	4,4	0,1	0,063	11,5
47 000 – Déc.	7,73	186	8	4,5	11,1	nm	0,04	0,03	6,3	0,05	0,036	10,5

nm : non mesuré
<LQ : inférieur à la limite de quantification

ANNEXE 6

Valeurs des paramètres physico-chimiques mesurées lors des campagnes de mesure de l'agglomération périgourdine et limites de quantification des méthodes d'analyse. Les stations sont notées de la manière suivante : « numéro de la station – mois du prélèvement ».

Station	pH à 20°C	Conductivité à 25°C (µS.cm^{-1})	COD (mg.L^{-1})	O_2 dissous (mg.L^{-1})	NH_4^+ (mg.L^{-1})	Turbidité (NTU)	Température de l'eau (°C)
LQ	-	-	0,5	-	0,01	0,5	-
I1 – Mars	8,01	331	2,50	6,60	0,01	2,51	16,4
I1 – Mai	8,07	301	2,80	7,88	0,03	2,82	17,9
I1 – Juin	7,92	335	nm	7,90	0,03	1,47	18,3
I1 – Sept.	8,10	360	2,30	11,30	0,02	1,10	17,3
I1 – Nov.	8,05	350	2,70	8,84	0,01	1,10	11,8
I2 – Mars	7,12	112	2,50	7,70	0,01	3,35	14,5
I2 – Mai	8,07	307	3,10	7,59	0,04	2,61	16,7
I2 – Juin	7,80	339	nm	7,00	0,04	1,57	18,5
I2 – Sept.	8,10	356	2,10	8,20	<LQ	0,80	24,0
I2 – Nov.	8,00	355	2,80	9,20	0,02	1,10	8,4
I3 – Mars	7,50	110	4,20	8,60	0,01	2,97	13,3
I3 – Mai	7,75	307	2,90	9,16	0,03	2,77	16,9
I3 – Juin	7,70	340	nm	7,20	0,03	1,49	19,3
I3 – Sept.	8,00	357	1,90	8,40	0,00	0,80	20,3
I3 – Nov.	8,05	350	2,90	8,60	0,00	1,10	9,8
I4 – Mars	7,09	116	3,20	9,00	0,03	3,04	15,4
I4 – Mai	7,73	328	3,00	9,76	0,13	3,63	18,1
I4 – Juin	7,80	361	nm	6,30	0,10	2,00	19,4
I4 – Sept.	8,00	373	nm	7,80	0,14	2,20	20,3
I4 – Nov.	7,95	365	3,10	10,00	0,05	4,20	9,7
I5 – Mars	8,01	254	2,60	6,66	0,04	2,79	18,1
I5 – Mai	7,71	347	3,00	8,56	0,17	2,44	22,8
I5 – Juin	7,68	380	nm	6,00	0,14	1,57	20,2
I5 – Sept.	8,30	394	nm	8,70	0,12	1,60	22,8
I5 – Nov.	7,95	385	3,10	8,70	0,18	2,20	13,1
I6 – Mars	7,98	256	2,80	6,17	0,41	4,79	16,7
I6 – Mai	7,69	379	3,60	8,30	0,08	3,39	22,2
I6 – Juin	7,70	390	nm	5,60	0,28	1,68	20,0
I6 – Sept.	8,30	422	nm	8,60	0,29	1,40	22,5
I6 – Nov.	7,90	415	3,50	8,56	0,15	2,50	13,3
I7 – Mars	7,23	233	2,60	7,18	0,06	3,82	15,5
I7 – Mai	7,71	361	3,10	9,49	0,34	3,07	21,5
I7 – Juin	7,60	366	nm	6,20	0,20	1,64	20,6
I7 – Sept.	7,90	413	nm	6,50	0,19	1,30	23,4
I7 – Nov.	7,95	390	3,30	9,50	0,20	1,30	10,7
Beaur. – Nov.	8,15	600	2,9	8,3	<LQ	1,20	13,4

Station	pH à 20°C	Conductivité à 25°C (µS.cm^{-1})	COD (mg.L^{-1})	O_2 dissous (mg.L^{-1})	NH_4^+ (mg.L^{-1})	Turbidité (NTU)	Température de l'eau (°C)
LQ	-	-	0,5	-	1	0,5	-
Slt. – Mai	7,64	1602	29,3	nm	10	27,2	
Slt. – Juin	6,98	982	9,3	nm	9,933	4,6	
Slt. – Sept.	7,2	1180	7,9	nm	<LQ	nm	
Slt. - Nov	7,2	1185	8	nm	9	3,3	
Trél. – Mai	7,74	1195	9,6	nm	<LQ	1,49	
Trél – Juin	7,17	968	7,7	nm	<LQ	0,7	
Trél. – Sept.	7,2	1110	7,3	nm	<LQ	nm	
Trél. - Nov	7,2	1235	7,7	nm	1	1,5	

nm : non mesuré
<LQ : inférieur à la limite de quantification

ANNEXE 7

Publication

Quantitative on-line preconcentration – liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method for the determination of pharmaceutical compounds in surface waters

Salima Idder[1,2,3], Laurent Ley[1*], Patrick Mazellier[2,3], Hélène Budzinski[2,3]

[1]Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de la Dordogne, F-24660 Coulounieix Chamiers, France
[2]Univ. Bordeaux, EPOC, Laboratoire de Physico et Toxico Chimie de l'Environnement, UMR 5805, F-33400 Talence, France
[3] CNRS, EPOC, UMR 5805, F-33400 Talence, France

À soumettre dans Journal of Chromatography A.

Abstract :
One of the current environmental issues concerns the presence and fate of pharmaceuticals in water bodies as these compounds may represent a potential environmental problem. The characterization of pharmaceutical contamination requires powerful analytical method able to quantify these pollutants at very low concentration (few $ng.L^{-1}$).
In this work, a multi-residue analytical methodology (on-line solid phase extraction - liquid chromatography - triple quadrupole mass spectrometry using positive and negative electrospray ionisation) has been developed and validated for 40 multi-class pharmaceuticals and metabolites for tap and surface waters. This method included several therapeutic classes as lipid regulators, antibiotics, β-blockers, non-steroidal anti-inflammatories, anticancer drugs, etc. The extraction step has been performed on-line with a sample volume of 1 mL. Quantification has been achieved with the internal standards method. The limits of detection are between 0.7 - 15 $ng.L^{-1}$ for drinking waters and 2 – 15 $ng.L^{-1}$ for surface waters. The inter-day precision values are below 20% for each level studied.
The improvement and strength of the analytical method has been verified along a monitoring of these 40 pharmaceuticals in Isle river, a French stream located in the South West of France. During this survey, 16 pharmaceutical compounds have been quantified.

Keywords : on-line preconcentration, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS), multi-residue analysis, pharmaceuticals, water analysis, environment

1. Introduction

Because of a continuous increasing consumption of pharmaceuticals, the problem of their presence in the environment and more particularly in water bodies is a serious environmental issue in France, and on wider scale, in developed countries. Most of pharmaceuticals are used for several decades but scientific studies dealing with this problem have been published in the last 15 years mainly because of the increase of analytical methodology performance [1-3]. The toxicity of these molecules, initially designed with biological effects for people or animals, may have a chronic impact on aquatic living organisms. Actually, the continuous presence of pharmaceuticals in water bodies even at very low concentration, can lead unwanted biological effects on not target species [4]. Pharmaceuticals are continuously released in natural waters via wastewater treatment plants but also hospitals, industrials, households and farming [5]. It is therefore of great concerns

to try broaden the current knowledge and to determine the impact of pharmaceuticals pollution on the environment.

Several surveys highlight the occurrence of pharmaceutical residues in the aquatic and terrestrial compartments [6,7 for example]. The low concentrations usually determined in natural waters require the development of sensitive analytical methodologies, adapted to environmental matrices able to quantify pharmaceuticals at $ng.L^{-1}$ level or less. Analytical methods mainly consist in multi-residue methods, with mass spectrometry hyphenated chromatographic techniques (gas [8-11] or liquid [12-16]). An extraction-concentration step is necessary prior to the chromatographic analysis. Nowadays, the extraction step is commonly performed with an off-line solid phase extraction procedure to be specific and sensitive enough. However, more recently, the development of on-line solid phase extraction with new commercially available apparatus has been proposed [20,26].

Two different approaches of on-line extraction have been described in the literature. The first set consists in small columns that can be used several times and the second one is similar to off-line usual solid phase extraction with single use cartridges [17]. This technique was firstly applied for pesticides in waters [18,19] and recently extended for pharmaceuticals. On-line methods have initially been developed for the quantification of few compounds (<10) [20-22]. With further development, methods have been proposed for multi-class analysis [23-25]. By comparison with off-line solid phase extraction, these methods are less time consuming and require a lower volume of sample. On-line methods are therefore financially more attractive than off-line methods as demonstrated Trenhold et al. [26]. However, matrix effect can be higher by using on-line methods than off-line solid phase extraction because on-line methods are less flexible.

The aim of this work is to develop and to validate a sensitive and specific multi-residue method using on-line preconcentration - liquid chromatography – tandem mass spectrometry. Our method has been validated for 40 pharmaceuticals from different therapeutic groups in tap and surface waters. The method will therefore be applied to large-scale surveys.

2. Experimental

2.1. Materials and reagents

Pharmaceutical standards (purity > 97%) were purchased from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) excepted for monensin provided by Fischer Scientific France (Waltham, MA, USA). Quality control (QC) solution was supplied by Cluzeau Info Labo (Sainte-Foy-la-Grande, France). Isotopically labelled compounds were purchased from C/D/N Isotopes (Quebec, Canada) excepted for chloramphenicol *d5* and sulfamethoxazole *d4* which were from Dr Ehrenstorfer (Augsburg, Germany) and acetaminophen *d4* from LGC Promochem (Teddington, UK). Formic acid was obtained from J.T. Backer (Mansfield, MA, USA). Solvent used for mobile phase were supplied by Carlo Erba (LC-MS grade, Val de Reuil, France). Purified water, with a resistivity of 18 MΩ.cm and a DOC value less that 0.1 $mg.L^{-1}$, was obtained with a Milli-Q system (Billerica, MA, USA). Glass fiber filter (1µm) was manufactured by Macherey-Nagel (Düren, Germany). Mineral water Evian® has been used for method development and preparation of QC and standard calibration.

2.2. Solutions

Individual stock standard solutions were prepared in methanol excepted oxolinic acid which was prepared in methanol and 5% NaOH (0.1 M). Stock solutions were stored at -22°C ± 4°C. Erythromycin-H_2O was prepared as suggested by Mc Ardell et al. [27].

Working solutions (1 $mg.L^{-1}$) were prepared monthly in acetonitrile and stored at -22°C ± 4°C.

2.3. On-line preconcentration

An on-line preconcentration system EQuan MAX developed by Thermo Fisher Scientific (Waltham, MY, USA) was used. In a first step, the sample was loaded on a capture column (Fig. 1a). Analytes are expected to be retained and non-target material is expected to go to waste. The loading of the sample is performed with a first LC pump (LC Surveyor Plus, Thermo Fisher Scientific). The second step consists in the elution of retained analytes with the second LC pump (MS pump - Accela UHPLC, Thermo Fisher Scientific). The elution was carried out by back flushing with the gradient of elution optimised for the chromatographic separation (Fig. 1b). When the elution finished, the valve commutes to recondition the capture column for the following injection.

The on-line preconcentration in positive ionization mode requires the column Strata-X (20 mm x 2.0 mm, 21µm) from Phenomenex (Torrance, CA, USA). During the on-line preconcentration step, the sample is loaded with 100 % of aqueous phase acidified with 0.05 % HCO_2H during 4 min (pump flow rate: 0.75 $mL.min^{-1}$) to keep the column in the same conditions than the elution solvent.

For the negative ionization mode, the column is a Hypersil Gold C18 (20 mm x 2.1 mm, 12µm) supplied by Thermo Fisher Scientific (Waltham, MY, USA). The sample is loaded with 100 % of an aqueous phase during 4 min (pump flow rate: 0.75 $mL.min^{-1}$).

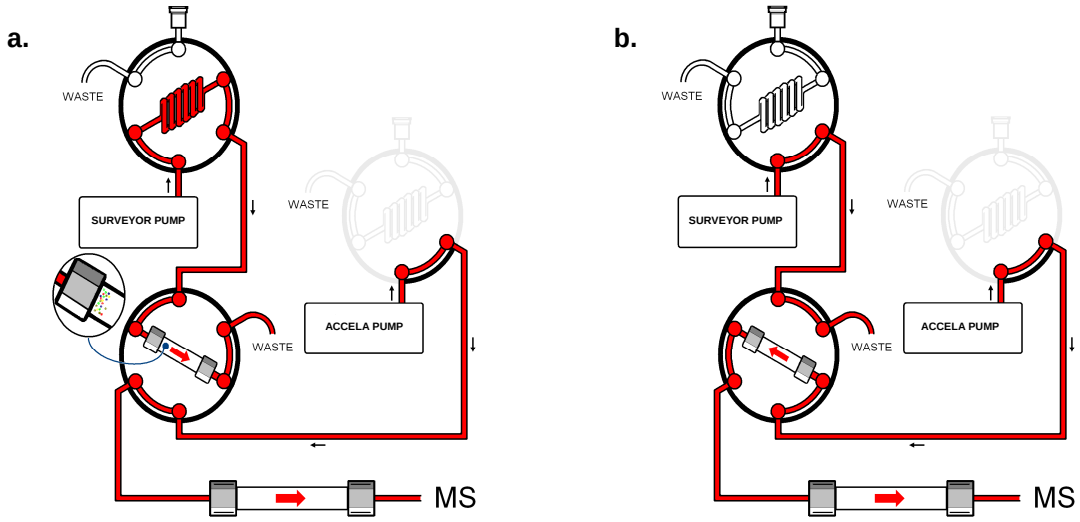


Figure 1. The two main steps of the EQUAN MAX system: (a.) sample load step and (b.) elution step (scheme adapted from Thermo Fisher Scientific).

2.4. Liquid Chromatography – tandem Mass Spectrometry analysis (LC-MS/MS)

The chromatographic part was an Accela UHPLC system from Thermo Fisher Scientific (Waltham, MY, the USA) equipped with an automatic sampler HTC PAL for Accela HPLC system (Waltham, MY, the USA).

For positive and negative ionization modes (ESI + and ESI-), the chromatographic separations were carried out with Hypersil Gold C18 columns (150 mm x 2.1, 3µm for ESI+ and 100 mm x 2.1 mm, 3µm for ESI-) from Thermo Fisher Scientific (Waltham, MY, the USA). The solvent A was purified water and the solvent B was acetonitrile, both being acidified with 0.05 v/v of formic acid only for ESI+. The flow rate was 300 $\mu L.min^{-1}$. Table 1 presents the elution gradients. The injection volume in ESI + and ESI- was 1 mL.

Table 1. Elution gradient parameters for (a.) the negative mode and (b.) the positive mode.

a.

ESI-			
Time (min)	Flow (µL.min^{-1})	% A	% B
0	300	80	20
4	300	80	20
11	300	10	90
14	300	10	90
14.5	300	80	20
20	300	80	20

b.

ESI+			
Time (min)	Flow (µL.min^{-1})	% A	% B
0	300	95	5
4	300	95	5
6	300	70	30
16	300	5	95
20	300	5	95
20.5	300	95	5
28	300	95	5

The detection was achieved with a tandem mass spectrometer TSQ Vantage from Thermo Fisher Scientific (Waltham, MY, USA) with a triple quadrupole analyzer. Electrospray ionization in positive and negative mode was used (H-ESI II probe). Source parameters and transitions were optimised for each compound by infusing standard solutions of individual compounds at 1 mg.L^{-1}. The source parameters for both positive and negative ionization mode are gathered in Table 2.

Table 2. Ionization parameters for the negative and positive mode.

	ESI-	ESI+
Spray voltage	3000 V	3500 V
Sheath gas	35 au	40 au
Auxiliary gas	15 au	10 au
Sweep gas	0,5 au	0,5 au
Capillarity temperature	350°C	350°C
Vaporization temperature	250°C	100°C
Collision gas pressure	1 mTorr	1.5 mTorr

au: arbitrary unit

The S-Lens values and collision energy have been individually determined for each compound during the infusion step (Table 3). The detection and quantification of analytes have been made in SRM mode (Selected Reaction Monitoring). The selected transitions were the most intense and the most repeatable in river waters (matrix). Two SRM transitions have been chosen when possible excepted for internal standards. To verify the specificity of our method, ions ratios were accepted only when variations fitted with criteria established by the European Commission Direction 2002/657/EC directive [28].

Table 3. Retention times (r.t.), SRM transitions and mass parameters for each compound.

Compounds	Precursor ion (m/z)	r.t. (min)	Quantification transition ion product (m/z)	Collision energy (eV)	Confirmation transition ion product (m/z)	Collision energy (eV)	S-Lens	Internal standard
				Negative mode				
Furosemide	328.9	7.8	328.9 - 205.0	23	328.9 - 126.0	36	101	Ketoprofen d3
Chloramphenicol	320.9	8	320.9 - 152.0	16	320.9 - 257.0	13	95	Chloramphenicol d5
Chloramphenicol d5	328.0	8	328.0 - 157.0	19			77	
Pravastatin	423.1	8.2	423.1 - 321.1	12	423.1 - 303.1	15	113	Ketoprofen d3
4-chlorobenzoic acid	155.0	8.5	155.0 - 111.1	15			55	Ketoprofen d3
Bezafibrate	360.0	8.9	360.0 - 274.1	20	360.0 - 154.0	30	87	Ketoprofen d3
Naproxen	229.0	9.5	229.0 - 169.1	37	229.0 - 185.1	8	35	Diclofenac d4
Ketoprofen d3	256.1	9.6	256.1 - 212.2	10			38	
Diclofenac	293.9	10.5	293.9 - 250.0	14	293.9 - 214.1	23	59	Diclofenac d4
Diclofenac d4	300.0	10.5	300.0 - 256.1	12			72	
Ibuprofen	205.0	10.8	205.0 - 161.1	8			30	Ibuprofen d3
Ibuprofen d3	208.1	10.8	208.1 - 164.2	8			39	
Gemfibrozil	249.1	11.3	249.1 - 121.1	16	249.1 - 127.1	15	64	Gemfibrozil d6
Gemfibrozil d6	255.2	11.3	255.2 - 121.1	19			65	
				Positive mode				
Atenolol	267.1	7.9	267.1 - 145.1	25	267.1 - 190.2	18	83	Aténolol d7
Aténolol d7	274.2	7.9	274.2 - 145.1	28			96	
Ranitidine	315.1	7.9	315.1 - 130.1	25	315.1 - 176.1	17	74	Sulfamethoxazole d4
Acetaminophen	152.1	8.2	152.1 - 110.1	16	152.1 - 93.1	23	54	Acetaminophen d4
Acetaminophen d4	156.1	8.2	156.1 - 114.2	17			54	
Norfloxacin	320.2	8.6	320.2 - 276.2	15	320.2 - 233.2	22	91	Norfloxacin d5
Norfloxacin d5	325.1	8.6	325.1 - 281.2	17			90	Sulfamethoxazole d4
Ofloxacin	362.2	8.6	362.2 - 318.3	17	362.2 - 261.2	26	90	Sulfamethoxazole d4
Trimethoprim	291.1	8.6	291.1 - 230.2	22	291.1 - 261.2	24	102	Sulfamethoxazole d4
Enrofloxacin	360.2	8.8	360.2 - 316.3	17	360.2 - 245.2	25	114	Sulfamethoxazole d4
Sulfadiazine	251.0	8.8	251.0 - 156.1	14	251.0 - 92.1	22	78	Sulfamethoxazole d4
Sulfamethazine	279.1	9.9	279.1 - 186.1	17	279.1 - 124.1	24	98	Norfloxacin d5
Ifosfamide	261.1	9.9	261.1 - 154.1	22	261.1 - 92.1	27	83	Carbamazepine d10
10,11-epoxycarbamazepine	253.1	10.0	253.1 - 180.2	29	253.1 - 236.2	11	64	Sulfamethoxazole d4
Cyclophosphamide	261.1	10.0	261.1 - 140.1	21	261.1 - 142.1	20	83	Carbamazepine d10
Erythromycin	734.6	10.0	734.6 - 158.1	30	734.6 - 576.6	16	131	Sulfamethoxazole d4
Propranolol	260.2	10.0	260.2 - 116.2	17	260.2 - 183.2	22	90	Sulfamethoxazole d4
Oxolinic acid	262.1	10.1	262.1 - 244.2	17	262.1 - 216.1	28	96	Sulfamethoxazole d4
Sulfamethoxazole	254.1	10.1	254.1 - 156.1	16	254.1 - 92.1	28	67	Sulfamethoxazole d4

Sulfamethoxazole d4	258.1	10.1	258.1 - 160.1	17			76	
Bromazepam	316.0	10.3	316.0 - 182.2	32	316.0 - 209.2	26	87	Sulfamethoxazole d4
Erythromycin-H_2O	716.5	10.6	716.5 - 158.1	30	716.5 - 558.5	13	105	Ketoprofen d3
Clarithromycin	748.5	10.8	748.5 - 158.1	28	748.5 - 590.6	17	139	Carbamazepine d10
Carbamazepine	237.1	11.0	237.1 - 194.2	19	237.1 - 193.2	32	85	Carbamazepine d10
Carbamazepine d10	247.2	11.0	247.2 - 204.2	22			80	
Flumequine	262.1	11.4	262.1 - 244.2	18	262.1 - 202.1	32	104	Sulfamethoxazole d4
Oxazepam	287.0	11.4	287.0 - 241.2	21	287.0 - 269.2	13	95	Oxazepam d6
Oxazepam d6	292.1	11.4	292.1 - 246.1	23			71	
Clotrimazole	277.0	11.5	277.0 - 165.2	26	277.0 - 239.2	49	85	Carbamazepine d10
Lorazepam	321.1	11.6	321.1 - 275.1	21	321.1 - 229.1	29	97	Diclofenac d4
Alprazolam	309.1	11.6	309.1 - 281.2	25	309.1 - 205.2	40	115	Diclofenac d4
Bezafibrate	362.2	12.5	362.2 - 316.2	13	362.2 - 139.0	27	82	Ketoprofen d3
Ketoprofen	255.2	12.5	255.2 - 209.2	14	255.2 - 105.1	26	67	Ketoprofen d3
Ketoprofen d3	258.1	12.5	258.1 - 212.2	13			76	
Diazepam	285.0	12.7	285.0 - 193.2	32	285.0 - 154.1	26	107	Diclofenac d4
Testosterone	289.2	12.7	289.2 - 97.1	23	289.2 - 109.1	25	91	Diclofenac d4
Diclofenac	296.1	14.0	296.1 - 214.1	32	296.1 - 215.1	19	70	Diclofenac d4
Diclofenac d4	300.1	14.0	300.1 - 218.1	35			72	
Progesterone	315.2	15.0	315.2 - 97.1	33	315.2 - 109.1	23	81	Diclofenac d4
Fenofibrate	361.2	16.8	361.2 - 233.1	16	361.2 - 139.0	30	82	Diclofenac d4
Monensin	693.5	19.7	693.5 - 479.5	51	693.5 - 461.4	50	158	Diclofenac d4

2.5. Quality Control

The quality insurance consisted of three different procedures. Firstly, a verification of the limits of quantification (LOQ) at the end of each samples series has been performed to verify the absence of sensitivity loss. Secondly, two quality control samples (QC) spiked at 100 ng.L^{-1} with an independent solution from the calibration mixture were analyzed. The first QC consists in a spiking in the same matrix as the water used for calibration. In this way, the accuracy of the calibration range can be verified. The second QC consists to spike randomly some real samples (e.g. surface water) to verify the method recoveries. These latter QC were analyzed every 10 samples. In addition, a samples series systematically contained method blanks (every five injections) and instrumental blanks (every thirty injections). Matrix effects have been corrected by the use internal standards. For compounds not being corrected by internal standard, standard additions have been performed in case of positive result.
Diclofenac and bezafibrate were analyzed both in negative and positive modes. This allows a cross validation of some results (only the ionization mode with the better LOQ was indicated here). The analysis of ketoprofen was possible in negative and positive mode. The latter was used for quantification because two transitions could be used.

2.6. Sample preparation

The optimization method was performed with surface water samples resulting from various streams of the French department of Dordogne as well as various tap waters. Samples were collected in amber glass bottles calcined at 550°C during 2 hours and filtered on glass fiber filter after reception for the analysis of the dissolved phase. The pH of samples was adjusted to pH 3 before analysis in negative mode to insure a better retention of acid compounds. No pH adjustment was performed for positive mode analysis. The internal standards were added before injection. Addition of 1 mL of sodium thiosulfate solution (final concentration about 60 mg.L^{-1}) has been performed for tap water samples. Samples were analyzed within 48 hours.

2.7. Matrix effects

The effects of matrix on compounds signal (suppression or enhancement) have been quantified with the following formula:

$$ME(\%) = \left(\frac{S_m - S_{m0}}{S_{mw}} - 1 \right) \times 100 \quad (1)$$

Where S_m matchs to the signal (peak area) obtained in the studied matrix spiked at a known concentration level, S_{m0} corresponds to the signal in the unspiked studied matrix and S_{mw} in the signal obtained in a mineral water (Evian®) spiked at the same known level concentration as the studied matrix spiked. This mineral water has also been used for the calibration curve.
Matrix effects have been studied at two concentration levels (50 and 150 ng.L^{-1}, n=3) included of course in the linearity domain.

2.8. Method validation

Both methods (ESI + and ESI-) have been validated according to French validation guidelines NF T90-210 for water physico-chemical analysis [29]. Several water matrices were used for validation: either surface waters or tap waters. For these various water samples, the physico-chemical parameters ranges varied as follows: 6.5 < pH < 8.3, 2 < Suspended Solids (SS) < 16 mg.L^{-1}; 2.2 < Dissolved Organic Carbon < 8.3 mg. L^{-1}, 105 < conductivity < 655 µS.cm^{-1}.
The linearity ranged between 1 ng.L^{-1} (for the most sensitive compounds) and 200 ng.L^{-1}.

The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) have been determined (with a signal to noise ratio of 3 and 10, respectively, both using the confirmation ion to decrease uncertainty) and verified in surface and tap waters by spiking some samples at LOQ or LOD levels. The method accuracy has been determined with method recovery (MR) at two levels of concentration: 50 ng.L^{-1} and 150 ng.L^{-1} by using

$$MR(\%) = \left(\frac{C_{theoretical} - C_{measured}}{C_{theoretical}} \right) \times 100 \quad (2)$$

where $C_{theoretical}$ is the real value of the spike in the studied matrix and $C_{measured}$ is the experimentally determined concentration of the spiked matrix.

First, uncertainty has been determined on 3 levels of concentrations for each compound: at the LOQ, at 50 ng.L^{-1} and at 150 ng.L^{-1}. The method uncertainty has then been refined by the realization of control cards of the QC. The method has been validated during one year.

3. Results and discussion

3.1. On-line preconcentration optimization

3.1.1. Loading time and flow rate of the preconcentration step

For the development of on-line preconcentration, the optimal loading conditions of the sample have to be determined in a first step. Indeed, the nature of the solvent, the loading time and flow rate will influence the retention of analytes onto the preconcentration column. It is also necessary to ensure a higher retention of compounds and to avoid an early desorption of analytes. Purified water, without any organic solvent, was used as carrier solvent to insure a better retention of more polar compounds.

Flow rate and loading time optimization has been performed with a surface water spiked at 100 ng.L^{-1} (n=3). Based on previous results, the following combinations were tested: 0.75 mL.min^{-1} (loading time: 4 min), 1 mL.min^{-1} (loading time: 3 min) and 1.5 mL.min^{-1} (loading time: 2 min).

For the negative mode (Fig. 2a), a quite strong influence of loading parameters was observed for bezafibrate and furosemide. For these two analytes, a lower flow rate gave the higher signal. A similar trend was observed for the positive mode (Fig. 2b), especially for flumequine or oxolinic acid. Hence, for the negative and positive modes, the loading flow rate has been set to 0.75 mL.min^{-1}. With this value, the loading time of 4 min allowed to empty the 1 mL - sample of the injection valve and also to rinse the preconcentration column with an aqueous phase.

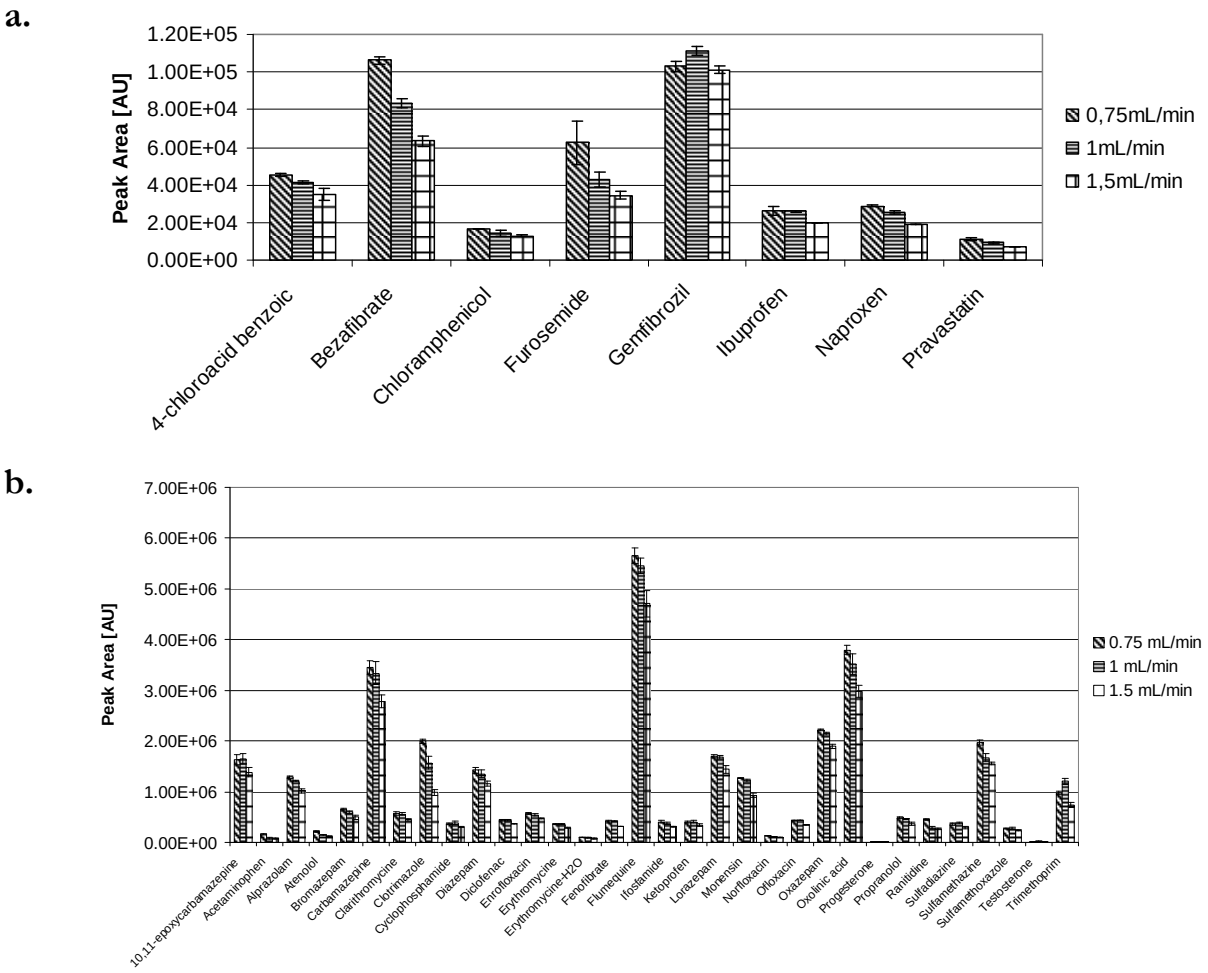


Figure 2. Comparison of three sample flow loads of a surface water at 100 ng.L^{-1} in negative (a.) and positive (b.) mode.

3.1.2. Recoveries

Raw recoveries were determined in Evian® water, at low and high levels of calibration range (50 and 150 ng.L^{-1}). A comparison has been done between direct injection and injection with the on-line concentration system, both modes corresponding to an identical injected quantity of analytes. Evian® water was preferred to purified water. Actually, adsorption phenomenon onto glassware was observed for some antibiotics. This adsorption can account for low extraction recoveries according to the matrix studied. Some publications have shown that the presence of organic matter and cations can prevent the adsorption of antibiotics onto glassware [30,31]. Moreover, Evian® water has a constant mineral composition quite close than those of the majority of water samples analyzed in this work.

For negative and positive mode, the raw recoveries are between 90 and 120% (Fig. 3) excepted for fluoroquinolones antibiotics, acetaminophen and trimethoprim with recoveries between 70 and 80%. However, most compounds have been a raw recovery between 80 and 120%. Therefore, the use of on-line system is compatible with environmental analytical application.

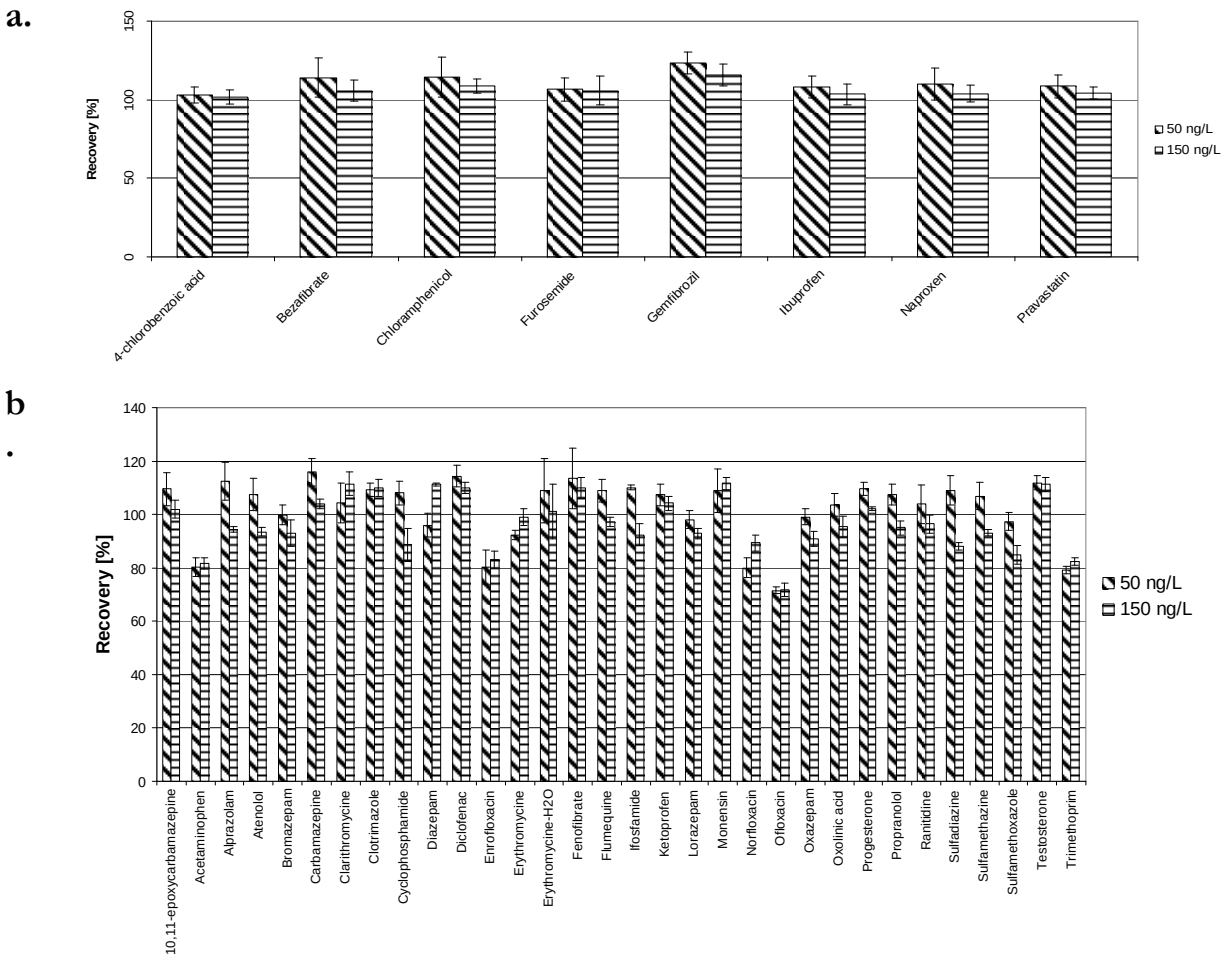


Figure 3. Raw recoveries between direct injection and on-line preconcentration in a mineral water for (a.) negative mode and (b.) positive mode.

3.1.3. Matrix effects

The matrix effect is a classical phenomenon which can be very important in liquid chromatography coupled with mass spectrometry because of the ionisation process. This phenomenon has widely been documented in literature especially with wastewaters. It is characterized by an enhancement or an inhibition of compound signal [14,16,32,33]. Various methods can be used to correctly deal with this effect like standard additions or internal calibration. The use of isotopically labelled internal standards is the most popular corrections methods for LC-MS/MS analyses.

In this work, matrix effects have been quantified by a comparison between Evian® water and one surface water (Fig. 4) and one tap water (Fig. 5), all being spiked at 2 levels of concentration (50 and 150 ng.L^{-1}). The study of matrix effects at higher concentrations than 200 ng.L^{-1} was not considered since a dilution of such samples will be preferred to bring recover a highest concentration in the validated range (0 - 200 ng.L^{-1}). Additionally, dilution also reduces matrix effects as illustrated by Gros *et al.* [12].

The results showed that matrix effect (ME) remained of minor importance for tap and surface waters (between 20 and -20%) for the majority of analytes. However, in surface waters, oxolinic acid and flumequine showed a signal enhancement of more than 70 % and 40 % respectively (positive mode) and chloramphenicol a signal extinction of about -25 % (negative mode). Except for some exceptions, matrix effects are between -30 and 30% which indicate the developed methods do not lead to significant enhancement or inhibition signal.

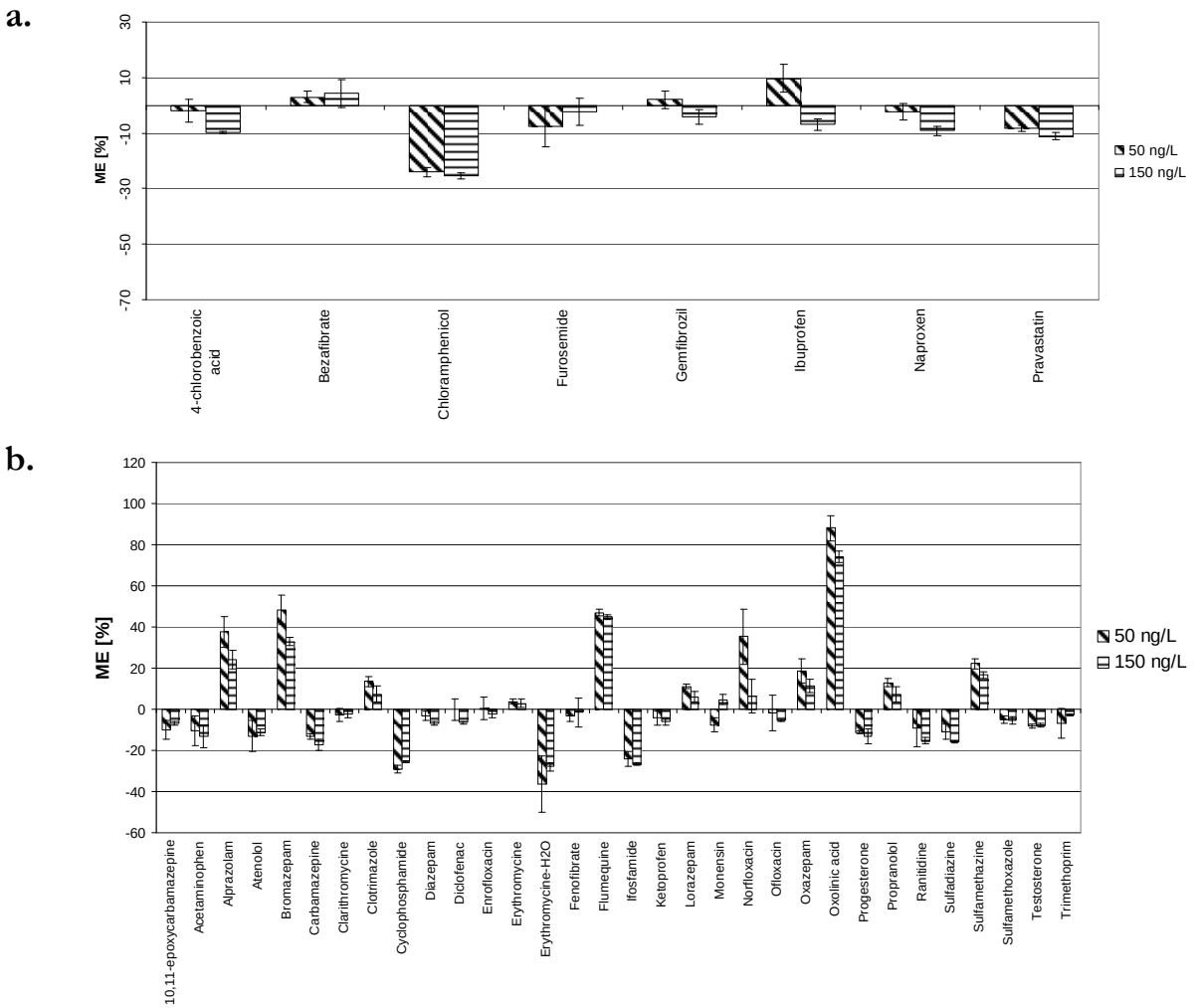


Figure 4. Determination of matrix effects at two concentration levels in (a.) negative mode and (b.) positive mode in one surface water.

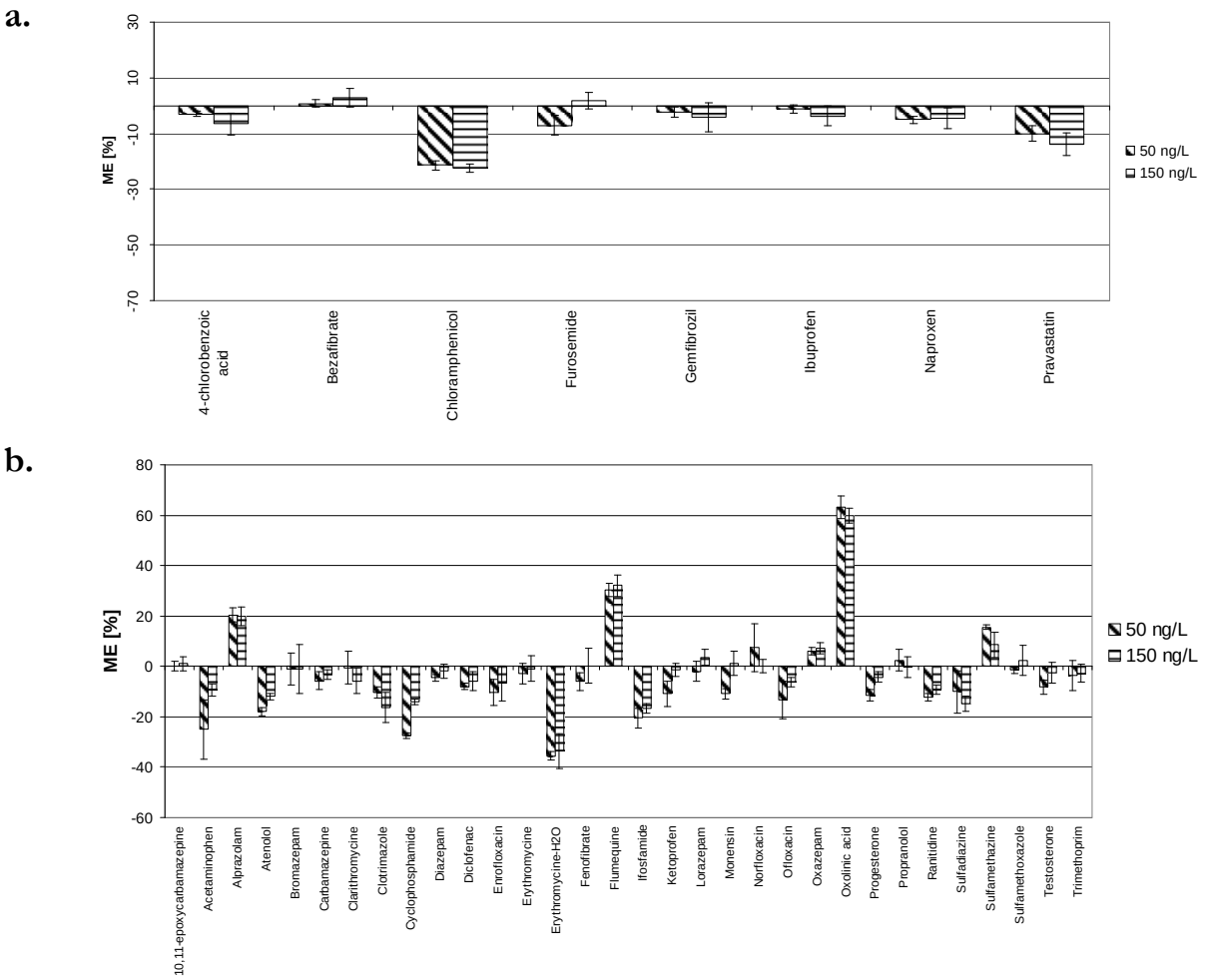


Figure 5. Determination of matrix effects at two concentration levels in (a.) negative mode and (b.) positive mode in one tap water

3.2. Method validation and performance

As previously mentioned, the method validation was carried out according to the French guideline NF T90-210 [29]. A validation requires the determination of linearity, limits of quantification, precision, accuracy and uncertainty.

3.2.1. Linearity

The range of linearity has been considered according to a verification approach with regards to a maximum acceptable deviation. This corresponds to the maximum deviation defined by the laboratory for each calibration levels. The acceptable deviation is set for each level within the range. For each compound, a maximum bias (MB) has been defined as follows: from 1 to 20 $ng.L^{-1}$, MB= ±30%; from 40 to 100 $ng.L^{-1}$, MB=±20%; from 150 to 200 $ng.L^{-1}$, MB=±10%. The maximum acceptable deviation approach of the calibration was used concomitantly to the correlation coefficient (r^2). Actually, using r^2 with the regression coefficient may be a source of relative errors because of different weighting calibration curve levels. On a wide range of linearity, if the calibration curve is weighted on the low levels of calibration, high levels of calibration may not systematically be accurate even with a r^2 value higher than 0.99. The reverse is also true. The r^2 values obtained for each analytes are gathered in Table 2. The coefficients of correlation have been determined from an extracted calibration (between 1 and 250 $ng.L^{-1}$) realized in quintuplicate (n=5) during different days. An example of the maximum acceptable deviation (MAD) use is presented in Fig. 6, together with the results of analyses and the calculated bias. If all biases are acceptable (lower than the maximum acceptable deviation) then the calibration curve is accepted otherwise the calibration cannot be used.

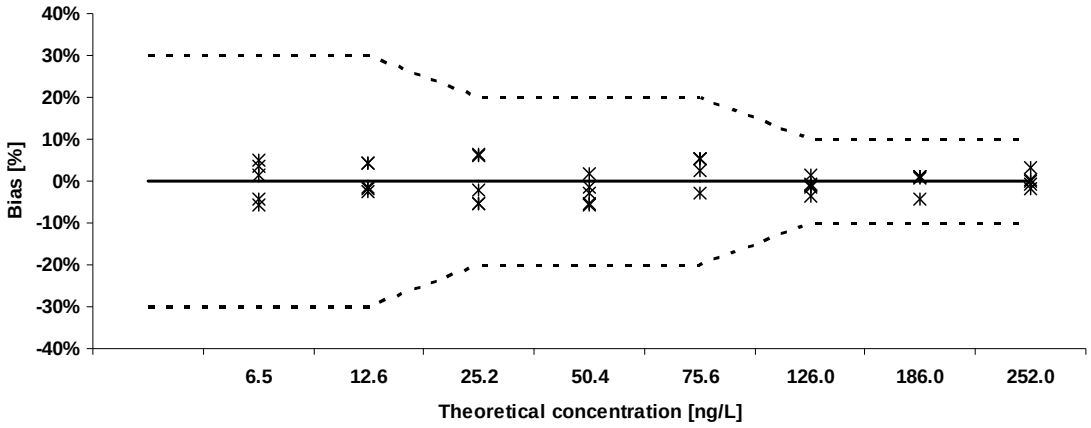


Figure 6. Linearity study of ibuprofen. Bias distribution according to the calibration levels with regard to uncertainty accepted by the laboratory. Dash lines represent the Maximum Acceptable Deviation.

3.2.2. Limits of detection and quantification

Limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) have been determined by spiking various waters with different physico-chemical properties at different levels of concentration by using the confirmation transition (worth case) for each analytes. The chosen levels for LOQ and LOD calculations showed a signal to noise ratio ≥ 3 for LOD and ≥ 10 for LOQ. The LOD and LOQ have been further verified in surface and tap waters under repeatability (n=2) and intermediate precision (n=5) conditions. The values are gathered in Table 4.

LOD values have been determined by using the confirmation transition. Accordingly, these methods can achieve LOQ compatible with the environmental analysis. The highest LOQ has been obtained for acetaminophen (50 $ng.L^{-1}$) certainly because of a lack of efficiency of the retention onto the SPE cartridge due to its polarity ($logK_{ow}$ 0.46 [12]). Lower LOQ could have been obtained for some compounds by using the quantification transition (as often done). Although a lower sensitivity has been obtained for some analytes, the analytical method has a better robustness by this way (Fig. 7).

Statistical tests (Grubbs and Cochran) were carried out for the validation of the LOQ to study the homogeneity of variances and means as well as the effect of the changes of conditions on validation data. Grubbs' test determines the value which indicates the largest absolute deviation from the mean and Cochran's test can detect the outliers' variance.

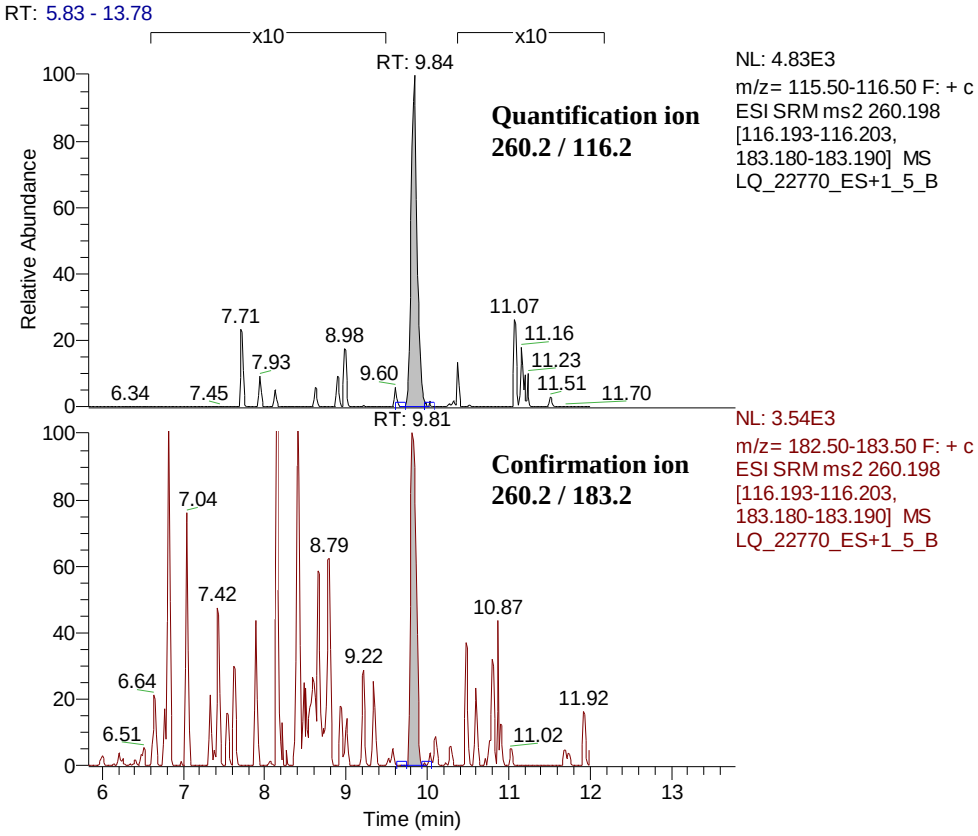


Figure 7. Quantification of propranolol (positive mode) in a surface water at 5 ng.L^{-1} (LOQ). Noise has been multiplied by 10.

Table 4. Coefficient of determination (r^2), limits of detection LOD and quantification LOQ (ng.L^{-1}) in tap and surface waters.

		Tap water		Surface water	
Compounds	**r² (n=5)**				
		LOQ (ng.L^{-1})	**LOD (ng.L^{-1})**	**LOQ (ng.L^{-1})**	**LOD (ng.L^{-1})**
			Negative mode		
4-chlorobenzoic acid	0.9978	11	4	21	6
Bezafibrate	0.9978	5	2	5	2
Chloramphenicol	0.9969	11	4	21	7
Furosemide	0.9975	6	2	11	3
Gemfibrozil	0.9990	11	4	11	4
Ibuprofen	0.9990	7	3	13	4
Naproxen	0.9966	21	7	21	7
Pravastatin	0.9966	10	3	20	5
			Positive mode		
10,11-epoxycarbamazepine	0.9971	6	2	11	4
Acetaminophen	0.9922	50	15	50	15
Alprazolam	0.9983	5	2	5	2
Atenolol	0.9977	5	2	10	3
Bromazepam	0.9970	6	2	6	2
Carbamazepine	0.9979	5	2	5	2
Clarithromycin	0.9980	6	2	6	2
Clotrimazole	0.9976	6	2	6	2
Cyclophosphamide	0.9972	6	2	11	4
Diazepam	0.9986	2	0.7	6	2
Diclofenac	0.9974	6	2	6	2
Enrofloxacin	0.9963	11	4	11	4

Erythromycin	0.9969	6	2	6	2
Erythromycin-H_2O	0.9949	11	4	11	4
Fenofibrate	0.9974	11	4	6	2
Flumequine	0.9989	6	2	6	2
Ifosfamide	0.9967	6	2	11	4
Ketoprofen	0.9990	13	4	13	4
Lorazepam	0.9973	9	3	9	3
Monensin	0.9965	6	2	5	2
Norfloxacin	0.9957	21	7	21	7
Ofloxacin	0.9973	6	2	6	2
Oxazepam	0.9978	5	2	10	3
Oxolinic acid	0.9977	6	2	6	
Progesterone	0.9984	10	3	10	3
Propranolol	0.9965	5	2	5	2
Ranitidine	0.9956	10	3	20	7
Sulfadiazine	0.9969	12	4	12	4
Sulfamethazine	0.9948	11	4	11	4
Sulfamethoxazole	0.9981	11	4	11	4
Testosterone	0.9962	7	3	13	4
Trimethoprim	0.9975	2	0.7	6	2

3.2.3. Method accuracy and precision

The method recoveries have been determined at 50 ng.L^{-1} (low concentration) and 150 ng.L^{-1} (high concentration) in conditions of repeatability (n=2) and intermediate precision (n=5) for surface waters. The matrix effects have been studied only for surface waters since they are expected to be lower in tap water. The recoveries have been determined by using internal standards correction and a calibration curve obtained with on-line extraction. The overall results are presented in Table 5. They show that the method correctly take into account the various matrix effects (those resulting from the on-line extraction and those from the ionization step).
For the surface waters, a bias was observed in the case of pravastatin with an average recovery of 78.6 % at 50 ng.L^{-1} and 85.2 % at 150 ng.L^{-1}. For oxolinic acid, as described earlier, a signal enhancement has been observed with an average recovery of 130.5 % at 50 ng.L^{-1} and 115.9 % at 150 ng.L^{-1}. For a better accuracy, a standard addition would be required if samples are positive. However, we can consider that these results are largely acceptable for environmental determinations.

Table 5. Accuracy (mean value) at 50 and 150 ng.L^{-1} and precision (RSD) in surface waters.

Compounds	Surface Water	
	Recoveries % at 50 ng.L^{-1} (RSD %)	Recoveries % at 150 ng.L^{-1} (RSD%)
	Negative mode	
4-chlorobenzoic acid	90.6 (15.6)	102.2 (13.8)
Bezafibrate	93.4 (12)	94.5 (12.8)
Chloramphenicol	103.2 (11.4)	110.7 (6.9)
Furosemide	100.6 (11)	99.2 (10.1)
Gemfibrozil	96.8 (12.4)	95.6 (9.8)
Ibuprofen	95.7 (11.4)	93.7 (9.2)
Naproxen	92.2 (12.8)	94.1 (9.6)
Pravastatin	78.6 (15)	85.2 (12.5)
	Positive mode	
10,11-epoxycarbamazepine	97.3 (12.6)	97.6 (15.3)
Acetaminophen	97.3 (12.3)	96.9 (14.5)
Alprazolam	106.7 (8.8)	104.5 (8.6)
Atenolol	97.4 (14.1)	96.2 (10.9)
Bromazepam	101.4 (14.5)	101.3 (13.4)
Carbamazepine	95.9 (15.6)	94.2 (14.2)

Clarithromycin	95.0 (12.1)	93.0 (10.8)
Clotrimazole	93.3 (12.3)	105.3 (11.0)
Cyclophosphamide	97.3 (13.8)	91.3 (14.0)
Diazepam	98.8 (13.2)	96.6 (12.9)
Diclofenac	98.2 (7.7)	95.3 (10.8)
Enrofloxacin	107.3 (9.6)	95.9 (9.3)
Erythromycin	95.3 (9.1)	98.3 (9.3)
Erythromycin-H_2O	101.3 (8.1)	92.3 (14.5)
Fenofibrate	96.1(10.5)	96.2 (9.5)
Flumequine	104.3 (12.7)	99.5 (14.0)
Ifosfamide	96.7 (14.5)	94.7 (12.8)
Ketoprofen	92.7 (11.6)	98.0 (13.3)
Lorazepam	107.0 (9.4)	102.7 (9.0)
Monensin	97.5 (15.7)	92.7 (9.2)
Norfloxacin	95.4 (10.9)	92.7 (9.2°
Ofloxacin	104.7 (4.6)	100.2 (12.4)
Oxazepam	106.4 (13.4)	98.4 (14.4)
Oxolinic acid	130.5 (12.6)	115.9 (9.1)
Progesterone	98.9 (13.5)	98.3 (13.3)
Propranolol	103.5 (14.2)	102.2 (14.9)
Ranitidine	94.2 (10.0)	100.8 (12.6)
Sulfadiazine	102.5 (13.4)	95.3 (7.1)
Sulfamethazine	103.0 (10.2)	97.1 (10.3)
Sulfamethoxazole	100.7 (12.9)	92.5 (12.1)
Testosterone	101.3 (11.0)	95.0 (11.1)
Trimethoprim	110.0 (11.1)	101.2 (11.2)

3.2.4. Measurement of uncertainty

For organic contaminants in environmental samples analyses at the $ng.L^{-1}$ level, raw measures come along with additive errors which determine the relevance of results.

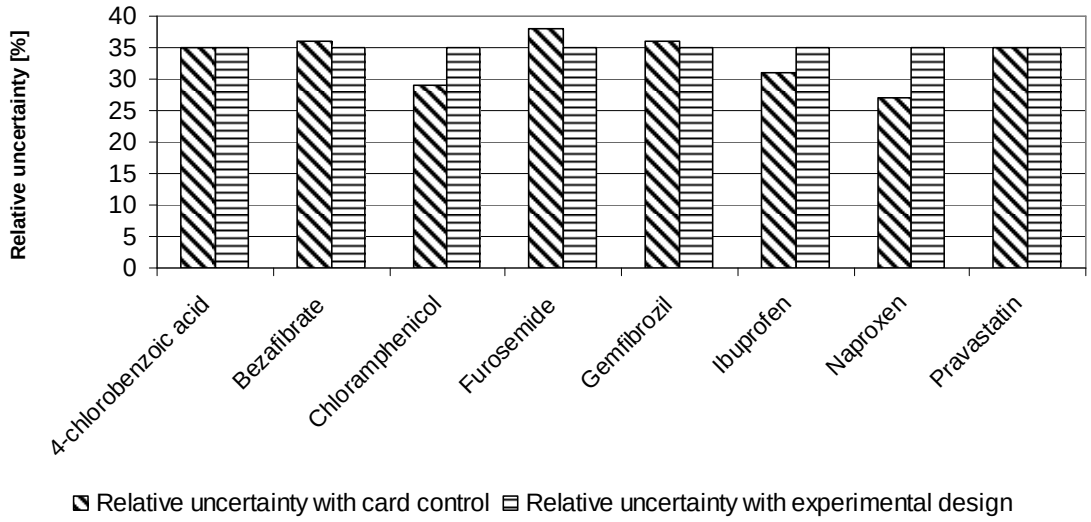
Uncertainty can assess the reliability of a result. It also allows determining a confidence interval. The relative uncertainty for each compound has been identified by two approaches :

- The first one has been to perform a series of analysis evaluating the uncertainty of a real sample (surface water uncontaminated) under repeatability (n=2) and intermediate precision (n=5) conditions. Three levels have been studying: LOQ, 50 $ng.L^{-1}$ and 150 $ng.L^{-1}$.
- The second one has been to achieve a control card from QC spiked at a concentration level in a water reference. In our study, QC have been spike at 100 $ng.L^{-1}$ in Evian® water.

The Fig. 8 shows the results obtained with the two approaches. In the case of the first method, matrix relative uncertainties of 50 % at the LOQ level (not shown in Fig. 8) and of 35 % at 50 and 150 $ng.L^{-1}$ levels can be defined. For the methods using control card, the measurement of uncertainty was performed after studying at least 20 QC.

The uncertainties determined according to both approaches are similar. Higher or lower values (42% for norfloxacin and 21% or 26% for ketoprofen or ofloxacin) have been obtained but remain quite close to the target value of 35%. The approach by control card is more interesting because it takes into account many more analyses and is, in terms of statistical approach, more representative to determine the uncertainty. But one of the limits of control cards use, except the fact that they are only minimizing the uncertainties on the measure, is that they are made at one level: the middle of the domain of linearity (100 $ng.L^{-1}$). However, it remains an interesting tool which enables us to measure over a long period and with more values (compared with the series of analyse approach) the measurement of uncertainty.

a.



b.

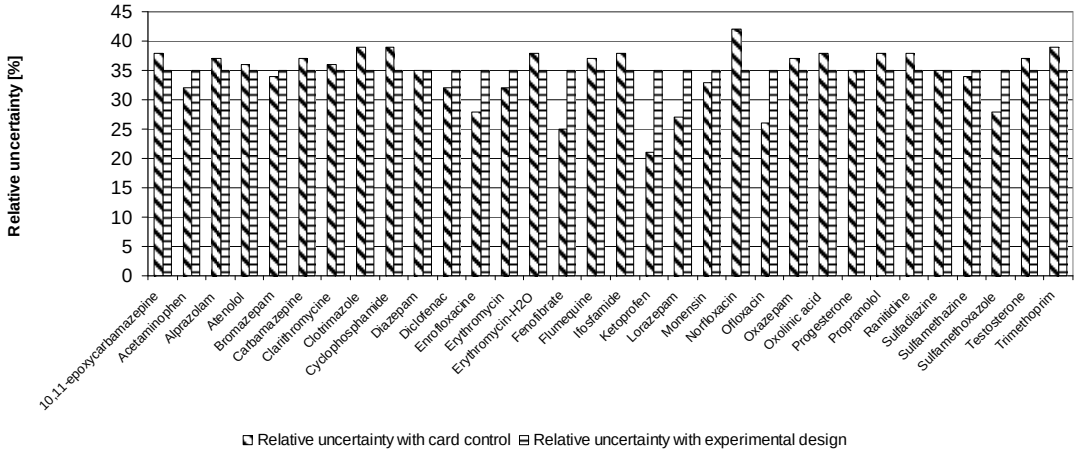


Figure 8 Comparison determination of relative uncertainties between series of analyse approach and control card approach for (a.) negative mode and (b.) positive mode).

3.3. Analysis of surface water samples

A first application of the overall analytical method has been its application of a survey of a stream (Isle) localised in the French department (administrative region) of the Dordogne (southwest of France). The samples were collected around the main urban area of the department, around Perigueux (approx. 100 000 inhabitants). In Table 6 are presented the results of the survey performed in March 2011 including 8 sampling sites.

Among 40 compounds in the analytical method, 16 were detected. Carbamazepine, oxazepam, acetaminophen, diclofenac and bezafibrate are among the most frequently detected compounds (with a detection frequency higher than 50%). Acetaminophen has been quantified with the highest values (maximum value: 189 $ng.L^{-1}$). This compound is relatively well degraded during wastewater treatment [34,35] but remains the most sold drug on the French territory [36]. One can also note that furosemide has also been quantified in high concentrations (more than 100 $ng.L^{-1}$ in some cases) with regard to other compounds.

When we compare our results with different studies carried out worldwide, it appears that this part of Isle river is relatively less contaminated or comparable in terms of concentrations [24,37,38]. Some results showed that concentrations in carbamazepine, for example, could go to 1,1 $\mu g.L^{-1}$ [2]. However, concentrations depend on the localisation of the sampling site and river's flow.

Table 6. Maximal and minimal results from a survey on Isle river (French department of Dordogne) around the town of Périgueux in March 2011 (7 sampling sites).

Therapeutic group	Compounds	Concentrations in $ng.L^{-1}$	Quantification frequency (%)
β-blocker	Atenolol	nd - 18	28.6
	Propranolol	nd - 6	14.3
Analgesic	Acetaminophen	< LOQ - 189	42.9
Antibiotic	Clarithromycin	nd - 12	14.3
	Chloramphenicol	nd	0
	Enrofloxacin	nd	0
	Erythromycin	nd	0
	Erythromycin-H_2O	nd	0
	Flumequine	nd	0
	Monensin	nd	0
	Norfloxacin	nd	0
	Ofloxacin	nd - 7	14.3
	Oxolinic acid	nd	0
	Sulfadiazine	nd	0
	Sulfamethoxazole	nd - 19	14.3
	Sulfamethazine	nd	0
	Trimethoprim	nd	0
NSAID	Diclofenac	< LOQ - 41	71.4
	Ibuprofen	nd - 24	14.3
	Ketoprofen	nd - 23	14.3
	Naproxen	nd - 24	14.3
Antidepressent	Alprazolam	nd	0
	Bromazepam	nd	0
	Diazepam	nd	0
	Lorazepam	nd	0
	Oxazepam	< LOQ - 51	28.6
Anti-epileptic agent	10,11-epoxycarbamazepine	nd	0
	Carbamazepine	< LOQ - 20	42.9
Antifungal	Clotrimazole	nd	0
Antineoplasic	Cyclophosphamide	nd	0
	Ifosfamide	Nd	0
Histamine H_2 receptor antagonist	Ranitidine	Nd	0
Diuretic	Furosemide	< LOQ - 114	42.9
Hormone	Progesterone	Nd	0
	Testosterone	Nd	0
Lipid regulator	4-chlorobenzoic acid	Nd	0
	Bezafibrate	< LOQ - 51	42.9
	Fenofibrate	Nd	0
	Gemfibrozil	nd - < LOQ	0
	Pravastatin	nd - < LOQ	0

nd: not detected
< LOQ: below limit of quantification

4. Conclusion

Through this study, a multi-residue method by on-line preconcentration was developed and validated for 40 pharmaceutical residues in drinking and surface waters. Among the various advantages of this system, we can quote the low sampling volume (1 mL) as well as a relatively short time of preparation and of analysis (20 min for negative mode and 28 min for positive mode) compared with off-line solid phase extraction.

The matrix effect analysis showed that the approach of the internal calibration enables to correct almost all the measured compounds (38 out of 40). For two remaining molecules the standard additions approach is used. We can add that the method has detection limits compatible with the study of the environmental matrix where the concentrations are frequently at very low (few $ng.L^{-1}$). The interday relative standard deviation for all the studied matrices is lower than 20 % what remains very suitable for this multi-residue method which generated some compromises

analytical to measure all the compounds. To certify the robustness of the method, the validation allowed us to control various analytical aspects for exemple the measurement of uncertainty.
The survey realized on a French stream made to improve the developed method and to determine the presence of various pharmaceutical residues. The pharmaceutical compounds concentrations are generally at the level of some 10 $ng.L^{-1}$ except for acetaminophen and furosemide which can sometimes exceed 100 $ng.L^{-1}$.

5. Aknowledgements

The authors acknowledge financial support from FEDER (n° presage: 33086), Conseil Général de la Dordogne and Thermo Fisher Scientific. The authors would also like to thank Agence de l'Eau Adour Garonne and Lyonnaise des Eaux Périgueux for their different contributions. SI gratefully acknowledges the "ANRT (Agence Nationale pour la Recherche et la Technologie)" for the partial funding of her PhD grant (n°408/2009).

6. References

[1] C. Hignite, D.L. Azarnoff, Life Sci., 20 (1977) 337-342.
[2] T. A. Ternes, Water Res., 32 (1998) 3245-3260.
[3] R. Hirsch, T.A. Ternes, K. Haberer, A. Mehlich, F. Ballwanz, K.-L. Kratz, J. Chromatogr. A, 815 (1998) 213-223.
[4] J. L. Oaks, M. Gilbert, M. Z. Virani, R. T. Watson, C. U. Meteyer, B. A. Rideout, H. L. Shivaprasad, S. Ahmed, M. J. Chaudhry, M. Arshad, S. Mahmood, A. Ali, A. A. Khan, Nature, 427 (2004) 630-633.
[5] C. G. Daughton, T. A. Ternes, Environ. Health Perspect., 107 (1999) 907-938.
[6] B. Halling-Sorensen, S. Nors Nielsen, P.F. Lanzky, F. Ingerslev, H.C. Holten Liitzhofl, S. E. Jorgensen, Chemosphere, 36 (1998) 357-393.
[7] T. Herberer, Toxicol. Lett., 131 (2007) 5-17.
[8] A. Togola, H. Budzinski, Anal. Bioanal. Chem., 388 (2007) 627-635.
[9] A. Togola, H. Budzinski, J. Chromatogr. A, 1177 (2008) 150-158.
[10] S. S. Verenitch, C.J. Lowe, A. Mazumder, J. Chromatogr. A, 1116 (2006) 193-203.
[11] A. Sebok, A. Vasanits-Zsigrai, A. Helenkar, G. Zaray, I. Molnar-Perl, J. Chromatogr. A, 1216 (2009) 2288-2301.
[12] M. Gros, M. Petrovic, D. Barcelo, Talanta, 70 (2006) 678-690.
[13] E. Gracia-Lor, J.V. Sancho, F. Hernandez, J. Chromatogr. A, 1217 (2010) 622-632.
[14] B.J. Vanderford, R.A. Pearson, D.J. Rexing, S.A. Snyder, Anal. Chem., 75 (2003) 6265-6274.
[15] Z.L. Zhang, J.L. Zhou, J. Chromatogr. A, 1154 (2007) 205-213.
[16] B. Kasprzyk-Horden, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, Talanta, 74 (2008) 1299-1312.
[17] J. Garcia-Galan, M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, Talanta, 81 (2010) 355-366.
[18] S. Dupas, P. Scribe, J.-F. Dubernet, J. Chromatogr. A, 737 (1996) 117-126.
[19] J. V. Sancho, O.J. Pozo, F. Hernández, Analyst, 129 (2004) 38-44.
[20] P.A. Segura, C. Gagnon, S. Sauvé, Anal. Chim. Acta, 604 (2007) 147-157.
[21] J. Ding, R. Nanqi, C. Ligang, L. Ding, Anal. Chim. Acta, 634 (2009) 215-221.
[22] E. Pitarch, F. Hernandez, J. ten Hove, H. Meiring, W. Niesing, E. Dijkman, L. Stolker, E. Hogendoorn, J. Chromatogr. A, 1031 (2004) 1-9.
[23] L. Viglino, K. Aboulfadl, A.D. Mahvelat, M. Prévost, S. Sauvé, J. Environ. Monit., 10 (2008) 482-489.
[24] Garcia-Ac A., P.A. Segura, L. Viglino, A. Furtos, C. Gagnon, M. Prévost, S. Sauvé, J. Chromatogr. A, 1216 (2009) 8518-8527.
[25] R. Lopez-Serna, S. Perez, A. Ginebreda, M. Petrovic, D. Barcelo, Talanta, 83 (2010) 410-424.
[26] R.A. Trenholm, B.J. Venderford, S.A. Snyder, Talanta, 70 (2009) 1425-1432.
[27] C.S. McArdell, E. Molnar, M. J.-F. Suter, W. Giger, Environ. Sci. Technol., 37 (2003) 5479-5486.
[28] Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and interpretation results, OJ L221, Brussels, Belgium, pp. 8-36.

[29] AFNOR, NF T 90-210, Water quality – Protocol for the initial method performance assessment in a laboratory, la Plaine Saint-Denis, France, May 2009, pp. 1-43.
[30] Z. Ye, H.S. Weinberg, Anal. Chem., 79 (2007) 1135-1144.
[31] F. Tamtam, F. Mercier, J. Eurin, M. Chevreuil, B. Le Bot, Anal. Bional. Chem., 393 (2009) 1709-1718.
[32] V.K. Balakrishnan, K. A. Terry, J. Toito, J. Chromatogr. A, 1131 (2006) 1-10.
[33] Z. Ye, H.S. Weinberg, Anal. Chem., 79 (2007) 1135-1144.
[34] A. Joss, S. Zabczynski, A. Göbel, B. Hoffmann, D. Löffler, C.S. McArdell, T.A. Ternes, A. Thomsen, H. Siegrist, Water Res., 40 (2006) 1686-1696.
[35] M.J. Benotti, B.J. Brownawell, Environ. Sci. Technol., 41 (2007) 5795-5802.
[36] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Rapport Analyse des ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux en France 1998-2008, 10ème édition, May 2010, pp. 1-126.
[37] I. Ferrer, J.A. Zweigenbaum, E.M. Thurman, J. Chromatogr. A, 1217 (2010) 5674-5686.
[39] J.-Y. Pailler, A. Krein, L. Pfister, L. Hoffmann, C. Guignard, Sci. Total Environ., 407 (2009) 4736-4743.

ANNEXE 8

Valorisation scientifique

Publication:
S. Idder, L. Ley, P. Mazellier, H. Budzinski. Quantitative on-line preconcentration - LC-MS/MS method for the determination of pharmaceutical compounds in surface waters. À soumettre dans *Journal of Chromatography A*.

Communications orales :
S. Idder. Dosage de résidus de médicaments dans les eaux superficielles par pré-concentration en ligne LC-MS/MS, Séminaire Thermo Fisher Scientific, Session Organique, Paris et Lyon (France) – 20 et 21 mars 2012.

Communications par affiches :
S. Idder, L. Ley, P. Mazellier, H. Budzinski. Occurrence of pharmaceutical compounds in the French department of Dordogne, 12th European Meeting on Environmental Chemistry, Clermont-Ferrand, France, 7-10 december 2011.

S. Idder, L. Ley, P. Mazellier, H. Budzinski. Monitoring of 40 pharmaceutical compounds in surface waters from Dordogne by online - Solid Phase Extraction - Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry, 13ème journée de l'école doctorale des sciences chimiques de Bordeaux, Talence, France, 7 avril 2011.

S. Idder, L. Ley, P. Mazellier, H. Budzinski. Multi-residue analysis of pharmaceuticals by on-line preconcentration LC-MS/MS in water samples, 11th European Meeting on Environmental Chemistry, Portoroz, Slovenia, 8-11 december 2011.