



*Cahier des charges pour la
préparation en 2011 d'un
essai d'intercomparaison
sur l'analyse des résidus
de médicaments dans les
eaux*

Rapport final

Amalric L. (BRGM)

Février 2011

Contexte de programmation et de réalisation

Dans le cadre de l'action N° 7 « Développement de méthodes et d'outils de détection des contaminants chimiques, notamment émergents » de la convention ONEMA-BRGM 2010, des premières actions ont été menées et font l'objet de ce rapport.

Les auteurs

Laurence Amalric

l.amalric@brgm.fr

MMA/ENV, BP 36009, 3 av. Cl. Guillemin – 45060 Orléans Cedex 2

Marina COQUERY

marina.coquery@cemagref.fr

CEMAGREF

Philippe GUARINI

philippe.GUARINI@association-aglae.fr

AGLAE

Sophie LARDY-FONTAN

sophie.lardy-fontan@lne.f

LNE

Cécile MIEGE

cecile.miege@cemagref.fr

CEMAGREF

Jean-Sébastien PY

jean-sebastien.py@anses.fr

ANSES

Christophe ROSIN

christophe.ROSIN@anses.fr

ANSES

Marie-Pierre STRUB

Marie-Pierre.STRUB@ineris.fr

INERIS

Les correspondants

ONEMA : Pierre-François Staub, Direction de l'Action Scientifique et Technique - Chargé de mission en Hydrologie, pierre-francois.staub@onema.fr

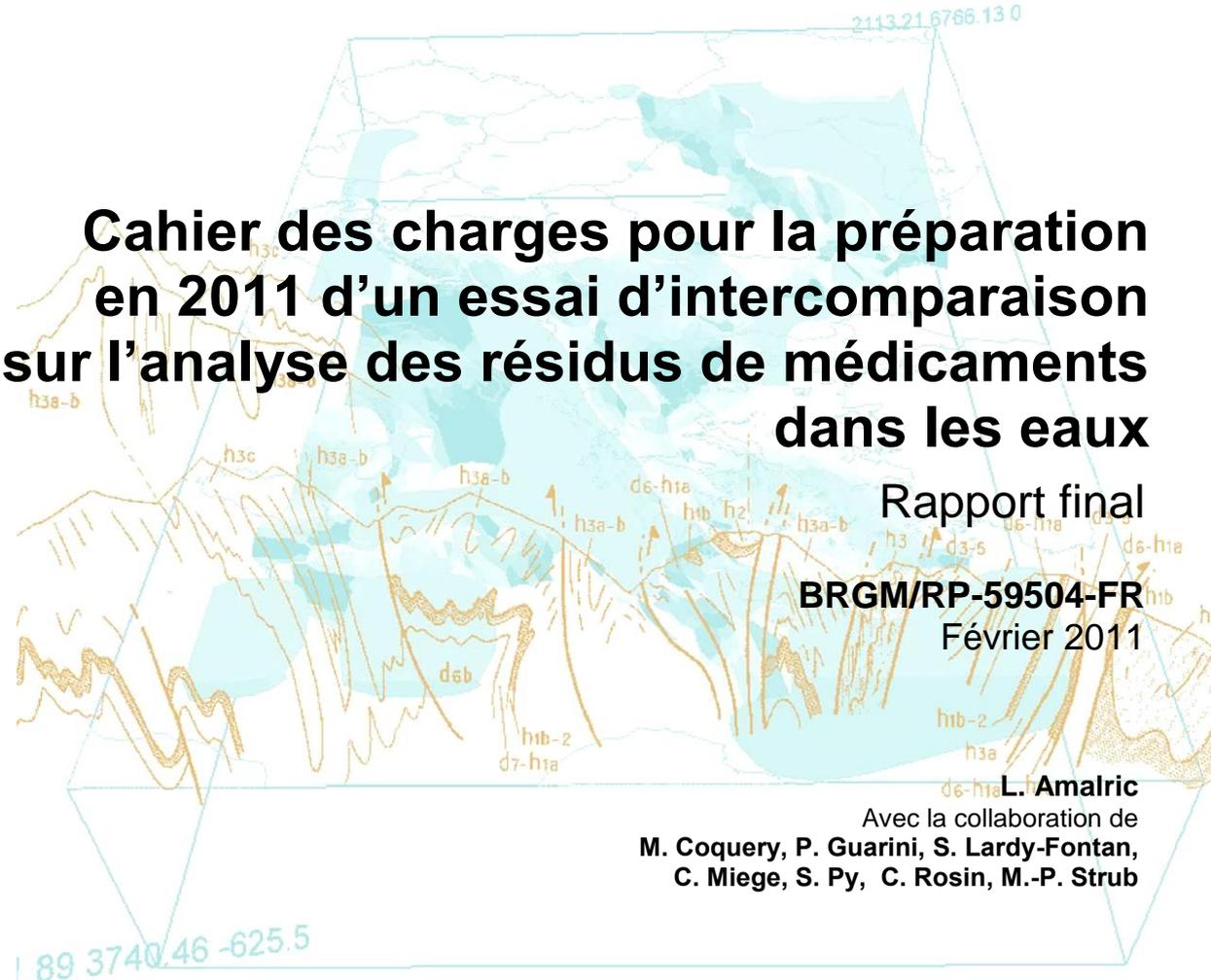
BRGM : Jean-Philippe Ghestem, Service métrologie, monitoring et analyses, jp.ghestem@brgm.fr

Référence du document : Fiche Action BRGM ONEMA N° 4 2010

Référence du document :

Amalric L. (2011) – Cahier des charges pour la préparation en 2011 d'un essai d'inter-comparaison sur l'analyse des résidus de médicaments dans les eaux. Rapport BRGM/RP-59504-FR, 23 p., 13 ill.

Droits d'usage :	<i>Accès libre</i>
Couverture géographique :	<i>International</i>
Niveau géographique [un seul choix] :	<i>National</i>
Niveau de lecture [plusieurs choix possibles] :	<i>Professionnels, experts</i>
Nature de la ressource [plusieurs choix possibles] :	<i>Rapport, tableau de données</i>



Cahier des charges pour la préparation en 2011 d'un essai d'intercomparaison sur l'analyse des résidus de médicaments dans les eaux

Rapport final

BRGM/RP-59504-FR

Février 2011

L. Amalric

Avec la collaboration de

**M. Coquery, P. Guarini, S. Lardy-Fontan,
C. Miede, S. Py, C. Rosin, M.-P. Strub**

Étude réalisée dans le cadre des opérations de Service public du BRGM

Ce document a été vérifié par : Jean-Philippe GHESTEM date : 13/02/2011

Approbateur :

Nom : Gilles HERVOUET Date : 14/02/2011 Signature : original signé

Le système de management de la qualité du BRGM est certifié AFAQ ISO 9001:2008.

Mots clés : médicaments, hormones, essai inter-laboratoires, eau, solution de référence

En bibliographie, ce rapport sera cité de la façon suivante :

Amalric L. (2011) – Cahier des charges pour la préparation en 2011 d'un essai d'inter-comparaison sur l'analyse des résidus de médicaments dans les eaux. Rapport BRGM/RP-59504-FR, 23 p., 13 ill.

© BRGM, 2011, ce document ne peut être reproduit en totalité ou en partie sans l'autorisation expresse du BRGM.

Résumé

Ce rapport est rédigé en collaboration entre le BRGM, le CEMAGREF, l'INERIS et le LNE dans le cadre du programme d'action d'AQUAREF pour l'année 2010, et dans le cadre des conventions de partenariat entre ces organismes et l'ONEMA pour l'année 2010.

Ce document décrit le cahier des charges pour l'essai inter-laboratoires sur les résidus de médicaments dans les eaux qui est planifié en octobre 2011 par AQUAREF. Ce cahier des charges a été établi au cours de l'année 2010 avec la coopération de l'ANSES, des membres du réseau AQUAREF (BRGM, INERIS, CEMAGREF, LNE) et de l'association AGLAE.

L'essai sera constitué de trois échantillons d'eau naturelle dopés et d'une solution de référence, contenant huit composés pharmaceutiques (aténolol, carbamazépine, diclofénac, ibuprofène, kétoprofène, métoprolol, oxazépam, sulfaméthoxazole) et trois hormones (estrone, 17-béta estradiol, 17-alpha éthinyl estradiol). Les niveaux de concentrations visés tiennent compte des valeurs provisoires de norme de qualité environnementale en discussion à l'Europe pour certaines de ces molécules.

Cet essai devrait permettre d'améliorer les connaissances sur les substances émergentes, les capacités analytiques des laboratoires d'analyses nationaux et de fiabiliser les données de surveillance concernant les résidus de médicaments.

Mots-clés (thématique et géographique): Médicaments, hormones, Essai inter-laboratoires, Eau, Solution de référence

Abstracts

This report has been prepared in collaboration between BRGM, CEMAGREF, INERIS and LNE in the framework of AQUAREF 2010 program and of partnership with ONEMA.

This report describes the specifications for the collaborative trial on drug residues in water that is scheduled in October 2011 by AQUAREF. This specification was established in 2010 with the cooperation of ANSES, members of the network AQUAREF (BRGM, INERIS, CEMAGREF, LNE) and the association AGLAE. The test will consist of three natural water samples spiked and a reference solution, containing eight pharmaceutical compounds (atenolol, carbamazepine, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, metoprolol, oxazepam, sulfamethoxazole) and three hormones (estrone, 17 - beta estradiol, 17-alpha ethinyl estradiol). The concentration levels will reflect the provisional values of environmental quality standard under discussion in Europe for some of these molecules. This test should improve the knowledge of analytical capabilities for emerging substances of national laboratories and reliable surveillance data on pharmaceutical residues.

Key words (thematic and geographical area): Pharmaceutical compounds, Hormones, Interlaboratory Trial, Water, Reference solution

Synthèse

Ce rapport est rédigé en collaboration entre le BRGM, le CEMAGREF, l'INERIS et le LNE dans le cadre du programme d'action d'AQUAREF pour l'année 2010, et dans le cadre des conventions de partenariat entre ces organismes et l'ONEMA pour l'année 2010.

Ce document décrit le cahier des charges pour l'essai inter-laboratoires sur les résidus de médicaments dans les eaux qui est planifié en octobre 2011 par AQUAREF. Ce cahier des charges a été établi au cours de l'année 2010 avec la coopération de l'ANSES, des membres du réseau AQUAREF (BRGM, INERIS, CEMAGREF, LNE) et de l'association AGLAE.

L'essai sera constitué de trois échantillons d'eau naturelle dopés et d'une solution de référence, contenant huit composés pharmaceutiques (aténolol, carbamazépine, diclofénac, ibuprofène, kétoprofène, métoprolol, oxazépam, sulfaméthoxazole) et trois hormones (estrone, 17-béta estradiol, 17-alpha éthinyl estradiol). Les niveaux de concentrations visés tiennent compte des valeurs provisoires de norme de qualité environnementale en discussion à l'Europe pour certaines de ces molécules.

Cet essai devrait permettre d'améliorer les connaissances sur les substances émergentes, les capacités analytiques des laboratoires d'analyses nationaux et de fiabiliser les données de surveillance concernant les résidus de médicaments.

Sommaire

1. Objectif.....	11
2. Démarche.....	11
3. Cahier des charges pour l'essai 2011	14
3.1. RÉPARTITION DES TÂCHES	14
3.2. DIFFUSION DE L'INFORMATION	14
3.3. MOLÉCULES DE L'ESSAI	15
3.4. NATURE DES MATÉRIAUX D'ESSAI.....	19
3.5. PRÉPARATION DES MATÉRIAUX D'ESSAI.....	19
3.5.1. Les échantillons d'eaux.....	19
3.5.2. La solution de référence.....	20
3.6. ACHEMINEMENT DES MATÉRIAUX D'ESSAI.....	20
3.7. ANALYSE DES MATÉRIAUX D'ESSAI PAR LES LABORATOIRES.....	21
3.8. ÉTUDE DE FAISABILITÉ.....	21
3.9. CONTRÔLE DES MATÉRIAUX LORS DE L'ESSAI.....	22
3.10. RESTITUTION DES DONNÉES D'ESSAI.....	22
3.11. CHRONOGRAMME PRÉVISIONNEL	22
4. Références.....	23

Liste des illustrations

Illustration 1 : Molécules retenues pour l'EIL 2011, par rapport aux critères de sélection.	15
Illustration 2 : Principales caractéristiques de la carbamazépine.	15
Illustration 3 : Principales caractéristiques du diclofénac.....	16
Illustration 4 : Principales caractéristiques de l'aténolol.....	16
Illustration 5 : Principales caractéristiques de l'ibuprofène.	16
Illustration 6 : Principales caractéristiques du métoprolol.	17
Illustration 7 : Principales caractéristiques du kétoprofène.....	17
Illustration 8 : Principales caractéristiques de l'oxazépan.....	17
Illustration 9 : Principales caractéristiques du sulfaméthoxazole.....	18
Illustration 10 : Principales caractéristiques de 17-alpha éthInyl estradiol (EE2).	18
Illustration 11 : Principales caractéristiques de 17-β estradiol (E2 ou Eb2).....	18
Illustration 12 : Principales caractéristiques de l'estrone.	19

Illustration 13 : Paramètres de sélection des molécules de la solution de référence et critères retenus 20

1. Objectif

Dans la perspective d'améliorer les connaissances sur les substances émergentes et notamment les capacités des laboratoires d'analyses nationaux, un essai inter-laboratoires (EIL) sur les résidus de médicaments dans les eaux est planifié pour 2011 par AQUAREF.

L'objectif du groupe de travail AQUAREF (collaboration BRGM, INERIS, CEMAGREF, LNE) pour l'année 2010 est d'établir le cahier des charges pour cet exercice d'inter-comparaison, notamment en prenant en compte les résultats du 1^{er} essai inter-laboratoires réalisé en juin 2009 par l'AFSSA (ANSES depuis le 1^{er} juillet 2010) avec la collaboration d'AQUAREF (CEMAGREF, INERIS, BRGM). Les résultats de ce 1^{er} essai, disponibles début 2010, ont permis de mieux cibler les problèmes existants pour les laboratoires d'analyses.

2. Démarche

Pour mener à bien l'établissement du cahier des charges de l'essai inter-laboratoires sur les résidus de médicaments dans les eaux de 2011, le groupe de travail constitué entre AQUAREF et l'ANSES pour la préparation de l'essai inter-laboratoires AFSSA sur les résidus de médicaments dans les eaux de 2009 a été reconduit.

La réunion de restitution des résultats de l'essai inter-laboratoires de l'Anses a eu lieu le 04 février 2010. Le BRGM ayant participé en tant que laboratoire d'analyse à cet essai, les premières conclusions sur les résultats des performances analytiques et le retour des laboratoires présents ont été rédigés et diffusés au groupe de travail. Le rapport de l'essai inter-laboratoires AFSSA a été édité le 11 février 2010.

Une première réunion de travail dédiée à exploiter les conclusions de l'essai de l'Anses de 2009 a été organisée en mai 2010 avec les membres d'AQUAREF afin d'identifier les axes d'amélioration possibles pour l'essai 2011.

Les points suivants ont été soulignés :

- Les coefficients de variations interlaboratoires (CV_R) des résultats (compris entre 16 et 63%) sont tous acceptables au regard de ceux observés habituellement pour les composés organiques et à concentrations visées dans l'essai.
→ L'EIL 2011 permettra de vérifier si, après deux années de plus, les performances analytiques des laboratoires se sont maintenues voire améliorées, en conservant pour l'essai 2011 des molécules identiques.
- Le nombre de participants inscrits est de 31, mais le nombre de résultats fournis varie entre 11 et 23 selon les molécules.
→ L'EIL 2011 permettra de vérifier si, après deux années de plus, la capacité analytique nationale pour la détermination des résidus de médicaments s'est étoffée.

- Il n'a pas été mis en évidence d'effets méthodes en fonction des molécules, ou d'effet de solvant ou de support d'extraction pour la méthode d'extraction sur cartouches qui est la plus utilisée dans cet essai, mais le nombre de réponses par méthode reste faible.
- Le choix des molécules a été fonction des capacités analytiques des laboratoires principalement
 - Pour le choix des molécules de l'EIL 2011, on prendra en compte les molécules retrouvées dans l'environnement sur le plan national, les résultats de la campagne nationale Anses, les résultats des travaux du plan national médicaments et les substances pharmaceutiques présentes dans la liste des substances candidates prioritaires de la DCE et les capacités analytiques des laboratoires du consortium AQUAREF pour l'organisation de l'essai.
- Les concentrations visées dans l'EIL 2009, 15-20 et 60-80 ng/l environ, ont bien été retrouvées par l'ensemble des participants.
 - L'EIL 2011 pourra se baser sur ces niveaux de concentration, mais il devra actualiser les connaissances en prenant en compte d'éventuelles valeurs seuils provisoires qui auraient pu être déterminées depuis 2009.
- L'EIL 2009 a montré que la méthode d'analyse appliquée par l'Anses dans le cadre de l'essai 2009 (extraction en phase solide et analyse par LC/MS-MS) est la plus appliquée par les laboratoires. Cette méthode pourrait servir de base à la normalisation d'une méthode pour la détermination des résidus de médicaments dans les eaux, si l'Anses accepte d'être porteur du projet.
 - Selon le contenu de la norme envisagée et l'avancée des travaux du groupe de normalisation, les résultats de l'EIL 2011 pourraient éventuellement servir pour l'essai d'inter-comparaison nécessaire à la validation du projet de norme.

En juin 2010, AQUAREF s'est réuni avec l'Anses, afin de discuter des conclusions de l'essai, préciser les éventuels points de difficulté rencontrés lors de cet essai sur les plans techniques et analytiques et envisager le contenu de l'EIL 2011. A l'issue de cette réunion et des échanges qui ont suivi, les points suivants ont été validés.

Le choix des molécules sera réalisé en compilant les résultats :

- du projet de recherche national AMPERES pour prendre en compte les molécules présentes (donc quantifiées) en sortie de stations d'épurations (STEP) au niveau national,
- de la campagne nationale ANSES pour prendre en compte les molécules présentes dans les eaux d'alimentation sur le territoire national,
- des analyses réalisées par les agences de l'eau, notamment AELB et AESN, pour prendre en compte les molécules présentes dans les cours d'eaux et les eaux souterraines du territoire national,
- de l'essai interlaboratoires Anses 2009 pour prendre en compte les molécules déjà analysées par intercomparaison afin d'augmenter la connaissance sur les performances analytiques,
- du groupe GT substances pour prendre en compte les molécules pressenties comme substances prioritaires de la liste DCE.

Dans ces différents travaux, des démarches de hiérarchisation ont été appliquées, les données sur la persistance, l'ubiquité dans les systèmes aquatiques, les risques

écotoxicologiques, la présence en Europe ont été considérés. Ces éléments n'ont donc pas été ajoutés à la démarche appliquée dans le présent cadre.

Les travaux du plan national médicaments en cours tout au long de l'année 2010 n'ont pas encore abouti à une liste nationale pour la surveillance de ces substances, et n'ont donc pas contribués directement au choix des molécules.

Dans la compilation des résultats des différents projets, nous avons pris en compte l'occurrence et le niveau de concentration pour chaque molécule identifiée en appliquant une pondération sur la fréquence de valeurs supérieures à la limite de quantification d'une part, et une pondération sur la concentration maximale observée, d'autre part.

Le niveau de concentration des molécules doit considérer les valeurs provisoires européennes de norme de qualité disponibles (valeurs de février 2011) : ibuprofène à 10 ng/l, diclofénac à 100 ng/l (NQE), 17-alpha éthyanyl estradiol à 0,1 ng/l (NQE) et 17-béta estradiol à 0,4 ng/l (NQE).

L'Anses accepte de porter le projet de normalisation de la méthode pour la détermination des résidus de médicaments dans les eaux, auprès de la commission T91M.

La répartition des tâches de l'EIL 2011 a été envisagée au sein du groupe avec une contribution :

- de l'INERIS pour la logistique d'inscription, la distribution documentaire et le traitement statistique,
- du BRGM pour la préparation des matériaux d'essai et la logistique d'envoi aux participants,
- du LNE pour la préparation de la solution étalon de référence destinée à la vérification de l'analyse instrumentale,
- du CEMAGREF pour l'analyse des hormones (contrôles nécessaires à l'essai),
- du BRGM pour l'analyse des composés pharmaceutiques (contrôles nécessaires à l'essai),
- de l'Anses pour l'analyse d'autres molécules (contrôles nécessaires à l'essai) en fonction de leurs moyens et disponibilités 2011.

En novembre 2010, le groupe de travail a été enrichi de la participation de l'association AGLAE. Cet organisme ayant prévu de proposer également un EIL résidus de médicament en 2011, il a été jugé pertinent de regrouper les efforts et les moyens afin de n'organiser qu'un seul essai et d'éviter ainsi l'éparpillement de l'intérêt des participants potentiels. Cette proposition ayant été acceptée par le groupe de travail et validée par l'ONEMA, une dernière réunion de travail s'est tenue le 13 janvier 2011 pour arrêter le programme de l'essai et ses modalités, détaillés ci-après.

3. Cahier des charges pour l'essai 2011

3.1. RÉPARTITION DES TÂCHES

Les tâches sont réparties dans le nouveau groupe de travail constitué :

- INERIS pour la préparation du dépliant,
- LNE pour la préparation de la solution étalon de référence destinée à la vérification de l'analyse instrumentale, avec l'étude d'homogénéité et stabilité de cette solution,
- BRGM pour la préparation des matériaux d'essai et la logistique d'envoi aux participants, ainsi que la réalisation des analyses des substances médicamenteuses (étude d'homogénéité et stabilité et contrôles nécessaires à l'essai),
- CEMAGREF pour l'analyse des hormones (étude d'homogénéité et stabilité et contrôles nécessaires à l'essai),
- AGLAE pour la logistique d'inscription, la distribution documentaire, la fourniture des flacons et des emballages et le traitement statistique et la rédaction du rapport d'essai.

3.2. DIFFUSION DE L'INFORMATION

La dissémination de l'information pour cet essai d'inter-comparaison sera faite grâce aux réseaux suivants au moyen du dépliant d'information préparé par le groupe de travail :

- Commission de normalisation T91M dès la réunion du 31 janvier 2011,
- AGLAE,
- BIPEA,
- Associations ASLAE, ALCESE, COPREC,
- AQUAREF,
- Pages internet Anses dédiées aux laboratoires de contrôle sanitaire des eaux.

Dans le cas d'un nombre très important de laboratoires candidats à l'essai, une sélection des participants sera réalisée avec les critères suivants afin de ne pas dépasser un maximum de 40 laboratoires :

- laboratoires d'analyses nationaux prestataires dans le cadre de la surveillance de l'environnement ou de la santé,
- équipes académiques nationales,
- laboratoires d'analyses étrangers susceptibles d'œuvrer dans le cadre de l'agrément ministériel,
- équipes académiques étrangères.

3.3. MOLÉCULES DE L'ESSAI

Une liste de 117 substances a été constituée à partir des molécules retenues dans la démarche de hiérarchisation de l'UERE, de la liste du projet AMPERES et des molécules identifiées dans les études environnementales nationales.

La pondération sur l'occurrence et le niveau de concentration d'une part et le croisement avec la liste des molécules étudiées dans l'EIL Anses 2009 et la liste des substances prioritaires candidates pour la liste DCE fait ressortir 65 molécules répondant à l'un de ces critères au moins.

Onze molécules sont retenues pour l'essai, dont 3 hormones et 8 résidus de médicaments (illustration 1).

Nom	EIL 2009	Candidate WGE	Réurrence Ampère	Réurrence Camp Nat	C max Camp Nat	Réurrence Agces Eaux	C max Agces Eaux	Famille
Aténolol	x		x			XX	XXX	Cardiovasculaire
Carbamazépine	x		x	xxx	xx	xxx	xxx	Neuroleptique (Anticonvulsivant)
Diclofénac	x	x	x	x	x	XX	XX	AINS
Ibuprofène	x	x	x	x	x	XX	XX	AINS
Ketoprofène	x		x	x	xxx	XX	XX	AINS
Métoprolol			x			xxx	xxx	Cardiovasculaire
Oxazépam				xxx	xx	xxx	xxx	Neuroleptique (Anxiolytique)
Sulfaméthoxazole			x			XX	XXX	Antibiotiques
17-a éthinylestradiol (EE2)	x	x	x					Hormone
17-b estradiol (Eb2)	x	x	x					Hormone
Estrone			x					Hormone / Métabolite

Illustration 1 : Molécules retenues pour l'EIL 2011, par rapport aux critères de sélection.

La **carbamazépine** possède des propriétés anticonvulsivantes, anticholinergiques et antidiurétiques. Son usage est préconisé dans le traitement des névralgies faciales, épilepsies, troubles bipolaires et migraines chroniques. Les principales caractéristiques de la molécule sont présentées dans l'illustration 2.

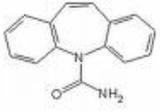
CAS	298-46-4
Formule chimique	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O
Masse moléculaire g.mol ⁻¹	236,273
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	17,7 (25 °C)
Log Kow	2,45
pKa	13,9 ; 7

Illustration 2 : Principales caractéristiques de la carbamazépine.

Le **diclofénac** est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) parmi les plus utilisés en France. Il possède des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques. Il est préconisé dans le traitement chronique et aigu des signes d'ostéoarthritis et

d'arthrite rhumatoïde. Les principales caractéristiques de la molécule sont présentées dans l'illustration 3.

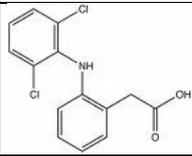
CAS	15307-86-5
Formule chimique	$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$
Masse moléculaire $g.mol^{-1}$	318,134
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	2,43 (25 °C)
Log Kow	4,5
pKa	4,15

Illustration 3 : Principales caractéristiques du diclofénac.

L'**aténolol** est une molécule de la classe des bêtabloquants, utilisée pour traiter l'hypertension artérielle, l'angine de poitrine ou l'infarctus du myocarde. Les principales caractéristiques de la molécule sont présentées dans l'illustration 4.

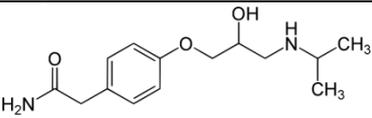
CAS	29122-68-7
Formule chimique	$C_{14}H_{22}N_2O_3$
Masse moléculaire $g.mol^{-1}$	266,33
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	26,5 (37 °C)
Log Kow	-0,03 ; 0,23
pKa	9,5

Illustration 4 : Principales caractéristiques de l'aténolol.

L'**ibuprofène** possède des propriétés analgésiques, c'est un anti-inflammatoire non stéroïdien. Son usage est préconisé pour soulager les symptômes de l'arthrite, de la dysménorrhée primaire, de la pyrexie ; et comme analgésique, spécialement en cas d'inflammation. Les principales caractéristiques de la molécule sont présentées dans l'illustration 5.

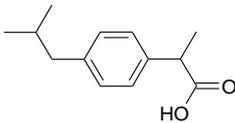
CAS	15687-27-1
Formule chimique	$C_{13}H_{18}O_2$
Masse moléculaire $g.mol^{-1}$	206,28
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	0,043 (37 °C)
Log Kow	3,79
pKa	5,7

Illustration 5 : Principales caractéristiques de l'ibuprofène.

Le **métoprolol** est un bêtabloquant antihypertenseur. Son usage est préconisé dans le traitement de l'hypertension artérielle, la prophylaxie des crises d'angor d'effort et

l'infarctus du myocarde. Les principales caractéristiques de la molécule sont présentées dans l'illustration 6.

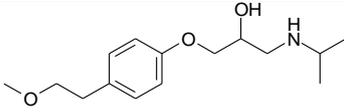
CAS	37350-58-6
Formule chimique	$C_{15}H_{25}NO_3$
Masse moléculaire $g.mol^{-1}$	267,37
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	$16,9 \cdot 10^4$ (25 °C)
Log Kow	2,15
pKa	9,70

Illustration 6 : Principales caractéristiques du métoprolol.

Le **kétoprofène** possède des propriétés analgésiques, c'est un anti-inflammatoire non stéroïdien. Son usage est préconisé dans le traitement symptomatique des rhumatismes inflammatoires chroniques, notamment polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite ankylosante et certaines arthroses douloureuses et invalidantes. Les principales caractéristiques de la molécule sont présentées dans l'illustration 7.

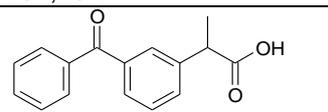
CAS	22071-15-4
Formule chimique	$C_{16}H_{14}O_3$
Masse moléculaire $g.mol^{-1}$	254,28
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	51 (25 °C)
Log Kow	3,0
pKa	5,94

Illustration 7 : Principales caractéristiques du kétoprofène.

L'**oxazépam** possède des propriétés anxiolytiques, hypnotiques ou sédatives, anticonvulsantes, et myorelaxantes, mais elle est surtout utilisée comme anxiolytique. Son usage est préconisé pour l'irritabilité, l'agitation, et l'inquiétude liée à dépression. Les principales caractéristiques de la molécule sont présentées dans l'illustration 8.

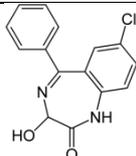
CAS	604-75-1
Formule chimique	$C_{15}H_{11}ClN_2O_2$
Masse moléculaire $g.mol^{-1}$	286,71
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	20 (22 °C)
Log Kow	2,24
pKa	1,7 ; 11,3

Illustration 8 : Principales caractéristiques de l'oxazépam.

Le **sulfaméthoxazole** possède des propriétés antibactériennes, antiseptiques et antipaludéennes. Son usage est préconisé dans le traitement des infections (sinusite,

otites...), des broncho-pneumopathies et des pneumonies. Les principales caractéristiques de la molécule sont présentées dans l'illustration 9.

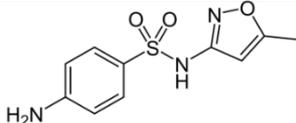
CAS	723-46-6
Formule chimique	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S
Masse moléculaire g.mol ⁻¹	253,28
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	3 900 (25 °C)
Log Kow	0,89
pKa	6

Illustration 9 : Principales caractéristiques du sulfaméthoxazole.

L'**éthinyl-estradiol** est un dérivé de synthèse de l'estradiol. C'est l'œstrogène actif par voie orale (pilules contraceptives) le plus utilisé au monde. Il est également préconisé pour la préparation examens gynécologiques (colposcopie, hystérocopie...) et dans le cadre d'un traitement d'hypofertilité. Les principales caractéristiques de la 17-alpha éthinyl estradiol (EE2) sont présentées dans l'illustration 10.

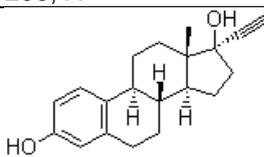
CAS	57-63-6
Formule chimique	C ₂₀ H ₂₄ O ₂
Masse moléculaire g.mol ⁻¹	296,41
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	19,1 (25 °C) ; 11,3 (27 °C)
Log Kow	3,67
pKa	10,4

Illustration 10 : Principales caractéristiques de 17-alpha éthinyl estradiol (EE2).

L'**estradiol** est un dérivé naturel du métabolisme du cholestérol (via la testostérone) qui est nécessaire au maintien de la fertilité et des caractères sexuels secondaires chez la femme. Les principales caractéristiques de la 17-béta-estradiol (E2 ou Eb2) sont présentées dans l'illustration 11.

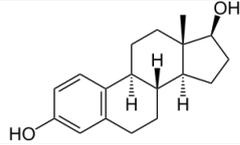
CAS	50-28-2
Formule chimique	C ₁₈ H ₂₄ O ₂
Masse moléculaire g.mol ⁻¹	272,38
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	3,9 (25 °C)
Log Kow	4,01
pKa	10,71

Illustration 11 : Principales caractéristiques de 17-β estradiol (E2 ou Eb2).

L'estrone est une hormone œstrogène sécrétée par l'ovaire. C'est également un métabolite de l'estradiol. Les principales caractéristiques de la molécule sont présentées dans l'illustration 12.

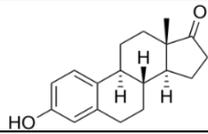
CAS	53-16-7
Formule chimique	C ₁₈ H ₂₂ O ₂
Masse moléculaire g.mol ⁻¹	270,36
Structure chimique	
Solubilité aqueuse (mg/L)	0,8 (25 °C)
Log Kow	3,13
pKa	10,77

Illustration 12 : Principales caractéristiques de l'estrone.

3.4. NATURE DES MATÉRIAUX D'ESSAI

L'essai sera composé de trois échantillons d'eaux contenant les substances médicamenteuses et les hormones et d'une solution de référence contenant la carbamazépine, le diclofénac et l'oxazépam.

Deux flacons de 1 litre seront fournis par échantillon d'eau pour réaliser deux mesures par flacon.

Un flacon de quelques millilitres de solution de référence sera fourni pour réaliser trois mesures dans des conditions de répétabilité. Un protocole de conservation et d'utilisation de cette solution référence sera donné aux participants.

3.5. PRÉPARATION DES MATÉRIAUX D'ESSAI

3.5.1. Les échantillons d'eaux

L'eau naturelle utilisée pour l'ensemble de l'essai sera une eau souterraine prélevée dans le Loiret. Les paramètres physico-chimiques seront déterminés.

Les flacons seront remplis au préalable, puis les dopages seront réalisés avec une solution en solvant, par introduction d'un volume dans chaque flacon au moyen d'un système automatique.

Le volume de dopage sera de l'ordre de 0,5 à 1 ml, afin de limiter l'incertitude sur ce facteur. Les équipements utilisés seront suivis métrologiquement afin de maîtriser l'incertitude sur le dopage.

On fera varier les niveaux de dopage et également le rapport des concentrations entre molécules en préparant le nombre de solutions de dopage adéquat.

Deux niveaux de dopage sont visés :

- niveau bas 20 à 30 ng/l pour les résidus de médicaments et 2 à 5 ng/l pour les hormones,

- niveau haut 80 à 100 ng/l pour les résidus de médicaments et 20 à 30 ng/l pour les hormones.

Les solutions de dopage seront contrôlées par le LNE uniquement pour les 3 molécules oxazépam, diclofénac et carbamazépine.

3.5.2. La solution de référence

Elle représente le premier niveau de raccordement métrologique et permet d'assurer les bases de la comparabilité des données de mesure.

Afin de vérifier la justesse et la fidélité des analyses instrumentales, une solution de référence pour vérification du système analytique sera préparée par le LNE et envoyée aux participants.

Elle comportera trois molécules : oxazépam, diclofénac et carbamazépine. La concentration visée est de 50 µg/l.

Les trois molécules retenues parmi celles arrivant en tête du classement par occurrence et niveau de concentration (§2) appartiennent à trois classes chimiques distinctes et présentent de larges gammes de propriétés physico-chimiques leur conférant des comportements distincts au cours des processus d'analyse. L'illustration 13 résume les principaux éléments de sélection de ces trois molécules.

Paramètre	Carbamazépine	Oxazépam	Diclofénac
Méthode d'analyse	Analysable par LC et GC. Certaines difficultés analytiques connues en GC	Analysable par LC et GC	Analysable par LC et GC. Nécessite une étape de dérivation en GC qui peut être critique
Historique Objectif recherché	Présente dans l'EIL 2009 Confirmation des premières observations quant à la maîtrise par les laboratoires	Absente de l'EIL 2009 Peu ou pas d'informations sur le degré de maîtrise par les laboratoires	Présente dans EIL 2009 Confirmation des premières observations quant à la maîtrise par les laboratoires

Illustration 13 : Paramètres de sélection des molécules de la solution de référence et critères retenus.

Un protocole de mise en œuvre et de bonnes pratiques sera associé à cette solution.

Le LNE conduira une étude d'homogénéité et stabilité de cette solution, avec mise en œuvre de protocoles métrologiques, afin de lui attribuer une valeur de référence avec une incertitude associée.

3.6. ACHEMINEMENT DES MATÉRIAUX D'ESSAI

Les flacons seront protégés par du papier bulle et disposés dans des boîtes isothermes avec des accumulateurs de froid. L'acheminement des colis sera effectué par livraison express.

Un accusé de réception sera joint au colis ; il devra être retourné à AGLAE dûment rempli, dès réception par le laboratoire.

L'envoi des colis sera effectué en début de semaine pour permettre aux laboratoires d'engager le processus analytique dans les meilleurs délais et en tout état de cause avant la fin de la semaine.

3.7. ANALYSE DES MATÉRIAUX D'ESSAI PAR LES LABORATOIRES

Les consignes pour l'analyse des échantillons par les laboratoires seront indiquées dans les documents fournis en amont de la date de l'essai.

Aucune méthode d'analyses n'est imposée, un des objectifs étant d'évaluer la robustesse des différentes méthodes d'extractions et d'analyses. Le prétraitement des échantillons est également laissé à l'appréciation du laboratoire ; toutefois, il sera précisé que les échantillons ne doivent pas être filtrés avant analyses.

Les résultats seront codés pour assurer l'anonymat des laboratoires participants.

La détermination en double des deux flacons fournis par type d'échantillon permettra une évaluation de la répétabilité et un contrôle de l'homogénéité du lot préparé.

Le traitement des résultats fera appel aux méthodes suivantes : guide ISO 43 décrivant les lignes directrices de mise en œuvre des essais d'aptitude, guide ISO 35 détaillant les principes généraux et statistiques de détermination d'une valeur de référence, et norme ISO 5725 – « Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure ». L'expression des performances analytiques des laboratoires sera réalisée selon la norme ISO 13528.

Les traitements statistiques des résultats de l'essai seront réalisés par AGLAE et fournis aux participants. Le rapport d'essai précisera le déroulement de l'essai, les résultats des tests de stabilité et d'homogénéité des lots, et l'exploitation statistique des données : niveau de concentration m (moyenne générale de l'essai), répétabilité r , reproductibilité R , tableaux et graphiques de l'ensemble des résultats de l'exploitation statistique, z-score et classement qualitatif de l'exactitude de mesure. Des zêta-scores seront calculés pour évaluer la fiabilité des calculs d'incertitude réalisés par les laboratoires.

Le laboratoire devra indiquer un certain nombre d'informations afin que les résultats puissent être dépouillés de façon plus approfondie (métadonnées), afin de déceler un éventuel effet méthode.

L'INERIS recevra une copie du jeu de données pour investigations ultérieures, dont support à la normalisation.

3.8. ÉTUDE DE FAISABILITÉ

Avant la préparation des matériaux de l'essai, une étude de faisabilité doit être réalisée en amont notamment pour les paramètres ne figurant pas dans l'EIL Anses de février 2009, puisqu'aucun essai inter laboratoire ou étude similaire n'a été réalisé jusqu'à présent.

Cette étude de faisabilité consiste à vérifier la stabilité des échantillons préparés et l'homogénéité des matériaux en s'appuyant sur les critères d'évaluation de l'annexe B de la norme NF ISO 13528.

Douze échantillons seront préparés pour chaque niveau de concentration puis analysés chacun en double à raison de deux échantillons par jour afin de vérifier d'une part l'homogénéité de la préparation et d'autre part la stabilité des matériaux et la période raisonnable d'analyse par les participants.

Les échantillons seront conditionnés dans les cartons d'envoi à J0 (2 flacons pour le niveau bas et 2 flacons pour le niveau haut). Le transport sera simulé sur un circuit court pour prendre en compte les conditions d'acheminement, puis les colis seront conservés en chambre froide pour simuler la conservation par les laboratoires.

Pour chaque niveau de concentration deux flacons seront extraits chacun en double à J0, J+1, J+2, J+3, J+4 et J+7.

Les extraits seront analysés ensemble en une seule série analytique dans la mesure du possible, pour limiter la contribution de l'étalonnage.

3.9. CONTRÔLE DES MATÉRIAUX LORS DE L'ESSAI

La stabilité des matériaux d'essais pendant la réalisation de l'essai sera contrôlée.

Vingt flacons issus aléatoirement du lot préparé pour l'essai seront utilisés pour une analyse en double de dix échantillons le jour de la réception des colis par les laboratoires et le jour déterminé comme fin de période raisonnable, pour les deux niveaux de concentration.

3.10. RESTITUTION DES DONNÉES D'ESSAI

Une réunion de restitution des résultats de l'essai auprès des laboratoires participants est prévue. Elle permettra de faire état d'éventuelles difficultés ou remarques de la part des laboratoires, qui pourront être consignées afin de proposer ou d'anticiper des solutions.

3.11. CHRONOGRAMME PRÉVISIONNEL

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M
Diffusion de l'information	x	x	x	x	x	x	x	x							
inscription à l'essai		x	x	x	x	x	x	x	x						
Etude de faisabilité				x	x										
Préparation et expédition des matériaux pour l'essai										x					
Contrôles de lot										x					
Réception des résultats										x	x				
Traitement des résultats												x	x		
Réunion de clôture														x	
Emission du rapport d'essai															x

4. Références

AFSSA (2009) - Synthèse des résultats de campagnes d'analyses de résidus de médicaments dans les eaux effectuées par les DRASS dans trois bassins pilotes.

Coquery M., Dulio V., Amalric L. (2009) - Rapport d'étape, Amélioration des connaissances sur les substances pharmaceutiques dans les milieux aquatiques - bancarisation des programmes de mesure et des données existantes en France.

Farre M., Petrovic M., Gros M., Kosjek T., Martinez E., Heath E., Osvald P., Loose R., Le Menach K., Budzinski H., De Alencastro F., Muller J., Knepper T., Finki G., Ternes T.A., Zuccato E., P. Kormali, Gans O., Rodil R., Quintana J.B., Pastori F., Gentili A., Barcelo D. (2008) - First interlaboratory exercise on non-steroidal anti-inflammatory drugs analysis in environmental samples Talenta 76, p. 580-590.

Guide ISO 35 (2006) - Certification des matériaux de référence – Principes généraux et statistiques, 3^{ème} édition.

Guide ISO/CEI Guide 43-1 (1997) - Essais d'aptitude des laboratoires par intercomparaison – partie 1 : Développement et mise en œuvre de systèmes d'essais d'aptitude, 2e édition, Genève, ISO, 1996, 16 p.

Guide ISO/CEI Guide 43-2 (1997) - Essais d'aptitude des laboratoires par intercomparaison – partie 2 : Sélection et utilisation de systèmes d'essais d'aptitude par des organismes d'accréditation de laboratoire, 1^{re} édition, Genève, ISO, 1997, 3 p.

Lardy-Fontan S et Lalere B. (2010) - Document DMSI/2, Exploitation d'un réseau européen de référence sur les substances émergentes, PARTIE 1 : Etat de l'art des méthodes analytiques pour l'analyse de 4 substances pharmaceutiques (carbamazépine, diclofénac, iopamidol, amidotriozate).

Lardy-Fontan S et Lalere B. (2010) - Document DMSI/3, Exploitation d'un réseau européen de référence sur les substances émergentes, PARTIE 2 : MODUS OPERANDI pour le développement et la validation de méthodes pour l'analyse de substances pharmaceutiques dans les matrices environnementales.

NF ISO 5725-1, Application de la statistique, Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure, Partie 1 : Principes généraux et définitions, AFNOR, Ed. Paris, Décembre 1994, 24 pages.

NF ISO 5725-2, Application de la statistique, Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure, Partie 2 : Méthode de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée, AFNOR, Ed. Paris, Décembre 1994, 54 pages.

NF ISO 13528 (2005) - Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons interlaboratoires, AFNOR, Ed Paris, Décembre 2005, 66 pages.

Py J.-S. (2010) - Rapport de synthèse de l'essai inter-laboratoires : résidus de médicaments dans l'eau destinée à la consommation humaine, AFSSA, 37 pages.



Géosciences pour une Terre durable

brgm

**Centre scientifique et technique
Service métrologie, monitoring et analyses**

3, avenue Claude-Guillemin
BP 36009 – 45060 Orléans Cedex 2 – France – Tél. : 02 38 64 34 34