

# Essai inter-laboratoires

Octobre 2011

# AQUAREF

Consortium  
scientifique  
et technique

BRGM, Cemagref,  
FREMER, INERIS et LNE



## Résidus médicamenteux dans les eaux environnementales

En partenariat avec :



et



Ifremer



Laurence  
Amalric



# Contexte et objectif

- Mise en évidence de la présence de résidus de médicaments dans les eaux du territoire national
  - analyses réalisées par le BRGM pour le compte des agences de l'eau, (AELB et AESN) : molécules présentes dans les eaux de surface et souterraines
  - Projet de recherche national AMPERES (Irstea) : molécules quantifiées en sortie de stations d'épurations
- Besoin de connaître les performances analytiques des laboratoires et de les préparer aux futures exigences réglementaires

# Mise à disposition d'une méthode d'analyse

- Fiche méthode  
Aquaref MA-14  
en mars 2009

F → G → D

Référence de la fiche : MA14



**Composés pharmaceutiques**  
Méthode d'analyse dans **les eaux douces et souterraines par  
SPE LC MS (Code SANDRE : 693)**

## Références de la méthode

La méthode qui suit est dérivée de la publication suivante	Sans objet
Norme française et/ou européenne dont est tirée la méthode	Sans objet

## Généralités

Nom de la famille de substances	Composés pharmaceutiques
Nom des substances individuelles	Molécules (code SANDRE) : Alprazolam (5370), lorazepam (5374), oxazepam (5375), zolpidem (5376) : psychotropes; Bezafibrate (5366), acide fenofibrique (5369) : hypolipémiants; Ketoprofène (5353), diclofenac (5349) : analgésique; Atenolol (5361), metoprolol (5362), propranolol (5363) : beta-bloquant; Sulfaméthoxazole (5356), triméthoprim (5357) : antibiotiques.
Matrice analysée	Eau douce de surface Eau souterraine
Nom de la méthode	SPE / LC-MS
Principe de la méthode	Extraction sur phase solide SPE (HLB Oasis) et analyse en chromatographie phase liquide (ESI+) couplée à la spectrométrie de masse à trappe ionique.



# Préparation de l'essai interlaboratoire en 2010

- Réflexion et mise en place de l'EIL par le groupe de travail constitué de
  - BRGM, INERIS, Irstea, LNE
  - et ANSES
- Détermination des paramètres et matrice de l'essai





# Le choix des composés

- Prise en compte des molécules retrouvées dans l'environnement au niveau national,
  - AMPERES : en sortie de STEP,
  - Campagne Nationale ANSES : eaux d'alimentation,
  - Agences de l'Eau (AELB et AESN) : cours d'eaux et eaux souterraines ,
  - Travaux du plan national médicaments en cours en 2010.
- et des substances pharmaceutiques pressenties comme candidates prioritaires de la liste DCE
  - GT substances
- Prise en compte de l'occurrence et des niveaux de concentration pour chaque molécule



# Teneurs dans les matériaux d'essai



Déterminées en fonction :

- des concentrations de l'EIL Anses 2009 (15-20 et 60-80 ng/l) qui ont bien été retrouvées par l'ensemble des participants ;
- de la prise en compte des valeurs seuils européennes provisoires : normes de qualité disponibles (février 2011)
  - ibuprofène 10 ng/l ; diclofénac 100 ng/l
  - 17- $\alpha$ -éthynylestradiol 0,1 ng/l ; 17- $\beta$ -estradiol 0,4 ng/l

# Matériaux d'essai retenus



Eau souterraine non filtrée

	<b>Lot 1 Eau souterraine</b>	<b>Lot 2 Eau souterraine</b>	<b>Lot 3 Eau souterraine</b>	<b>Solution De référence</b>
	Pas de dopage ng/l	Dopage ng/l	Dopage ng/l	Dopage µg/l
<b>Carbamazépine</b>	<b>19,5</b>	<b>40,2</b>	<b>115,9</b>	<b>50</b>
<b>Oxazépam</b>	<b>22,3</b>	<b>42,6</b>	<b>119,3</b>	<b>50</b>
<b>Sulfaméthoxazole</b>	<b>9,0</b>	<b>29,7</b>	<b>105,0</b>	<b>/</b>
<b>Ibuprofène</b>	<b>6,7</b>	<b>27,2</b>	<b>100,8</b>	<b>/</b>
<b>Diclofénac</b>	<b>3,7</b>	<b>23,8</b>	<b>99,2</b>	<b>50</b>
<b>Kétoprofène</b>	<b>2,8</b>	<b>23,0</b>	<b>97,0</b>	<b>/</b>
<b>Aténolol</b>	<b>2,5</b>	<b>22,7</b>	<b>90,3</b>	<b>/</b>
<b>Métoprolol</b>	<b>4,5</b>	<b>24,8</b>	<b>100,5</b>	<b>/</b>
<b>17-α éthinylestradiol</b>	<b>&lt; 0,4</b>	<b>&lt; 0,4</b>	<b>35,6</b>	<b>/</b>
<b>17-β estradiol</b>	<b>&lt; 0,4</b>	<b>&lt; 0,4</b>	<b>33,1</b>	<b>/</b>
<b>17-α estradiol</b>	<b>&lt; 0,4</b>	<b>&lt; 0,4</b>	<b>33,8</b>	<b>/</b>
<b>Estrone</b>	<b>&lt; 0,4</b>	<b>2,2</b>	<b>&lt; 0,4</b>	<b>/</b>

**D**

# Ouverture du consortium AQUAREF

- **ANSES** : participation à la conception
- **INERIS** : préparation de la plaquette d'information
- **BRGM** : préparation des matériaux , envoi aux participants, analyses des substances médicamenteuses (étude d'homogénéité et stabilité et contrôles nécessaires à l'essai)
- **Irstea** : analyse des hormones (étude d'homogénéité et stabilité et contrôles nécessaires à l'essai)
- **LNE** : préparation de la solution étalon de référence et son étude d'homogénéité et de stabilité
- **AGLAE** : logistique d'inscription, distribution documentaire, fourniture des flacons et des emballages et traitement statistique des résultats

# Organisation conforme aux référentiels européens

D

- Les matériaux de l'essai ont été sélectionnés et contrôlés.
- L'organisation et le traitement de l'essai réalisés conformément aux exigences européennes :
  - guide ISO 43 : lignes directrices de mise en œuvre des essais d'aptitude
  - guide ISO 35 : principes généraux et statistiques de détermination d'une valeur de référence
  - norme ISO 5725 : justesse et fidélité des résultats et des méthodes de mesure.
  - norme ISO 13528 : expression des performances analytiques des laboratoires



# Les performances nationales

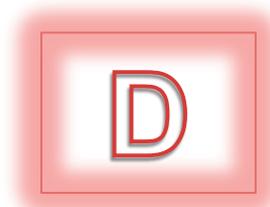
- Coefficients de variation ( $CV_R$ )
  - de l'ordre de 20% pour le niveau de 100 ng/L,
  - de l'ordre de 25% pour le niveau de 25 ng/L,
  - Ces valeurs s'inscrivent dans la lignée des dosages de micropolluants organiques plutôt reproductibles.
- Les niveaux de concentrations de 25 à 100 ng/l sont mesurables par la profession.
- Les laboratoires maîtrisent globalement bien les techniques de mesure disponibles.
- Progrès entre l'essai ANSES de 2009 et celui-ci, avec des  $CV_R$  plus resserrés en général.

**33 laboratoires  
dont 30 nationaux**

**E**



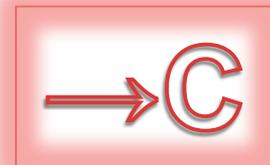
# Par rapport aux performances européennes



- Essai européen de 2011
  - réalisé avec une eau de surface naturelle mais filtrée.
  - $CV_R$  entre 10 et 35% selon les molécules, pour des concentrations de 110 à 400 ng/L, plus élevées que dans les deux essais français.
  - pour les molécules et niveaux de concentration équivalents (diclofénac, carbamazépine, ibuprofène et sulfaméthoxazole), les  $CV_R$  sont compris entre 10 et 21%.
- Les performances sont globalement équivalentes
- La différence porte sur la méthode d'extraction
  - injection directe - exigence de LQ à 25 ng/L, au niveau EU
  - concentration sur cartouche en ligne - LQ  $\approx$  10 ng/L, au niveau Français

# Alerte : stabilité

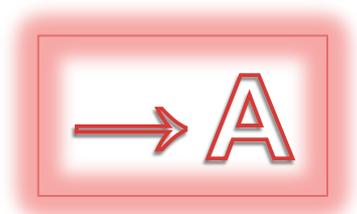
- La plupart des résidus de médicaments sont relativement stables dans l'eau exempte de matières en suspension
  - délai de conservation de 3 jours convenable si réfrigération.
- Cependant des phénomènes sont encore mal maîtrisés pour ces composés, ce qui laisse présager des difficultés pour leur analyse dans des eaux plus chargées en MES.
- Les 17- $\beta$  et 17- $\alpha$  estradiols se dégradent en estrone (48h après la préparation des matériaux d'essai) : on recommande :
  - un traitement de l'échantillon dans les 24 h suivant son prélèvement, ou
  - une stabilisation par congélation immédiate (pendant 7 j) suivie d'une décongélation sur 24h, ou
  - une extraction sur site.



Problème encore plus critique pour les eaux chargées en MES

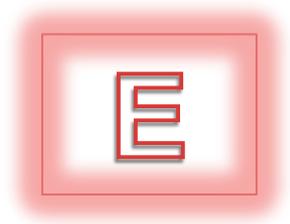
# Alerte : niveau de concentration

- Vouloir doser en routine des valeurs très basses pour les médicaments ( $< 10$  ng/l) et pour les hormones ( $\approx 2$  ng/l) est utopique
  - Trop peu de laboratoires détectent ces teneurs,
  - Faux positifs (2 laboratoires / 22).
- Attention à la compatibilité des performances actuelles des laboratoires avec les exigences de la DCE et des normes de qualité environnementale.

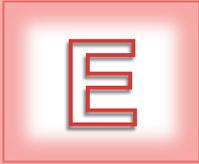


# Alerte : incertitude

- L'incertitude de mesure relative élargie se situe
  - autour de 25-30%
  - sauf estrone 30-45%
- Les estimations faites par les laboratoires de leur propre incertitude de mesure ne sont pas toujours très fiables, en moyenne 1 laboratoire sur 3 sous-estime ses incertitudes : conséquence sur les LQs



# Appropriation et mise à disposition

- EIL médicaments proposé en routine par AGLAE dès 2012 (M57) avec 2 essais /an 
- Rédaction d'une norme au sein de la commission T91M méthode pour la détermination des résidus de médicaments dans les eaux 
  - Norme expérimentale XP T 90-223

# Identifier, agir, contrôler, réagir...

