

LES MOLECULES PSYCHOTROPES : PANORAMA DES ENJEUX ENVIRONNEMENTAUX ET ANALYTIQUES

II-A-01 : Amélioration des connaissances sur
les substances émergentes

S.Lardy-Fontan, V.Brieudes

Décembre 2011

Document final



Avec l'approbation de



et le soutien de



Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2011.

Sophie LARDY-FONTAN

LNE - DMSI- Pôle Biologie et Chimie - Département Biomédical et Chimie organique

Sophie.lardy-fontan@lne.fr

Vincent BRIEUDES

LNE - DMSI- Pôle Biologie et Chimie- Département Biomédical et Chimie organique

Vincent.brieudes@lne.fr

Les correspondants

Onema : Pierre-François STAUB, ONEMA-DAST, pierre-francois.staub@onema.fr

Etablissement : Sophie VASLIN-REIMANN, LNE-DMSI-Pôle Biologie et Chimie,

sophie.vaslin-reimann@lne.fr

Référence du document : S.Lardy-Fontan, V. Brieudes - Les molécules psychotropes : panorama des enjeux environnementaux et analytiques - Rapport AQUAREF 2011 - 52 p.

2011LNE9- molecules_psychotropes_enjeux.doc

Convention ONEMA-LNE n°1187/11

Droits d'usage :	Accès libre
Couverture géographique :	International
Niveau géographique :	National
Niveau de lecture :	Professionnels, experts
Nature de la ressource :	Document

SOMMAIRE

Liste des annexes :	5
Titre Les molécules psychotropes : panorama des enjeux environnementaux et analytiques	6
AUTEUR(s) S.Lardy-Fontan, V.Brieudes	6
Resumé	6
Mots clés (thématique et géographique) :	6
Author(s) S.Lardy-Fontan, V.Brieudes	7
Abstracts	7
Key words (thematic and geographical area) :	7
Pharmaceutical residus, psychotropes, occurrence, effects, metrology, quality of measurements	7
 1. CONTEXTE	 8
Objectif du document.....	8
 2. LES PSYCHOTROPES	 9
2.1 Généralités	9
2.2 Les psychotropes : classification	9
Les neuroleptiques	10
Les antidépresseurs	10
Les régulateurs de l'humeur.....	11
Les anxyolitiques	12
Les hypnotiques	12
Les antalgiques	12
Les substances récréatives	13
2.3 Données de consommation et d'expérimentation de psychotropes	14
Données de consommation des médicaments psychotropes	14
Expérimentations de psychotropes à usages récréatifs.....	15
2.4 Processus de métabolisation chez l'homme	16
Généralités	16
Données de métabolisation des psychotropes	16
 3. ENJEUX ENVIRONNEMENTAUX LIES A LA PRESENCE DES PSYCHOTROPES : DES SOURCES AUX EFFETS DANS LES MILIEUX	 18
3.1 Présence et devenir dans les stations d'épurations	19
3.2 Présence et devenir dans les milieux naturels	24
Présence et devenir au sein des compartiments abiotiques	24
Présence et devenir au sein des compartiments biotiques	25
3.3 Risques environnementaux	30
Psychotropes et perturbation endocrinienne.....	30
Psychotropes et effets comportementaux	31
 4. ENJEUX ANALYTIQUES LIES AUX PSYCHOTROPES DANS LES MATRICES ENVIRONNEMENTALES	 33
4.1 Echantillonnage	33
4.2 Conservation des échantillons	35
4.3 Méthodes d'analyses	36

4.4 Les effets matriciels.....	41
5. BIBLIOGRAPHIE	44

Liste des annexes :

<u>Liste</u>	<u>des</u>	<u>tableaux</u>
TABLEAU 1 : ORGANISATION DES PSYCHOTROPES AU SEIN DE LA CLASSE ATC-N	9	
TABLEAU 2 : DONNÉES DE MÉTABOLISATION DE CERTAINS PSYCHOTROPES	17	
TABLEAU 3 : DONNÉES D'ABATTEMENT DE CERTAINS PSYCHOTROPES DANS LES USINES DE TRAITEMENT DES EAUX USÉES	21	
TABLEAU 4 : DONNÉES D'OCCURRENCE DES PSYCHOTROPES DANS LES EFFLUENTS D'OUVRAGES DE TRAITEMENTS DES EAUX USÉES EN FRANCE ET À L'ÉTRANGER	22	
TABLEAU 5 : DONNÉES D'OCCURRENCE DE PSYCHOTROPES DANS LES EAUX DE SURFACE À L'ÉTRANGER	27	
TABLEAU 6 : DONNÉES D'OCCURRENCE DE PSYCHOTROPES DANS LES EAUX DU ROBINET ET LES EAUX DE SURFACE EN FRANCE	28	
TABLEAU 7 : PSYCHOTROPES AGISSANT SUR LES ISOFORMES DU CYTOCHROME P450, CHEZ L'HOMME	31	
TABLEAU 8 : ILLUSTRATION DES EFFETS DES CONDITIONS DE CONSERVATION SUR LA STABILITÉ DES PSYCHOTROPES DANS LES ÉCHANTILLONS AQUEUX ...	35	
TABLEAU 9 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE DES MÉTHODES D'ANALYSES DE PSYCHOTROPES DANS LES MATRICES AQUEUSES	38	

<u>Liste</u>	<u>des</u>	<u>figures</u>
FIGURE 1 : EVOLUTION DANS LES VENTES, EN FRANCE, DE PRODUITS PHARMACEUTIQUES CLASSÉS ATC-N EN OFFICINES ET À L'HÔPITAL SUR LA PÉRIODE 1999-2009 (AFSSAPS, 2011)	14	
FIGURE 2 : TENDANCES DANS LES USAGES DE DROGUES ILLICITES EN FRANCE SUR LA PÉRIODE 1992-2010.	15	
FIGURE 3 : ILLUSTRATION SCHÉMATIQUE DE MÉTABOLISATION POUR 3 CLASSES DE PSYCHOTROPES.....	17	
FIGURE 4 : VISION GLOBALE DE LA PROBLÉMATIQUE DE L'ÉTUDE D'UNE MOLÉCULE PHARMACEUTIQUE PARENTE (D'APRÈS KUMMERER, 2009)....	19	

FIGURE 5 : ORGANOTROPISME CHEZ DES TRUITES COMMUNES EXPOSÉES À DES EFFLUENTS CONTENANT DES ANTIDÉPRESSEURS (D'APRÈS LAJEUNESSE ET AL., 2011).....	26
FIGURE 6 : VARIABILITÉ DE L'EFFLUENT DE LA STATION D'ÉPURATION DE ROUEN AU COURS D'UN SUIVI HORAIRE SUR 24 HEURES (D'APRÈS TOGOLA, 2006).....	33
FIGURE 7 : EVOLUTION DES CONCENTRATIONS JOURNALIÈRES, AU COURS D'UN SUIVI D'UNE SEMAINE, EN PSYCHOTROPES DANS LES INFLUENTS D'UNE STATION DE TRAITEMENT DES EAUX RÉSIDUAIRES (D'APRÈS MARTINEZ-BUENO ET AL., 2011).	34
FIGURE 8 : TENDANCES DE REJETS EN FLUX (MG.H-1) DE MÉTAMPHÉTAMINE ET BENZOYLECGONINE AU NIVEAU D'UNE USINE DE TRAITEMENTS DES EAUX USÉES (D'APRÈS REID ET AL., 2011). ECHANTILLONNAGES SUR LA BASE D'ÉCHANTILLONNAGE MOYENNÉ 6 HEURES SUR UNE PÉRIODE DE 25 JOURS	34
FIGURE 9 : EVALUATION DES EFFETS MATRICIELS (D'APRÈS MARTINEZ-BUENO ET AL., 2011)	41
FIGURE 10 : EFFET DE LA MÉTHODE DE QUANTIFICATION SUR LA ROBUSTESSE D'UNE MÉTHODE : INTÉRÊT DE LA DILUTION ISOTOPIQUE (D'APRÈS BILJSMA ET AL., 2009).	42

TITRE LES MOLECULES PSYCHOTROPES : PANORAMA DES ENJEUX ENVIRONNEMENTAUX ET ANALYTIQUES

AUTEUR(s) S.Lardy-Fontan, V.Brieudes

RESUME

Le besoin de connaissance et de maîtrise des enjeux de la présence de polluants dits émergents dans l'environnement, et les écosystèmes aquatiques en particulier est déterminant.

Ce document présente une synthèse bibliographique visant à faire un état de l'art des connaissances concernant la présence, le devenir et les effets des molécules psychotropes dans l'environnement. Il expose également un état de l'art des méthodes d'analyse disponibles pour conduire les études de surveillance des psychotropes dans les écosystèmes naturels. Le document expose et discute les besoins de recherche liés à la compréhension des risques posés par les molécules psychotropes dans les milieux naturels et s'attache à discuter certains points critiques et exposera les principaux leviers et verrous demeurant, en particulier concernant les stratégies et les procédures analytiques mises en œuvre pour l'étude de molécules psychotropes dans les milieux naturels.

L'étude de la présence et du devenir des résidus médicamenteux de type psychotropes dans l'environnement apparaît comme une priorité, au regard du caractère fragmentaire et versatile des connaissances acquises à ce jour par rapport aux risques écotoxicologiques des risques toxicologiques (ou sanitaires) qu'ils sont susceptibles de poser.

Le caractère ubiquitaire de la contamination par les molécules psychotropes est notable même s'il est à noter qu'au regard des niveaux de concentrations rencontrées dans les milieux naturels, sa mise en évidence est fortement dépendante des capacités analytiques (sensibilité) des méthodes employées. Bien que leurs niveaux de présence soient qualifiables d'ultra traces les risques liés à leur présence en mélange complexe dans l'environnement ne peuvent être écartés.

Il est plus que jamais manifeste qu'un certain nombre de verrous restent encore à lever dans les démarches méthodologiques mises en œuvre pour l'acquisition des données de présence des molécules de type psychotropes dans l'environnement. C'est à ce prix que l'on pourra espérer améliorer la qualité des données pour de meilleures prises de décision

Mots clés (thématique et géographique) :

Résidus médicamenteux, psychotropes, occurrence, effets, métrologie, qualité des données

TITLE PSYCHOTROPES MOLECULES: OVERVIEW OF ENVIRONMENTAL AND ANALYTICAL ISSUES

AUTHOR(S) S.Lardy-Fontan, V.Brieudes

ABSTRACTS

The need for knowledge and control issues to the presence of the so-called emerging pollutants in the environment and especially in aquatic ecosystems is crucial.

This paper presents a literature review aiming at a state of the art of knowledge about the occurrence, fate and effects of psychotropes compounds in the environment. It also describes a state of the art of analytical methods/strategies available to lead monitoring studies of psychotropes in natural ecosystems. The paper presents and discusses research needs that are necessary to properly evaluate the risks posed by psychotrope molecules in the natural environment and aims at discussing some critical points and outlines the key levers and locks remaining, particularly on analytical strategies and procedures implemented for the study of psychotropes in natural environments.

The study of the presence and fate of pharmaceuticals such as psychotropes in the environment is a priority, given the fragmented and versatile knowledge achieved to date especially considering the ecotoxicological risks as well as toxicological risks (or sanitary) that they are likely to pose.

The ubiquitous nature of the contamination by psychotropes is significant even if it should be noted the very low levels of concentration encountered in natural environments, its highlight is strongly dependent on the analytical capabilities (sensitivity) of the implemented methods. Although their levels of occurrence are qualifiable as ultra traces should not be discounted.

It has never been more apparent that a number of locks still need to raise the methodological approaches implemented for data acquisition of psychotrope-like molecules in the environment. This is the price that we have to pay to improve the quality of data for better decision-makings.

Key words (thematic and geographical area) :

Pharmaceutical residus, psychotropes, occurrence, effects, metrology, quality of measurements

1. CONTEXTE

Le besoin de connaissance et de maîtrise des enjeux de la présence de polluants dits émergents dans l'environnement, et les écosystèmes aquatiques en particulier est déterminant.

La raison pour laquelle les substances médicamenteuses présentent un intérêt dans le contexte environnemental est qu'elles sont isolées et/ou synthétisées pour induire un effet biologique favorable à la santé dans l'organisme animal et/ou humain.

Elles présentent des caractéristiques physico-chimiques communes leur conférant des propriétés de franchissement des membranes, de bioaccumulation et in fine d'induction d'effets biologiques sur des espèces non cibles présentes dans les écosystèmes aquatiques.

Les besoins de connaissance s'intègrent dans un certain nombre d'enjeux environnementaux nationaux ; notamment l'action 103 du Grenelle de l'environnement concernant la Maîtrise des risques liés aux résidus médicamenteux inscrite dans le Plan national Santé Environnement PNSE 2, à savoir l'action 47 "Améliorer la connaissance et réduire les risques liés aux rejets de médicaments dans l'environnement". Le Plan national sur les Résidus de Médicaments, publié en mai 2011 et porté conjointement par le ministère de la santé et le ministère de l'Écologie, du Développement durable, des Transports et du Logement en est la réponse opérationnelle.

Près de 3 000 molécules pharmaceutiques sont couramment employées dans nos sociétés industrialisées et cela sans compter les marchés parallèles de molécules illicites ou interdites. Cependant, Mompellat et al. (2009) rapportent, d'après une revue bibliographique, que seules 160 molécules pharmaceutiques auraient fait l'objet d'investigations pour seulement une trentaine de métabolites et de produits de transformation.

En France, un certain nombre d'activités de recherche a été initié, dès les années 2000, et a conduit à la mise en évidence d'une pollution chronique des écosystèmes aquatiques français depuis les eaux de rejets hospitaliers ou domestiques jusqu'en milieu marin ouvert dans des gammes de concentrations comprises entre la centaine de pg/L à la dizaine de µg/L (Programme PIREN-SEINE; Programme Seine-aval; ANR AMPERES, Programme MEDICIS, etc....) par un certain nombre de résidus médicamenteux appartenant à des classes thérapeutiques de large consommation: les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les bêta-bloquants, les antiépileptiques, les antibiotiques.

Des travaux sont également en cours sur des classes thérapeutiques critiques tels que les anticancéreux ou les antiviraux.... Nonobstant, des enjeux de recherche déterminants demeurent pour des classes thérapeutiques plus restreintes, notamment dans l'optique de constituer des listes prioritaires de résidus médicamenteux à l'échelle du territoire qui soient pertinentes et de conduire des études de risques environnementaux liées à la présence de molécules en mélange et à l'état de (ultra)-traces.

OBJECTIF DU DOCUMENT

Le présent document est le fruit d'un travail de synthèse bibliographique visant à faire un état de l'art des connaissances concernant la présence, le devenir et les effets des molécules psychotropes dans l'environnement.

Le document discutera des besoins de recherche liés à la compréhension des risques posés par ces molécules dans les milieux naturels. Le présent travail présentera également un état de l'art des méthodes d'analyse disponibles pour conduire les études de surveillance

des psychotropes dans les écosystèmes naturels. Le document s'intéressera à discuter certains points critiques et exposera les principaux leviers et verrous demeurant s'agissant des stratégies et procédures analytiques mises en œuvre pour l'étude de molécules psychotropes dans les milieux naturels.

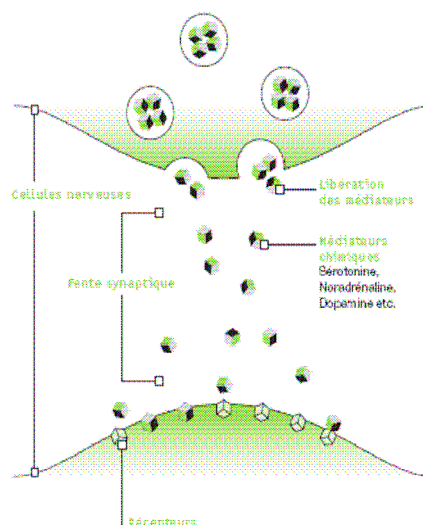
2. LES PSYCHOTROPES

2.1 GENERALITES

Etymologiquement, le terme "psychotropes" signifie "qui agit, qui donne une direction" (trope) "à l'esprit ou au comportement" (psycho). Le terme psychotropes possède une définition en droit pour désigner un ensemble de substances classées aux tableaux I, II, III ou IV de la Convention de 1971 de l'ONU. Cette définition diffère de celle couramment utilisée en pharmacologie, qui reconnaît une molécule psychotrope comme une substance qui agit principalement sur l'état du système nerveux central en modifiant certains processus biochimiques et physiologiques cérébraux, sans préjuger de sa capacité à induire des phénomènes de dépendance, ni de son éventuelle toxicité.

Les psychotropes : Généralités mode d'action

Les psychotropes sont des médicaments ou molécules qui agissent sur le métabolisme du cerveau. Lorsqu'une cellule nerveuse est stimulée, un courant électrique très faible se déplace le long de la membrane cellulaire. Parvenu à la terminaison nerveuse, ce courant électrique provoque la libération de médiateurs chimiques appelés neurotransmetteurs dans la fente synaptique. Ces neurotransmetteurs stimulent alors la cellule voisine par fixation sur des récepteurs spécifiques, et ainsi de suite. Les psychotropes agissent soit sur la concentration de ces neurotransmetteurs dans la fente synaptique soit sur leur capacité à se lier aux récepteurs.



2.2 LES PSYCHOTROPES : CLASSIFICATION

De nombreuses classifications des psychotropes ont été proposées. Très complexes à mettre en place au regard de la grande complexité des modes d'actions des molécules ciblées dont les effets et donc les usages varient bien souvent en fonction de la concentration de produit active varie.

Le Tableau 1 présente l'organisation de la classe ATC-N (ATC : Classification Anatomique, Thérapeutique et Chimique ; N système nerveux) qui regroupe l'ensemble des psychotropes.

Tableau 1 : Organisation des psychotropes au sein de la classe ATC-N

N01 : Anesthésiques	N01A : Anesthésiques généraux N01B : Anesthésiques locaux
N02 : Analgésiques	N02A : Opiacés N02B : Analgésiques et antipyrétiques N02C : Médicaments antimigraineux
N03 : Antiépileptiques	N03A : Antiépileptiques
N04 : Anti-parkinsoniens	N04A : Agents anticholinergiques

	N04B : Agents dopaminergiques
N05 : Psycholeptiques	N05A : Antipsychotiques N05B : Anxiolytiques N05C : Hypnotiques et sédatifs
N06 : Psychoanaleptiques	N06A : Antidépresseurs N06B : Psychostimulants N06C : Psycholeptiques et psychoanaleptiques en association N06D : Médicaments anti-démence
N07 : Autres médicaments du système nerveux	N07A : Parasympathicomimétiques N07B : Médicaments utilisés dans les troubles d'addiction N07C : Préparation anti-vertige N07X : Autres médicaments du système nerveux

Antipyrétique : médicament dont le rôle est de combattre la fièvre.

Analgésique : médicament qui permet d'atténuer, voire de supprimer la douleur.

Anticholinergique : substance qui inhibe l'action de l'acétylcholine (neurotransmetteur du système nerveux central).

Dopaminergique : agent qui stimule les récepteurs de la dopamine (neurotransmetteur du système central)

Parasympathicomimétique : substance dont les propriétés imitent la stimulation du système nerveux parasympathique

Cette classification, très technique, n'est généralement pas respectée dans les travaux publiés dans le domaine de la chimie de l'environnement au sein desquels la classification suivante est observée. On distingue 5 grandes classes de médicaments psychotropes :

- les neuroleptiques,
- les antidépresseurs,
- les régulateurs de l'humeur ou normothymiques,
- les tranquillisants ou anxiolytiques,
- les hypnotiques.

Les neuroleptiques

Les neuroleptiques sont des médicaments symptomatiques principalement utilisés pour le traitement des psychoses. Ils peuvent appartenir à différentes classes chimiques et ont, par conséquent, simultanément plusieurs effets sur des neuromédiateurs différents. L'un d'entre eux, le blocage des récepteurs dopaminergiques, semble responsable de l'effet thérapeutique. Les principaux produits actifs sont les suivants (entre parenthèse un exemple de nom commercial de médicament contenant la substance) :

- prochlorpérazine (Compazine[®])
- clozapine (Leponex[®])
- olanzapine (Zyprexa[®])
- aripiprazole (Abilify[®])
- métoclopramide (Primperan[®])
- doxylamine (Donormyl[®])
- prométhazine (Phénergan[®])
- véralipride (Agréal[®])
- acétylleucine (Tanganil[®]).

Les antidépresseurs

Les antidépresseurs sont utilisés pour traiter les troubles dépressifs caractérisés. Les médicaments les plus prescrits appartiennent à trois classes :

a) Les antidépresseurs tricycliques ATC ou imipraminiques.

Les ATC interviennent en évitant la recapture synaptique des mono-amines (noradrénaline (NA) et sérotonine (5-HT)), par «Down regulation» des récepteurs bêta-adrénergiques et des récepteurs sérotoninergiques et par la désensibilisation de l'adénylate cyclase à la stimulation par la NA au niveau post-synaptique. Les principaux produits actifs sont les suivants (entre parenthèse un exemple de nom commercial de médicament contenant la substance) :

- amitriptyline (Elavil®)
- clomipramine (Anafranil®)
- doxépine (Quitaxon®)
- imipramine (Tofranil®).

b) Les antidépresseurs de type ISRS (inhibiteur sélectif de recapture de la sérotonine) et IRSN (Inhibiteurs de recapture de la sérotonine et la noradrénaline).

Les ISRS et IRSN inhibent de façon sélective la recapture de la noradrénaline ou/et de la sérotonine. Ils n'auront donc pas, à la différence des antidépresseurs tricycliques, d'action sur la dopamine. Cette inhibition entraîne une augmentation de la concentration synaptique de ces neuromédiateurs. Les principaux produits actifs sont les suivants (entre parenthèse un exemple de nom commercial de médicament contenant la substance) :

- citalopram (Seropram®)
- fluoxétine (Prozac®)
- paroxétine (Deroxat®)
- sertraline (Zoloft®)
- venlafaxine (Effexor®)
- duloxétine (Cymbalta®)
- desvenlafaxine (PristiQ®).

c) Les antidépresseurs de type IMAO (inhibiteurs de la monoamine oxydase).

Les IMAO agissent par inhibition des enzymes de dégradation des mono-amines (la monoamine oxydase (MAO) et la catéchol-O-méthyltransférase (COMT)) ou par «Down regulation» des récepteurs β -adrénergiques et des récepteurs sérotoninergiques et par la désensibilisation de l'adénylate cyclase à la stimulation par la NA au niveau post-synaptique. Les principaux produits actifs sont les suivants (entre parenthèse un exemple de nom commercial de médicament contenant la substance) :

- toloxatone (Humoryl®)
- sélégiline (Déprenyl®).

La classe pharmacologique des antidépresseurs reste très hétérogène tant au niveau des mécanismes d'action qu'au niveau des effets indésirables, la différenciation entre les produits d'une même famille reste toujours difficile

Les régulateurs de l'humeur

Les régulateurs de l'humeur ou normothymiques aussi appelés aussi thymorégulateurs ou normothymiques, ces médicaments sont prescrits pour soigner les épisodes dépressifs dans le cadre de troubles bipolaires. Ils peuvent appartenir à différentes classes chimiques et, par conséquent, peuvent présenter des mécanismes d'actions très différents. Les principaux produits actifs sont les suivants (entre parenthèse un exemple de nom commercial de médicament contenant la substance) :

- lithium (Téralithe®)

- carbamazépine (Tegretol[®])
- valpromide (Depamide[®])
- divalproate de sodium (Depakote[®]).

Les anxyolitiques

Les anxiolytiques sont des médicaments destinés à soigner les troubles de l'anxiété, là encore ce sont des médicaments purement symptomatiques. La principale classe d'anxiolytiques est celle des benzodiazépines. Les benzodiazépines agissent sur les neurotransmetteurs des neurones du système nerveux central en augmentant leur activité inhibitrice. Les principaux produits actifs sont les suivants (entre parenthèse un exemple de nom commercial de médicament contenant la substance) :

- alprazolam (Xanax[®])
- bromazépam (Lexomil[®])
- clorazépate (Tranxène[®])
- diazépam (Valium[®])
- lorazépam (Temesta[®])
- nordazépam (Nordaz[®])
- oxazépam (Seresta[®]).

Les hypnotiques

Les hypnotiques induisent le sommeil et permettent de réguler le sommeil afin d'éviter les insomnies. Là encore, une large gamme de classes chimiques hétérogènes mais présentent un mode d'action commun et agissent sur la transmission GABAergique (GABA¹: Acide Gamma-Amino Butyrique). Les principaux produits actifs sont les suivants (entre parenthèse un exemple de nom commercial de médicament contenant la substance) :

- estazolam (Nuctalon[®])
- loprazolam (Havlane[®])
- nitrazépam (Imeson[®])
- triazolam (Halcion)
- zolpidem (Stilnox[®])
- zopiclone (Imovane[®]).

Cependant sur la base d'un raisonnement sur les modes d'actions au niveau du système nerveux central (classe ATC-N), cette liste peut être élargie à un certain nombre de classes thérapeutiques et chimiques. A cet titre, il est pertinent de considérer les classes de molécules présentées ci-dessous.

Les antalgiques

Même si leur considération comme substance agissant sur le système nerveux peut-être discuté ; il n'en demeure pas moins que la très grande majorité des études les intègrent. Leur rôle de traceurs de pollutions anthropiques par des rejets urbains justifie, en très grande partie, leur considération.

Les antalgiques atténuent la douleur. On distingue généralement 3 niveaux croissants d'antalgiques :

1

GABA : acide γ -aminobutyrique, principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central chez les mammifères et les oiseaux

a) Les antalgiques de niveau 1 également appelés antalgiques périphériques, sont indiqués dans les douleurs légères à modérées. Leur action se fait principalement au niveau des nocicepteurs (récepteurs de la douleur) périphériques. Ils agissent en inhibant de manière réversible ou irréversible une ou les deux isoformes de la cyclo-oxygénase (COX 1 et 2), qui catalysent la synthèse de différentes prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. Les principaux produits actifs sont les suivants (entre parenthèse un exemple de nom commercial de médicament contenant la substance) :

- | | | |
|---|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">- aspirine- ibuprofène- diclofénac- naproxène- kétoprofène- paracétamol. | } | anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) |
|---|---|--|

b) Les antalgiques de niveau 2 indiqués en cas de douleurs modérées à intenses. Les antalgiques de niveau 2 sont essentiellement représentés par des associations d'antalgiques de niveau 1 avec des dérivés opioïdes mineurs. L'association permet ainsi de potentialiser l'effet analgésique de chacun des constituants. Les principaux produits actifs sont les suivants (entre parenthèse un exemple de nom commercial de médicament contenant la substance) :

- codéine (Codéfan[®])
- dihydrocodéine (Dicodin[®])
- tramadol (Ixprim[®]).

c) Les antalgiques de niveau 3 indiqués en cas de douleurs sévères et dans les douleurs d'origine cancéreuse.

- morphine (Sevredol[®])
- péthidine (Demerol[®])
- hydromorphone (Sopidone[®]).

Les substances récréatives

a) Les amphétamines

Ce sont des produits synthétiques stimulants du système nerveux central SNC par action dopaminergique. Bien qu'elles puissent être utilisées en thérapeutique pour leurs propriétés anorexigènes, vasoconstrictrices et dans les cas d'hyperkinésie (mouvements involontaires de nature non épileptique), leur principale consommation, de nos jours, est récréative.

b) Les cannabinoïdes

Le cannabis peut-être rencontré sous différentes formes : herbes, résine, huile de cannabis etc. Sa constitution est très complexe puisque l'on dénombre plus de 60 cannabinoïdes existants parmi lesquels, le Δ^9 -tétrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), principal composé psychoactif chez l'homme, le Δ^8 -tétrahydrocannabinol, le cannabidiol, le cannabinol. En France, un seuil fixé à 0,3% de Δ^9 -THC (poids sec) permet de distinguer le type "drogue" (illicite) et le type "fibre" (légal) de Cannabis sativa. Au niveau du système nerveux central SNC, les cannabinoïdes agissent en se fixant aux récepteurs cannabinoïdes. En diminuant l'activité de l'AMPc, une augmentation de la libération de la dopamine est observée.

c) La cocaïne et ses dérivés

La grande majorité des usages de cocaïne est liée à de la toxicomanie. Elle agit à la fois sur le système nerveux central SNC et le système cardio-vasculaire. Les actions neurotoxiques de la cocaïne sont complexes en conséquence des nombreux sites et modes d'actions susceptibles de se dérouler. Des symptômes tels que l'euphorie, la confusion, l'agitation et les hallucinations sont liés à l'augmentation de l'action de la dopamine au niveau du système limbique.

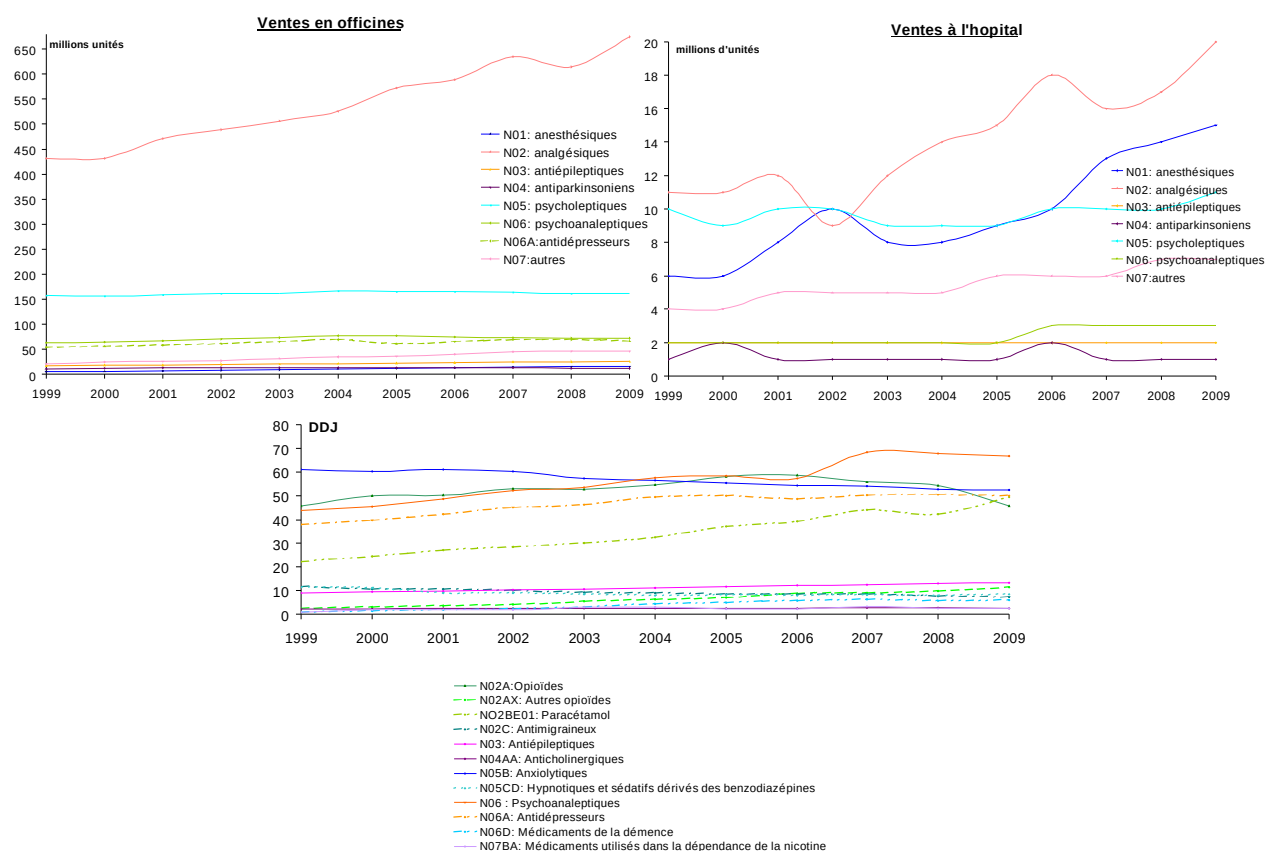
d) L'héroïne ou diacétylmorphine

C'est un produit de synthèse dont les usages sont liés à la toxicomanie. Au niveau du système nerveux central, les effets induits par l'administration d'héroïne diffèrent de ceux de la morphine aussi bien en terme de délai, durée et intensité d'action.

2.3 DONNEES DE CONSOMMATION ET D'EXPERIMENTATION DE PSYCHOTROPES

Données de consommation des médicaments psychotropes

La France est de loin le premier consommateur de psychotropes (notamment hypnotiques, d'anxiolytiques et d'antidépresseurs) les plus consommés étant les psychotropes médicamenteux avec près de 3,8 millions d'utilisateurs réguliers et 8,9 millions d'utilisateurs occasionnels.



DDJ correspondent, pour chaque classe ou substance, au nombre de boîtes vendues multiplié par le nombre de DDJ que contient chaque boîte de médicament vendue. Par convention, Ils sont présentés pour 1000 habitants et par jour.

Les ventes des médicaments du système nerveux ont augmenté beaucoup plus rapidement en quantités (3,6% contre 0,5%) que l'ensemble des spécialités pharmaceutiques. Les ventes des psycholeptiques ont seulement progressé de 3,5% et celles des psychoanaleptiques de 2,8%. En revanche, les antiépileptiques, dont le niveau des ventes est encore modeste, se caractérisent par un taux de croissance moyen annuel élevé en valeur (11,1%), et les anesthésiques de 8,9%. Au sein de la classe des psychoanaleptiques, les ventes d'antidépresseurs ont progressé de 2,0% en quantités. Le marché des "traitements substitutifs des pharmacodépendances majeures aux opioïdes" (buprénorphine et chlorhydrate de méthadone), a progressé en moyenne de 7,1% en quantités (mesurées en nombre d'unités de prise) entre 1999 et 2009.

Expérimentations de psychotropes à usages récréatifs

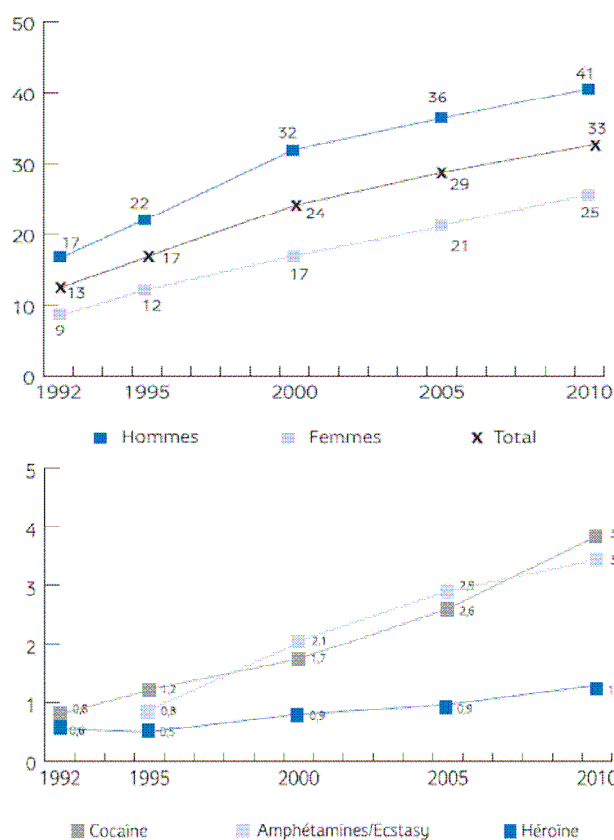


Figure 2 : Tendances dans les usages de drogues illicites en France sur la période 1992-2010. (d'après Tendances, n°76, juin 2011, OFDT)

a) Évolution, entre 1992 et 2010, de la proportion d'expérimentateurs de cannabis parmi les 18-64 ans, par sexe (en %)

b) Évolution de l'expérimentation des principales autres drogues, entre 1992 et 2010, parmi les 18-64 ans (en %).

Même si l'expérimentation est passée de 29% à 33% pour l'ensemble des tranches d'âge entre 2005 et 2010, la consommation de cannabis semble se stabiliser.

Expérimentée par 3,8% des 18-64 ans (0,9% de la population en ayant consommé au cours de l'année), la cocaïne se situe au deuxième rang des produits illicites les plus consommés, très loin derrière le cannabis et les produits psychotropes licites. La hausse de sa diffusion est néanmoins très nette (favorisée par une diminution des prix).

2.4 PROCESSUS DE METABOLISATION CHEZ L'HOMME

Généralités

Après absorption par l'organisme (humain et animal), les médicaments peuvent être excrétés sous forme inchangée et/ou métabolisée.

Dans l'organisme, un composé actif va subir différents processus que l'on peut schématiser en 4 étapes :

- L'absorption qui se définit par le transfert du principe actif du site d'administration vers la circulation générale.

, La distribution dans l'organisme qui se définit comme le transfert réversible des substances entre les différents organes de l'organisme. Elle s'effectue selon 4 facteurs : fixation protéique, propriétés physico-chimiques, irrigation des organes et affinité particulière des tissus.

f La métabolisation ou biotransformation qui est l'ensemble des modifications chimiques que subit un médicament dans l'organisme et qui conduit à la formation de métabolites. 2 phases de métabolisme se distinguent selon les processus de transformation induits par ces enzymes : les réactions de phase I et celles de phase II.

Ø Les Réactions de phase I qui comportent les bio-transformations dont le mécanisme réactionnel implique une oxydation sans que celle-ci soit nécessairement apparente dans le produit final obtenu. Le composé est modifié dans sa structure de manière à l'inactiver et à le rendre plus polaire. Les réactions de phase I comportent des réactions d'hydroxylation, de N- et S-oxydation pour lesquelles l'oxydation est évidente car il y a eu addition d'un atome d'oxygène, et des réactions de N- et O-déalkylation, où la fixation d'un atome d'oxygène n'a été qu'une étape intermédiaire et n'apparaît pas dans le produit final. La plupart des réactions d'oxydation sont catalysées par des enzymes de la famille du cytochrome P450.

Ø Les Réactions de phase II qui consistent à greffer un groupement à la molécule parente ou à son métabolite de manière à le rendre hydrosoluble et à accélérer son élimination. Les réactions de la phase II sont des réactions de conjugaison et conduisent très majoritairement à la perte des propriétés pharmacologiques du composé. La phase II comporte les réactions de conjugaison, soit par l'acide glucuronique (glucuroconjugaison), la glycine (glycoconjugaison), le sulfate (sulfoconjugaison catalysée par des sulfotransférases) ou encore l'acétate (acétylation catalysée par des N-acétyl transférases) et le glutathion.

„ L'élimination de l'organisme qui définit l'étape et la voie par laquelle les médicaments (substances actives) et leurs métabolites sont éliminés. Ils s'éliminent préférentiellement par voie urinaire et voie biliaire.

L'ensemble de ces 4 points (absorption, distribution, métabolisation et élimination) conditionne la fraction excrétée de la substance et permet la détermination de la fraction de substance active excrétée par l'organisme.

Données de métabolisation des psychotropes

La Figure 3 illustre, au travers de 3 exemples, la complexité des voies de métabolisation des psychotropes médicamenteux (benzodiazépines et carbamazépine) et récréatifs (héroïne). L'objectif est ici d'attirer l'attention sur les cascades de réactions métaboliques qui engendrent un nombre significatif de métabolites, dont la grande majorité garde des activités pharmacologiques, qui sont autant de candidats à considérer comme de potentiels polluants de l'environnement.

Le Tableau 2 présente les données de métabolisation : nature des excrétions (parents/métabolites), formes (libre ou conjuguée) et pourcentages excrétés, pour des

Tableau 2 : Données de métabolisation de certains psychotropes

thérapeutique		composé parent		
		libres	conjugués	
Analgésiques	codéine	5-17%	32-46%	morphine, norcodéine
	morphine	7%	75%	normorphine
	tramadol	29%	NC	O-desméthyltramadol, nortramadol, O-desméthylnortramadol
	diclofénac	-	-	4'-hydroxydiclofénac (principal), 3'-hydroxydiclofénac, 5-hydroxydiclofénac, 4',5-dihydroxydiclofénac
	ibuprofène	8%	-	hydroxy-ibuprofène, carboxy-ibuprofène
	naproxène	10%	60%	O-desméthylnaproxène
Antiépileptiques	carbamazépine	1%	-	10,11-dihydroxy-carbamazépine, carbamazépine-10,11-époxy
	acide valproïque	1-4%	59%	acide 3-kétovaproïque
	gabapentine	100%	-	-
Psycholeptiques	alprazolam	20%	NC	alpha-hydroxyalprazolam, HMTBP
	diazépam	traces	NC	oxazépam glucuronide, nordiazépam, témazépam glucuronide, 4'-hydroxydiazépam
	lorazépam	traces	75%	métabolites mineurs
	oxazépam	traces	61%	métabolites issus d'hydroxylation
	bromazépam	2%	NC	3-hydroxy-bromazépam
	clorazépate	2-6%	NC	nordiazépam, oxazépam
Antidépresseurs Tricycliques	nordazépam	traces	NC	oxazépam
	amitriptyline	1%	-	10-hydroxynortriptyline
Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine ISRN	doxépine	-	18-23%	nordoxépine
	citalopram	12%	-	N-desméthylcitalopram, didéméthylcitalopram
	fluoxétine	<10%	-	norfluoxétine
Excitants légers	sertraline	0,2%	-	desméthylsertraline
	caféine	2,4%	-	acide méthylurique, 1-méthylxanthine
Substitutifs aux opiacés	nicotine	10%	-	cotinine, trans-3'-hydroxycotinine
	buprénorphine	70%	-	dérivés conjugués
	méthadone	f(pH) 5-50%	-	2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine (EDDP)
Stupéfiants	Δ_9 -tétrahydrocannabinol	-	-	11-nor-9-carboxy- Δ_9 -tétrahydrocannabinol
	héroïne	traces	-	morphine, 6-acétylmorphine
	MDMA ²	26%	-	3-CH ₃ O-4-OH-méthamphétamine, 3,4-dihydroxy-méthamphétamine, MDA
	cocaïne	f(pH) 1-9%	-	benzoylecgonine

D'après Baselt et al. (2009); Besse et Garric (2008), biam2

3. ENJEUX ENVIRONNEMENTAUX LIES A LA PRESENCE DES PSYCHOTROPES : DES SOURCES AUX EFFETS DANS LES MILIEUX

Le rejet en continu de médicaments et de leurs métabolites dans le milieu aquatique confère à ces molécules un caractère de pseudo-persistance (Fenet et al., 2006).

Après absorption par l'organisme (humain et animal), les psychotropes peuvent être excrétés sous forme inchangée et/ou métabolisée. Les molécules pharmaceutiques passent au travers des usines de traitements des eaux usées au sein desquelles elles sont peu ou pas éliminées conduisant à des rejets importants vers les milieux aquatiques récepteurs (Figure 4). Leur persistance permet leur dispersion dans l'ensemble des écosystèmes aquatiques : eaux de surface, eaux souterraines et eaux de boisson. Les usages importants d'un point de vue quantitatif auxquels s'ajoutent les faibles taux d'abattement des molécules dans les stations d'épuration ont conduit à leur quantification, dans les eaux de surface et les eaux souterraines, dans des concentrations importantes. Le devenir de certaines d'entre elles est mal renseigné et apparaît indispensable à la conduite d'étude de risques.

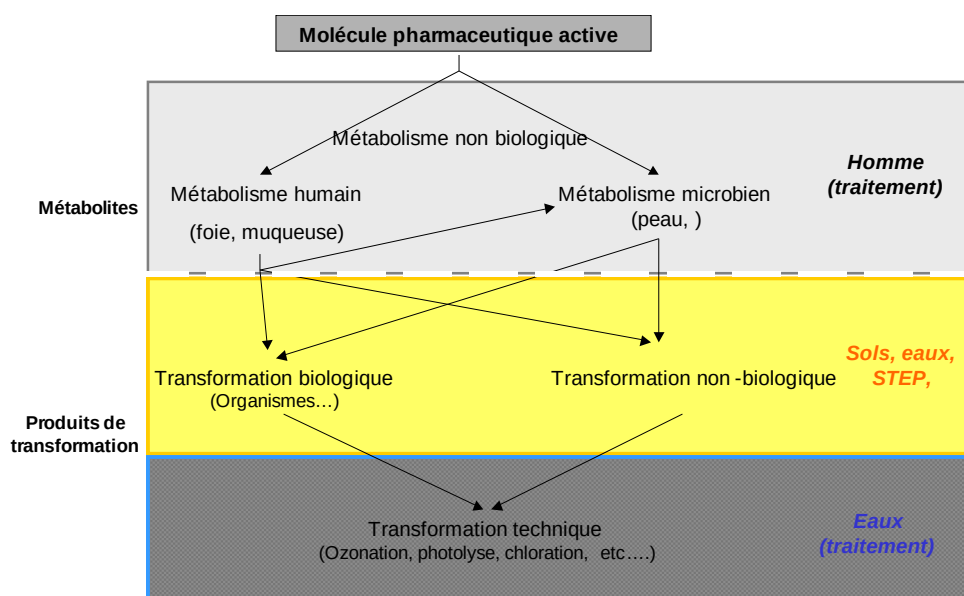


Figure 4 : Vision globale de la problématique de l'étude d'une molécule pharmaceutique parente (d'après Kummerer, 2009).

3.1 PRESENCE ET DEVENIR DANS LES STATIONS D'EPURATIONS

Même si certains usages vétérinaires de produits psychotropes sont connus pour le traitement « des maux » des animaux d'élevage mais également domestiques, les principales sources de produits psychotropes pour les écosystèmes aquatiques sont les stations de traitement des eaux usées urbaines ainsi que les stations d'épuration traitant les effluents hospitaliers.

De manière générale, les psychotropes ne sont que partiellement abattus au cours des processus de traitement des eaux usées conventionnels qui reposent dans la très grande majorité des études sur la mise en oeuvre de traitements biologiques secondaires. Il est très délicat de discuter de manière très précise les taux d'abattelements rapportés par les études au regard de la grande hétérogénéité des facteurs susceptibles d'en affecter la robustesse (et qui, bien souvent, ne sont pas disponibles dans les travaux publiés notamment les plus anciens). Le tableau 3 présente ces taux d'abattelements dans les ouvrages de traitements des eaux usées en France et dans le monde. De manière générale, une diminution des concentrations entre les entrées et les sorties d'ouvrages de traitements des eaux est observée. Il est remarquable de noter que pour une même molécule (paracétamol, carbamazépine, etc.), une grande hétérogénéité dans les taux d'abattelements calculés existe, ce qui illustre bien la grande complexité à discuter de l'efficacité des processus.

Le Tableau 4 présente les données d'occurrence en psychotropes dans les effluents de stations de traitement des eaux résiduelles en France et à l'étranger. La grande hétérogénéité des données (niveau de concentrations mesurées) est encore notable même si elle peut être expliquée par un certain nombre de facteurs spatio-temporels, la composante analytique liée à la quantification de molécules à l'état (ultra-)traces dans des matrices complexes ne devant pas être écartée.

Enfin, Les enjeux liés à la représentativité des résultats de mesure ne doivent pas être écartés mais seront abordés et discutés plus loin dans ce document. Selon les molécules, les concentrations s'étendent du ng.l^{-1} pour des classes thérapeutiques telles que les hypnotiques, les antidépresseurs et les produits récréatifs à plusieurs centaines de ng.l^{-1} .

pour des classes thérapeutiques d'usage courant tels que les stimulants et les antalgiques légers

Un certain nombre de travaux mettent en avant que la compréhension du devenir des molécules psychotropes, et la conduite de bilan d'abattement, au sein des ouvrages de traitements des eaux usées n'est possible que si l'ensemble des métabolites humains de la molécule est considéré.

D'autant plus si l'on prend en compte que bon nombre de ces métabolites n'est pas dénué de propriétés pharmacologiques. Leur prise en compte apparaît donc déterminante à l'étude des pressions-impacts sur les milieux naturels.

De nombreuses études se sont également intéressées à l'étude de la présence de produits psychotropes dans les boues. Selon les molécules et les classes thérapeutiques, des concentrations comprises entre la dizaine de $\mu\text{g.g}^{-1}$ et la dizaine de ng.g^{-1} ont été mesurées.

Ainsi, Eriksson et al. (2008), à l'issue d'un travail de réflexion quant aux risques liés à la présence de 192 substances organiques dans les boues, concluent que la présence de produits pharmaceutiques dont les psychotropes dans les boues doit être évaluée au regard de potentiels impacts sur la percolation et la contamination d'eaux souterraines.

Les résultats mettent également en avant que par comparaison à d'autres pays européens, les données concernant la présence de produits psychotropes dans les effluents en France sont très parcellaires et ce en dépit de la très grande consommation qui en est faite à l'échelle du territoire.

Sewage epidemiology (Epidémiologie des eaux usées) : concept et enjeux

Le concept "épidémiologie des eaux usées" a pour principe d'estimer des données épidémiologiques en considérant la consommation des drogues à partir de mesures sur les produits issus du métabolisme urinaire et collectés dans les réseaux d'assainissement. Les mesures des résidus et métabolites de drogues peuvent donc servir à évaluer la consommation de ces substances par une population. De nombreux auteurs considèrent qu'elle constitue un mode d'évaluation plus objectif que celui apporté par les enquêtes traditionnelles. Elle permet de donner une image focalisée de l'état des usages et donc plus réaliste des pratiques et de leurs évolutions. Comme cela a pu être mis en évidence dans le document EMCDDA INSIGHTS 9 (2008), cette approche "épidémiologie des eaux d'égouts" en est encore à ses premiers stades de développement mais elle offre néanmoins des perspectives très intéressantes. Les auteurs concluent leur analyse en évoquant que les approches analytiques : échantillonnage, identification et quantification sont, elles aussi, encore à leurs «balbutiements» et que leurs développements exigent encore du temps.

Les enjeux éthiques et sociétaux liés au concept "sewage epidemiology" sont nombreux et ne devront pas être sous-évalués.

Tableau 3 : Données d'abattement de certains psychotropes dans les usines de traitement des eaux usées

Nom de la molécule	Abattement STEP	Nom de la molécule	Abattement STEP	Nom de la molécule	Abattement STEP	
Caféine		Naproxène		Amphétamine		
Nicotine				Méthamphétamine		
Cotinine				Méthadone		
Codéine		Gabapentine		MDA		
Morphine		Alprazolam		MDMA		
Tramadol		Diazépam		Cocaïne		
Paracétamol		Lorazépam		Benzoylécgonine		
		Oxazépam				
		Bromazépam				
Diclofénac		Nordazépam		Abattement	A > 90% 50 < A < 90% 25 < A < 50% A < 25%	
		Amitriptyline				
		Doxépine				
		Imipramine				
		Fluoxétine				
Ibuprofène		Venlafaxine				
		Carbamazépine				
Kétoprofène						

D'après AMPERE
(2011), Huerta-Fontela
et al. (2011),
Martinez-Bueno et al.

(2011), Jelic et al. (2011), Escher et al. (2011), Karolac et al. (2010), Lardy, (2008), Huerta-Fontela et al. (2008), Castiglioni et al. (2006), Han et al. (2006), Lindqvist et al. (2005), Fanelli et al. (2006) Heberer et Feldmann (2005), Carballa et al. (2004), Hua et al. (2003), Rodriguez et al. (2003), Lee et al. (2003), Sedlak et al. (2003), Heberer et al. (2002), Ternes et al. (2001), Stumpf et al. (1999), Ternes et al. (1998),

Tableau 4 : Données d'occurrence des psychotropes dans les effluents d'ouvrages de traitements des eaux usées en France et à l'étranger

Nom de la molécule	Concentration maximale mesurée dans les effluents de STEP à l'étranger en ng.l ⁻¹		Concentration maximale mesurée dans les effluents de STEP en France en ng.l ⁻¹	Nom de la molécule	Concentration maximale mesurée dans les effluents de STEP à l'étranger en ng.l ⁻¹		Concentration maximale mesurée dans les effluents de STEP en France en ng.l ⁻¹	Nom de la molécule	Concentration maximale mesurée dans les effluents de STEP à l'étranger en ng.L ⁻¹		Concentration maximale mesurée dans les effluents de STEP en France en ng.L ⁻¹
Codéine	Allemagne			Phénobarbital	Allemagne			Amphétamine	Espagne		
	Espagne				Allemagne				Espagne		
	Royaume Uni				Espagne				Etats Unis		
Dihydrocodéine	Allemagne			Carbamazépine	Italie			Méthamphétamine	Royaume Uni		
	Royaume Uni				Suisse				Espagne		
Morphine	Allemagne				Suisse				Espagne		
	Italie				Allemagne			Caféine	Royaume Uni		
	Espagne				Etats Unis				Espagne		
	Allemagne				Espagne				Italie		
	Espagne				Autriche				Etats Unis		
	Royaume Uni				Suède				Etats Unis		
Oxycodone	Royaume Uni				Taiwan				Canada		
	Etats Unis			10,11-Dihydrocarbamazépine	Allemagne				Espagne		
Tramadol	Allemagne			10,11-Dihydro-trans-10,11-dihydroxycarbamazépine	Allemagne				Royaume Uni		
	Royaume Uni			Carbamazépine epoxide	Espagne			Nicotine	Espagne		
Paracétamol	Allemagne			Oxcarbazépine					Suède		
	Australie			Alprazolam					Espagne		
Diclofénac	Grèce			Diazépam	Allemagne				Royaume Uni		
	Espagne				Allemagne			Cotinine	Espagne		
	Italie				Royaume Uni				Espagne		
	Suisse				Allemagne				Royaume Uni		
	Suisse			Lorazépam	Espagne			Buprénorphine	Royaume Uni		
	Allemagne			Oxazépam	Allemagne				Allemagne		
	Etats Unis				Espagne			Méthadone	Espagne		
	Brésil				Royaume Uni				Royaume Uni		
	Canada				Allemagne				Espagne		
	Espagne			Bromazépam	Espagne			Héroïne	Italie		
	Royaume Uni			Nordazépam	Royaume Uni				Royaume Uni		
	Autriche			Amitriptyline					Espagne		
	Finlande				Royaume Uni			6-acétylmorphine	Royaume Uni		
	Suède			Doxépine	Etats Unis				Espagne		
Ibuprofène	Suisse			Imipramine	Allemagne			MDA	Espagne		
	Brésil			Citalopram					Espagne		
	Allemagne			Desméthylcitalopram	Norvège				Royaume Uni		
	Canada			Didesméthylcitalopram	Norvège			MDMA	Espagne		
	Royaume Uni			Fluoxétine	Norvège				Espagne		
	Autriche				Canada			Cocaïne	Royaume Uni		
	Espagne				Royaume Uni				Italie		
	Finlande			Norfluoxétine	Royaume Uni				Suisse		
	Suède			Paroxétine	Norvège				Espagne		

	Espagne				Etats Unis				Belgique		
	Australie				Norvège				Espagne		
Kétoprofène	Allemagne			Sertraline	Etats Unis				Italie		
	Canada			Venlafaxine	Espagne				Royaume Uni		
	Espagne				Royaume Uni				Italie		
	Finlande								Italie		
	Suède								Espagne		
	Australie								Royaume Uni		
Naproxène	Suisse			Présence C<10 ng.l⁻¹ 10<C<100 ng.l⁻¹ 100<C<1 000 ng.l⁻¹ C>1 000 ng.l⁻¹				Benzoylecgonine	Italie		
	Suisse								Suisse		
	Allemagne								Espagne		
	Etats Unis								Belgique		
	Canada								Espagne		
	Espagne								Italie		
	Finlande								Italie		
	Suède								Italie		
	Taiwan								Espagne		
	Espagne								Royaume Uni		

Concentrations exprimées en ng.l⁻¹, phase dissoute

Martinez-Bueno et al. (2011), Baker et al. (2011), Nagarnaik et al. (2011), Karolac et al. (2010), Huerta-Fontela et al. (2010), Leclercq et al. (2009), Ort et al. (2009), Van Nuijs et al. (2009), Hollender et al. (2009), Mompelat et al. (2009), Wick et al. (2009), Vasskog et al. (2008), Lardy (2008), Spongberg et al. (2008), Togola et al. (2007), Boleda et al. (2007), Boleda et al. (2007), Castiglioni et al. (2006), Hummel et al. (2006), Verenitch et al. (2006) , Gomez et al. (2007), Roberts et Thomas (2006), Santos et al. (2005), Lin et al. (2005), Lin et al. (2005), Clare et al. (2005), Zuccato et al. (2005), Bendz et al. (2005), Khan et Ongerth (2004), Khan et al. (2011), Metcalfe et al. (2003), Rodriguez et al. (2003), Boyd et al. (2003), Soulet et al. (2002), Stumpf et al. (1999), Ternes et al. (1998),

3.2 PRESENCE ET DEVENIR DANS LES MILIEUX NATURELS

Le devenir des psychotropes et de leurs métabolites dans l'environnement demeure encore mal renseigné. La faible volatilité des substances pharmaceutiques ainsi que leur polarité indiquent que la distribution dans l'environnement va se faire essentiellement par transport au sein de la voie aqueuse et également au travers des chaînes alimentaires. Les phénomènes de biodégradation qui ont été initiés au sein des STEP vont se poursuivre dans le milieu naturel mais dans une moindre mesure.

Présence et devenir au sein des compartiments abiotiques

Dans une revue publiée en 2009, Calisto rapporte que les antidépresseurs tricycliques tel que le diazépam, le témazépam présentent une grande persistance dans les milieux naturels avec des temps de dissipation très largement supérieurs par opposition à l'oxazépam jugé comme modérément persistant en conséquence d'une possible biodégradation.

De la même manière, les barbituriques n'ont démontré aucune preuve de dégradation, soulignant leur grande stabilité dans l'environnement (Peschka et al. 2006 cité par Calisto et al., 2009).

Les psychotropes de ISRS (Inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine : fluoxétine, norfluoxétine) ont également démontré une grande résistance à la biodégradation, l'hydrolyse et la photodégradation au cours d'études en laboratoire, démontrant ainsi une persistance dans les milieux aquatiques pour des périodes de temps relativement longues par rapport à d'autres produits pharmaceutiques (Calisto et al., 2009).

Carrara et al. (2008), au travers d'une étude sur les anti-inflammatoires non stéroïdiens (ibuprofène, naproxène), outre la mise en évidence d'une contamination des eaux souterraines à des concentrations aussi élevées que pour les eaux usées, établissent une corrélation entre la persistance des molécules et les conditions redox du milieu. Ils concluent que les conditions oxiques sont favorables à la dégradation des molécules. Les phénomènes de biodégradation peuvent également se dérouler dans les sédiments.

Ainsi Bradley (2007) a étudié les capacités de biodégradation des populations bactériennes naturelles présentes dans les sédiments de différentes rivières envers la caféine, la nicotine et la cotinine. Les résultats montrent qu'au sein des sédiments les populations bactériennes sont capables d'activité de biotransformation. De même, il est apparu que la capacité à convertir le diclofénac était largement répandue dans les sédiments (Allemagne), et ne nécessitait aucune acclimatation des organismes du milieu. De plus, aucune corrélation avec l'activité microbienne totale n'a été mise en évidence.

Dans une récente étude publiée en 2011, Lahti et al. rappellent que la considération seule de la phase dissoute comme unique voie de contamination des systèmes aquatiques par les psychotropes est susceptible de conduire à une sous-estimation de la charge et des risques liés à leur présence dans l'environnement. Ces résultats confortent les premières observations réalisées par Togola (2006) et Lardy (2008) qui démontraient que la contribution des matières solides en suspension dans la charge contaminante de la colonne d'eau pouvait-être loin d'être négligeable. Les phases solides en suspension apparaissent comme des vecteurs de contamination et des puits temporaires.

Les Tableau 5 et Tableau 6 présentent une synthèse des principales mesures de produits psychotropes dans les systèmes aquatiques à l'étranger (Tableau 5) et en France (Tableau 6).

Là encore une discussion poussée des résultats est délicate au regard du nombre de méta-données (usages, saison, distance des rejets des usines de traitement eaux résiduaires urbaines, facteurs de dilution, stratégie d'échantillonnage, localisation des points de prélèvements, paramètres physico-chimiques du milieu, maîtrise des procédures analytiques, etc.) nécessaires à prendre compte pour s'assurer de la pertinence des démonstrations.

Cependant, ils permettent de dresser une empreinte des profils de contamination par les molécules psychotropes. L'ubiquité de la contamination est nette, parmi les classes de molécules les plus fréquemment rencontrées : les stimulants et AINS (concentrations pouvant atteindre plusieurs centaines de ng/L), ce qui est cohérent avec des modes d'usages très démocratisés. Lorsque les méthodes d'analyses sont suffisamment sensibles, les autres classes thérapeutiques (benzodiazépines, anxiolytiques, produits récréatifs) sont très largement mises en évidence mais à des niveaux de concentrations plus faibles (ng/L à dizaines de ng/L). Lorsqu'ils sont recherchés, la présence de produits issus du métabolisme et/ou des processus de transformation est établie.

Tout comme cela était le cas concernant les connaissances des pressions exercées par les ouvrages de traitement des eaux usées, les données de surveillance des milieux sont parcellaires en France par comparaison à d'autres pays européens ou étrangers.

Présence et devenir au sein des compartiments biotiques

Un nombre trop limité d'études s'est attaché à l'étude de la biodisponibilité, des potentiels de bioconcentration et de bioamplification des molécules psychotropes envers les organismes des milieux (d'après revue par Calisto et al., 2009).

Ainsi Paterson et al. (2008) ont étudié les mécanismes d'absorption et de dépuration de Médakas (*Oryzias latipes*) exposés pendant 7 jours à une concentration de $0,64 \mu\text{g.l}^{-1}$ de fluoxétine et de norfluoxétine. L'absorption est observée dès les 5 premières heures d'exposition avec un maximum observée à 3 jours. L'étude a permis d'estimer un temps de demi-vie de la fluoxétine dans les tissus des de $9,4 \pm 1,1$ jours. Les auteurs concluent que les molécules psychotropes telle que la fluoxétine et la norfluoxétine possèdent un pouvoir de persistance certain dans les organismes aquatiques exposés et par voie de conséquence un potentiel de bioaccumulation important.

En 2011, Smith et al. (2011) ont mis en évidence que les potentiels de métabolisation de 5 espèces de poisson exposées à la fluoxétine (dégradation de la molécule parente et formation de métabolites) étaient spécifiques. L'étude met également en avant que les processus métaboliques mis en jeu pourraient être différents de ceux mis en œuvre et connu chez les mammifères.

En outre, Lajeunesse et al. (2011), à la suite d'une étude d'exposition de truites communes à des effluents (dilués) d'ouvrages de traitements des eaux usées (avant et après ozonation), concluent à un risque important pour les poissons vivants dans des milieux dominés par des rejets de stations d'épuration en relation avec le potentiel de bioaccumulation des antidépresseurs. L'étude met également en évidence un organotrisme : possibilité de distribution dans les tissus spécifiques ; le foie et le cerveau apparaissant comme des organes d'accumulation préférentiels.

suite du document page suivante

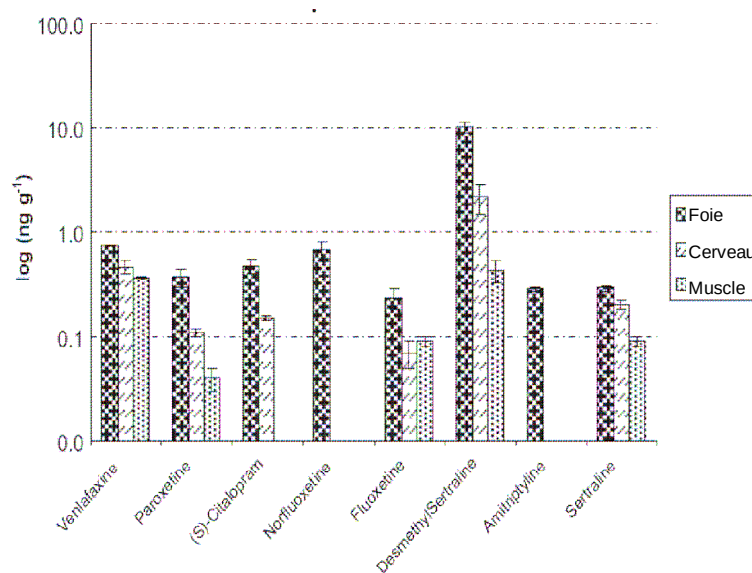


Figure 5 : Organotropisme chez des truites communes exposées à des effluents contenant des antidépresseurs (D'après Lajeunesse et al, 2011)

suite du document page suivante

Tableau 5 : Données d'occurrence de psychotropes dans les eaux de surface à l'étranger

Nom de la molécule	Eaux de surface		Nom de la molécule	Eaux de surface		Nom de la molécule	Eaux de surface	
	Concentration ng.l ⁻¹	Pays		Concentration ng.l ⁻¹	Pays		Concentration ng.l ⁻¹	Pays
Codéine		Italie	Diazépam		Espagne	Cotinine		Espagne
		Espagne			Allemagne			Espagne
		Espagne			Royaume Uni	Buprénorphine		Royaume Uni
		Royaume Uni			Espagne			Italie
Dihydrocodéine		Espagne	Lorazépam		Portugal	Méthadone		Royaume Uni
		Royaume Uni			Espagne			Espagne
Morphine		Angleterre	Oxazépam		Royaume Uni	EDDP		Italie
		Espagne	Nordazépam		Royaume Uni			Royaume Uni
		Royaume Uni	Amitriptyline		Espagne			Espagne
		Italie			Royaume Uni		D9-tétrahydrocannabinol	
Oxycodone		Royaume Uni	Citalopram		Etats Unis	TCH-COOH		
Fentanyl		Royaume Uni			Espagne			Italie
Tramadol		Royaume Uni	Fluoxétine		Etats Unis	Héroïne		Espagne
		Royaume Uni			Espagne			Royaume Uni
Paracétamol		Royaume Uni			Espagne	6 acétylmorphine		Italie
		Espagne			Royaume Uni			Royaume Uni
		Etats Unis		Espagne			Espagne	
Diclofénac		Royaume Uni	Norfluoxétine		Etats Unis	MDA		Angleterre
		Autriche			Royaume Uni			Royaume Uni
		Rép. Tchèque			Etats Unis			Espagne
		Allemagne	Paroxétine		Espagne		MDMA	
		Italie			Espagne			Royaume Uni
		Portugal	Sertraline		Etats Unis			Espagne
		Espagne	Norsertraline		Etats Unis	Cocaïne		Royaume Uni
		Suisse			Etats Unis			Belgique
Ibuprofène		Espagne	Venlafaxine		Royaume Uni			Espagne
		Autriche			Espagne			Royaume Uni
		Rép. Tchèque		Amphétamine		Royaume Uni		Italie
		Allemagne			Espagne	Benzoylécgonine		Royaume Uni
		Italie			Royaume Uni			Belgique
		Italie		Italie			Espagne	
Kétoprofène		Espagne	Méthamphétamine		Italie			Royaume Uni
		Italie			Royaume Uni		Italie	
	Naproxène		Espagne	Caféine		Espagne		Légende
		Autriche			Allemagne	C < 10 ng.l ⁻¹		
		Allemagne			Italie	10 < C < 50 ng.l ⁻¹		
		Italie			Autriche	50 < C < 100 ng.l ⁻¹		
		Italie			Rép. Tchèque	100 < C < 250 ng.l ⁻¹		
		Italie			Italie	250 < C < 500 ng.l ⁻¹		
		Espagne			Espagne	C > 500 ng.l ⁻¹		
Tetrazépam		Suisse	Nicotine			Espagne		
Carbamazépine epoxide		Espagne			Royaume Uni			
Gabapentine		Royaume Uni			Espagne			

D'après Martinez-Bueno et al. (2011), Valcarcel et al. (2011), Baker et al. (2011), Gros et al. (2010), Huerta-Fontela et al. (2010), Gonçalves et al. (2010), Ort et al. (2009), Calisto et al. (2009), Mompelat et al. (2009), Kasprzyk-Hordern et al. (2008), Zuccato et al. (2008), Schultz et Furlong (2008), Ternes et al. (2001), Hebrer et al. (2004), Loos et al. (NORMAN database), Gonçalves et al. (NORMAN database),

Tableau 6 : Données d'occurrence de psychotropes dans les eaux du robinet et les eaux de surface en France

Nom de la molécule	Concentration maximale mesurée en France (ng.l ⁻¹)			Nom de la molécule	Concentration maximale mesurée en France (ng.l ⁻¹)		
	Eau du robinet	Niveau	Eau de surface Milieu : rivière, mer et estuaire		Eau du robinet	Niveau	Eau de surface Milieu : rivière, mer et estuaire
Paracétamol			Hérault (riv)	Carbamazépine			Hérault (riv)
			Calanque de Cortiou (mer)				Allier (riv)
Diclofénac			Hérault (riv)				Loire (riv)
			Allier (riv)				Vienne (riv)
			Vienne (riv)				Clain (riv)
			Clain (riv)				Loire (riv)
			Moine (riv)				Moine (riv)
			Vilaine (riv)				Vilaine (riv)
			Moine (riv)				NC
			NC				Gironde (estu)
			Calanque de Cortiou (mer)				Loire (estu)
			Gironde (estu)				Adour (estu)
			Loire (estu)				Seine (estu)
			Adour (estu)	Carbamazépine epoxide			NC
Ibuprofène			Seine (estu)	Alprazolam			Loire (riv)
			Hérault (riv)	Diazépam			Hérault (riv)
			Vienne (riv)				Loire (riv)
			Clain (riv)	Lorazépam			Calanque de Cortiou (mer)
			Moine (riv)				Moine (riv)
			Vilaine (riv)				Vilaine (riv)
			Calanque de Cortiou (mer)	Oxazépam			Clain (riv)
			NC				Allier (riv)
			Gironde (estu)				Vienne (riv)
			Loire (estu)				Clain (riv)
			Adour (estu)				Loire (riv)
			Seine (estu)				Moine (riv)
			NC				Vilaine (riv)
Hydroxy-ibuprofène			Vilaine (riv)	Bromazépam			NC
Kétoprofène			Calanque de Cortiou (mer)				Vienne (riv)
			Hérault (riv)				Clain (riv)
			NC	Nordazépam			Loire (riv)
			Gironde (estu)				Hérault (riv)
			Loire (estu)	Zolpidem			Calanque de Cortiou (mer)
			Adour (estu)				Vilaine (riv)
			Seine (estu)	Amitriptyline			Hérault (riv)
Naproxène			Vilaine (riv)	Doxépine			Hérault (riv)
			Calanque de Cortiou (mer)	Imipramine			Calanque de Cortiou (mer)
			Hérault (riv)				Hérault (riv)
			Gironde (estu)	Fluoxétine			Vilaine (riv)
			Loire (estu)	Légende			
			Adour (estu)				
			Seine (estu)				
Caféine			Hérault (riv)				
			NC				
			Calanque de Cortiou (mer)				
			Gironde (estu)				
			Loire (estu)				
			Adour (estu)				
			Seine (estu)				

D'après Togola et Budzinski (2008), Togola et Amalric (2008), ANSES (2011), Leclercq et al. (2009), Togola (2006) ; Lardy (2008)

3.3 RISQUES ENVIRONNEMENTAUX

Bien que mesurées dans l'environnement à des concentrations inférieures aux concentrations inférieures à celles susceptibles de causer des dommages aux êtres humains, ainsi qu'aux seuils de toxicité aiguë ou chronique sur les organismes non-cibles, il est cependant pertinent de prendre en compte les risques toxiques liés à la présence de ces molécules dans les systèmes naturels, d'autant plus si l'on considère leur présence en mélanges complexes (Bound et al., 2006).

Pomati et al. (2007) suggèrent que des études complètes sur les effets des mélanges pourraient faire émerger une liste de molécules pharmaceutiques préoccupantes à des concentrations environnementales. Ils rapportent également que les scénarii environnementaux mis en oeuvre lors des expositions (réactions antagonistes et/ou synergiques, concentrations dépendances des effets) pourraient considérablement affecter la prédiction des effets toxiques des mélanges et ainsi sous estimer les risques liés à la présence des substances pharmaceutiques dans les milieux naturels.

Considérant leurs activités biologiques intrinsèques sur le système nerveux, les psychotropes sont un des groupes les plus importants à considérer en ce qui concerne l'évaluation des risques écotoxicologiques dans les milieux terrestres et aquatiques.

Un certain nombre d'études, encore trop parcellaires et conduites sur un nombre restreint de psychotropes ont mis en évidence leurs capacités à engendrer des effets immunotoxiques, reprotoxiques, génotoxiques et ce à des concentrations réalistes d'un point environnemental.

Psychotropes et perturbation endocrinienne

Le cytochrome P-450 (P-450) est une enzyme impliquée dans les réactions de métabolisme des xénobiotiques de phase I. Le P-450 est également impliqué dans des réactions de synthèse et de dégradation de molécules endogènes comme les stéroïdes et les prostaglandines. Un nombre important de médicaments peut agir comme inducteur ou inhibiteur enzymatique, notamment au niveau des différentes isoformes du P-450.

Théoriquement, une inhibition ou une induction du P-450 peut entraîner des perturbations dans l'homéostasie des organismes voire dans les fonctions de reproduction. Cependant à l'heure actuelle, aucun effet toxique sur un organisme aquatique n'a pu être clairement relié à une induction ou une inhibition du P-450. Le P-450 est par contre communément proposé comme marqueur d'exposition des organismes aquatiques et notamment des poissons à des polluants environnementaux. Il existe un nombre important de psychotropes doués de ces propriétés, et donc susceptibles d'engendrer des effets de perturbation endocrinienne (Tableau 7).

suite du document page suivante

Tableau 7 : Psychotropes agissant sur les isoformes du Cytochrome P450, chez l'homme

Isoformes Cytochrome P450	Inducteurs	Inhibiteurs
CYP 3A4	Carbamazépine, Phénobarbital, Oxcarbazépine, Primidone, Phénytoïne, Fosphénytoïne, Topiramate, Méprobramate, Ethosuximide, Modafinil	Acide valproïque, Fluoxétine, Fluvoxamine, Imatinib, Olanzapine
CYP 2D6	-	Imatinib, Citalopram, Clomipramine, Fluoxétine, Fluvoxamine, Moclobémide, Paroxétine, Bupropion, Célécoxib, Dextropropoxyphène, Halopéridol, Phénothiazines, Métoclopramide, Risperidone
CYP 2C9 CYP 2C19	Carbamazépine, Phénobarbital, Phénytoïne, Primidone	Acide valproïque
CYP 1A2	Phénobarbital, Carbamazépine, Phénytoïne, Fosphénytoïne	Fluvoxamine, Paroxétine
CYP 2A6	Phénobarbital	-
CYP 2B6	Phénytoïne	Mémantine
CYP 2C8	Phénobarbital	Imatinib
CYP 2E1	-	Disulfirame

Psychotropes et effets comportementaux

Les poissons sont utilisés comme modèles pour conduire des études comportementales liées à la consommation de produits psychotropes.

Ainsi, Bretaudeau et al. (2007), dans une étude menée en laboratoire sur le poisson zèbre (*Danio rerio*), mettent en évidence qu'après une exposition à une molécule addictive de type morphine, les larves montrent une préférence pour les milieux où la molécule est présente. Les auteurs concluent à un choix préférentiel pour la substance morphine qui est régulé au travers des systèmes neurotransmetteurs centraux opioïdes et monoaminergiques. Lopez-Patino et al. (2008) ont démontré, à la suite d'une stimulation à la cocaïne, les poissons zébrés (mâles et femelles) présentent des comportements de type anxieux lors du sevrage à la molécule et que celui-ci est dépendant du genre. Giacomini et al. (2006) ont étudié l'effet sur la locomotion des larves de poisson zébré d'une exposition à 3 antipsychotiques.

Leurs études mettent en évidence une bonne corrélation des effets connus de ces substances chez l'homme et les effets observés chez les poissons exposés.

L'étude conclut qu'une exposition à certaines molécules peut engendrer des désordres locomoteurs chez les poissons.

suite du document page suivante

CONCLUSION / NOTIONS CLES

- Nécessité de raisonner sur des classes thérapeutiques données :
 - ⇒ Relation - présence effets
 - ⇒ méthodes analytiques plus ciblées et possible amélioration de la qualité des données analytique
 - ⇒ Discussion effets mélange
- Nécessité de conduire un travail important à conduire sur produits issus du métabolisme et sur produits de transformation traitements eaux usées.
 - ⇒ Sélection de cibles pertinentes
 - ⇒ Acquisition de données de présence
 - ⇒ Evaluation des potentiels toxiques
- Nécessité d'acquérir de l'information et des données en France
 - ⇒ Obtention d'un niveau d'informations équivalent à celui d'autres pays européens.
 - ⇒ Contribution aux démarches de priorisation
- Nécessité de conduire une réflexion quant à l'utilisation future du concept "Sewage epidemiology" par les autorités publiques
 - ⇒ Prise en compte des doubles enjeux : environnementaux et sociétaux (Observatoire Français des Drogues et Toxicomanie)
 - ⇒ Intégration de la problématique des usages détournés des données
- Nécessité d'acquérir des données sur les phases solides :
 - ⇒ enjeux estuaires
 - ⇒ enjeux boues et risques liés à l'épandage (transferts vers les eaux souterraines, transferts au vivant)
- Nécessité de prendre en considération les aspects sociétaux. Besoin d'avoir des connaissances pour le public

suite du document page suivante

4. ENJEUX ANALYTIQUES LIES AUX PSYCHOTROPES DANS LES MATRICES ENVIRONNEMENTALES

Les 4 principaux facteurs susceptibles d'affecter la qualité des données de surveillance de l'environnement, et spécialement des écosystèmes aquatiques sont : l'échantillonnage, la conservation de l'échantillon, les étapes analytiques en laboratoire et l'étape de restitution des données. Des actions non conformes conduites à n'importe laquelle de ces étapes seront susceptibles d'engendrer des données de moindre qualité et par conséquent des mauvaises prises de décision.

D'autant plus que,

$$u^2_{\text{mesure}} = u^2_{\text{stratégie échantillonnage}} + u^2_{\text{analytique}}$$

4.1 ECHANTILLONNAGE

Dans une analyse critique sur les études de produits de soins corporels pharmaceutiques en ouvrages d'assainissement, Ort et al. (2010) rapportent que sur la centaine de publications évaluées, 95% des travaux ne rapportent pas les éléments opératoires liés aux étapes d'échantillonnage, empêchant, par voie de conséquence, de conclure quant à la fiabilité des observations. Les auteurs regrettent que de nombreux efforts aient été portés sur les aspects analytiques en laboratoire, omettant bien souvent de considérer les aspects liés à la représentativité des échantillons.

Un nombre croissant de travaux s'est intéressé aux enjeux liés à l'échantillonnage, et plus spécialement en ouvrages de traitements des eaux usées. Ainsi, les Figure 6, Figure 7 et Figure 8 illustrent les tendances à court et moyen terme dans la présence de psychotropes et démontrent de la grande variabilité des rejets en ces molécules.

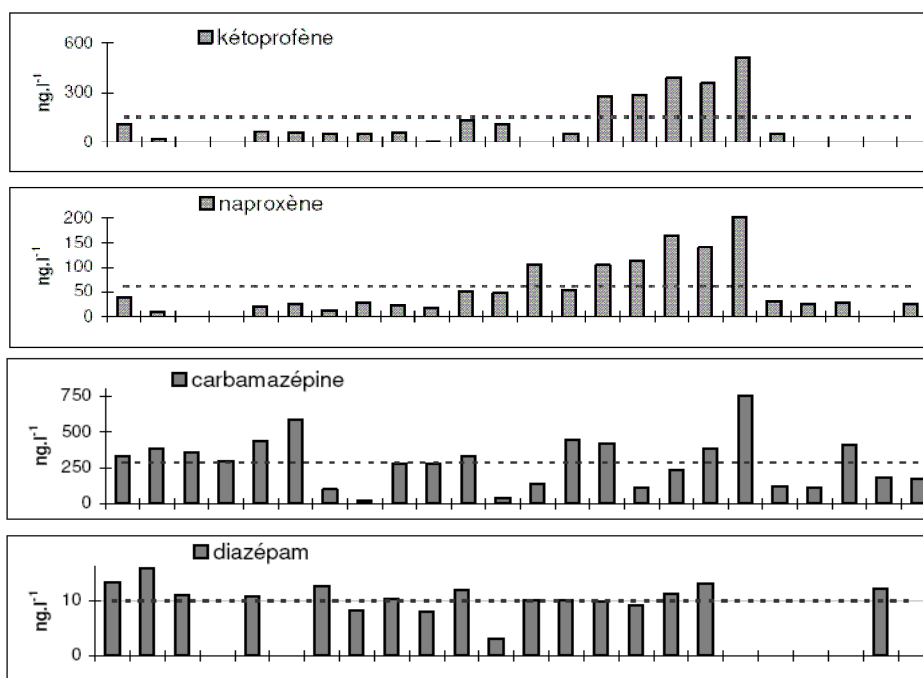


Figure 6 : Variabilité de l'effluent de la station d'épuration de Rouen au cours d'un suivi horaire sur 24 heures (D'après Togola, 2006).

1 échantillon moyenné/ heure sur 24 heures

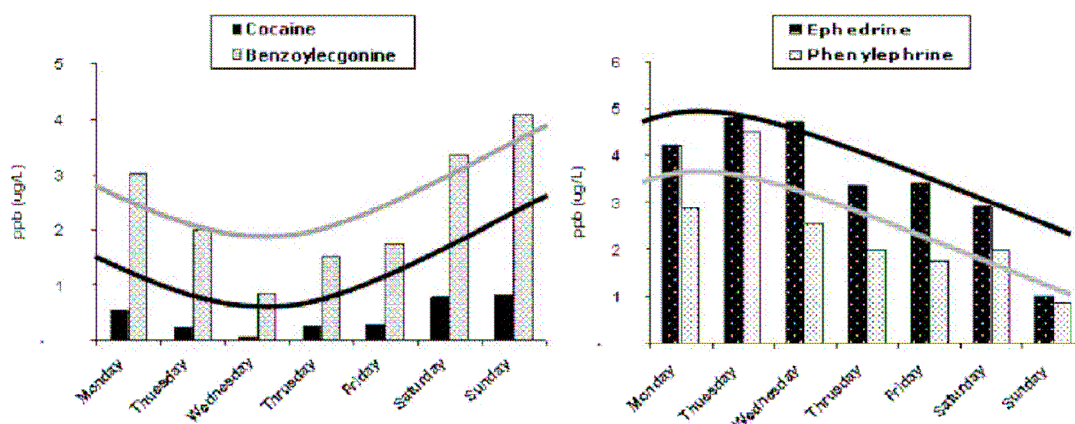


Figure 7 : Evolution des concentrations journalières, au cours d'un suivi d'une semaine, en psychotropes dans les influents d'une station de traitement des eaux résiduelles (d'après Martinez-Bueno et al., 2011).

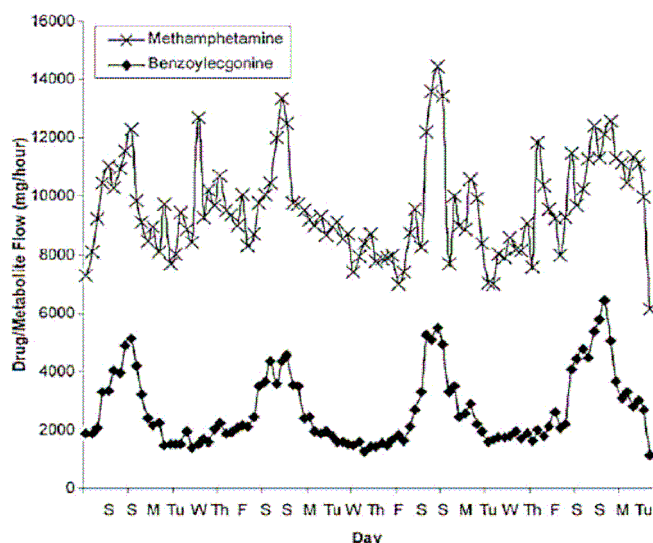


Figure 8 : Tendances de rejets en flux (mg.h^{-1}) de méthamphétamine et benzoylécgonine au niveau d'une usine de traitements des eaux usées (D'après Reid et al., 2011). Echantillonnages sur la base d'échantillonnage moyenné 6 heures sur une période de 25 jours

Les Figure 7 et Figure 8 illustrent la grande variabilité temporelle des effluents de stations d'épuration en nature et en concentrations en conséquence de dynamiques d'usages et de consommation des psychotropes. Ainsi, la généralisation des données d'occurrence à partir de données très contraintes temporellement (y compris si ce sont des données moyennes 24 heures) apparaît comme très délicate. Une très grande attention aux stratégies d'échantillonnage doit être recommandée afin de garantir la représentativité des données de mesure et par voie de conséquence la pertinence des conclusions scientifiques conséquentes.

Nouvelles approches

Afin de s'affranchir des limitations des approches conventionnelles de suivi des milieux et des rejets, des approches dites émergentes ont vu le jour et ce sont maintenant imposées comme des outils alternatifs de suivi de l'environnement ; notamment les approches reposant sur les échantillonneurs intégratifs. Dès 2004, Jones Lepp et al. mettent en évidence la capacité des POCIS Pharma à concentrer des molécules telles

que la MDA et MDMA dans les effluents de stations d'épuration. Dès lors, un nombre croissant de travaux s'est attaché à :

- "calibrer" ces outils : détermination des constantes cinétiques pour des analytes appartenant à de nombreuses classes thérapeutiques en laboratoire ou in situ ;
- déployer in situ dans les milieux naturels et les usines de traitement des eaux usées pour des objectifs de surveillance (Jones-Lepp et al., 2004; Alvarez et al., 2005; Togola et Budzinski, 2007; MacLeod et al., 2007; Zhang et al., 2008; Bartlett-Hunt et al. 2009; Loganathan et al., 2009; Vermeirssen et al., 2009; Li et al., 2011; Harman et al., 2011).

Même si de nombreux verrous demeurent encore, ces approches apparaissent comme prometteuses.

4.2 CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Les enjeux liés à la conservation/stabilité des échantillons depuis l'échantillonnage jusqu'au déclenchement des étapes de traitements analytiques en laboratoire sont connus et sont déterminants à la garantie de la qualité, la fiabilité et la représentativité des données de mesure. AQUAREF conduit, depuis plusieurs années des travaux à ce sujet.

S'agissant des contaminants émergents de l'environnement et plus particulièrement les psychotropes, les risques liés à leur non maîtrise sont connus et généralement intégrés dans les procédures opératoires. Cependant, force est de constater qu'une grande hétérogénéité des pratiques et des observations demeure. Le Tableau 8 en résume les principales.

Tableau 8 : Illustration des effets des conditions de conservation sur la stabilité des psychotropes dans les échantillons aqueux

	Plans d'expérience d'évaluation de la stabilité					Protocole
Martinez-Bueno et al. (2011)						Filtration 0,7µm, acidification pH=3 (HCl) stockage à -20°C
Busetti et al. (2009)						Ajout 100mg.l ⁻¹ NaN3 , stockage à 4°C, analyse dans les deux semaines
Kock-Schulmeyer et al. (2011)						Filtration 0,45µm, stockage à -20°C, noir
Vanderford et al. (2003)	4°C, 14 jours, taux récupération	Formaldéhyde		Acide sulfurique		Ajout d'acide sulfurique dans tous les échantillons
		Sans	Avec	Sans	Avec	
	Paracétamol	48%	10%	10%	26%	
	Fluoxétine			49%	76%	
	Caféine			71%	72%	
	Ibuprofène			65%	64%	
	Diazépam			60%	62%	
Boleda et al. (2011)	% dégradation	Effet thiosulfate, à 4°C		Effet température, avec thiosulfate		Ajout de thiosulfate de sodium, 4°C analyse dans les 48 heures
	Nicotine	-25%, 3 jours, avec thiosulfate		Pas d'instabilité quelque soient les conditions		
	Cotinine	Stable, 8 jours, avec thiosulfate		Pas d'instabilité quelque soient les conditions		
	Caféine	Stable, 8 jours avec thiosulfate		Pas d'instabilité quelque soient les conditions		
	Cocaïne	-25% en 5 jours avec thiosulfate		A T=20°C : Dégradation rapide en 3 jours ; A 4°C : stable sur 5 jours		
	Benzoylcegonine	Stable, 5 jours, avec thiosulfate		Pas d'instabilité quelles que soient les conditions		

	Opiacés	Stable si thiosulfate. Dégradation rapide en raison du Chlore sans thiosulfate	Pas d'instabilité quelles que soient les conditions	
	Amphétamines	Stable si thiosulfate. Dégradation rapide en raison du Chlore sans thiosulfate	Pas d'instabilité quelles que soient les conditions	
Huerta-Fontela et al. (2007)				Stockage à 4°C, noir, extraction SPE dans les 24 heures
Biljsma et al. (2009)				Stockage à -20°C, noir, centrifugation avant extraction SPE
Castiglioni et al. (2011)		Congélation / Décongélation	Stockage à 4°C, noir Stabilité à 1 jour et 3 jours	Congélation -20°C immédiatement après échantillonnage
	Cocaïne	-22%	-39%, 1j -81%, 3j	
	Benzoylecgonine	-22%	+21%, 3j	
	Norbenzoylecgonine	Pas d'instabilité	+5%, 3j	
	Norcocaïne	Pas d'instabilité	-8%, 1j -65%, 3j	
	Cocaéthylène	Pas d'instabilité	38%, 3j	
	Ecgonine méthyl ester	Pas d'instabilité	-44%, 1j -76%, 3j	
	Ecgonine	Pas d'instabilité	+26%, 3j	
	Anhydroecgonine	Pas d'instabilité	Pas d'instabilité, 3j	
	Anhydroecgonine méthyl ester	Pas d'instabilité	Pas d'instabilité, 3j	

4.3 METHODES D'ANALYSES

Le Tableau 9 présente une synthèse de travaux scientifiques s'étant attachés à développer, caractériser et valider des méthodes d'analyses de psychotropes dans les matrices environnementales.

Il présente uniquement les travaux développés sur les matrices aqueuses. Il faut tout d'abord mettre en avant que la très grande majorité des méthodes développées sont des méthodes multirésidus intégrant plusieurs dizaines de cibles analytiques appartenant à des classes thérapeutiques et physico-chimiques très diversifiées. Même si une première lecture de ce tableau semble mettre en avant une certaine homogénéité des pratiques/procédures, une lecture plus précise permet de mettre en avant un certain nombre de points essentiels à discuter.

- Préparation de l'échantillon : la filtration. Un rapide tour d'horizon des pratiques met en avant une très grande hétérogénéité aussi bien au niveau des seuils de coupure (0,22µm à 1,6µm) et par conséquent des matériaux mis en œuvre (fibre de verre, cellulose, nylon). Etant donné que très peu d'études se sont attachées à l'étude des phénomènes de partition des psychotropes entre et au sein des différentes phases dissoute, colloïdale et particulaire, notamment dans les rejets de stations de traitement d'eaux usées, l'impact aussi bien sur la robustesse des méthodes/procédures analytiques que sur la comparabilité des résultats de mesure n'est pas connu.

- Préparation de l'échantillon : extraction sur phase solide. L'extraction sur phase solide est la technique de choix mise en œuvre, ce qui est cohérent avec les objectifs de méthodes multirésidus et les contraintes actuelles des laboratoires.

Deux approches dominent : extraction sur phase de type HLB (Hydrophilic Lipophilic Balanced) et élution avec un mélange méthanolique et extraction sur phase de type MCX (Mixed Cation Exchange) et élution avec mélange méthanolique renforcée par ajout de base faible. Pour une même phase, beaucoup de protocoles d'élution différents et des niveaux de performances très hétéroclites sont observés. Ces observations sont également notables pour une même molécule (données non montrées dans le tableau).

- Méthodes d'analyse instrumentale. Là encore, les objectifs de méthodes multirésidus et les contraintes actuelles des laboratoires imposent la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem comme la technique de référence. Le point faible de cette technique : l'existence d'effets matriciels liée à sa mise en œuvre sur des matrices très complexes n'apparaît pas un facteur de réorientation des approches analytiques vers soit des techniques plus spécifiques soit des techniques moins sensibles à ces problématiques tel que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (avec ou sans dérivation). Ce point sera discuté plus précisément dans le paragraphe suivant.
- Les niveaux de performances : les performances revendiquées par les différents travaux que ce soit en terme de sensibilité (limite de quantification) ou les taux de récupération sont très difficilement comparables tant les pratiques sont hétéroclites (tests mis en œuvre, matrices évaluées, méthodes de détermination).

suite du document page suivante

Tableau 9 : Synthèse bibliographique des méthodes d'analyses de psychotropes dans les matrices aqueuses

Analyse Multirésidus	Classes de molécules	Milieu	Type d'échantillonnage	Préparation				Analyse	Performances	Auteurs
				Filtration	Extraction			Instrumentation		
					Spécifications	Volume	Elution			
oui (5)	antiépileptiques; β-bloquants	ESU ERe	ponctuel	0,45µm (cellulose)	SPE OASIS HLB	500mL	D'après la méthode de Vieno et al. 2005	LC MS MS XbridgeC18	LOQ ERe: 2-12,5ng/L LOQ ESU: 0,4-2,7ng/L	Daneshvar et al. (2011)
oui (32)	AINS (5); antibiotiques (8); antiépileptiques (3); β-bloquants (5); hypolipémiants (6); diurétiques (2); vasodilatateur (1); anti-diabétiques (1); broncho-dilatateurs (1)	ERe ERi	composites 24 heures	0,45µm (nylon)	SPE OASIS HLB	ERi 100mL ERe 200mL	8mL MeOH	LC MS MS Star RPC18	cf Gros et al.(2009)	Jelic et al. (2011)
oui (131) mais voies de préparation séparées	estrogènes (12); alkylphénols et produits associés (9); drogues illicites (17); pharmaceutiques (71); pesticides (22)	ERe	ponctuel	0,45µm (nylon)	-	-	-	-	-	Kock Schulmeyer et al. (2011)
oui (65)	stimulants et métabolites (12); hallucinogènes et métabolites (8); traceurs anthropiques (5); benzodiazépines et métabolites (7); opioïdes, morphines et dérivés et leurs métabolites (20); antidépresseurs et métabolites (6); anesthésiants et métabolites (3) ; précurseurs (3) et divers (2)	ESU ERe ERi	ponctuel	0,7µm (fibre de verre)	SPE OASIS MCX	ERi 100mL, ERe 200mL, ESU 500mL	3mL MeOH 7% NH ₄ OH	LC MS MS Acquity UPLC BEHC ₁₈	LOQ ERe: 0,5-154,2ng/L; LOQ ERI: 0,7-139,9ng/L; LOQ ESU: 0,5-100ng/L SPE : ERI 3 ± 0% - 139 ± 16%; ERE 2±0% - 119 ± 5%; ESU 1±0% - 106±2%	Baker et al. (2011)
oui (22)	tranquillisants (5); stimulants (17)	ESU ERe	ERe composites 24 heures; ESU ponctuel	0,45µm (PTFE filtre seringue)	Injection directe	10µL	NR	LC MS MS (QqQLIT) Zorbax EclipseXDB)	LOQ ERe: 3-600ng/L; LOQ ERI: 10-680ng/L; LOQ ESU: 0,5-600ng/L	Martinez Bueno et al. (2011)
oui (33)	antibactériens (9); antidépresseurs/antiépileptiques/anxiolytiques (10); antihistaminiques (1); antinéoplasiques/ immunosuppresseurs (2); bronchodilatateurs (1); anesthésiques locaux (1); troubles gastriques (5); stimulants (4)	ESU EB	ponctuel	D'après la méthode Martinez Bueno 2010						Valcarcel et al. (2011)

oui (88)	pesticides (10); pharmaceutiques (75) : analgésiques/anti-inflammatoires, antibiotiques, hypolipémiants, β -bloquants, antidépresseurs, antiépileptiques, anti- ulcéreux, corticostéroïdes, diurétiques, broncho-dilatateurs, agents de contraste, antinéoplasiques, antiseptiques, stimulants dont métabolites (11); plastifiants (1); désinfectants (2)	ESU	ponctuel	0,7 μ m (fibre de verre)	SPE OASIS HLB	400mL	2*4mL MeOH	LC MS MS (QqQLIT) (ZorbaxSB C ₁₈) et LC TOF MS (Eclipse DB C ₈)	MQL : 0,3-200ng/L 1-10ng/L pour (72/88) SPE : 0 $\pm$ -112 $\pm$ 12%. R> 70% pour (65/88)	Martinez Bueno et al. (2010)
oui (10)	substances contrôlées: analgésiques; opioïdes, morphines et dérivés et leurs métabolites; stimulants; hypnotiques	ESU ERe	ERe composites 24 heures; ESU ponctuel	0,22 μ m (acétate de cellulose)	SPE OASIS MCX	200mL	3mL MeOH, 3mL MeOH 2%NH ₄ OH	LC MS MS Zorbax Eclipse XDB-C ₁₈	MDL ESU: 0,02-3,5ng/L; MDL ERe: 0,25-5ng/L SPE: ERe: 65 $\pm$ 7%-115 $\pm$ 4% ; ESU: 87 $\pm$ 6 % - 119 $\pm$ 4%	Lin et al. (2011)
non	carbamazépine et ses métabolites	ERe ERi	composites 24 heures	1,2 μ m (fibre de verre)	SPE OASIS HLB	nr	2*5mL AE	LC MS Zorbax Eclipse XDB-C ₈	LOQ: 5,2-20,1ng/L SPE: 77-98,3%	Leclercq et al. (2009)
Oui : drogues illicites (11)	cocaïne et ses métabolites (5); amphétamines, produits dérivés et métabolites (5); métabolites THC (1)	ERe ERi	composites 24 heures	centrifugation (4500 rpm)	SPE OASIS MCX	50mL	8mL MeOH 2% NH ₄ OH	LC MS MS Acquity UPLC BEH C ₁₈	SPE: ESU: 61 $\pm$ 7%-120 $\pm$ 11%; ERe: 63 $\pm$ 3%-118 $\pm$ 11%; ERi: 57 $\pm$ 10%-120 $\pm$ 6%; L'étude s'est fixée des objectifs de LOQ qui ne sont pas des liées aux performances intrinsèques de la méthode développée mais à des besoins milieu	Biljsma et al. (2009)
oui (16)	stimulants licites et métabolites (4); amphétamines, produits dérivés et métabolites (5); cocaïne et ses métabolites (2); hallucinogène (1); analgésiques (1); anesthésiques (2); benzodiazépines (1)	ERe ERi ESU	ESU : ponctuel; ERe- ERi: composites 24 heures	1,6 μ m (fibre de verre)	SPE OASIS HLB	100mL	6mL MeOH	LC MS MS Acquity UPLC BEH C ₁₈	SPE: ESU: 75 $\pm$ 3,9%-99 $\pm$ 3,4%; ERe: 70 $\pm$ 6,8%-101 $\pm$ 5,0% LOQ ESU: 0,1-200ng/L; LOQ ERe: 0,2-800ng/L	Huerta - Fontela et al. (2007)
non	amphétamines, produits dérivés et métabolites (5)	ERe ERi	ponctuels	0,45 μ m (nitrocellulose)	SPE OASIS HLB	50mL	3mL MeOH	LC MS MS Halo C18	SPE: ERe: 111,4 $\pm$ 2,5%- 384,4 $\pm$ 8,7%; ERi: 111,7 $\pm$ 4,1%- 450,6 $\pm$ 1,9%	Gonzalez- Marino et al. (2009)
					SPE OASIS MCX		3mL MeOH 5% NH ₃		SPE: ERe: 103,5 $\pm$ 2,0%- 137,2 $\pm$ 2,6%; ERi: 101,2 $\pm$ 4,2%- 126,5 $\pm$ 4,5	

					MIP		2*1mL MeOH 1% acide formique		SPE: ERe: 91,6±4,9%- 113,9±3,9%; ERi 92,0±1,8%-110,9±4,7%	
oui (20) mais voies séparées de préparation	amphétamines, produits dérivés et métabolites (5); cocaïne et métabolites (3); cannabinoïdes et métabolites (3); hallucinogènes et métabolites (4); opiacés et métabolites (5)	ERe ERi	composites 24 heures	0,45µm (nylon)	Online-SPE OASIS HLB Online-SPE PLPR	5mL	phase mobile eau acétonitrile	LC MS MS Prosper STAR RP-18e	SPE: ERe -ERi: 9±14%- 59±11,7%	Postigo et al. (2008)
oui (19) mais voies séparées de préparation	amphétamines, produits dérivés et métabolites (4); cocaïne et métabolites (3); cannabinoïdes et métabolites (3); hallucinogènes et métabolites (3); opiacés et métabolites (5); benzodiazépine (1)	ERi	composites 24 heures	0,45µm (nylon)	Online-SPE OASIS HLB Online-SPE PLPR	5mL	phase mobile eau acétonitrile	LC MS MS Prosper STAR RP-18e	SPE: ERe-ERi : 22%-97%; RSD <23%	Postigo et al. (2011)
oui (10)	amphétamines, produits dérivés et métabolites (2); cocaïne et métabolites (2); cannabinoïdes et métabolites (1); opiacés et métabolites (5)	ERe ERi	composites	1,2µm (fibre de verre)	SPE OASIS HLB	ERi 250mL ERe 500mL	6mL MeOH	LC MS MS Synergy 4µmPOLAR- RP80A	SPE: ERi: 66±11%-102±9%; ERe: 62±4%-123±15%; MDL ERi: 0,4-20ng/L; MDL ERe: 0,2-53ng/L	Terzic et al. (2010)
oui (16)	amphétamines, produits dérivés et métabolites (4); cocaïne et métabolites (5); cannabinoïdes et métabolites (1); opiacés et métabolites (6)	ESU	composites		SPE OASIS MCX	250- 1000mL	3mL MeOH, 3mL MeOH 2%NH ₄ OH	LC MS MS Xterra MS C ₁₈	SPE : 84±10%-108±6,9%; LOQ : 0,07-1,18 ng/L	Zuccato et al. (2008)

ESU : eaux de surface; ERe : Eaux Résiduelles effluents; ERi : Eaux Résiduelles influents; EB : Eaux de boisson ; MeOH : méthanol ; AE : acétate d'éthyle ; LOQ : limite de quantification ; MDL : limite de détection de la méthode ; MQL: limite de quantification de la méthode ; PLRP : phase polymérique styrène-divinylbenzène ; LC/MS Chromatographie en phase liquide -spectrométrie de masse ; NH₄OH : hydroxyde d'ammonium

4.4 LES EFFETS MATRICIELS

L'effet matriciel est défini par l'IUPAC (Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée) comme étant l'ensemble des «effets combinés de l'ensemble des composants de l'échantillon autres que l'analyte sur la mesure de la quantité. Si une composante spécifique peut être identifiée comme responsable de l'effet observé elle est alors désignée comme interférent».

Les effets matriciels tels qu'ils ont été définis dans le paragraphe précédent peuvent se traduire soit par une surestimation du signal («enhancement» du signal) soit par une diminution du signal (extinction qui peut être partielle ou totale). En conséquence, ils peuvent affecter de manière dramatique les mesures quantitatives en tout premier plan mais également qualitatives, ce qui est bien souvent résumé sous les termes de «faux négatif» et «faux positif». Ce phénomène est susceptible d'affecter de manière très significative les performances des méthodes d'analyses chimiques et en conséquence d'affecter l'exactitude des mesurages.

Il est remarquable de préciser que la très grande majorité des études adressent ce point critique dans le cadre des processus de caractérisation de la méthode, ce qui représente une évolution très significative des pratiques.

Comme l'illustre la figure 9, l'évaluation des effets matriciels doit être conduite pour chaque typologie de matrice et chacune des molécules cibles. Comme cela est reconnu, plus la charge matricielle de l'échantillon est importante : $ERi > ERe > ESU$ plus les phénomènes matriciels sont importants. De la même manière, moins l'analyte est retenu sur la colonne chromatographique plus les effets matriciels sont intenses. Ce qui illustre une nouvelle fois, que la qualité de la séparation est un pré-requis à une analyse robuste y compris lorsque l'on met en œuvre une détection puissante de type spectrométrie de masse en tandem.

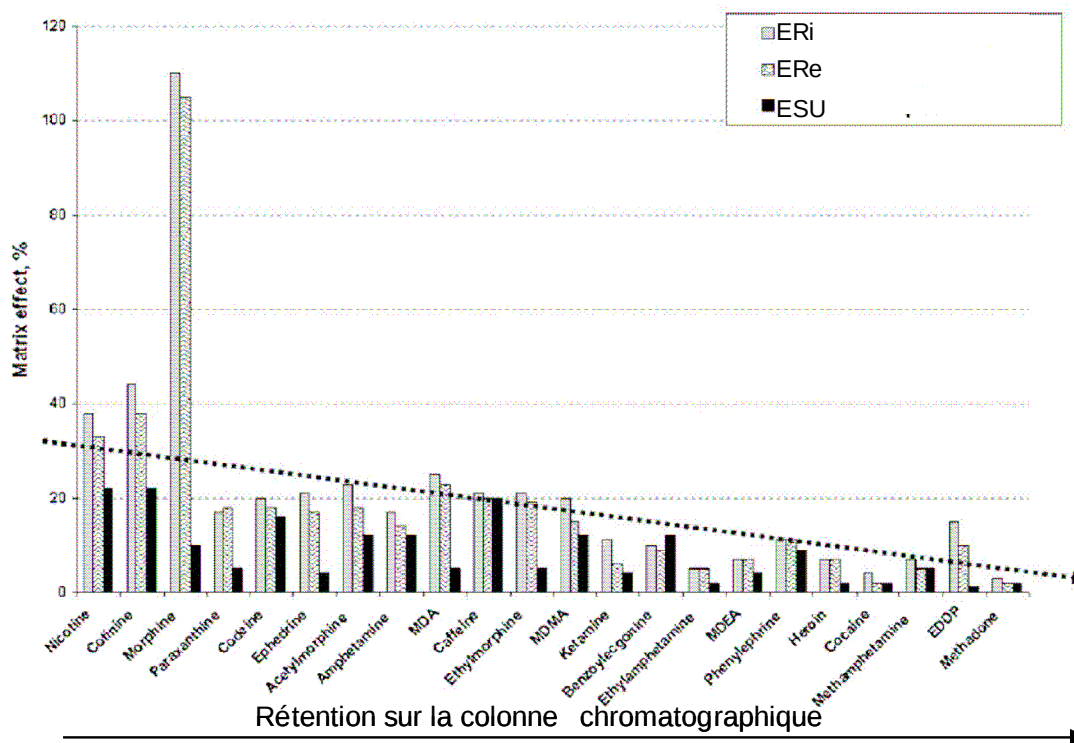


Figure 9 : Evaluation des effets matriciels (d'après Martinez-Bueno et al., 2011)

ESU : eaux de surface; ERe : Eaux Résiduaires effluents; ERI : Eaux Résiduaires influents

Des approches telles que la dilution des extraits avant injection, la diminution des prises d'essais d'échantillons ou bien encore la mise en place de procédures de préparation poussées, grande sélectivité de l'extraction et/ou processus de purification poussée avant analyse, sont connues comme pouvant significativement permettre de mieux contrôler et/ou maîtriser les phénomènes matriciels. Cependant force est de constater qu'elles s'opposent bien souvent aux exigences d'une analyse multirésidus de produits psychotropes à l'état ultra-traces. Biljsma et al. (2009) mettent en avant l'intérêt de la quantification par dilution isotopique-spectrométrie de masse comme approche permettant de corriger les effets de matrice et, par conséquent, d'atteindre une analyse quantitative fiable et robuste.

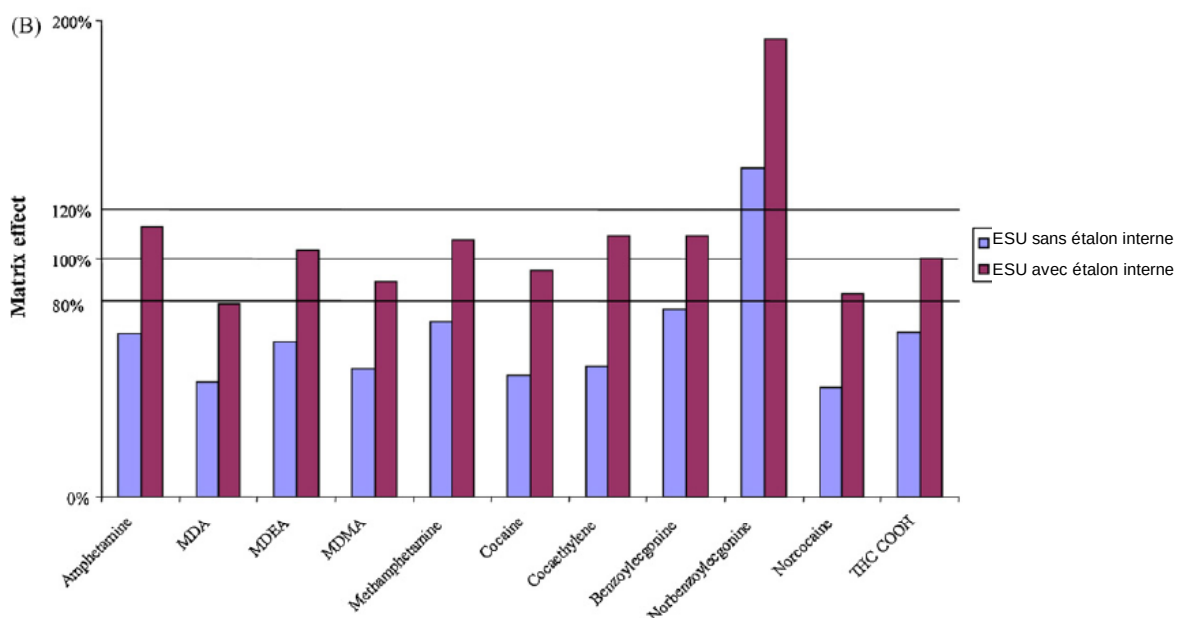


Figure 10 : Effet de la méthode de quantification sur la robustesse d'une méthode : intérêt de la dilution isotopique (D'après Biljsma et al., 2009).

Une valeur de 100% sur le graphique signifie l'absence d'effets matriciels. La dilution isotopique ne peut être mise en place pour la norbenzoylecgonine en conséquence de l'absence d'analogues marqués commerciaux.

suite du document page suivante

CONCLUSION / NOTIONS CLES :

- Nécessité d'améliorer la représentativité des données de mesure :
 - ⇒ Amélioration des stratégies d'échantillonnage, notamment en ouvrage de traitements des eaux usées
 - ⇒ Développement des nouveaux outils de surveillance des milieux : échantillonnage passif/intégratif
- Nécessité de développer des méthodes d'analyse basées sur une cohérence de classe thérapeutique
 - ⇒ Amélioration des stratégies de préparation de l'échantillon : nouvelles approches d'extraction (MIP), nouvelles approches ultra sélectives de purification, autres outils émergents
 - ⇒ Amélioration des analyses instrumentales, notamment par rapport aux problématiques des effets matriciels
 - ⇒ Généralisation des approches de dilution isotopique
- Nécessité de disposer des outils pour assurer la qualité des données :
 - ⇒ Mise en place des outils pour établir la traçabilité métrologique des mesures
 - ⇒ Mise en place des outils pour démontrer l'exactitude des méthodes d'analyse
 - ⇒ Mise en place des outils pour harmoniser l'association de niveaux d'incertitudes à toutes données de mesure

Ä Amélioration de la qualité des données de mesure
Ä Meilleure prise de décision

suite du document page suivante

5. BIBLIOGRAPHIE

Alvarez D.A., Stackelberg P.E., Petty J.D., Huckins J.N., Furlong E.T., Zaugg S.D. et Meyer M.T. (2005) Comparison of a novel passive sampler to standard water-column sampling for organic contaminants associated with wastewater effluents entering a New Jersey stream. *Chemosphere*, 61, pp.610-622.

Afssaps (2011) Rapport d'expertise : Analyse des ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux en France - 1999-2009. 11e édition - Juillet 2011, 128 pages.

Anses (2011) Rapport sur la campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine; 31 pages.

AMPERES par Soulier C., Gabet V., Lardy S., Lemenach K., Pardon P., Esperanza M., Miège C., Choubert J.-M., Martin S., Bruchet A., Coquery M. et Budzinski H. (2011) Zoom sur les substances pharmaceutiques : présence, partition, devenir en station d'épuration. *Techniques Sciences Méthodes*, janvier-février (1-2), pp.63-80.

Baker D.R. et Kasprzyk-Hordern B. (2011) Multi-residue analysis of drugs of abuse in wastewater and surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218, pp. 1620-1631.

Bartelt-Hunt S.L., Snow D.D., Damon T., Shockley J. et Hoagland. K. (2009) The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska. *Environmental Pollution*, 157, pp. 786-791.

Baselt, Randall C. (2011) *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, Ninth Edition. Hardbound, 1900 pages, ISBN 978-0-9626523-8-7.

Bendz D., Paxeus N.A., Ginn T R. et Loge F.J. (2005). Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Hoje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials*, 122, pp. 195-204.

Benotti M.J. et Brownawell B.J. (2009) Microbial degradation of pharmaceuticals in estuarine and coastal seawater. *Environmental Pollution*, 157, pp. 994-1002.

Berset J.-D., Brenneisen R. et Mathieu C. (2010) Analysis of licit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography - Electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *Chemosphere*, 81, pp. 859-866.

Besse J.P. et Garric J. (2008) Human pharmaceuticals in surface waters. Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. *Toxicology Letters*, 176, pp. 104-123.

Bijlsma L., Sancho J.V., Pitarch E., Ibáñez M. et Hernández F. (2009) Simultaneous ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of amphetamine and amphetamine-like stimulants, cocaine and its metabolites, and a cannabis metabolite in surface water and urban wastewater. *Journal of Chromatography A*, 1216, pp. 3078-3089.

Boleda M.R., Galceran M.T. et Ventura F. (2007) Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1175, pp. 38-48.

Boleda M.R., Galceran M.T. et Ventura F. (2009) Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. *Water Research*, 43, pp. 1126 - 1136.

Boleda M.R., Huerta-Fontela M., Ventura F. et Galceran M.T. (2011) Evaluation of the presence of drugs of abuse in tap waters. *Chemosphere*, article in press.

- Boleda M.R., Galceran M.T. et Ventura F. (2011) Behavior of pharmaceuticals and drugs of abuse in a drinking water treatment plant (DWTP) using combined conventional and ultrafiltration and reverse osmosis (UF/RO) treatments. *Environmental Pollution*, 159, pp. 1584-1591.
- Boles T.H. et Wells M.J.M. (2010) Review Analysis of amphetamine and methamphetamine as emerging pollutants in wastewater and wastewater-impacted streams. *Journal of Chromatography A*, 1217, pp. 2561-2568.
- Bonvin F., Rutler R., Chèvre N., Halder J. et Koh T. (2011) Spatial and Temporal Presence of a Wastewater-Derived Micropollutant Plume in Lake Geneva. *Environmental Science Technology*, 45, pp. 4702-4709.
- Bouchard B., Gagné F., Fortier M. et Fournier M. (2009) An in-situ study of the impacts of urban wastewater on the immune and reproductive systems of the freshwater mussel *Elliptio complanata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 150(2), pp. 132-140.
- Bound J.P., Kitsou K. et Voulvoulis N. (2006) Household disposal of pharmaceuticals and perception of risk to the environment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21, pp. 301-307.
- Boyd G.R., Reemtsma H., Grimm D.A. et Mitra S. (2003) Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Science of the Total Environment*, 311, pp. 135-149.
- Bradley P.M., Barber L.B., Kolpin D.W., McMahon P.B. et Chapelle F.H. (2007) Biotransformation of caffeine, cotinine, and nicotine in stream sediments: Implications for use as wastewater indicators. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26, pp. 1116-1121.
- Braida D., Limonta V., Pegorini S., Zani A., Guerini-Rocco C., Gori E. et Sala M. (2007) Hallucinatory and rewarding effect of salvinorin A in zebrafish: μ -opioid and CB1-cannabinoid receptor involvement. *Psychopharmacology*, 190, pp. 441-448.
- Bretaud S., Lockwood Q.L.B.L., Kobayashi K., Lin E. et Guo S. (2007) A choice behavior for morphine reveals experience dependent drug preference and underlying neural substrates in developing larval zebrafish. *Neuroscience*, 146, pp. 1109-1116.
- Brooks B.W., Turner P.K., Stanley J.K., Weston J.J., Glidewell E.A., Foran C.M., Slattey M., La Point T.W. et Huggett D.B. (2003) Waterborne and sediment toxicity of fluoxetine to select organisms. *Chemosphere*, 52, pp. 135-142.
- Buchberger W.W. (2007) Review Novel analytical procedures for screening of drug residues in water, wastewater, sediment and sludge. *Analytica Chimica Acta*, 593, pp. 129-139.
- Busetti F., Linge K. L. et Heitz A. (2009) Analysis of pharmaceuticals in indirect potable reuse systems using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216, pp. 5807-5818.
- Carballa M., Omil F., Lema J.M., Llopart M., Garcia-Jares C., Rodriguez I., Gomez M. et Ternes T. (2004) Behaviour of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research*, 38, pp. 2918-2926.
- Castiglioni S., Bagnati R., Melis M., Panawennage D., Chiarelli P., Fanelli R. et Zuccato E. (2011) Identification of cocaine and its metabolites in urban wastewater and comparison with the human excretion profile in urine. *Water Research*, in press. .
- Castiglioni S., Zuccato E., Crisci E., Chiabrando C., Fanelli R. et Bagnati R. (2006) Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 78, pp. 8421-8429.
- Calisto V. et Esteves V.I. (2009) Review Psychiatric pharmaceuticals in the environment. *Chemosphere*, 77, pp. 1257-1274.
- Carrara C., Ptacek C.J., Robertson W.D., Blowes D.W., Moncur M.C., Sverko E. et Backus S. (2008) Fate of pharmaceutical and trace organic compounds in three septic system plumes, Ontario, Canada. *Environmental Science and Technology*, 42, pp. 2805-2811.

Chadzinska M., Hermesen T., Savelkoul H.F.J. et Verburg-van Kemenade B.M.L. (2009) Cloning of opioid receptors in common carp (*Cyprinus carpio* L.) and their involvement in regulation of stress and immune response. *Brain, Behavior, and Immunity*, 23, pp. 257-266.

Chadzinska M., Savelkoul H.F.J. et Verburg-van Kemenade B.M.L. (2009) Morphine affects the inflammatory response in carp by impairment of leukocyte migration. *Developmental and Comparative Immunology*, 33, pp. 88-96.

Clara M., Strenn B., Gans O., Martinez E., Kreuzinger N. et Kroiss H. (2005). Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Research*, 39, pp. 4797-4807.

Daneshvar A., Svanfelt J., Kronberg L., Prévost M. et Weyhenmeyer G.A. (2010) Seasonal variations in the occurrence and fate of basic and neutral pharmaceuticals in a Swedish river-lake system. *Chemosphere*, 80, pp. 301-309.

Eriksson E., Christensen N., Ejbye Schmidt J. et Ledin A. (2008) Potential priority pollutants in sewage sludge. *Desalination*, 226, pp. 371-388.

Escher B.I., Baumgartner R., Koller M., Treyer K., Lienert J. et McArdell C.S. (2011) Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. *Water research*, 45, pp. 75-92.

Fenet H., Gomez E., Leclerc M. et Casellas C. (2006) Devenir des médicaments dans l'environnement. *Environnement Risques Santé*, 5, pp. 243-247.

Gernaey K.V., Flores-Alsina X., Rosen C., Benedetti L. et Jeppsson U. (2011) Dynamic influent pollutant disturbance scenario generation using a phenomenological modelling approach. *Environmental Modelling & Software*, 26, pp. 1255-1267.

Gerrity D., Trenholm R.A. et Snyder S.A. (2011) Temporal Variability of Pharmaceuticals and Illicit Drugs in Wastewater and the Effects of a Major Sporting Event. *Water Research*, in press.

Giacomini N.J., Rose B., Kobayashi K. et Guo S. (2006) Antipsychotics produce locomotor impairment in larval zebrafish. *Neurotoxicology and Teratology*, 28, pp. 245-250.

Gomez M.J., Martinez Bueno M.J., Lacorte S., Fernandez-Alba A.R. et Agüera A. (2007) Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. *Chemosphere*, 66, pp. 993-1002.

González-Marino I., Quintana J.B., Rodríguez I., Rodil R., González-Penas J. et Cela R. (2009) Comparison of molecularly imprinted, mixed-mode and hydrophilic balance sorbents performance in the solid-phase extraction of amphetamine drugs from wastewater samples for liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination. *Journal of Chromatography A*, 1216, pp. 8435-8441.

González-Marino I., Quintana J.B., Rodríguez I. et Cela R. (2010) Determination of drugs of abuse in water by solid-phase extraction, derivatisation and gas chromatography-ion trap-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217, pp. 1748-1760.

Hernández F., Bijlsma L., Sancho J. V., Díaz R. et Ibáñez M. (2011) Rapid wide-scope screening of drugs of abuse, prescription drugs with potential for abuse and their metabolites in influent and effluent urban wastewater by ultrahigh pressure liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 684, pp. 87-97.

Horsing M., Ledin A., Grabic R., Fick J., Tysklind M., la Cour Jansen J. et Andersen H.R. (2011) Determination of sorption of seventy-five pharmaceuticals in sewage sludge. *Water research*, 454, pp. 4470-4482.

Han G.H., Hur H.G. et Kim S.D. (2006) Ecotoxicological risk of pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: Occurrence and toxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, pp. 265-271.

Heberer T. et Feldmann D. (2005) Contribution of effluents from hospitals and private households to the total loads of diclofenac and carbamazepine in municipal sewage effluents - Modeling versus measurements. *Journal of Hazardous Materials*, 122, pp. 211-218.

Huerta-Fontela M., Galceran M.T. et Ventura F. (2011) Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. *Water Research*, 45 (3), pp. 1432-1442.

Huerta-Fontela M. , Galceran M.T. et Ventura F. (2010) Fast liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap mass spectrometry for the analysis of pharmaceuticals and hormones in water resources. *Journal of Chromatography A*, 1217 (25), pp. 4212-4222.

Huerta-Fontela M., Galceran M.T., Martin-Alonso J. et Ventura F. (2008) Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Science of the total environment*, 397, pp. 31-40.

Huerta-Fontela M., Galceran M.T. et Ventura F. (2007) Ultrapformance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Analysis of Stimulatory Drugs of Abuse in Wastewater and Surface Waters. *Analytical Chemistry*, 79 (10), pp. 3821-3829 .

Jelic A., Gros M., Ginebreda A., Cespedes-Sanchez R., Ventura F., Petrovic M. et Barcelo D. (2011) Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water research*, 45, pp. 1165-1176.

Johnson D.J., Sanderson H., Brain R.A., C.J. Wilson, K.R. Solomon (2007) Toxicity and hazard of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants fluoxetine, fluvoxamine, and sertraline to algae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, pp. 128-139.

Jones-Lepp T.L., Alvarez D.A., Petty J.D. et Huckins J.N. (2004) Polar organic chemical integrative sampling and liquid chromatography electrospray/ion-trap mass spectrometry for assessing selected prescription and illicit drugs in treated sewage effluents. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47, pp. 427-439.

Karolak S., Nefau T., Bailly E., Solgadi A. et Levi Y. (2010) Estimation of illicit drugs consumption by wastewater analysis in Paris area (France). *Forensic Science International*, 200, pp. 153-160.

Kasprzyk-Hordern B., Dinsdale R.M. et Guwy A.J. (2008) The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water research*, 42, pp. 3498-3518.

Kasprzyk-Hordern B., Dinsdale R.M. et Guwy A.J. (2009) Illicit drugs and pharmaceuticals in the environment - Forensic applications of environmental data. Part 1: Estimation of the usage of drugs in local communities. *Environmental Pollution*, 157, pp. 1773-1777.

Kasprzyk-Hordern B., Dinsdale R.M. et Guwy A.J. (2009) Illicit drugs and pharmaceuticals in the environment - Forensic applications of environmental data, Part 2: Pharmaceuticals as chemical markers of faecal water contamination. *Environmental Pollution*, 157, pp. 1778-1786.

Kasprzyk-Hordern B., Dinsdale R.M. et 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, pp. 363-380.

Kasprzyk-Hordern B., Kondakal V.V.R. et Baker D.R. (2010) Enantiomeric analysis of drugs of abuse in wastewater by chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217, pp. 4575-4586.

Khan U. et Nicell J.A. (2011) Refined sewer epidemiology mass balances and their application to heroin, cocaine and ecstasy. *Environment International*, 37, pp. 1236-1252.

Khan S.J. et Ongerth J.E. (2004) Modelling of pharmaceutical residues in Australian sewage by quantities of use and fugacity calculations. *Chemosphere*, 54, pp. 355-367.

Köck-Schulmeyer M., Ginebreda A., Postigo C., López-Serna R., Pérez S., Brix R., Llorca M., López de Alda M., Petrovic M., Munné A., Tirapu L. et Barceló D. (2011) Wastewater reuse in Mediterranean semi-arid areas: The impact of discharges of tertiary treated sewage on the load of polar micro pollutants in the Llobregat river (NE Spain). *Chemosphere*, 82, pp. 670-678.

Lajeunesse A., Gagnon C., Gagné F., Louis S., Cejka P. et Sauvé S. (2011) Distribution of antidepressants and their metabolites in brook trout exposed to municipal wastewaters before and after ozone treatment - Evidence of biological effects. *Chemosphere*, article in press.

Lahti M. et Oikari A. (2011) Pharmaceuticals in settleable particulate material in urban and non-urban waters. *Chemosphere*, article in press.

Lardy S. (2008) Les substances émergentes dans les écosystèmes aquatiques français. Une application aux alkylphénol-polyéthoxylés et aux substances pharmaceutiques. N°ordre 3702, Université Bordeaux1, école doctorale sciences chimiques.

Leclercq M., Mathieu O., Gomez E., Casellas C., Fenet H. et 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, pp. 408-415.

Lee J., Lee H.K., Rasmussen K.E. et Pedersen-Bjergaard S. (2008) Environmental and bioanalytical applications of hollow fiber membrane liquid-phase microextraction: A review. *Analytica chimica acta*, 624, pp. 253-268.

Lee H.B., Sarafin K., Peart T.E. et Svoboda M.L. (2003) Acidic pharmaceuticals in sewage - Methodology, stability test, occurrence, and removal from Ontario samples. *Water Quality Research Journal of Canada*, 38, pp. 667-682.

Li H., Helm P.A., Paterson G. et Metcalfe C.D. (2011) The effects of dissolved organic matter and pH on sampling rates for polar organic chemical integrative samplers (POCIS). *Chemosphere*, 83, pp. 271-280.

Lin A.Y.-C., Wang X.-H. et Lin C.-F. (2010) Impact of wastewaters and hospital effluents on the occurrence of controlled substances in surface waters. *Chemosphere*, 81, pp. 562-570.

Lin W.C., Chen H.C. et Ding W.H. (2005) Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1065, pp. 279-285.

Lindqvist N., Tuhkanen T. et Kronberg L. (2005) Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. *Water Research*, 39, pp. 2219-2228.

Lister A., Regan C., Van Zwol J. et Van Der Kraak G. (2009) Inhibition of egg production in zebrafish by fluoxetine and municipal effluents: A mechanistic evaluation. *Aquatic Toxicology*, 95, pp. 320-329.

Loganathan B., Phillips M., Mowery H. et Jones-Lepp T.L. (2009) Contamination profiles and mass loadings of macrolide antibiotics and illicit drugs from a small urban wastewater treatment plant. *Chemosphere*, 75(1), pp. 70-77.

López Patiño M.A., Yu L., Yamamoto B.K. et Zhdanova I.V. (2008) Gender differences in zebrafish responses to cocaine withdrawal. *Physiology and Behavior*, 95, pp. 36-47.

MacLeod S.L. et Wong C.S. (2010) Loadings, trends, comparisons, and fate of achiral and chiral pharmaceuticals in wastewaters from urban tertiary and rural aerated lagoon treatments. *Water research*, 44, pp. 533-544.

MacLeod S.L., McClure E.L. et Wong C.S. (2007). Laboratory calibration and field deployment of the polar organic chemical integrative sampler for pharmaceuticals and personal care products in wastewater and surface water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26, pp. 2517-2529.

Maoz A. et Chefetz B. (2010) Sorption of the pharmaceuticals carbamazepine and naproxen to dissolved organic matter: Role of structural fractions. *Water research*, 44, pp. 981-989.

Madureira V.T., Barreiro J.C., Rocha M.J., Rocha E., Bezerra Cass Q. et Tiritan M.E. (2010) Spatiotemporal distribution of pharmaceuticals in the Douro River estuary (Portugal). *Science of the Total Environment*, 408, pp. 5513-5520.

Malarvizhi A., Kavitha C., Saravanan M. et Ramesh M. (2011) Carbamazepine (CBZ) induced enzymatic stress in gill, liver and muscle of a common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of King Saud University - Science*, article in press.

Martínez-Bueno M.J., Hernando M.D., Herrera S., Gómez M.J., Fernández-Alba A.R., Bustamante I. et García-Calvo E. (2010) Pilot survey of chemical contaminants from industrial and human activities in river waters of Spain. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 90(3-6), pp. 321-343.

Martínez-Bueno M.J., Uclés S., Hernando M.D. et Fernández-Alba A.R. (2011) Development of a solvent-free method for the simultaneous identification/quantification of drugs of abuse and their metabolites in environmental water by LC-MS/MS. *Talanta*, 85, pp. 157-166.

Metcalfe C., Tindale K., Li H., Rodayan A. et Yargeau V. (2010) Illicit drugs in Canadian municipal wastewater and estimates of community drug use. *Environmental Pollution*, 158, pp. 3179-3185.

Metcalfe C.D., Koenig B.G., Bennie D.T., Servos M., Ternes T.A. et Hirsch, R. (2003). Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of canadian sewage treatment plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22, pp. 2872-2880.

Minagh E., Hernan R., O'Rourke K., Lyng F.M. et Davoren M. (2009) Aquatic ecotoxicity of the selective serotonin reuptake inhibitor sertraline hydrochloride in a battery of freshwater test species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, pp. 434- 440.

Nagarnaik P., Batt A. et Boulanger B. (2011) Source characterization of nervous system active pharmaceutical ingredients in healthcare facility wastewaters. *Journal of Environmental Management*, 92, pp. 872-877.

Nathaniel T.I., Panksepp J. et Huber R. (2009) Drug-seeking behavior in an invertebrate system: Evidence of morphine-induced reward, extinction and reinstatement in crayfish. *Behavioural Brain Research*, 197, pp. 331-338.

Nordgreen J., Garner J.P., Janczak A.M., Ranheim B., Muir W.M. et Horsberg T.E. (2009) Thermnociception in fish: Effects of two different doses of morphine on thermal threshold and post-test behaviour in goldfish (*Carassius auratus*). *Applied Animal Behaviour Science*, 119, pp. 101-107.

OFDT(2011) Les niveaux d'usage des drogues en France en 2010. *Tendances*, 76, 6 pages.

Ort C., Lawrence M., Rieckermann J. et Joss A. (2011) Sampling for Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) and Illicit Drugs in Wastewater Systems: Are Your Conclusions Valid? A Critical Review. *Environmental Science Technology*, 44, pp. 6024-6035.

Ort C., Hollender J., Schaerer M. et Siegrist H.R. (2009) Model-Based Evaluation of Reduction Strategies for Micropollutants from Wastewater Treatment Plants in Complex River Networks. *Environmental Science Technology*, 43 (9), pp. 3214-3220.

Parolini M., Quinn B., Binelli A. et Provini A. (2011) Cytotoxicity assessment of four pharmaceutical compounds on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) haemocytes, gill and digestive gland primary cell cultures. *Chemosphere*, 84, pp. 91-100.

Paterson G. et Metcalfe C.D. (2008). Uptake and depuration of the anti-depressant fluoxetine by the Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 74, pp. 125-130.

Petrovic M., Farré M., Lopez de Alda M., Perez S., Postigo C., Köck M., Radjenovic J., Gros M. et Barceló D. (2010) Review Recent trends in the liquid chromatography-mass spectrometry analysis of organic contaminants in environmental samples. *Journal of Chromatography A*, 1217, pp. 4004-4017.

Pomati F., Cotsapas C.J., Castiglioni S., Zuccato E. et Calamari D. (2007). Gene expression profiles in zebrafish (*Danio rerio*) liver cells exposed to a mixture of pharmaceuticals at environmentally relevant concentrations. *Chemosphere*, 70, pp. 65-73.

Postigo C., Lopez de Alda M.J. et Barceló D. (2008) Fully Automated Determination in the Low Nanogram per Liter Level of Different Classes of Drugs of Abuse in Sewage Water by On-Line Solid-Phase Extraction-Liquid Chromatography-Electrospray-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 80, pp. 3123-3134.

Postigo C., Lopez de Alda M.J. et Barceló D. (2008) Analysis of drugs of abuse and their human metabolites in water by LC-MS²: A non-intrusive tool for drug abuse estimation at the community level. *Trends in Analytical Chemistry*, 27(11), pp. 1053-1069.

Postigo C., López de Alda M.J. et Barceló D. (2010) Drugs of abuse and their metabolites in the Ebro River basin: Occurrence in sewage and surface water, sewage treatment plants removal efficiency, and collective drug usage estimation. *Environment International*, 36, pp. 75-84.

Postigo C., López de Alda M. et Barceló D. (2011) Evaluation of drugs of abuse use and trends in a prison through wastewater analysis. *Environment International*, 37, pp. 49-55.

Quinn B., Gagné F. et Blaise C. (2008) The effects of pharmaceuticals on the regeneration of the cnidarian, *Hydra attenuate*. *Science of the Total Environment*, 402, pp. 62-69.

Quinn B., Gagné F. et Blaise C. (2009) Evaluation of the acute, chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian, *Hydra attenuate*. *Science of the Total Environment*, 407, pp. 1072-1079.

Reid M.J., Langford K.H., Mørland J. et Thomas K.V. (2011) Quantitative assessment of time dependent drug-use trends by the analysis of drugs and related metabolites in raw sewage. *Drug and Alcohol Dependence*, article in press.

Reungoat J., Escher B.I., Macova M. et Keller J. (2011) Biofiltration of wastewater treatment plant effluent: Effective removal of pharmaceuticals and personal care products and reduction of toxicity. *Water research*, 45, pp. 2751-2762.

Roberts P.H. et Thomas K.V. (2006) The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchments. *Science of the Total Environment*, 356, pp. 143-153.

Rodriguez I., Quintana J.B., Carpinteiro J., Carro A.M., Lorenzo R.A. et Cela R. (2003) Determination of acidic drugs in sewage water by gas chromatography-mass spectrometry as tert-butyldimethylsilyl derivatives. *Journal of Chromatography A*, 985, pp. 265-274.

Samaras V.G., Thomaidis N.S., Stasinakis A.S., Gatidou G. et Lekkas T.D. (2010) Determination of selected non-steroidal antiinflammatory drugs in wastewater by gas chromatography-mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 90(3-6), pp. 219-229.

Santos L., Araújo A.N., Fachini A., Pena A., Delerue-Matos C. et Montenegro M. (2010) Review Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 175, pp. 45-95.

Santos J.L., Aparicio I., Alonso E. et Callejon M. (2005) Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors. *Analytica Chimica Acta*, 550, pp. 116-122.

Schultz M.M. et Furlong E.T. (2008) Trace analysis of antidepressant pharmaceuticals and their select degradates in aquatic matrixes by LC/ESI/MS/MS. *Analytical Chemistry*, 80, pp. 1756-1762.

Sedlak D.L., Pinkston K.E., Gray J.L. et Kolodziej E.P. (2003). Approaches for quantifying the attenuation of wastewater-derived contaminants in the aquatic environment. *Chimia*, 57, pp. 567-569.

Seibt K.J., da Luz Oliveira R., Pacheco Rico E., Dutra Dias R., Bogo M.R. et Bonan C.D. (2009) Typical and atypical antipsychotics alter acetylcholinesterase activity and ache expression in zebrafish (*Danio rerio*) brain. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 150(1), pp. 10-15.

Soga T., Wong D.W., Clarke I.J. et Parhar I.S. (2010) Citalopram (antidepressant) administration causes sexual dysfunction in male mice through RF-amide related peptide in the dorsomedial hypothalamus. *Neuropharmacology*, 59, pp. 77-85.

Smith E.M., Chu S., Paterson G., Metcalfe C.D. et Wilson J.Y. (2010) Cross-species comparison of fluoxetine metabolism with fish liver microsomes. *Chemosphere*, 79, pp. 26-32.

Soulet B., Tauxe A. et Tarradellas J. (2002) Analysis of acidic drugs in Swiss wastewaters. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 82, pp. 659-667.

Spongberg A.L. et Witter J.D. (2008) Pharmaceutical compounds in the wastewater process stream in Northwest Ohio. *Science of the Total Environment*, 397 (1-3), pp. 148-157.

Stumpf M., Ternes T. A., Wilken R. D., Silvana Vianna R. et Baumann W. (1999) Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Science of the Total Environment*, 225, 135-141.

Sui Q., Huang J., Deng S., Chen W. et Yu G. (2011) Seasonal Variation in the Occurrence and Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Different Biological Wastewater Treatment Processes. *Environmental Science and Technology*, 45, pp. 3341-3348.

Tarcomnicu I., Van Nuijs A. L.N., Simons W., Bervoets L., Blust R., Jorens P.G., Neels H. et Covaci A. (2011) Simultaneous determination of 15 top-prescribed pharmaceuticals and their metabolites in influent wastewater by reversed-phase liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta*, 83, pp. 795-803.

Terzic S., Senta I. et Ahel M. (2010) Illicit drugs in wastewater of the city of Zagreb (Croatia) Estimation of drug abuse in a transition country. *Environmental Pollution*, 158, pp. 2686-2693.

Togola A. (2006) Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques. N°ordre 3314, Université Bordeaux1, école doctorale sciences du vivant, géosciences, sciences de l'environnement .

Togola A. et Budzinski H. (2007) Development of polar organic integrative samplers for analysis of pharmaceuticals in aquatic systems. *Analytical Chemistry*, 79, pp. 6734-6741.

Togola A., Amalric L. et Bristeau S. (2008) Les substances pharmaceutiques dans les eaux superficielles et souterraines du bassin Loire-Bretagne. Rapport final, BRGM/RP-55578-FR, 51 pages.

Ternes T.A. (1998) Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*, 32, pp. 3245-3260.

Ternes T., Bonerz M. et Schmidt T. (2001) Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 938, pp. 175-185.

Valcárcel Y., González Alonso S., Rodríguez-Gil J.L., Gil A. et Catalá M. (2011) Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. *Chemosphere*, article in press.

Vanderford B.J., Pearson R.A., Rexing D.J. et Snyder S.A. (2003) Analysis of Endocrine Disruptors, Pharmaceuticals, and Personal Care Products in Water Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 75, pp.6265-6274.

Valcárcel Y., González Alonso S., Rodríguez-Gil J.L., Romo Maroto R., Gil A. et Catalá M. (2011) Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antipyretic pharmaceuticals in river- and drinking-water of the Madrid Region in Spain. *Chemosphere*, 82, pp. 1062-1071.

Vanderford B.J., Pearson R.A., Rexing D.J. et Snyder S.A. (2003) Analysis of Endocrine Disruptors, Pharmaceuticals, and Personal Care Products in Water Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 75, pp. 6265-6274.

Van Nuijs A.L.N., Pecceu B., Theunis L., Dubois N., Charlier C., Jorens P.G., Bervoets L., Blust R., Neels H. et Covaci A. (2009) Spatial and temporal variations in the occurrence of cocaine and benzoylecgonine in waste- and surface water from Belgium and removal during wastewater treatment. *Water research*, 43, pp. 1341-1349.

Van Nuijs A.L.N., Tarcomnicu I., Bervoets L., Blust R. , Jorens P.G., Neels H. et Covaci A. (2009) Analysis of drugs of abuse in wastewater by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 395, pp. 819-828.

Van Nuijs A.L.N., Castiglioni S., Tarcomnicu I., Postigo C., Lopez de Alda M., Neels H., Zuccato E., Barcelo D. et Covaci A. (2010) Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis: A critical review. *Science of the Total Environment*, article in press.

Van Nuijs A.L.N., Tarcomnicu I. et Covaci A. (2011) Review Application of Hydrophilic Interaction Chromatography (HILIC) for the analysis of polar contaminants in food and environmental samples. *Journal of Chromatography A*, article in press.

Verenitch S.S., Lowe C.J. et 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, pp. 193-203.

Vermeirssen E.L.M., Bramaz N., Hollender J., Singer H. et Escher B.I. (2009) Passive sampling combined with ecotoxicological and chemical analysis of pharmaceuticals and biocides - evaluation of three ChemcatcherTM configurations. *Water research*, 43, pp. 903-914.

Viana M., Querol X., Alastuey A., Postigo C., López de Alda M.J., Barceló D. et Artíñano B. (2010) Drugs of abuse in airborne particulates in urban environments. *Environment International*, 36, pp. 527-534.

Wick A., Wagner M. et Ternes T.A. (2011) Elucidation of the Transformation Pathway of the Opium Alkaloid Codeine in Biological Wastewater Treatment. *Environmental Science and Technology*, 45, pp. 3374-3385.

Wick A., Fink G., Joss A., Siegrist H. et Ternes T.A. (2009) Fate of beta blockers and psycho-active drugs in conventional wastewater treatment. *Water research*, 43, pp. 1060-1074.

Zhang Z., Hibberd A. et Zhou J.L. (2008) Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling. *Analytica chimica acta*, 607, pp. 37-44.

Zuccato E., Castiglioni S., Bagnati R., Chiabrando C., Grassi P. et Fanelli R. (2008) Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Research*, 42, pp. 961-968.

Zuccato E., Chiabrando C., Castiglioni S., Bagnati R. et Fanelli, R. (2008) Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environmental Health Perspectives*, 116 (8), pp. 1027-1032.

Zuccato E., Castiglioni S., Tettamanti M., Olandese R., Bagnatia R., Melisa M. et Fanelli R. (2011) Changes in illicit drug consumption patterns in 2009 detected by wastewater analysis. *Drug and Alcohol Dependence*, article in press.