HAL
open science

Résidus de médicaments d'un cours d'eau urbain : constitution d'une base de données pour la gestion des risques écotoxicologiques

Doriane Destrieux

▶ To cite this version:

Doriane Destrieux. Résidus de médicaments d'un cours d'eau urbain : constitution d'une base de données pour la gestion des risques écotoxicologiques. Ecologie, Environnement. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2018. Français. NNT : 2018TOU30114 . tel-02092971

HAL Id: tel-02092971
https://theses.hal.science/tel-02092971v1

Submitted on 8 Apr 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Fédérale
Toulouse Midi-Pyrénées

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Présentée et soutenue par :

Doriane DESTRIEUX

le mercredi 28 mars 2018

Titre :

Résidus de médicaments d'un cours d'eau urbain
Constitution d'une base de données pour la gestion des risques écotoxicologiques

---

École doctorale et discipline ou spécialité :

ED SDU2E : Écologie fonctionnelle

Unité de recherche :

Laboratoire Écologie Fonctionnelle et Environnement (EcoLab), UMR 5245, CNRS - UPS - INPT

Directeur/trice(s) de Thèse :

Magali GERINO	Professeur, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, Toulouse	**Directrice de thèse**
François LAURENT	Chargé de recherche, Toxalim - INRA, Toulouse	**Directeur de thèse**

Jury :

Claire ALBASI	Directeur de recherche, INP - ENSIACET, Toulouse	**Présidente du jury**
Claude CASELLAS	Professeur, Université Montpellier I, Montpellier	**Rapporteur**
Yves LÉVI	Professeur, Université Paris Sud, Chatenay-Malabry	**Rapporteur**
François LESTREMAU	Ingénieur de recherche, INERIS, Verneuil-en-Halatte	**Examinateur**
Philippe VERVIER	PDG, Acceptables Avenirs, Ramonville-Saint-Agne	**Examinateur**

Remerciements

Cette thèse est le reflet d'un travail qui a couru sur 3 années, 4 mois et 25 jours. Durant ces années, ce sont un soupçon de pleurs et de doute, un zeste de stress et une grosse pincée d'amitié et d'amour qui l'ont alimenté. Son achèvement a donc été permis grâce à toutes les personnes qui m'ont, de près ou de loin, encouragée.

Ces travaux de thèse ont été réalisés dans le cadre d'une bourse CIFRE dans l'entreprise Acceptables Avenirs, dirigée par **Philippe VERVIER**. Avant de me lancer dans cette expérience et lorsque j'étais déjà salariée de votre entreprise, je manifestais un refus catégorique à la réalisation d'une thèse, certainement lié à un manque de confiance en moi. Pourtant, Philippe, vous avez toujours cru en moi et m'y avez donc poussée, et me voilà ici aujourd'hui, en train de rédiger mes remerciements. Recevez toute ma gratitude pour la confiance accordée, votre soutien et votre bienveillance. Vous continuez d'ailleurs encore à me faire confiance en me permettant de poursuivre ma carrière professionnelle dans votre entreprise, sachez que cette confiance me touche profondément et que je prendrai plaisir à mettre toutes les compétences acquises durant cette expérience au service d'Acceptables Avenirs.

Je tiens à remercier profondément mes directeurs de thèse. Merci **Magali GERINO** qui m'accompagne depuis huit années maintenant. Tout a commencé en DESUPS, puis cela s'est poursuivi par le Master en alternance et maintenant la thèse. Il est donc évident pour moi que cet accompagnement a été le pilier fondateur de mon statut professionnel actuel. Depuis tout ce temps, vous avez toujours été là pour moi et je ne vous en remercierai jamais assez. Merci pour votre aide, votre gentillesse, votre bonne humeur et votre disponibilité. Merci également d'avoir accepté de m'encadrer dans ces travaux de thèse. Merci **François LAURENT** d'avoir encadré ces travaux de thèse, merci pour votre bonne humeur, votre gentillesse et vos commentaires justes et précis.

Je tiens à remercier sincèrement tous les membres du comité de thèse qui ont apporté toutes leurs expertises pour valoriser ce travail. Merci **Hélène BUDZINSKI** pour le temps accordé à la sélection des molécules à analyser mais également pour votre expertise sur cette problématique des résidus de médicaments dans les eaux de surface et votre accueil dans votre laboratoire. Merci **Véronique POULSEN** pour votre expertise en écotoxicologie qui a été indispensable, merci pour votre disponibilité et votre gentillesse. Merci **Marie-Gabrielle SURAUD** pour votre approche sociologique qui, même si elle n'a pas pu être déployée dans le cadre de cette thèse, a apporté des éléments essentiels pour cette problématique complexe. Cette thèse a été enrichie par vos précieux conseils et je vous en remercie chaleureusement.

Je remercie également chaleureusement mes rapporteurs, **Claude CASELLAS** et **Yves LEVI**, pour le temps passé à la lecture du manuscrit et l'évaluation de ce travail, merci d'avoir accepté de réaliser la lecture critique de cette thèse en un temps très réduit. Merci également aux membres de mon jury, **Claire ALBASI** et **François LESTREMAU**, d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Je suis extrêmement honorée que vous ayez tous les quatre accepté de me faire profiter de vos expertises respectives. Recevez toute ma reconnaissance et mon profond respect.

J'en profite pour remercier Véolia Eau de nous avoir fait confiance pour cette étude et de nous avoir permis de réaliser un projet aussi intéressant, merci particulièrement à **François DE DIANOUS** et **Bruno TISSERAND**. Merci également à **Christian VIGNOLES** de nous avoir accompagné au début du projet. Merci à tout le personnel de Véolia Eau et notamment, **Nicolas DARLES, Lise JABS-BREDZINSKI, Alain MAURY, Justine VERNIES et Gilles VIEULLES**. Merci pour les prélèvements effectués dans les stations d'épuration, votre réactivité, votre disponibilité et votre gentillesse. Merci Nicolas pour ton professionnalisme et ton enthousiasme. Travailler avec vous fut un vrai régal.

Je remercie l'Agence de l'Eau Adour-Garonne pour le financement cette étude. Merci **Jean-Pierre REBILLARD** pour votre engouement pour ce travail, votre disponibilité et votre gentillesse.

Je remercie également l'ANRT de m'avoir permis de réaliser cette thèse par le biais de la bourse CIFRE.

Merci à toute l'équipe du LPTC de Bordeaux et particulièrement à **Julie PEDELUCQ** pour les analyses effectuées dans le cadre du projet.

Beaucoup de personnes m'ont beaucoup apporté, par diverses façons, durant ces dernières années et je tiens également à les en remercier. Merci **Emilie** et **Matthieu** pour votre soutien et vos conseils. Matthieu, tu fais partie des personnes qui m'ont poussée à me lancer dans cette thèse et c'est donc aussi grâce à toi que j'en suis là aujourd'hui. Reçois toute ma reconnaissance et mon amitié.

Merci également à **Adrien** et **Grégory** pour vos soutiens notamment pratiques. Merci Grégory pour ton aide précieuse et tout le temps accordé pour la création de la base de données.

Un grand merci à toute l'équipe d'EcoLab pour votre gentillesse durant cette collaboration. Merci **Laëtitia**, **Antoine** et **Thibaut** pour vos conseils en statistiques. Merci **Sabine** pour ton aide dans le calcul des débits de la Garonne à Gagnac. Un grand merci à **Robert**, **Frédéric**, **Didier** et **Sylvain** qui m'ont accompagnée sur le terrain tout au long de l'étude. Merci pour ces moments passés ensemble et votre disponibilité. Merci à toi **Franck** pour ton incroyable gentillesse et disponibilité auprès des doctorants du laboratoire. Merci pour ta simplicité et pour tout ce que tu

fais pour nous et les membres du laboratoire. Venir à EcoLab a été un réel plaisir pour moi et cette bonne ambiance reflète ta personnalité et tes valeurs. Ma délocalisation temporaire à EcoLab m'a permis de faire de très belles rencontres qui m'ont été d'un incroyable soutien. Merci **Didier**, **Emilie** et **Régine**, pour votre accueil, votre présence, votre écoute, votre bonne humeur et votre aide. Régine, tu es la « maman » des doctorants et je ne sais pas ce que nous serions sans toi et tes bons conseils.

Ces belles rencontres me permettent d'enchainer sur les remerciements à mes amis. Merci à toi **Cécile C.** pour tous ces moments passés à discuter de nos thèses ou à faire du sport pour nous défouler. Merci pour ton écoute et ton soutien. Tu es en train de finir ta thèse et sache que je serai là pour t'accompagner jusqu'à la fin, et plus encore. Merci **Maïwen** pour tes encouragements et ta gentillesse. Merci de m'avoir aidé à affronter cette dernière année par le biais de ton expérience et surtout, merci pour ton écoute et ton soutien. Enfin, merci à toi ma petite **Marjorie** d'être ce que tu es. Tu es un vrai rayon de soleil et ces moments passés dans le même bureau m'ont été d'une grande aide pour avancer. Merci pour tout ce temps accordé aux statistiques. Tu es d'un soutien sans faille. Tu as toujours su trouver les mots pour me faire avancer et c'est grâce à toi si cette dernière année a connu autant d'agréables moments. Tu peux être rassurée, le niveau de soutien que tu souhaitais m'accorder est largement atteint et bien dépassé. Merci infiniment.

Merci à tout ceux qui ont été là pour m'écouter me plaindre, me ravir, ... Merci **Marine**, **Cécile T.**, **Marion**, **Magali**, **Marielle**, **Selma**, **Charlotte**, ...

À tous, je vous remercie de m'avoir fait confiance du début à la fin.
Je n'oublierai pas toutes celles et ceux qui, par leur gentillesse et leur sympathie ont rendu ces années de thèse si agréables.

Enfin, un immense merci aux membres de ma famille qui m'ont supporté durant ces années. Merci de m'avoir préservée lors des moments difficiles pour me permettre d'avancer dans mon travail, surtout au cours des derniers mois.
Mais ma plus grande reconnaissance se dirige vers toi **Frédéric**, toi qui a toujours été là pour moi et qui l'es encore aujourd'hui. Ton soutien a été un élément indispensable à mon avancée. Merci pour ta disponibilité, ton aide et tes bons conseils. Notre amour me porte aujourd'hui et pour le reste de ma vie.

« Quand le dernier arbre aura été abattu,
quand la dernière rivière aura été empoisonnée,
quand le dernier poisson aura été péché,
alors on saura que l'argent ne se mange pas. »
Geronimo (1829-1909)

Sommaire

Introduction **13**

Partie 1. Étude bibliographique **19**

Chapitre 1. Les origines de la contamination **23**

1. Émissions diffuses 25
2. Émissions ponctuelles 26

Chapitre 2. La consommation de médicaments en France et dans le monde **31**

1. Consommation de médicaments dans le monde 34
2. Consommation de médicaments en France 36

Chapitre 3. Présence de RM dans les milieux naturels aquatiques **41**

1. Eaux de surface 43
2. Eaux souterraines 47
3. Eaux de boisson 50
4. Synthèse 50

Chapitre 4. Exposition versus consommation **55**

1. Comparaison des données d'exposition et de consommation 57
2. Facteurs explicatifs de l'exposition environnementale 61

Chapitre 5. Évaluation de la dangerosité des molécules **73**

1. Données brutes de laboratoire 75
2. PNEC 80

Chapitre 6. Réglementation des résidus de médicaments **83**

1. États-Unis 85
2. Union Européenne 86
3. Synthèse 93

Chapitre 7. Contexte et objectifs de l'étude **97**

1. État des lieux des travaux de recherches 99
2. Objectifs de l'étude 103

Partie 2. Matériels et méthodes **107**

Chapitre 1. Description de la base de données **111**

1. Création de la BDD 113
2. Structuration de la BDD 114

Chapitre 2. Données écotoxicologiques (danger) **121**

1. Sélection des RM 123
2. Données de danger intégrées à la BDD 126
3. Calcul de PNEC 129
4. Intégration des données de danger dans la BDD 131

Chapitre 3. Données d'exposition **135**

1. Sélection des RM 137
2. Cartographie des stations 139
3. Stratégie d'échantillonnage 144

4. Calendrier des prélèvements 147
5. Méthodologies analytiques 148
6. Traitement des résultats 151
7. Influence du milieu naturel - Calcul des PEC 155
Chapitre 4. Caractérisation des risques écotoxicologiques 157
Partie 3. Résultats 161
Chapitre 1. Évaluation des dangers 165
1. Description des données de danger 168
2. Comparaison des bio-essais et des modélisations QSAR 173
3. Variabilité des données issues des bio-essais et des modélisations 177
4. Variabilité des PNEC récoltées dans la littérature 188
5. PNEC calculées 191
Chapitre 2. Évaluation de l'exposition 195
1. Occurrence des RM 197
2. Variabilité spatiale dans la Garonne 208
3. Variabilité temporelle 217
4. Comparaison des PEC et des MEC 221
Chapitre 3. Caractérisation des risques écotoxicologiques 225
1. Sélection des données de danger et exposition 227
2. Caractérisation du risque global 232
3. Variabilité temporelle des risques écotoxicologiques 235
Partie 4. Discussion 243
Chapitre 1. Évaluation des dangers 247
1. Modélisations QSAR 249
2. Variabilité des données de danger 250
3. PNEC 252
4. Évaluation de l'effet des mélanges 254
5. Effets écotoxicologiques non quantifiables 256
Chapitre 2. Évaluation de l'exposition 259
1. Comportement des RM dans les STEU 261
2. Comportement des RM dans la Garonne 264
3. AINS 267
4. Antibiotiques 270
5. Anti-épileptiques : Carbamazépine 273
6. Cardiovasculaires 274
7. Hormones 275
Chapitre 3. Caractérisation des risques 277
1. Risques écotoxicologiques à Toulouse 279
2. Autres sources d'incertitudes 281
3. Impacts potentiels sur la santé humaine 283
Chapitre 4. Discussion générale 289
Partie 5. Conclusions et perspectives 297

Bibliographie **305**
Annexes **325**
Tables des matières **413**
Liste des communications **417**
Liste des tableaux **419**
Liste des figures **423**
Liste des abréviations **427**

Introduction

1. Contexte général

« L'Académie nationale de Pharmacie rappelle que les médicaments apportent une contribution majeure à l'amélioration de la santé des populations humaines et à l'accroissement de l'espérance de vie ainsi qu'à la qualité des soins mais, alertée par les publications scientifiques nationales et internationales, elle exprime sa préoccupation sur les conséquences environnementales de leur utilisation humaine, mais aussi animale. » (Académie nationale de Pharmacie, 2008). Le 8 et 9 septembre 2016, l'Académie Nationale de Pharmacie (ANP) organisa la première conférence internationale sur les risques liés à la présence de résidus de médicaments dans l'environnement (ICRAPHE), à Paris. En introduction, le Président de l'ANP, Monsieur Claude Monneret, déclara : « … *je souhaite que cette réunion qui rassemble les meilleurs spécialistes mondiaux de cette problématique puisse nous apporter des réponses sur ce point mais aussi sur divers autres points évoqués ou non, comme l'estimation des expositions mais aussi des risques, et bien sûr, l'identification des dangers, et les effets néfastes chez l'homme et sur l'environnement sans oublier la gestion de ceux-ci.* ». Ainsi, cette conférence avait pour objectif de réaliser une synthèse des données les plus récentes, permettant d'identifier, définir, mesurer, et gérer les risques environnementaux et sanitaires, liés à la présence de résidus de médicaments, issus de la pratique médicale et vétérinaire, dans l'environnement. Ce colloque rassemblait les Ministères chargés de la santé et de l'environnement, ce qui illustre la nécessité de prendre en compte cette problématique dans sa globalité.

La mise en évidence de la présence de Résidus de Médicaments (RM) dans les effluents de Station de Traitement des Eaux Usées (STEU) date des années 70 (Hignite et Azarnoff, 1977). Depuis, l'amélioration des techniques analytiques a permis de quantifier des molécules pharmaceutiques utilisées en médecine humaine et/ou vétérinaire dans l'environnement, avec des concentrations allant du $ng.L^{-1}$ au $\mu g.L^{-1}$ (Daughton et Ternes, 1999 ; Jorgensen et Halling-Sorensen, 2000 ; Kümmerer, 2001). Plus de 600 principes actifs ont été décelés dans l'environnement à l'échelle mondiale (Weber *et al.*, 2014) et les concentrations mesurées varient en fonction des molécules et des régions du globe (Hughes, Kay et Brown, 2013). L'eau de surface est sans doute le milieu environnemental le plus concerné, mais la présence de médicaments a également été mise en évidence dans les eaux souterraines (Lopez-Serna *et al.*, 2013), ainsi que dans des eaux de consommation (ANSES, 2011) et dans les sols (Vazquez-Roig *et al.*, 2012). Avec un meilleur accès aux soins de santé dans les pays développés et une population vieillissante dans les pays industrialisés menant à une polymédication, la production, l'utilisation et l'élimination des

produits pharmaceutiques devraient augmenter.

Les produits pharmaceutiques sont des molécules biologiquement actives qui affectent les mécanismes de contrôle des organismes vivants, par exemple, en régulant le métabolisme, en influant sur l'équilibre hormonal ou en atténuant la transmission de signaux entre les cellules. De ce fait, une fois rejetées dans l'environnement, ces molécules peuvent avoir un impact négatif sur la faune et la flore et altérer la santé des écosystèmes, mais également des Hommes quand elles persistent malgré les traitements de potabilisation. Cet effet peut se produire par l'intermédiaire de divers mécanismes, parmi lesquels certains ont été démontrés en laboratoire et dans le cadre d'observation de terrain (Weber *et al.*, 2014). Parmi les exemples d'effets écotoxicologiques démontrés figurent :

– la quasi extinction des vautours (*Gyps bengalensis)* dans le sous-continent indien, ces derniers se nourrissant des carcasses de bovins traités avec l'anti-inflammatoire Diclofénac (Oaks *et al.*, 2002) ;

– des cytopathies hépatiques, rénales et branchiales ont également été démontrées chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) avec cette même molécule (Schwaiger *et al.*, 2004) ;

– enfin, une expérience menée sur un lac impliquant un estrogène synthétique, l'Éthinylestradiol, a eu pour résultats une féminisation des poissons mâles (Kidd *et al.*, 2007).

D'autres études écotoxicologiques ont montré des impacts sur la reproduction, la croissance, l'alimentation, … de bactéries, algues, poissons et invertébrés (Pascoe, Karntanut et Müller, 2003 ; Parrott et Blunt, 2005 ; Martinović *et al.*, 2007 ; Stanley *et al.*, 2007 ; Quinn, Gagné et Blaise, 2008).

En Europe, environ 600 principes actifs sont produits pour la fabrication de médicaments vétérinaires (Kools, Moltmann et Knacker, 2008). Le marché français compte actuellement environ 3000 principes actifs entrant dans la composition de spécialités pharmaceutiques utilisées en médecine humaine (LEEM, 2014, 2015). Ces produits pharmaceutiques sont consommés en grande quantité et sont continuellement excrétés dans le réseau d'assainissement des agglomérations. Ainsi, malgré le fait que les concentrations environnementales soient faibles, le rejet en continu de médicaments confère à ces molécules un caractère de pseudo-persistance.

En 2013, une étude avait pour objectif la réalisation d'un état des lieux sur la présence de RM dans les eaux usées de l'agglomération toulousaine ainsi que dans le cours d'eau urbain récepteur, la Garonne. Pour ce diagnostic, quatre campagnes de prélèvements ont été

réalisées en période hivernale, au cours de l'augmentation du nombre de cas de grippe en Midi-Pyrénées (Réseau sentinelles, INSERM/UPMC, 2013). A l'issue de ces recherches, la présence de RM, à l'entrée et la sortie des deux STEU étudiées, a été démontrée. Malgré le fait que les prélèvements aient été regroupés sur une même période, des différences de concentrations en RM entre les différentes campagnes de prélèvements ont été mises en évidence. Cette étude a permis de souligner la variabilité temporelle des flux de RM mesurés à l'entrée et la sortie des STEU toulousaines ainsi que dans la Garonne. Cette variabilité temporelle laisse supposer que pour certaines molécules, les seuils de concentrations environnementales au-delà desquels il existe un risque potentiel pour les écosystèmes aquatiques, peuvent être dépassés sur des périodes de temps suffisamment courtes pour ne pas être détectés.

L'exposition des milieux aquatiques aux RM et le danger qu'ils représentent pour l'environnement sont aujourd'hui avérés. Il existe donc un risque écotoxicologique potentiel lié à la circulation de certaines de ces molécules dans les milieux aquatiques naturels.

2. Objectif

Dans l'objectif de soutenir des actions de gestion, de prévention, ou de traitement des RM qui permettront de limiter les risques écotoxicologiques, il convient de caractériser les risques associés à la circulation de ces molécules dans le principal milieu naturel aquatique récepteur des rejets d'une grande agglomération, et d'évaluer la variabilité temporelle de ces risques. Ces travaux de recherches ont pour but de **développer une Base De Données (BDD) qui intègre :**

- **des données de toxicité sur les RM ;**
- **des données d'exposition à l'échelle de l'agglomération toulousaine.**

Les objectifs détaillés de ce travail sont présentés dans le dernier chapitre de la partie 1 concernant l'étude bibliographique.

3. Structure du document

Pour présenter ce travail, le manuscrit se décompose en quatre parties.

La première partie a pour objectif de faire un état des lieux de la problématique. Pour ce faire, elle se divise en sept chapitres. Le premier présente les différentes sources d'émission de médicaments dans l'environnement. Le deuxième chapitre fait le point sur le marché du médicament en France et dans le monde. Le troisième expose un état des lieux de la

présence de RM dans les compartiments aquatiques (eau de surface, souterraines et de boisson) en Europe et/ou en France. Le quatrième chapitre met en parallèle les données de consommation et les données d'exposition des milieux aquatiques aux RM. Le cinquième chapitre fait un état des lieux des différentes méthodologies rencontrées dans la littérature scientifique pour la caractérisation de la dangerosité des produits chimiques. Le sixième chapitre présente la réglementation nationale et internationale pour l'évaluation des risques environnementaux liés aux médicaments. Enfin, le dernier chapitre présente les objectifs et hypothèses de travail qui ont alimenté ces travaux de thèse.

La deuxième partie présente les matériels et méthodes utilisés dans cette étude. Cette partie se découpe en trois chapitres. Le premier chapitre présente la base de données tant d'un point de vue technique que fonctionnel. Le deuxième chapitre concerne les données de danger des molécules pharmaceutiques récoltées dans la littérature scientifique et intégrées dans la base de données. Ce chapitre décrit les différents types de données collectées mais également les critères de sélection de ces dernières. Le troisième chapitre porte sur l'évaluation de l'exposition avec une présentation des stratégies d'échantillonnage, des sites étudiés, et des traitements effectués (calculs, statistiques) pour l'interprétation des résultats. Enfin, le dernier chapitre concerne les méthodologies utilisées pour la caractérisation des risques.

La troisième partie expose, en trois chapitres, les résultats obtenus. Les deux premiers chapitres présentent les résultats pour l'évaluation du danger des RM étudiés, d'une part, et l'évaluation de l'exposition de la Garonne et des eaux usées toulousaines à ces RM, d'autre part. Le dernier chapitre présente les résultats concernant la caractérisation des risques écotoxicologiques liés à la circulation de ces médicaments dans la Garonne à Toulouse et, plus précisément, la variabilité spatiale et temporelle de ces risques.

La quatrième reprend et discute les différents résultats. Elle s'attache notamment à comprendre et expliquer les variations spatio-temporelles des risques identifiés.

Partie 1.

Étude bibliographique

Chapitre 1. Les origines de la contamination....23
1. Émissions diffuses....25
2. Émissions ponctuelles....26
Chapitre 2. La consommation de médicaments en France et dans le monde....31
1. Consommation de médicaments dans le monde....34
2. Consommation de médicaments en France....36
Chapitre 3. Présence de RM dans les milieux naturels aquatiques....41
1. Eaux de surface....43
2. Eaux souterraines....47
3. Eaux de boisson....50
4. Synthèse....50
Chapitre 4. Exposition versus consommation....55
1. Comparaison des données d'exposition et de consommation....57
2. Facteurs explicatifs de l'exposition environnementale....61
Chapitre 5. Évaluation de la dangerosité des molécules....73
1. Données brutes de laboratoire....75
2. PNEC....80
Chapitre 6. Réglementation des résidus de médicaments....83
1. États-Unis....85
2. Union Européenne....86
3. Synthèse....93
Chapitre 7. Contexte et objectifs de l'étude....97
1. État des lieux des travaux de recherches....99
2. Objectifs de l'étude....103

Cette partie a pour objectif de faire un état des lieux de la problématique. Elle se divise en sept chapitres.

Le premier chapitre présente les différentes sources d'émission de médicaments dans l'environnement. Le deuxième chapitre fait le point sur le marché du médicament en France et dans le monde. Le troisième chapitre expose un état des lieux de la présence de RM dans les compartiments aquatiques. Le quatrième chapitre met en parallèle les données de consommation et les données d'exposition des milieux aquatiques aux RM. Le cinquième chapitre fait un état des lieux des différentes méthodologies rencontrées dans la littérature scientifique pour la caractérisation de la dangerosité des produits chimiques. Le sixième chapitre définit les bases réglementaires en vigueur pour la gestion des risques écotoxicologiques associés à la présence de médicaments dans l'environnement. Enfin, le dernier chapitre présente les objectifs et hypothèses de travail qui ont alimenté ces travaux de thèse.

Chapitre 1.
Les origines de la contamination

Ce chapitre présente les différentes sources de contamination de l'environnement par les médicaments, depuis la fabrication des principes actifs, leur utilisation en médecine humaine et vétérinaire jusqu'à la collecte et la destruction des Médicaments Non Utilisés (MNU).

L'intégration de cette problématique sur l'ensemble du cycle de vie des médicaments permet de la repositionner dans sa globalité en couplant les domaines de la santé et de l'environnement.

La présence de RM dans l'environnement est liée à des rejets émis tout au long de leur cycle de vie depuis leur fabrication jusqu'à la collecte et la destruction des MNU.

Les stations de traitement des eaux usées (STEU) ont été identifiées comme étant la principale voie d'introduction des RM dans l'environnement. Plusieurs études ont mis en évidence l'impact des rejets des STEU sur la présence de RM dans les milieux aquatiques récepteurs (Heberer, 2002a ; Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013). Ces molécules peuvent être issues :

- de la médecine humaine, avec une utilisation domestique et hospitalière ;
- de la médecine vétérinaire, avec une utilisation domestique ou agricole ;
- de leur production par les industries chimiques-pharmaceutiques.

Deux catégories de sources d'émission des molécules pharmaceutiques peuvent être identifiées, les émissions diffuses et les émissions ponctuelles.

1. Émissions diffuses

Les émissions diffuses intéressent les médicaments utilisés en médecine humaine et animale. Elles concernent les traitements ambulatoires (en ville) qui représentent, en France, la plus grande partie des médicaments rejetés par l'homme ainsi que les traitements des animaux domestiques. Après leur ingestion, les principes actifs contenus dans les produits pharmaceutiques sont excrétées dans les urines, selles ou par la peau, sous forme active ou métabolisée. Les STEU collectent ces composés via les eaux usées. Les MNU, qui peuvent être éliminés de façon inappropriée dans les éviers et les toilettes, terminent eux aussi dans les eaux résiduaires. En 2003, une enquête réalisée auprès de 400 foyers du Sud-Est de l'Angleterre a mis en évidence que 11,5% des MNU était éliminés dans les éviers et/ou les toilettes (Bound et Voulvoulis, 2005). En France, l'association Cyclamed, créée en 1993 par les pouvoirs publics, a pour mission de collecter et de valoriser les MNU à usage humain, périmés ou non, rapportés par les patients en pharmacie. Les MNU représentent un gisement de 19 000 tonnes par an dans les foyers français (Cyclamed, 2016). En 2015, le taux de récupération des MNU a été de 64%, soit une progression de 0,4% par rapport à 2014 (Cyclamed, 2016), mais ces chiffres peuvent encore être améliorés et la prise en charge des médicaments vétérinaires permettrait de limiter encore les rejets de RM dans l'environnement. Dans le cadre du projet AMPERES de l'Agence Nationale de la Recherche (ANR), réalisé en France de 2006 à 2009, des travaux de recherches réalisés sur des STEU conventionnelles à boues activées ont montré des rendements d'élimination de la phase

dissoute des molécules médicamenteuses qui oscillaient entre moins de 30% et plus de 70% en fonction des molécules (Coquery, Choubert et Miège, 2010). Les STEU n'éliminant pas complètement les produits pharmaceutiques, ces molécules se retrouvent dans les milieux aquatiques récepteurs de ces eaux usées traitées. La figure 1, inspirée des travaux de Jorgensen et Halling-Sorensen (2000), illustre ces deux voies de transfert : excrétions des médicaments utilisés en traitements ambulatoires et éliminations inappropriées des MNU.

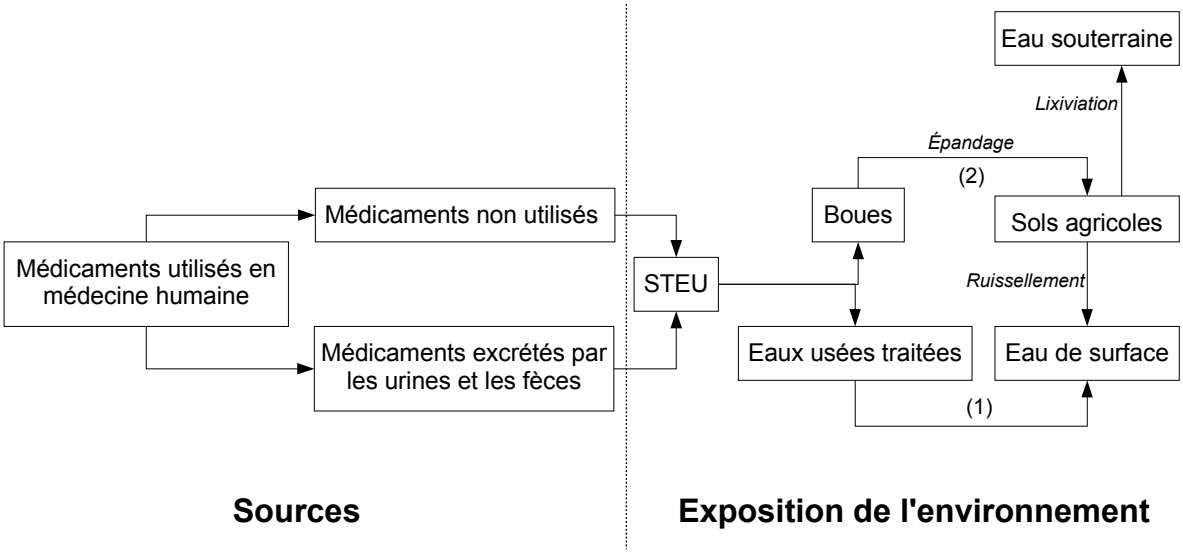


Figure 1. Voies de transfert dans l'environnement (eau de surface, eau souterraine et sol) des médicaments utilisés en médecine humaine, responsables des émissions diffuses.

Selon leurs propriétés physico-chimiques, ces RM se retrouvent soit dans la phase aqueuse et sont rejetés dans le milieu aquatique récepteur des eaux usées traitées (symbolisé par (1) sur la figure 1), soit dans les boues des STEU et sur les sols agricoles après épandage de ces dernières (symbolisé par (2) sur la figure 1). L'épandage des boues sur les sols agricoles favorise le transfert de ces molécules dans les eaux souterraines, par le phénomène de lixiviation, ou les eaux de surface, avec le ruissellement des boues sur le sol lors des précipitations. Les milieux aquatiques sont, dans tous les cas, le réceptacle final des RM provenant des eaux résiduaires d'une agglomération.

2. Émissions ponctuelles

Les émissions ponctuelles sont à l'origine d'émissions beaucoup plus concentrées mais limitées sur le plan géographique. Elles sont liées aux rejets :

- de l'industrie pharmaceutique lors de la fabrication des médicaments ;
- des établissements de soins ;
- et des élevages industriels, animaux et piscicoles.

La figure 2, inspirée des travaux de Jorgensen et Halling-Sorensen (2000), illustre ces trois

voies de transfert.

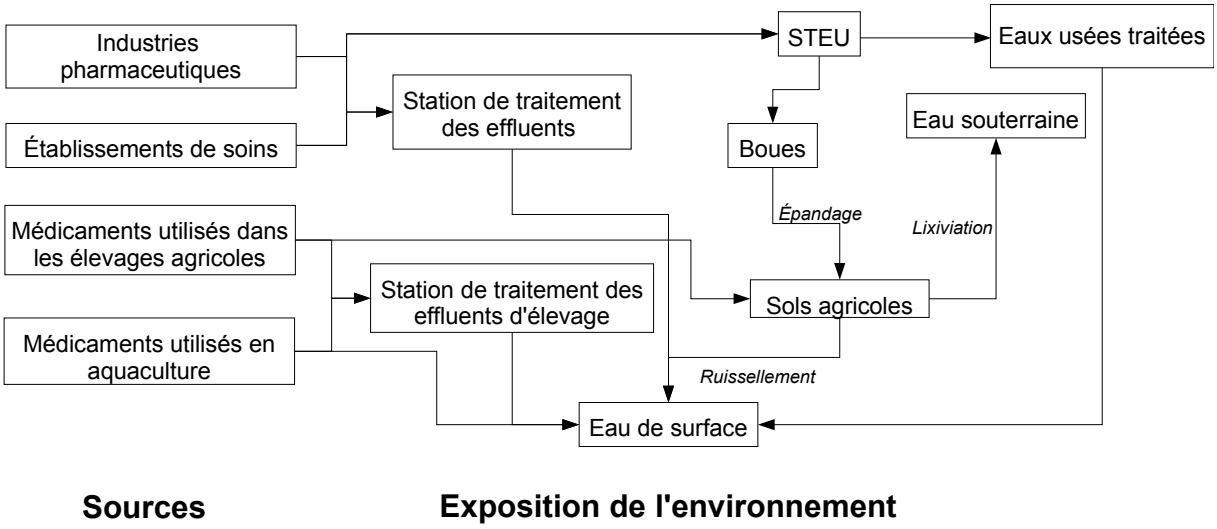


Figure 2. Voies de transfert dans l'environnement (eau de surface, eau souterraine et sol) des médicaments utilisés en médecine humaine et animale, responsables des émissions ponctuelles.

Les industries pharmaceutiques qui synthétisent des produits médicamenteux, humains et vétérinaires, sont susceptibles de rejeter dans l'environnement des RM. La contribution de ces rejets dans la contamination des eaux naturelles en Inde est significative, avec des concentrations de 100 000 à 1 million de fois plus importante que celles reportées dans des eaux de surface contaminées par des effluents de STEU aux États-Unis et en Chine (Fick *et al.*, 2009). Dans les pays développés, la contribution de cette phase de production à la contamination des milieux naturels reste négligeable (Kümmerer, 2009). En 2012, la Fédération Européenne des Industries et Associations Pharmaceutiques (EFPIA) estimait que seulement 2% des émissions de RM dans l'environnement seraient dues à la production de médicaments en Europe (BIO Intelligence Service, 2013). Une fois rejetées, ces molécules se retrouvent dans les eaux de surface par l'intermédiaire des STEU municipales ou de leur propre station de traitement des effluents.

Dans le cas des établissements de soins, les rejets peuvent être directs, lors de la manipulation des produits, ou indirects, par les excréta des patients. Les eaux résiduaires des établissements de soins sont différentes des eaux résiduaires municipales dans la mesure où elles peuvent contenir des molécules spécifiques, administrées exclusivement en milieu hospitalier, et des concentrations élevées. Ceci a été mis en évidence lors de la présentation des résultats du programme SIBIBEL en 2015 (GRAIE, 26 et 27/03/15). Comme pour les industries pharmaceutiques, ces établissements génèrent une contamination ponctuelle de l'environnement par les RM, soit par leur propre station de traitement des effluents, lorsque ces derniers en possèdent, soit par les STEU municipales

auxquelles ils sont raccordés. En Europe, la contribution des hôpitaux aux rejets de médicaments dans l'environnement serait au maximum de 10% par rapport aux effluents domestiques mais, pour la plupart des molécules, cette contribution se situe en-dessous de 3% (Kümmerer, 2009). En ce qui concerne les molécules essentiellement utilisées dans les établissements hospitaliers (chimiothérapies, thérapie endocrinienne, produit de contraste, …), les hôpitaux sont les principaux contributeurs (70-90%) de la contamination de l'environnement alors qu'ils ont un rôle négligeable dans les rejets d'analgésiques et d'antihypertenseurs (BIO Intelligence Service, 2013). Enfin, les médicaments vétérinaires, essentiellement des antibiotiques, peuvent être dispersés dans l'environnement, directement lorsqu'ils sont utilisés en aquaculture et indirectement par les excrétions sur les sols agricoles provenant d'animaux d'élevage traités, ou via des stations de traitement des effluents qui sont propres aux activités d'élevage. Mais le marché du médicament vétérinaire reste relativement faible vis-à-vis du marché du médicament utilisé pour la santé humaine qui était, en France en 2010, environ 30 fois plus important (Idder, 2012).

Grâce aux progrès de l'analyse physico-chimique, la présence de RM dans les eaux superficielles et souterraines, dans les eaux résiduaires, dans les boues des STEU et dans les sols est aujourd'hui avérée. Selon les molécules médicamenteuses et les différentes catégories d'eau, les concentrations varient du $ng.L^{-1}$, dans les eaux superficielles, les eaux souterraines et les eaux destinées à la consommation humaine, jusqu'à plusieurs $\mu g.L^{-1}$, voire plusieurs centaines de $\mu g.L^{-1}$ dans les effluents de STEU (Halling-Sorensen *et al.*, 1998 ; Kümmerer, 2001 ; Fent, Weston et Caminada, 2006 ; ANSES, 2011). Malgré le fait que les concentrations environnementales soient globalement faibles, les rejets en continus des stations de traitement des effluents urbains, industriels et d'élevage, dans les milieux aquatiques récepteurs, confèrent à ces molécules un caractère de pseudo-persistance. De plus, les quantités de RM mesurées dans les milieux aquatiques ou dans les STEU subissent des variations temporelles, dépendant de la consommation, du taux de dilution, des conditions météorologiques, ... (Heberer, 2002a ; Gracia-Lor *et al.*, 2012 ; Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013 ; Fairbairn *et al.*, 2016). Les rendements d'élimination des STEU pour certains RM sont plus faibles en hiver qu'en été, d'une part parce que les températures influencent l'activité microbienne (McArdell *et al.*, 2003 ; Castiglioni *et al.*, 2006), et, d'autre part, parce que les consommations de certains médicaments sont deux fois plus importantes en hiver (McArdell *et al.*, 2003). En effet, en 2006, les travaux de recherches de Castiglioni *et al.*, ont mis en évidence des flux maximaux pour certains RM (antibiotiques et anti-inflammatoires), en hiver (Castiglioni *et al.*, 2006). Combiné à cet effet saisonnier, les conditions météorologiques influencent également la dégradation de certains principes actifs.

Les épisodes pluvieux engendrent ainsi une réduction de l'activité microbienne et une altération des processus de sorption et de floculation dans les STEU (Ternes, 1998). D'autres travaux ont montré que les épisodes pluvieux influencent le temps de résidence dans les STEU, ce qui a un impact négatif sur la dégradation de certains RM (Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007). Le type de traitement utilisé en STEU (biologique ou physico-chimique) a aussi un impact sur la dégradation des RM (Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005). Enfin, par effet de dilution, de photodégradation, et avec l'activité microbienne des biofilms des milieux aquatiques, les concentrations peuvent également varier dans les milieux récepteurs (Winkler, Lawrence et Neu, 2001 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2005 ; Deblonde, 2013). Mais la situation est très différente selon les pays en fonction de leur développement socio-économique, de l'accès de leurs populations aux soins et de leurs réglementations (Hughes, Kay et Brown, 2013).

Les concentrations de RM dans l'environnement dépendent, des conditions météorologiques, des saisons, des consommations et des pays. Malgré le fait que ces molécules puissent se retrouver dans différents compartiments de l'environnement, les eaux de surface sont le réceptacle final de la majorité de cette pollution anthropique. En effet, les processus tels que le ruissellement des eaux de pluie sur un sol contaminé ou la réalimentation des eaux de surface par les eaux souterraines, préalablement contaminées par la lixiviation des sols, sont des exemples de contamination indirecte des eaux de surface par les RM. Différentes voies de contamination ont été identifiées et la contribution de chacune d'entre-elles est variable. En Europe, la principale voie de contamination est celle des rejets des STEU.

Le chapitre suivant traite des niveaux de consommation mondiaux et nationaux. Les pays et les classes thérapeutiques sont ainsi classés en fonction de leur part de marché et des quantités consommées.

Chapitre 2. La consommation de médicaments en France et dans le monde

Ce chapitre est constitué de deux parties. La première concerne le positionnement de la France par rapport à la consommation mondiale de médicaments utilisés en médecine humaine et animale. La seconde partie présente la décomposition de ces marchés en France.

La mise en perspective de ces informations permettra d'identifier les principales classes de médicaments utilisées en France et dans le monde.

La hiérarchisation des médicaments en fonction des consommations dépend de l'unité considérée pour exprimer cette consommation. Dans ce chapitre, la consommation des médicaments est estimée par la quantité consommée, exprimée par le nombre de boîtes pour la consommation française, et par la Defined Daily Dose (DDD), c'est-à-dire en dose définie journalière, pour la consommation mondiale. La DDD a été définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour chaque molécule, elle correspond à la dose quotidienne moyenne d'un médicament utilisé dans son indication principale pour un adulte de soixante-dix kilos. Elle a pour objectif de favoriser les comparaisons internationales en éliminant les difficultés de mesures liées à l'hétérogénéité des tailles de conditionnement et aux différences de dosage d'un pays à l'autre.

Les médicaments sont communément répertoriés par classes thérapeutiques et subdivisés en classes pharmacologiques pour catégoriser les principes actifs en fonction de leur indication thérapeutique et pour regrouper les molécules selon leurs propriétés pharmacodynamiques principales. Dans cette partie, la classification ATC (Anatomique, Thérapeutique et Chimique) est utilisée pour l'évaluation de la consommation mondiale. Cette classification, regroupe les médicaments selon l'organe ou le système du corps humain sur lequel ils agissent et/ou leurs caractéristiques thérapeutiques et chimiques. Elle repose sur cinq niveaux de classement définis par un code. La forme générale du code d'une molécule est LCCLLCC, où L représente une lettre et C un chiffre (ex. A01AA01). Chaque lettre et chaque doublet de chiffre représente un niveau successif. Pour le classement des médicaments, seul le premier niveau de la classification ATC est utilisé. Avec ce premier niveau, 14 groupes « anatomiques » sont représentés (tableau I). Dans le paragraphe sur la consommation française, le détail des principes actifs est présenté.

Tableau I. Classification ATC, niveau 1.

Classe ATC	Exemple de famille de molécules
A : Tractus digestif et métabolisme	Anti-ulcéreux, ...
B : Sang et organes hématopoïétiques	Anti-thrombotiques, anti-hémorragiques, ...
C : Système cardio-vasculaire	Diurétiques, bétabloquants, hypolipémiants, ...
D : Médicaments utilisés en dermatologie	Anti-infectieux, anti-inflammatoire, …
G : Système génito-urinaire et hormones sexuelles	Hormones sexuelles, ...
H : Hormones systémiques, à l'exclusion des hormones sexuelles et des insulines	Hormones pancréatiques, thyroïdiennes, ...
J : Anti-infectieux à usage systémique	Antibiotiques, ...
L : Antinéoplasiques et immunomodulateurs	Immunosuppresseurs, antinéoplasiques (aussi appelés anticancéreux), ...
M : Système musculo-squelettique	Anti-inflammatoires, ...
N : Système nerveux	Analgésique, antiépileptiques, anxiolytique, ...
P : Antiparasitaires, insecticides et répulsifs	Anti-protozoaires, ...
R : Système respiratoire	Bronchodilatateurs, ...
S : Organes sensoriels	Médicaments ophtalmologiques, ...
V : Divers	Nutriments, produits de contraste, ...

1. Consommation de médicaments dans le monde

1.1 Médicaments utilisés en médecine humaine

Les données internationales traitant de la consommation de médicaments sont peu nombreuses et sont, pour la plupart, limitées à leur expression monétaire. Les écarts de prix entre les médicaments et les pays ne permettent pas de faire des comparaisons en terme quantitatif. Par ailleurs, la mesure de la consommation quantitative se heurte à des difficultés lorsqu'elle est réalisée avec l'indicateur du nombre de boîtes. En effet, cet indicateur peut s'avérer imprécis et trompeur, surtout lorsqu'il s'agit de comparaisons internationales pour lesquelles les différences dans les tailles de conditionnement ou de dosage peuvent avoir un impact significatif sur les dénombrements. Ainsi, seules des études conduites à partir de la DDD peuvent aboutir à des résultats pertinents pour des comparaisons internationales.

L'OCDE fournit des données de consommations de médicaments exprimées en DDD/1 000 habitants/jour pour différentes classes thérapeutiques allant du niveau 1 au niveau 3 dans la classification ATC (OECD, 2016). Pour cette analyse, uniquement les données des classes de niveau 1 sont prises en compte. Pour l'année 2014, seuls quelques pays possèdent des données de consommation de médicaments et tous ne possèdent pas les informations sur

les mêmes médicaments. Ce manque de données ne permet pas de comparer les pays entre eux. Cependant, cela donne une idée des classes thérapeutiques les plus consommées. Selon les données de l'OCDE, les médicaments les plus consommés en 2014 dans l'ordre décroissant (classe ATC de niveau 1) sont présentés dans la figure 3.

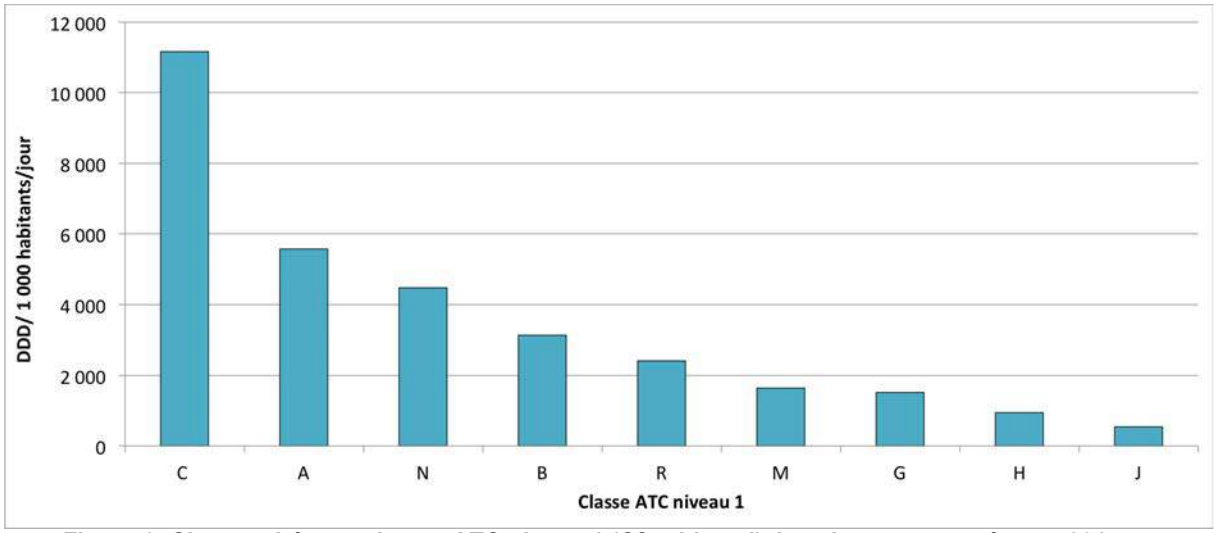


Figure 3. Classes thérapeutiques, ATC niveau 1 (Cf. tableau I), les plus consommées en 2014 en DDD/1 000 habitants/jour.

En 2014, ce sont les médicaments utilisés pour le système cardiovasculaire, ceux pour le tractus digestif et métabolisme et ceux du système nerveux, qui ont fait partie des trois classes thérapeutiques les plus consommées dans les pays pris en charge, membres ou non de l'OCDE, dans le traitement des données. Ces trois classes représentaient 67,5% de la consommation mondiale de médicament, en DDD/1 000 habitant/jour, avec respectivement 35,5%, 17,7% et 14,3%. Les médicaments appartenant à la classe « Système cardiovasculaire » se démarquaient de ceux appartenant à la classe « Tractus digestif et métabolisme » avec une consommation environ deux fois plus élevée, respectivement 11 164 et 5 572 DDD/1 000 habitant/jour.

1.2 Médicaments utilisés en médecine animale

La consommation de médicaments vétérinaires à l'échelle internationale ne fait pas l'objet de publications quantitatives. Seuls les données concernant le marché des médicaments vétérinaires sont présentées dans cette partie. Les données récoltées sont issues de la thèse de M. Clauzet, 2016.

En 2014, l'Amérique du Nord était le premier marché avec 33% de part, suivi par l'Europe avec 31% et l'Asie avec 17%. Le CA mondial s'élevait à 23,9 milliards de dollars dont 7,4

milliards en Europe. Le reste du monde se partageait 19% de part du marché. La France était le deuxième marché mondial derrière les USA avec 2 milliards d'euros de CA. Les quatre premiers marchés européens du médicament vétérinaire, à savoir la France (24% du CA européen), l'Allemagne (16% du CA européen), l'Angleterre (15% du CA européen) et l'Italie (12%du CA européen), représentaient quasiment 60% du marché européen. Les ventes mondiales de médicaments vétérinaires se répartissaient comme indiqué dans le tableau II.

Tableau II. Répartition des ventes mondiales de médicaments vétérinaires en 2014.

	Vaccins	Antiparasitaires	Topiques	Anti-infectieux	Autres
Monde	27,0%	32,0%	7,0%	15,0%	19,0%

Les antiparasitaires, utilisés dans le traitement des affections parasitaires chez l'animal (puces, tiques, gales, vers), représentaient le segment de marché le plus important (32% du marché total). Le marché des animaux de production représentait en 2009, 58% du marché quand celui des animaux de compagnie regroupant les carnivores domestiques et les équidés représentait 42% (CROSIA, 2011).

2. Consommation de médicaments en France

À tire d'information, toutes les molécules citées dans ce manuscrit de thèse sont reprises en annexe 1. Cette annexe renseigne notamment sur la nature de la molécule (principe actif, métabolite, précurseur, excipient), la famille thérapeutique, la classe ATC niveau 1, l'utilisation (vétérinaire, humaine : ville ou hôpital), …

2.1 Médicaments utilisés en médecine humaine

En 2013, un peu moins de 3,1 milliards de boîtes ont été consommées sur le territoire, correspondant à environ 48 boîtes de médicaments par an pour un français (ANSM, 2014a). Les 30 principes actifs les plus vendus en ville sont présentés dans le tableau III par ordre décroissant, c'est-à-dire, de la plus vendue à la moins vendue. Ces 30 principes actifs représentaient en 2013 un total de 1,15 milliard de boîtes.

Tableau III. Les 30 principes actifs les plus vendus en ville en 2013 (en quantité) (source : ANSM, 2014a).

Principe actif	Classe ATC niveau 1	En % du marché
Paracétamol	Système nerveux	
Ibuprofène	Système cardiovaculaire – Système musculo-squelettique	Les 3 premières : 20,1%
Codéine en association	Système nerveux	
Tramadol en association	Système nerveux	
Amoxicilline	Anti-infectieux à usage systémique	Les 6 premières : 24,1%
Colécalciférol	Tractus digestif et métabolisme	
Acide acétylsalicylique	Sang et organes hématopoïétiques – Système nerveux	
Lévothyroxine sodique	Hormones systémiques, à l'exclusion des hormones sexuelles et des insulines	Les 9 premières : 27,5%
Phloroglucinol	Tractus digestif et métabolisme	
Paracétamol en association	Système nerveux	
Metformine	Tractus digestif et métabolisme	Les 12 premières : 30,0%
Diclofénac	Système musculo-squelettique – Organes sensoriels - Médicaments utilisés en dermatologie	
Esoméprazole	Tractus digestif et métabolisme	
Zolpidem	Système nerveux	Les 15 premières : 32,2%
Oméprazole	Tractus digestif et métabolisme	
Macrogol	Tractus digestif et métabolisme	
Amoxicilline et inhibiteur d'enzyme	Anti-infectieux à usage systémique	Les 18 premières : 34,2%
Alprazolam	Système nerveux	
Furosémide	Système cardio-vasculaire	
Zopiclone	Système nerveux	Les 21 premières : 36,0%
Méthadone	Système nerveux	
Prednisolone	Système musculo-squelettique – Hormones systémiques, à l'exclusion des hormones sexuelles et des insulines – Système respiratoire – Système cardiovasculaire	
Bisoprolol	Système cardio-vasculaire	Les 24 premières : 37,6%
Chlorhexidine en association	Médicaments utilisés en dermatologie – Tractus digestif et métabolisme – Système respiratoire	
Larmes artificielles et autres préparations	Organes sensoriels	
Atorvastatine	Système cardio-vasculaire	Les 27 premières : 39,1%
Lidocaïne/Prilocaïne	Système nerveux	
Lévonorgestrel et éthinylestradiol	Système génito-urinaire et hormones sexuelles	
Paroxétine	Système nerveux	Les 30 premières : 40,4%
Pantoprazole	Tractus digestif et métabolisme	

Le principe actif la plus vendu en 2013 en ville en nombre de boite était également le Paracétamol (tableau III). Le Paracétamol dominait très largement puisque ses ventes représentaient plus de 500 millions de boîtes (ANSM, 2014a).

En raison de la très grande hétérogénéité des conditionnements hospitaliers, les données sur les quantités de médicaments (en nombre de boîtes) consommés à l'hôpital ne sont pas disponibles.

Si la France était bien en 2000 le pays européen le plus consommateur de médicaments sur les huit familles de principes actifs les plus couramment utilisés (antibiotiques (classe ATC niveau 1 : anti-infectieux), anxiolytiques (système nerveux), antihypertenseurs (système cardiovasculaire), anti-ulcéreux (tractus digestif et métabolisme), hypolipémiants (système cardiovasculaire) , anti-dépresseur (système nerveux), anti-diabétiques (tractus digestif et métabolisme) et bronchodilateurs (respiratoire)), elle se situait, en 2011, dans la moyenne européenne avec une consommation encore élevée uniquement pour les antibiotiques et les anxiolytiques (LIR-ESSEC, 2012). En volume, plus de 90% de la consommation d'antibiotiques se faisait, en 2013, dans le secteur de la ville, avec 125 millions de boîtes vendues, et un peu moins de 10% à l'hôpital, avec 17,9 millions de boîtes vendues (ANSM, 2014b). Les pénicillines ont été les antibiotiques les plus utilisés en 2013 aussi bien en ville qu'à l'hôpital. Les macrolides constituaient la seconde famille d'antibiotiques la plus consommée en ville en 2013. À l'hôpital, ce sont les quinolones qui représentaient la seconde famille d'antibiotiques la plus consommée (ANSM, 2014b).

2.2 Médicaments utilisés en médecine animale

Les données quantitatives pour les médicaments vétérinaires ne sont pas accessibles. Les informations délivrées dans cette partie sont issues d'une étude publiée en 2008 : Kools, Moltmann et Knacker, 2008. Kools *et al.*, ont mis en évidence les quantités (en tonnes) d'antibiotiques, d'antiparasitaires et d'hormones utilisées en médecine vétérinaire pour la production de viande en 2004 (tableau IV) :

Tableau IV. Quantités d'antibiotiques, d'antiparasitaires et d'hormones utilisés en médecine vétérinaire dans le cadre de la production de viande en France en 2004.

	Antibiotiques	Antiparasitaires	Hormones
Quantité (tonnes)	1 179	29	1

Ce tableau montre que les quantités d'antibiotiques représentent 97% des médicaments utilisés pour la production de viande en France. En 2014, le volume total des ventes s'est élevé à 751,50 tonnes d'antibiotiques, soit une diminution annuelle de 3,6% depuis 2004 (Moulin et Chevance, 2015). La famille des tétracyclines représentait à elle seule 39% du tonnage des ventes, et les aminosides et polypeptides représentaient 53% du tonnage des ventes en 2014 (Moulin et Chevance, 2015).

En 2013, 2 800 principes actifs différents, entrant dans la composition de plus de 11 000 spécialités pharmaceutiques utilisées en médecine humaine, étaient disponibles sur le marché français. En effet, il n'y a pas autant de principes actifs que de médicaments car il

existe des médicaments dont la composition en principe actif est similaire, bien qu'ils soient vendus sous des noms de marque différents et exploités par différents laboratoires pharmaceutiques. Les médicaments en ville représentent une part importante en nombre de boîtes vendues, 54% en 2013. En ville, le Paracétamol est le principe actif le plus consommé en nombre de boite. Les classes ATC de niveau I les plus consommées en France correspondent à la tendance mondiale (système nerveux < tractus digestif et métabolisme < système cardiovasculaire). La France est une grande consommatrice d'antibiotiques et d'anxiolytiques avec 90% des antibiotiques provenant du secteur ville.

Sur le marché européen circulent environ 600 principes actifs entrant dans la composition de spécialités pharmaceutiques utilisées dans le cadre de la médecine animale (Kools, Moltmann et Knacker, 2008). Avec 2 milliards d'euros de CA, la France est en 2014 le premier marché européen du médicament vétérinaire et le second au niveau international (Clauzet, 2016). Cependant, rapporté au CA de l'industrie pharmaceutique pour la médecine humaine, soit 52,4 milliards d'euros (Clauzet, 2016), le marché de la santé animale ne représente que 3,8%. En 2015, les animaux de production, où sont utilisés essentiellement les antibiotiques, est le secteur le plus important en valeur pour les médicaments vétérinaires (SIMV, 2016). En prenant en compte tous les secteurs (animaux domestiques, animaux de rente et équidés), ce sont les antiparasitaires qui représentent la part de marché la plus importante (SIMV, 2016).

Que ce soit pour la médecine humaine ou animale, la France fait partie des pays qui consomment beaucoup de médicaments. La population grandissante et vieillissante, en l'état actuel, tout laisse à croire que les consommations futures ne tendront pas vers la baisse.

Le chapitre suivant synthétise les concentrations de RM mesurées dans les compartiments aquatiques, en France et en Europe. Ces concentrations permettent d'établir un classement des principes actifs les plus mesurés dans les eaux naturelles. Par la suite, ces données sont mises en parallèle avec les données de consommation.

Chapitre 3. Présence de RM dans les milieux naturels aquatiques

Ce chapitre présente une synthèse des RM mesurés ces dernières années, en France et en Europe, dans les différents compartiments aquatiques.

Les principales molécules pharmaceutiques recherchées et détectées dans les eaux de surface, souterraines et de boisson sont mises en évidence dans cette partie. L'objectif ici est de souligner l'importance de la diversité des recherches.

Avec plus de 600 molécules pharmaceutiques détectées à l'échelle mondiale dans tous les compartiments aquatiques (eaux de surface, eaux souterraines et eaux de boisson), la présence de RM dans les eaux naturelles n'est aujourd'hui plus à démontrer (aus der Beek *et al.*, 2016). De nombreuses initiatives ont été menées au niveau national et européen pour évaluer le niveau d'occurrence des résidus de médicaments dans l'environnement. L'objectif de cette partie est de présenter les résultats de certaines études afin d'avoir une vision d'ensemble des principales molécules recherchées et mesurées dans les différents compartiments aquatiques.

1. Eaux de surface

L'eau de surface est le milieu environnemental le plus concerné par la présence de RM. En effet, ce compartiment est le réceptacle final des rejets des eaux usées qu'elles soient d'origine domestique, hospitalière ou industrielle. Ce constat fait que ce milieu est le plus étudié avec 45% des études selon le projet européen KNAPPE (Roig *et al.*, 2009). Le projet KNAPPE (Knowledge and Need Assessment on Pharmaceuticals Products in Environmental waters), réalisé de 2006 à 2008, avait pour objectif de recenser l'état des connaissances sur la problématique des produits pharmaceutiques dans l'environnement. Dans ce cadre, une partie importante des travaux a consisté à collecter les données disponibles concernant notamment l'exposition de l'environnement. Ces données ont été obtenues à partir de rapports nationaux et internationaux, de thèses et de publications scientifiques. En termes d'occurrence, près de 4 000 données de mesures environnementales ont été répertoriées, permettant de montrer que près de 45 % des études concernaient les eaux de surface, 30 % les effluents de station d'épuration, 13 % les eaux souterraines, 7 % les influents de stations d'épuration, … (Roig *et al.*, 2009). Sur 112 articles expertisés, 135 produits ont été détectés (Dulio, Morin et Staub, 2009). Le projet KNAPPE a également mis en évidence les classes thérapeutiques les plus recherchées, il s'agit des antibiotiques, des anti-inflammatoires non stéroïdien (AINS) et des cardiovasculaires, avec respectivement 30, 15 et 10 % des données (Roig *et al.*, 2009). Les résultats du projet KNAPPE sont relativement similaires à ceux présentés dans une méta-analyse plus récente et réalisée à l'échelle mondiale sur 155 études. Cette dernière a montré que sur les 61 molécules pharmaceutiques les plus étudiées 39% sont des antibiotiques, 21% des anti-inflammatoires et 20% des cardiovasculaires (Hughes, Kay et Brown, 2013).

Les concentrations de RM mesurées dans les eaux de surface varient de quelques $ng.L^{-1}$ à quelques centaines de $ng.L^{-1}$ et, pour certaines molécules, à quelques $\mu g.L^{-1}$. Cette amplitude

dépend des molécules, du facteur de dilution dans le milieu, du niveau de consommation, de la localisation des prélèvements, du temps (année, saison, …) ...

En 2009, Loos *et al.* ont mis en évidence la présence de RM dans les eaux de surface européennes. Ces molécules sont, de la plus fréquemment détectée à la moins détectée : la Carbamazépine, le Diclofénac, le Sulfaméthoxazole, le Naproxène, l'Ibuprofène, le Bézafibrate, le Gemfibrozil et le Kétoprofène (Loos *et al.*, 2009). Dans les années 90, Terne a recherché 37 principes actifs répartis sur cinq classes thérapeutiques sur des eaux usées traitées et des eaux de surface, en Allemagne. À cette époque, les résultats ont montré la présence d'au moins une molécule par classe thérapeutique (sauf pour les antinéoplasiques (ou anticancéreux)) dans les eaux de surface. Les molécules retrouvées dans les eaux de rivière, dans l'ordre décroissant des concentrations maximales mesurées, sont : l'Acide salycilique, le Bézafibrate, le Bisoprolol, le Métoprolol, le Diclofénac, la Carbamazépine, le Phénazone, le Propranolol, l'Acide clofibrique, l'Ibuprofène, le Gemfibrozil, le Naproxène, l'Acide acétylsalicylique, le Diméthylaminophenazone, l'Acide fénofibrique, l'Indométacine, le Kétoprofène, le Carazolol, le Fénotérol, le Clenbutérol, le Salbutamol, le Bétaxolol et le Timolol (Ternes, 1998). Il apparaît que certaines de ces molécules comme la Carbamazépine, le Diclofénac et le Bézafibrate sont identiques à celles retrouvées à l'échelle européenne en 2009. Les travaux réalisés aux environs des années 2000 par l'équipe de Zuccato en Italie, démontrent que les molécules mesurées dans les rivières sont, dans l'ordre décroissant des concentrations maximales mesurées : l'Aténolol, le Bézafibrate, l'Ibuprofène, le Furosémide, la Spiramycine, la Lincomycine, l'Érythromycine, le Cyclophosphamide, la Ranitidine, la Oléandomycine, le Salbutamol, la Tylosine et le Diazépam (Zuccato *et al.*, 2000). Avec cette étude et l'amélioration des techniques analytiques, le Cyclophosphamide, qui fait partie de la classe thérapeutique des anticancéreux, certains antibiotiques comme la Spiramycine, et un antiulcéreux, la Ranitidine, viennent compléter la liste des RM mesurés dans les rivières européennes. Au Nord de l'Europe, en Finlande, Vieno *et al.* ont mis en évidence la présence de médicaments dans les eaux de rivière. Les molécules retrouvées, dans l'ordre décroissant des concentrations maximales mesurées sont : le Métoprolol, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, la Ciprofloxacine et l'Acébutolol (Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2006). Enfin, dans les eaux de rivières françaises, les mêmes familles de molécules ont été mesurées en 2004. Les molécules retrouvées dans l'ordre décroissant des concentrations maximales sont : le Paracétamol, la Carbamazépine, le Diclofénac, le Kétoprofène, le Naproxène, l'Ibuprofène, le Nordiazépam et le Gemfibrozil (Togola et Budzinski, 2008). En 2008, d'autres molécules, dont certaines appartenant à la classe des hormones, ont été mesurées en France. Les fréquences de détection variaient d'une molécule à l'autre, ainsi, les molécules détectées

sont, dans l'ordre décroissant des fréquences de détection : l'Androstènedione, la Testostérone, la Progestérone, la Carbamazépine, le Noréthindrone, la Metformine, l'Acide salicylique, le Levonorgestrel, l'Aténolol, le Diclofénac, le Sulfaméthoxazole, le Bézafibrate, le Paracétamol, l'Oxazépam, le Kétoprofène, l'Estrone, le Métoprolol, la Roxithromycine, le Triméthoprime, l'Acide fénofibrique, la Pravastatine, le Naproxène, l'Ibuprofène, l'Androstérone, le Propranolol, le Lorazépam, le Métronidazole, le 17 beta-estradiol, le 17 alpha-estradiol, l'Éthinylestradiol et l'Ofloxacine (Vulliet et Cren-Olivé, 2011).

La figure 4 synthétise les molécules recherchées dans les eaux de surface européennes à partir des données précédentes.

Cette liste non exhaustive de RM, met en évidence la présence d'au moins 57 principes actifs et métabolites dans les eaux de surface européennes entre les années 90 et 2008. En 2002, Heberer estimait que plus de 80 principes actifs étaient présents dans les eaux de surface à l'échelle mondiale (Heberer, 2002a). La figure 4 permet d'identifier les principales molécules recherchées et mesurées, des années 90 à 2008. Ainsi, au vu du nombre de références associées, il est possible de dire que sur cette période, la Carbamazépine a été une des molécules les plus étudiées dans les eaux superficielles avec une concentration maximale égale à 11,5 $\mu g.L^{-1}$. Les autres molécules fortement étudiées et présentant des concentrations maximales élevées, de quelques centaines de $ng.L^{-1}$ au $\mu g.L^{-1}$, sont des molécules appartenant aux classes thérapeutiques des anti-Inflammatoire non stéroïdiens avec, par ordre décroissant du nombre de références associées, l'Ibuprofène (31 323 $ng.L^{-1}$), l'Acide salicylique (4 100 $ng.L^{-1}$) qui est également un métabolite de l'Aspirine, le Diclofénac (1 200 $ng.L^{-1}$), le Naproxène (2 027 $ng.L^{-1}$), l'Aspirine (340 $ng.L^{-1}$) et le Kétoprofène (239 $ng.L^{-1}$), des analgésiques avec le Paracétamol (72$ng.L^{-1}$), des cardiovasculaires avec l'Aténolol (242 $ng.L^{-1}$), le Métoprolol (2 200 $ng.L^{-1}$) et le Propranolol (590 $ng.L^{-1}$) et des hypolipémiants, comme le Bézafibrate (3 100 $ng.L^{-1}$) et le Gemfibrozil (970 $ng.L^{-1}$).
Pour résumer, entre les années 90 et 2008, selon les références citées, les 12 molécules les plus étudiées et présentant des concentrations maximales élevées dans les eaux de surface européennes sont : la Carbamazépine, le Diclofénac, l'Ibuprofène, le Kétoprofène, le Naproxène, le Paracétamol, le Bézafibrate, le Gemfibrozil, le Métoprolol et l'Aténolol. Certaines molécules peu étudiées selon la figure 4 ont été mesurées avec des concentrations maximales allant de quelques centaines de $ng.L^{-1}$ au $\mu g.L^{-1}$.

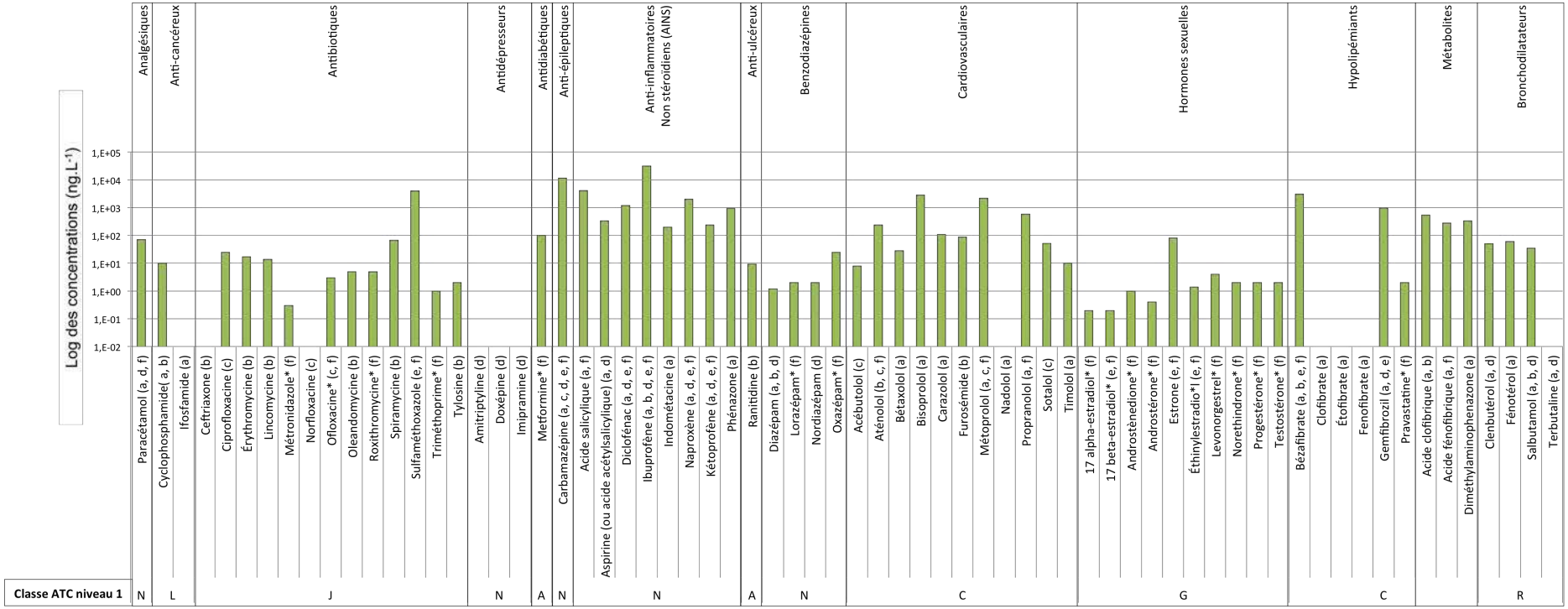


Figure 4. Concentrations maximales (* = moyennes) des molécules recherchées dans les eaux de surface en France et en Europe des années 90 à 2008 (liste non exhaustive). Entre parenthèses, les références associées (a : Ternes, 1998; b : Zuccato *et al.*, 2000; c : Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2006; d : Togola et Budzinski, 2008 ; e : Loos *et al.*, 2009 ; f : Vulliet et Cren-Olivé, 2011). Les classes ATC sont visibles dans le tableau I.

Il s'agit d'AINS, l'Acide salicylique (4 100 ng.L^{-1}), l'Aspirine (340 ng.L^{-1}) et le Phénazone (950 ng.L^{-1}), d'un antibiotique, le Sulfaméthoxazole (4 072 ng.L^{-1}), d'un cardiovasculaire, le Bisoprolol (2 900 ng.L^{-1}), et des métabolites dont les concentrations vont de 340 ng.L^{-1}, pour l e Diméthylaminophenazone, à 550 ng.L^{-1}, pour l'Acide clofibrique. Au regard de leurs concentrations importantes, ces molécules mériteraient d'être plus étudiées. Ainsi, l'interprétation de ce genre de données doit être faite avec précaution, en effet, comme le démontre les résultats du projet KNAPPE, les travaux de recherches dans ce domaine se focalisent essentiellement sur certaines classes pharmaceutiques comme les antibiotiques, les AINS, les cardiovasculaires, les analgésiques … (Roig *et al.*, 2009), et, comme cela a été mis en évidence dans ce paragraphe, sur certaines molécules en particulier. C'est la raison pour laquelle ce sont souvent les mêmes molécules qui sont retrouvées.

2. Eaux souterraines

Selon le projet KNAPPE, seulement 13% des mesures environnementales concernent les eaux souterraines (Roig *et al.*, 2009). Dans ce compartiment aquatique, lorsque les molécules sont quantifiées, les concentrations mesurées varient du ng.L^{-1} au µg.L^{-1} en fonction des molécules. Dans son étude sur l'occurrence de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine en France, l'ANSES a mis en évidence que 70% des eaux brutes souterraines étudiées ne renfermaient aucune molécule à des teneurs supérieures à la limite de quantification (ANSES, 2011). Les molécules qui ont été les plus fréquemment détectées sont, dans l'ordre décroissant : l'Époxycarbamazépine, la Carbamazépine, l'Oxazepam, le Naftidrofuryl, l'Hydroxyibuprofène, le Gadolinium, le Paracétamol, le Kétoprofène, l'Acide Salicylique, le Trimétazidine, le Sulfadimérazine, le 17 beta-estradiol, le Danofloxacine, l'Ofloxacine et la Tylosine (ANSES, 2011). En France, en 2011, une campagne exceptionnelle d'analyse des molécules présentes dans les eaux souterraines a montré que 61 RM ont été quantifiés au moins une fois dans les eaux souterraines de la métropole, dont deux ont été quantifiés sur plus de 10% des analyses : le Paracétamol et la Carbamazépine (Lopez et Laurent, 2013). La Codéine, l'Érythromycine, le Métronidazole, la Roxithromycine, le Sulfaméthoxazole, le Triméthoprime, l'Acide fénofibrique, l'Aténolol, le Métoprolol, le Propranolol, le Sotalol, le Furosémide, la Metformine, le Lorazépam, l'Oxazépam, le Tramadol, la Trimétazidine, la Testostérone, l'Androstènedione, la Progesterone, la Norethindrone, le Levonorgestrel, l'Estrone, l'Androstérone, le 17 alpha-estradiol, l'Éthinylestradiol, le Diclofénac, le Kétoprofène et le Naproxène ont également été quantifiés dans les eaux souterraines françaises (Vulliet et Cren-Olivé, 2011 ; Lopez et Laurent, 2013). En Allemagne, Heberer a également quantifié des RM dans les eaux souterraines. Les molécules mesurées, dans l'ordre décroissant des

concentrations maximales mesurées, sont : l'Acide clofibrique, le Propyphenazone, le Phenazone, l'Acide salicylique, le Primidone, l'Acide gentisique, le Diclofénac, le Gemfibrozil, l'Ibuprofène, le Fénofibrate et le Kétoprofène (Heberer, 2002b). A cette liste viennent se rajouter l'Acide amidotrizoïque, la Carbamazépine, le Sotalol, le Sulfaméthoxazole, l'Iopamidol et l'Anhydro-erythromycine (Sacher *et al.*, 2001).

La figure 5 synthétise les molécules recherchées et mesurées dans les eaux souterraines européennes à partir des données précédentes. L'enquête de l'ANSES ne précise pas les concentrations mesurées dans les eaux souterraines. Cette liste non exhaustive de RM, met en évidence la présence de 70 principes actifs et métabolites pharmaceutiques dans les eaux souterraines européennes. Les classes thérapeutiques présentes dans les eaux souterraines sont multiples. La figure 5 permet d'identifier les principales molécules étudiées dans ce compartiment aquatique, ces dernières sont, dans l'ordre décroissant des concentrations maximales : la Carbamazépine (900 $ng.L^{-1}$), le Diclofénac (590 $ng.L^{-1}$), le Sotalol (560 $ng.L^{-1}$), le Paracétamol (481 $ng.L^{-1}$) , le Sulfaméthoxazole (410 $ng.L^{-1}$), le Kétoprofène (354 $ng.L^{-1}$), l'Oxazépam (42 $ng.L^{-1}$) et la Trimétazidine (35 $ng.L^{-1}$). Certaines molécules peu étudiées selon la figure 5, car présentant un nombre limité de références associées, ont été mesurées dans les eaux souterraines avec des concentrations allant de quelques centaines de $ng.L^{-1}$ au $\mu g.L^{-1}$. Il s'agit de certains AINS, l'Acide salicylique (1 225 $ng.L^{-1}$), l'Aspirine (1 000 $ng.L^{-1}$), le Phénazone (1 250 $ng.L^{-1}$), le Propyphénazone (1 465 $ng.L^{-1}$), d'antibiotiques, l'Érythromycine (1 872 $ng.L^{-1}$), le Métronidazole (596 $ng.L^{-1}$), d'un antidiabétique, la Metformine (1 577 $ng.L^{-1}$), d'un anti-épileptique, le Primidone (690 $ng.L^{-1}$), d'un hypolipémiant, le Gemfibrozil (340 $ng.L^{-1}$), de métabolites, l'Acide clofibrique (7 300 $ng.L^{-1}$), l'Acide gentisique (540 $ng.L^{-1}$) et de produits de contraste, l'Acide amidotrizoïque (1 100 $ng.L^{-1}$) et le Iopamidol (300 $ng.L^{-1}$). Au regard de leurs concentrations élevées, ces molécules méritent une attention plus grande dans le suivi de la contamination des milieux aquatiques par les RM et notamment l'Acide clofibrique et le Phénazone qui ont également été peu étudiée dans les eaux de surface et qui présentent des concentrations maximales élevées également dans ce compartiment.

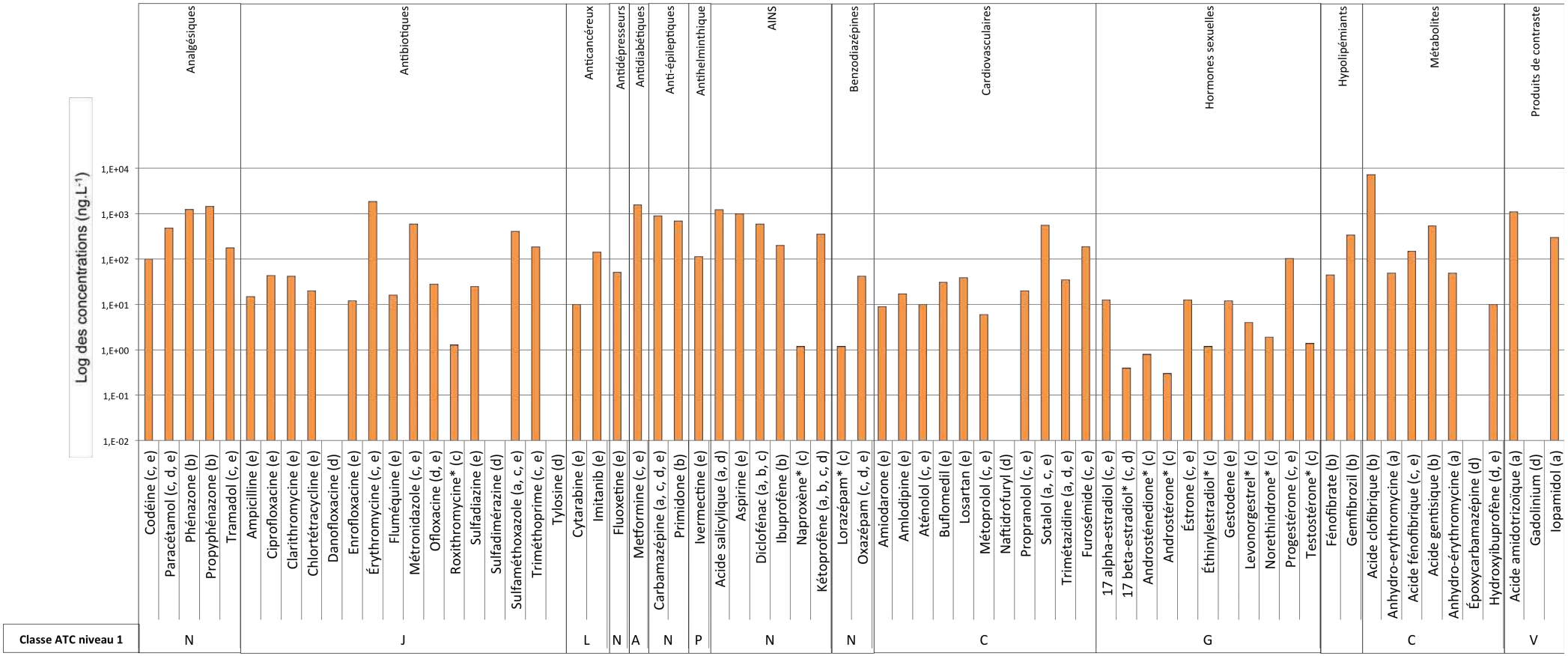


Figure 5. Concentrations maximales (* = moyennes) des molécules recherchées dans les eaux de souterraines en France et en Europe (liste non exhaustive). Entre parenthèses, les références associées (a : Sacher *et al.*, 2001 ; b : Heberer, 2002b ; c : Vulliet et Cren-Olivé, 2011; d : ANSES, 2011; e : Lopez et Laurent, 2013). Les classes ATC sont visibles dans le tableau I.

3. Eaux de boisson

En France, les eaux destinées à la consommation humaine proviennent essentiellement des eaux de surface et souterraines avec 2/3 d'origine souterraine et 1/3 d'origine superficielle (ANSES, 2011). La présence de RM dans ces deux compartiments aquatiques peut ainsi générer une contamination des eaux destinées à la consommation humaine, ce qui constitue une préoccupation majeure pour la communauté scientifique et les pouvoirs publics. Assez peu d'études se sont intéressées à la présence de médicaments dans les eaux de boissons du territoire français. En 2004, des travaux ont mis en évidence la présence de médicaments dans les eaux de boisson provenant du bassin versant de l'Hérault (Togola et Budzinski, 2008). Dans l'ordre décroissant des concentrations maximales mesurées, les molécules détectées sont : le Paracétamol, la Carbamazépine, le Ketoprofène, le Diclofénac, l'Amitriptyline, l'Ibuprofène et le Naproxène. Plus tard, dans son enquête nationale réalisée de 2009 à 2010 sur les eaux de consommation, l'ANSES a mis en évidence la présence de RM dans les eaux brutes et traitées de boisson françaises. Les molécules qui ont été détectées dans les eaux brutes sont, dans l'ordre décroissant des fréquences de détection : la Carbamazépine, l'Oxazépam, le Paracétamol, l'Époxycarbamazépine, le Losartan, l'Hydrochlorothiazide, le Trimetazidine, l'Hydroxyibuprofène, l'Atenolol, le Kétoprofène, le Danofloxacine, le Gadolinium, le Diclofénac, l'Ibuprofène, l'Acide salicylique, l'Ofloxacine, le Naftidrofuryl, l'Érythromycine, le Sulfadimérazine, le Lincomycine, l'Amoxicilline, le Florfenicol, le Ramipril, le Ramiprilate, la Doxycycline, la Tylosine, le Parconazole, l'Amlodipine et la Fluvoxamine (ANSES, 2011). Dans les eaux traitées, cette liste plus réduite est constituée des molécules suivantes, dans l'ordre décroissant des fréquences de détection : l'Époxycarbamazépine (avec une concentrations maximale égale à 6 $ng.L^{-1}$), la Carbamazépine (33 $ng.L^{-1}$) , l'Oxazépam (91 $ng.L^{-1}$), l'Hydroxyibuprofène (85 $ng.L^{-1}$), le Naftidrofuryl (3 $ng.L^{-1}$), le Paracétamol (71 $ng.L^{-1}$), la Danofloxacine (57 $ng.L^{-1}$), la Tylosine (20 $ng.L^{-1}$), l'Ofloxacine (35 $ng.L^{-1}$), l'Ibuprofène (traces), le Gadolinium (12 $ng.L^{-1}$), l'Acide salicylique (102 $ng.L^{-1}$), l'Hydrochlorothiazide (traces), le Losartan (traces), l'Estradiol (77 $ng.L^{-1}$), le Kétoprofène (36 $ng.L^{-1}$), le Florfenicol (traces) et le Ramiprilate (traces). Les fréquences relatives des différentes molécules varient en fonction de la nature de l'eau. Ainsi, dans les eaux traitées, les métabolites sont plus fréquemment détectés que dans les eaux brutes (ANSES, 2011).

4. Synthèse

La figure 6 synthétise les résultats des différentes analyses réalisées sur les eaux superficielles, souterraines et de boisson provenant de différentes études qui sont

présentées dans ce chapitre. Pour les eaux potables, seules les molécules recherchées et détectées dans les deux études présentées ci-dessus ont été intégrées dans la figure.

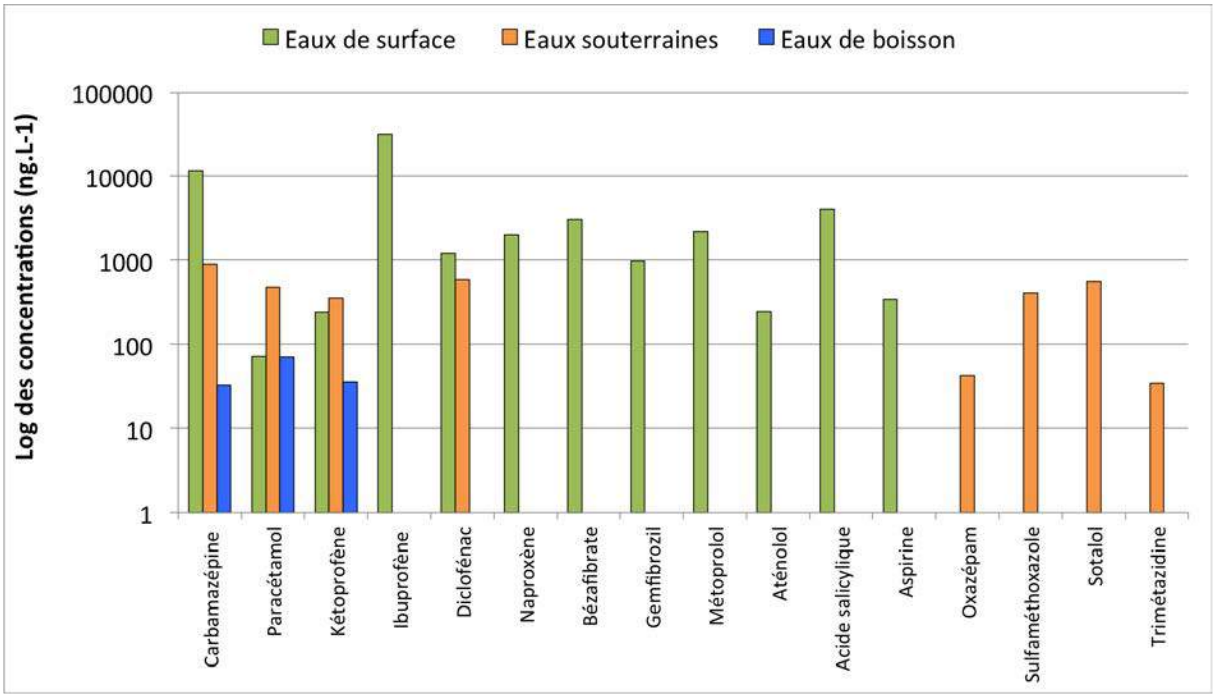


Figure 6. Synthèse des RM les plus fréquemment détectés dans les eaux superficielles et souterraines européennes ainsi que dans les eaux de boisson françaises (concentrations maximales mesurées selon les références citées dans ce chapitre).

Cette figure met en évidence l'omniprésence de la Carbamazépine, du Paracétamol et du Kétoprofène dans les trois compartiments aquatiques. Le Diclofénac et l'Ibuprofène sont détectés dans deux de ces compartiments. En 2007, le projet KNAPPE a établi un top 10 des molécules les plus mesurées dans l'environnement sur 178 molécules étudiées en entrée et sortie de STEU, dans les eaux de surface, les eaux souterraines, les eaux marines et les eaux de boisson (Roig, 2010 ; Touraud, 2012). Ce top 10 est constitué par le Diclofénac, la Carbamazépine, l'Ibuprofène, le Bézafibrate, le Kétoprofène, l'Acide clofibrique, le Sulfaméthoxazole, le Triméthoprime, le Phénazone et la Roxithromycine (Touraud, 2012). Six de ces molécules sont également présentes dans la figure 6, les quatre restantes, l'Acide clofibrique, le Triméthoprime, le Phénazone et la Roxithromycine, ont été détectées dans les eaux de surfaces et souterraines dans au moins une des études présentées dans ce chapitre. Sur l'ensemble des RM mis en évidence dans les différents compartiments aquatiques, la plupart sont inscrits sur la liste des molécules émergentes du réseau NORMAN, constituée de 968 composés chimiques au total, dont la Carbamazépine, le Kétoprofène, le Paracétamol et l'Ibuprofène. Le réseau NORMAN s'est constitué en septembre 2005 suite à un financement de Commission Européenne (NORMAN, 2016). Ce réseau est constitué de laboratoires de référence, centres de recherche et d'organismes,

associés pour la surveillance des molécules émergentes dans l'environnement. À la fin du projet, les activités du réseau ont pu être poursuivies grâce à la création, en février 2009, d'une association loi 1901 à but non-lucratif. Les travaux de NORMAN s'organisent autour de bases de données, de groupes de travail, d'activités d'assurance qualité et de workshops (INERIS, 2010 ; Dulio, 2011) . Le réseau NORMAN tient à jour une liste de molécules émergentes dont la dernière, en date de février 2016, comprend certaines molécules pharmaceutiques. Ces molécules sont identifiées par le groupe d'experts travaillant sur la priorisation à partir des données de la littérature scientifique en prenant en compte les critères définis par le réseau NORMAN tels que la présence dans l'environnement, la distribution spatiale et temporelle, l'usage, le niveau de consommation, la toxicité et l'écotoxicité, … (Dulio, 2011) permettant de caractériser une molécule émergente (NORMAN, 2016).

Cette étude bibliographique a permis d'identifier les molécules les plus fréquemment mesurées dans les environnements aquatiques. Malgré le fait que cette étude soit non exhaustive, les résultats sont globalement en accord avec les revues bibliographiques déjà réalisées sur cette problématique. Ces résultats ont ainsi montré que, les eaux superficielles présentent une fréquence de résultats positifs plus importante que les eaux souterraines. Mais des médicaments sont également mesurés dans les eaux potables destinées à la consommation humaine (ANSES, 2011). Les concentrations en RM, que ce soit dans les eaux de surface, souterraines ou de boisson, varient de quelques ng.L^{-1} à quelques µg.L^{-1} en fonction des molécules et des pays considérés. Dans ce chapitre, les principales classes de médicaments qui ont été mises en évidence dans au moins deux des compartiments aquatiques étudiés en Europe sont : des AINS (Diclofénac, Ibuprofène et Kétoprofène), un analgésique (Paracétamol) et un anti-épileptique (Carbamazépine). À l'exception du Kétoprofène, ces molécules font partie des 16 RM détectés dans chacune des cinq régions du monde (aus der Beek et al., 2016). Ces 16 molécules sont, dans l'ordre décroissant des concentrations maximales mesurées en Europe de l'ouest, sans distinction entre les eaux de surface, souterraines et de boisson : l'Ibuprofène (303 µg.L^{-1}), le Paracétamol (230 µg.L^{-1}), le Sulfaméthoxazole (29 µg.L^{-1}), le Diclofénac (18,74 µg.L^{-1}), la Ciprofloxacine (13,6 µg.L^{-1}), le Naproxène (12,3 µg.L^{-1}), le Triméthoprime (10 µg.L^{-1}), l'Ofloxacine (8,77 µg.L^{-1}), la Carbamazépine (8,05 µg.L^{-1}), l'Acide clofibrique (7,91 µg.L^{-1}), l'Estrone (1,25 µg.L^{-1}), la Norfloxacine (1,15 µg.L^{-1}), l'Estriol (0,48 µg.L^{-1}), l'Aspirine (0,36 µg.L^{-1}), l'Éthinylestradiol (0,28 µg.L^{-1}) et l'Estradiol (0,012 µg.L^{-1}) (aus der Beek et al., 2016). Ces 16 molécules viennent ainsi compléter la liste des classes thérapeutiques qui est finalement constituée des antibiotiques, AINS, analgésiques non opioïdes, anti-épileptiques et hormones sexuelles.

Comme évoqué à plusieurs reprises dans ce chapitre, certains métabolites peuvent également être mesurés dans l'environnement. L'article de T. Beek et al. conforte cette information en intégrant dans leur liste l'Acide clofibrique.

Le marché pharmaceutique français est constitué d'environ 3000 principes actifs entrant dans la composition des médicaments utilisés en médecine humaine et environ 600 principes actifs sont utilisés en médecine vétérinaire sur le marché européen. Cependant, seulement quelques centaines de molécules ont fait l'objet de recherches environnementales (Hughes, Kay et Brown, 2013). Deux principaux facteurs peuvent expliquer ce nombre restreint de molécules recherchées dans l'environnement, ce sont les difficultés analytiques et l'utilisation des données de consommation comme critère de sélection des molécules à cibler dans les projets de recherches. La liste des RM présents dans les eaux superficielles, souterraines et de boisson pourrait donc potentiellement être plus longue si tous les principes actifs présents sur le marché étaient et pouvaient être recherchés. Y-a-t-il une relation directe entre la consommation de médicaments et l'exposition des milieux aquatiques ? Le chapitre suivant a pour objectif de répondre à cette question en faisant le parallèle entre les données de consommation de médicaments du chapitre 2 et les molécules détectées dans les eaux naturelles et présentées dans le chapitre 3.

Chapitre 4.
Exposition *versus* consommation

Ce chapitre présente une synthèse des données de consommations de médicaments (en quantité) et des RM mesurés en France dans les milieux aquatiques naturels.

Dans cette partie, les concentrations des principaux RM mesurés dans l'environnement sont mises en parallèle avec les données de consommation exposées dans le chapitre 2. Cette comparaison permet de rendre compte de la complexité à évaluer les quantités de RM dans l'environnement qui dépendent d'autres facteurs exposés ici.

En France, la présence de RM dans les environnements aquatiques serait essentiellement due à la consommation de médicaments utilisés en médecine humaine. Les pourcentages d'échantillons positifs (supérieurs aux seuils de détection) présentant des médicaments utilisés dans la médecine humaine étaient de 87% pour les eaux superficielles et 57% pour les eaux souterraines contre 10 et 5% pour les médicaments utilisés dans la médecine animale (ANSES, 2011). Ces données concordent avec les données du marché pharmaceutique français qui démontrent que la santé animale ne représente que 3,8% du CA de l'industrie pharmaceutique. De plus, comme mentionné dans le chapitre 1 sur les origines de la contamination, les STEU ont été identifiées comme étant la principale voie d'introduction des RM dans l'environnement. En effet, les rejets de molécules pharmaceutiques sous forme active ou métabolisée lors de la consommation par des patients engendrent un apport continu de molécules pharmaceutiques dans les eaux usées et, par conséquent, dans les eaux réceptrices de ces eaux usées. Avec ce constat, il semblerait évident de penser que plus une molécule sera consommée, plus elle sera rejetée dans les eaux usées et plus elle sera détectée dans les eaux naturelles. Qu'en-est-il vraiment ? Les données de la consommation de médicaments en France, renseignent sur le fait que 77% du CA de l'industrie pharmaceutique proviennent des ventes réalisées en ville (ANSM, 2014a) et maximum 10% des RM mesurés dans l'environnement en Europe proviendraient des hôpitaux (Kümmerer, 2009). Pour toutes ces raisons, la confrontation des données de consommation et d'exposition concerne uniquement les médicaments utilisés en ville, en médecine humaine et en France.

1. Comparaison des données d'exposition et de consommation

Les données d'exposition en France et en Europe pour les trois compartiments présentés dans cette étude (eaux de surface, eaux souterraines et eau de boisson) courent des années 90 à 2013. Globalement, il a été montré que les classes thérapeutiques et, plus précisément, les principes actifs, essentiellement mesurés dans les milieux, étaient identiques quelle que soit la période considérée pour cette comparaison. C'est le cas par exemple de la Carbamazépine qui a été mesurée de la fin des années 90 à 2013 dans les eaux superficielles européennes. Dans le cas des données de consommation de médicaments en France, ces dernières datent essentiellement de 2013. La période de récolte des données d'exposition coïncide avec la date des données de consommation, la comparaison de ces données est donc possible.

Afin de rendre compte de l'apport des données de consommation dans l'évaluation de

l'exposition du milieu, les données de consommation des principales molécules pharmaceutiques mesurées dans les environnements aquatiques et les eaux potables sont étudiées.

Dans le chapitre précédent, il a été mis en évidence la présence de certains RM dans au moins deux des compartiments aquatiques étudiés. Ces derniers sont la Carbamazépine (anti-épileptique), le Diclofénac, l'Ibuprofène, le Kétoprofène (AINS) et le Paracétamol (analgésique). Leurs concentrations varient du $ng.L^{-1}$ au $\mu g.L^{-1}$. Comme présenté dans le tableau III du chapitre 2, les médicaments du traitement de la douleur (AINS, analgésiques non opioïdes) et particulièrement le Paracétamol, l'Ibuprofène et le Diclofénac, apparaissent sur la liste des 30 médicaments les plus vendus en ville, en 2013 en nombre de boîtes (ANSM, 2014b). L'interprétation de ces résultats en nombre de boîtes doit être faite avec précaution. En effet, les dosages de principes actifs par unité vendue peuvent varier d'une molécule à l'autre ce qui ne permet pas une comparaison fiable des apports de chaque molécule. Pour exemple, les données présentées dans le chapitre 2 ont mis en évidence que les médicaments utilisés pour le système cardiovasculaire faisaient partie des 30 molécules les plus vendues en France en 2013 en terme de nombre de boîtes avec trois molécules positionnées au 19ème, 23ème et 26ème rang. Ce classement réalisé avec la masse de principe actif ne met pas en évidence les mêmes informations puisque dans ce cas, seul un bétabloquant entre dans le classement en 29ème position (Aminot, 2013). La démarche adoptée dans les travaux de Y. Aminot se base sur la masse de principe actif consommée en France, dans l'hypothèse que le nombre de boîtes remboursées par l'Assurance Maladie reflète les consommations. Les données présentées dans les travaux de Y. Aminot datent de 2008, 2009 et 2010 et aucune différence majeure n'a été observée entre ces trois années. En se basant sur la démarche employée par Y. Aminot et à partir des informations détaillées fournies par l'Assurance Maladie sur :

- le dénombrement des boîtes de médicaments remboursés et délivrés en ville en 2013 ;
- le conditionnement de ces boîtes (nombre de comprimés, de sachet ou volume) ;
- et les quantités de principes actifs par unité de prise (comprimé, sachet ou volume) ;

les quantités (en masse de principe actif) consommées des RM mesurés dans au moins deux des compartiments aquatiques étudiés dans le chapitre précédent, Paracétamol, Ibuprofène, Kétoprofène, Diclofénac et Carbamazépine, et ceux uniquement mesurés dans les eaux de surface, Aspirine, Naproxène, Aténolol, Métoprolol, Bézafibrate et Gemfibrozil, ont été calculées (tableau V).

Tableau V. Consommation (kg) des principaux RM mesurés dans l'environnement en 2013 en France. Le classement est réalisé en fonction des données de l'année 2010 selon Y. Aminot.

Classement	Molécules	2008[a]	2009[a]	2010[a]	2013
1	Paracétamol	2 136 935	2 263 350	2 253 197	2 437 013
6	Ibuprofène	134 259	147 456	133 313	151 463
7	Aspirine	113 535	115 003	105 996	104 086
28	Kétoprofène	33 794	34 026	26 900	21 489
34	Naproxène	22 579	21 840	22 070	32 805
35	Diclofénac	17 597	18 938	21 744	23 436
37	Carbamazépine	20 911	20 205	19 978	19 031
55	Aténolol	/	/	12 867	11 209
78	Bézafibrate	/	/	7 968	5 415
94	Métoprolol	/	/	5 903	5 416
127	Gemfibrozil	/	/	3 749	3 473

a : Aminot, 2013

Lorsque les quantités consommées pour les quatre années (2008, 2009, 2010 et 2013) sont disponibles, une similitude des valeurs retrouvées est mise en évidence (tableau V), ce qui vient confirmer l'absence de variation inter-annuelle dans les quantités de principes actifs consommés. Ainsi, le classement des principes actifs les plus consommés en France en 2010 (Aminot, 2013) doit, à quelque chose près, être identique à celui qui aurait été effectué avec les données de l'année 2013. Le classement de 2010 est donc utilisé dans notre analyse pour l'année 2013. Avec ce dernier, les AINS et les analgésiques non opioïdes font partie des médicaments les plus consommés (Aminot, 2013). Plus précisément, le Paracétamol est la molécule la plus consommée (2 437 013 kg), l'Ibuprofène fait partie des 10 molécules les plus consommées et, le Kétoprofène et le Diclofénac des 40 molécules les plus consommées (tableau V). Dans le cas de l'Aspirine et du Naproxène, qui sont mesurés dans les eaux de surface, ils font respectivement partie des 10 et 40 premiers principes actifs consommés en France. L'Acide salicylique est le principal métabolite de l'Aspirine et présente des concentrations dans les eaux de surface supérieures à celles de sa molécule mère. Ces données suggèrent que l'Aspirine est une molécule rapidement transformée, ce qui est en accord avec les données de la littérature scientifique qui décrivent l'Aspirine comme étant une molécule facilement dégradée en Acide salicylique par le processus de dé-acétylation (Heberer, 2002a). Il existe d'autres sources d'Acide salicylique que celle liée à la dégradation de l'Aspirine. Cette molécule peut, en effet, être naturellement synthétisée par certains végétaux et utilisée comme principe actif dans le cadre de certains traitements thérapeutiques (ex. médicaments utilisés en dermatologie), mais cette utilisation reste rare (Heberer, 2002a). Concernant la Carbamazépine, cette molécule ne fait pas partie des 30 molécules les plus vendues en France en 2013, en terme de nombre de boîte (tableau III).

Qu'en-est-il lorsque la masse de principe actif est calculée ? En 2013, les quantités de Carbamazépine consommées s'élèvent à 19 031 kgs (tableau V). Le classement réalisé à partir de la masse de principe actif positionne la Carbamazépine dans les 40 principes actifs les plus consommés en France (Aminot, 2013). Globalement, pour les AINS et la Carbamazépine, les données de consommations sont en accord avec les données d'exposition du milieu. Dans le chapitre présentant les données de consommation, il a été montré que la France était une grande consommatrice d'antibiotiques, 90% des antibiotiques étant consommés en ville, avec les pénicillines et les macrolides au rang 1 et 2, respectivement. L'Amoxicilline est un antibiotique appartenant à la famille des pénicillines et fait partie des 10 principes actifs les plus vendus en ville aussi bien en nombre de boîtes (tableau III) qu'en masse de principe actif qui la positionne au troisième rang (Aminot, 2013). Les données présentées dans le chapitre précédent n'ont pas mis en évidence d'étude ayant recherché cet antibiotique. Dans son rapport, l'ANSES présente la teneur maximale d'Amoxicilline qui est exprimée par la notion de « traces » dans les eaux brutes (superficielles et souterraines) du territoire national (ANSES, 2011). Dans une étude réalisée à Toulouse de 2011 à 2013, cette molécule présentait des concentrations inférieures au seuil de détection dans les eaux usées brutes et traitées de l'agglomération (Destrieux, 2013). Ainsi, en dépit de sa forte consommation, cette molécule n'est que très peu voire pas retrouvée dans les systèmes aquatiques contrairement à d'autres antibiotiques moins consommés mais régulièrement détectés comme le Sulfaméthoxazole. Cette dernière molécule fait en effet partie des 16 molécules détectées dans chacune des cinq régions du monde (aus der Beek *et al.*, 2016) et présente une fréquence de quantification dans les eaux de surface du territoire français, à l'époque de l'étude prospective réalisée par l'ONEMA en 2012, de 40% avec une concentration maximale mesurée de 80 $ng.L^{-1}$ (Botta, Fabrizio et Dulio, 2014). Le Bézafibrate est aussi faiblement consommé, rang 78 en 2010, mais détecté dans 28% des échantillons d'eau de surface française en 2007-2008 avec une concentration moyenne de 3,4 $ng.L^{-1}$ (Vulliet et Cren-Olivé, 2011). Enfin, la Metformine (antidiabétique), qui a été identifiée comme étant une molécule peu étudiée dans le chapitre précédent ainsi que dans l'article de Hughes *et al.* (2013), possède des concentrations maximales élevées en France. Cette molécule fait partie des molécules fortement consommées en France puisqu'elle est la deuxième, après le Paracétamol, à présenter des tonnages importants en 2010 (Aminot, 2013 ; Hughes, Kay et Brown, 2013). Elle se retrouve donc dans le même schéma que les AINS et le Paracétamol avec un taux de détection égal à 58% ainsi qu'une concentration moyenne égale à 100,6 $ng.L^{-1}$ dans les eaux de surface (Vulliet et Cren-Olivé, 2011) et un taux égal à 10% dans les eaux souterraines avec un concentration moyenne égale à 9,9 $ng.L^{-1}$ (Vulliet et Cren-Olivé, 2011 ; Lopez et Laurent, 2013).

L'analyse globale qui consiste à mettre en relation les mesures environnementales et les données de consommation permet de caractériser deux groupes :

- dans le premier, l'occurrence environnementale des molécules peut-être expliquée par leur niveau de consommation. Les fréquences de détection et/ou les concentrations peuvent ainsi atteindre des valeurs importantes si ces molécules sont régulièrement et/ou fortement consommées. C'est le cas par exemple, du Diclofénac, de l'Ibuprofène, du Kétoprofène, du Paracétamol, de la Carbamazépine et de la Metformine ;
- dans le second, l'occurrence environnementale des molécules n'est pas expliquée par leur niveau de consommation. Ainsi, des molécules fortement consommées peuvent être très peu, voire pas du tout, détectées dans l'environnement. C'est le cas par exemple de l'Amoxicilline. À l'inverse, d'autres molécules peuvent présenter des fréquences environnementales relativement importantes et des concentrations élevées alors qu'elles sont globalement peu consommées. C'est le cas de la Sulfaméthoxazole et du Bézafibrate.

Ainsi, même si les données de consommation sont indispensables pour la prédiction des concentrations de RM dans l'environnement, elles ne sont pas suffisantes pour les estimer de façon réaliste. L'exposition des milieux aquatiques aux RM dépend ainsi de plusieurs facteurs, certains varient dans le temps et dans l'espace (consommations, dégradation dans les STEU, …), d'autres sont constants et intrinsèques à chaque molécule (propriétés physico-chimiques des RM, métabolisation des médicaments). Tous ces éléments combinés complexifient l'estimation des concentrations environnementales mais, s'ils sont pris en compte, ils peuvent faire en sorte que les concentrations prédites soient les plus proches possibles de la réalité.

2. Facteurs explicatifs de l'exposition environnementale

2.1 Propriétés physico-chimiques des médicaments

Les médicaments sont une famille de micropolluants organiques aux structures et propriétés physico-chimiques très hétérogènes. Ils possèdent généralement des fonctions acides ou basiques et sont ionisés au pH des eaux naturelles. Les propriétés physico-chimiques sont intrinsèques à chaque molécule pharmaceutique et constituent des constantes importantes qui permettent d'anticiper leur comportement dans un milieu donné. Ci-dessous sont

présentées les constantes les plus utilisées pour l'étude des médicaments dans l'environnement.

- La solubilité (S) : c'est la capacité d'une molécule, appelée soluté, à se dissoudre dans un solvant. Cette solubilité est dépendante de la structure de la molécule, du solvant et de la température. Pour un solide donné, une augmentation de la température entraine une augmentation de la solubilité. Elle s'exprime en quantité maximale de soluté dans un litre de solution saturée selon des conditions précises de température, de nature du solvant et du soluté ($mg.L^{-1}$) . Les molécules dites « insolubles » ont une solubilité inférieure à 1 000 $mg.L^{-1}$, les molécules moyennement solubles ont une solubilité comprise entre 1 000 et 10 000 $mg.L^{-1}$, enfin, les molécules solubles ont une solubilité supérieure à 10 000 $mg.L^{-1}$.
- Le coefficient de partage octanol/eau (log P ou log Kow) : c'est une mesure de la solubilité différentielle d'un composé dans deux solvants : l'octanol et l'eau. Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule organique et donc son caractère bioaccumulable dans les organismes aquatiques. Le log Kow permet d'évaluer le caractère polaire d'une molécule. En effet, le solvant possède une polarité très similaire à celle des membranes lipidiques, c'est pourquoi il est utilisé pour évaluer le caractère lipophile d'une molécule. Si le log de Kow est positif, cela exprime le fait que la molécule considérée est plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile. Plus le log Kow sera grand, plus la molécule sera lipophile. Inversement, si le log Kow est négatif cela signifie que la molécule considérée est hydrophile. Si le log Kow est inférieure à 3, les molécules sont polaires et peu bioaccumulables. Si le log Kow est supérieur à 3, les molécules sont apolaires et bioaccumulables (European Chemicals Bureau, 2003).
- Le coefficient de partage carbone organique/eau (Koc) : c'est le rapport entre la quantité adsorbée d'un composé par unité de masse de carbone organique du sol ou du sédiment et la concentration de ce même composé en solution aqueuse ($L.kg^{-1}$). Ce coefficient permet d'appréhender l'adsorption des molécules sur les sédiments et particulièrement sur les boues de STEU. Plus le Koc est élevé, plus la molécule se liera préférentiellement à la phase solide du sol par rapport à la phase aqueuse. Une molécule est considérée mobile si le Koc est inférieur à 100, moyennement mobile s'il est compris entre 100 et 500 et très peu mobile s'il est supérieur à 500.
- Le pKa : c'est le logarithme de la constante d'acidité Ka qui est une mesure quantitative de la force d'un acide en solution. C'est la constante d'équilibre de la réaction de dissociation d'une espèce acide dans le cadre des réactions acido-

basiques. Plus cette constante Ka est élevée, plus la dissociation des molécules en solution est grande et donc plus l'acide est fort. Du fait de l'échelle logarithmique, plus pKa est grand, plus la dissociation de l'espèce acide à pH donné est faible et donc plus l'acide est faible. Un acide faible a un pKa variant entre -1,74 à 25°C et 12 dans l'eau. Les acides avec un pKa de valeur inférieure à -1,74 à 25°C sont appelés acides forts et se dissocient presque intégralement en solution aqueuse.

Le tableau VI présente les constantes décrites ci-dessus pour les cinq RM les plus mesurés dans les milieux aquatiques. Ces données rendent compte de l'hétérogénéité des médicaments au regard de leurs propriétés physico-chimiques et, par conséquent, de leur comportement dans l'environnement. Dans ce cas, les pKa indiquent que ces molécules sont des acides faibles, c'est à dire qu'ils ne se dissocient pas totalement dans l'eau. Dans le cas du Paracétamol, cette molécule est soluble dans l'eau mais, contrairement aux autres, n'est pas bioaccumulable et ne s'adsorbe pas sur les matières organiques (Bouissou-Schurtz *et al.*, 2014). À l'inverse, la Carbamazépine, qui n'est pas bioaccumulable, a tendance à s'adsorber sur les matières organiques (Bouissou-Schurtz *et al.*, 2014). Enfin, l'Ibuprofène a la capacité à être bioaccumulé dans les organismes aquatiques et à s'adsorber sur les matières organiques (Bouissou-Schurtz *et al.*, 2014). Ces trois molécules présentent ainsi des comportements différents dans l'environnement avec une tendance à la compartimentation environnementale de ces dernières au sein des milieux aquatiques. Le Paracétamol aura ainsi tendance à être plutôt dans la phase aqueuse alors que la Carbamazépine, comme les autres molécules du tableau VI seront essentiellement présentes dans les matières en suspension et/ou le sédiment. Quant à la molécule d'Ibuprofène, elle sera essentiellement présente dans la phase solide riche en matière en organique et potentiellement dans les organismes aquatiques. Ainsi, la probabilité de présence des RM dans la phase dissoute des compartiments aquatiques dépend des caractéristiques physico-chimiques de ces derniers.

Tableau VI. Propriétés physico-chimiques des cinq principales molécules pharmaceutiques mesurées dans l'environnement. Sources : (Bouissou-Schurtz *et al.*, 2014 ; NCBI, 2017)

	S ($mg.L^{-1}$)	Log Kow	Koc ($l.kg^{-1}$)	pKa
Paracétamol	14 000	0,46	61,7	9,38
Diclofénac	2,37	4,51	458	4,15
Ibuprofène	21	3,97	3 400	4,91
Kétoprofène	3,61	3,12	/	4,45
Carbamazépine	17,7	2,45	3 870	13,9

La solubilité, le log Kow et le Pka sont des paramètres utilisés dans le monde médical pour les études pharmacocinétiques (Jjemba, 2006). Mais l'importance de ces données s'illustre

également par le fait que ces critères soient utilisés pour évaluer la dangerosité des molécules et orienter les recherches. Ainsi, la Food and Drug Administration (FDA) utilise le Log kow, la solubilité et le Koc pour identifier les compartiments environnementaux qui seraient susceptibles d'être impactés par la présence de RM (FDA, 1998). De même, dans la conception suédoise de la classification environnementale des médicaments, le log Kow est pris en compte pour évaluer le potentiel de bioaccumulation des molécules (Janusinfo, 2016). Enfin, l'Agence Européenne du Médicament (EMA) utilise le Kow et le Koc pour caractériser le potentiel de bioaccumulation et d'adsorption des molécules et mener des stratégies particulières pour l'évaluation du risque en fonction de ces paramètres (EMA, 2006).

Avec les données précédentes, il serait tentant de penser que les concentrations en Paracétamol dans les eaux naturelles soient supérieures à celles de la Carbamazépine et de l'Ibuprofène. Or, les concentrations maximales mesurées dans les eaux de surface et présentées dans le chapitre précédent montrent le contraire. Dans son étude sur l'utilisation des données de pharmacocinétiques et de pharmacodynamiques en écotoxicité, Jjemba (2006) n'a pas montré de corrélation entre les propriétés physico-chimiques des molécules pharmaceutiques étudiées (solubilité, le log Kow et le pKa) et les concentrations environnementales (Jjemba, 2006). Il est ainsi difficile d'extrapoler des données physiques à un comportement environnemental. Ainsi, d'autres paramètres doivent être pris en compte. Dans le paragraphe suivant, le taux d'excrétion des molécules mères par l'organisme humain est présenté.

2.2 Métabolisation des médicaments dans l'organisme humain

L'une des sources principales des rejets de médicaments dans l'environnement provient des excrétions des patients (GRAIE, 26 et 27/03/15). L'étude de la métabolisation des médicaments dans le corps humain est ainsi primordiale pour caractériser au mieux les concentrations environnementales. Cette donnée est une constante intrinsèque à chaque molécule pharmaceutique.

Tous les médicaments font l'objet d'une métabolisation plus ou moins importante puis d'une excrétion chez l'Homme. La métabolisation fait référence à la transformation, souvent catalysée par une réaction enzymatique, des médicaments en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs, appelés métabolites. Ici encore, la grande diversité des comportements des médicaments est mise en évidence puisque certaines molécules sont

entièrement métabolisées, conduisant à la formation de métabolites, tandis que d'autres sont excrétées presque exclusivement sous forme inchangée. Dans le cas des cinq molécules étudiées dans le paragraphe précédent, les pourcentages d'excrétion sous forme inchangée sont négligeables, l'Ibuprofène possédant le pourcentage le plus élevé avec 10% (Bound et Voulvoulis, 2005 ; Aminot, 2013). Au contraire, le Bézafibrate présente un pourcentage d'excrétion sous forme inchangée majeure (proche de 100%) (Aminot, 2013). Au sein d'une même classe thérapeutique, des RM peuvent être plus ou moins métabolisés, pour les AINS par exemple, dont l'Ibuprofène et le Kétoprofène font partie, le Naproxène présente un pourcentage de 70% (Aminot, 2013).

Ainsi, les quantités de médicaments rejetées dans l'environnement peuvent être estimées en tenant compte du taux d'excrétion par l'organisme du patient. C'est ce que propose l'EMA dans la phase 2 de la procédure pour l'évaluation du risque environnemental pour les molécules pharmaceutiques à usage humain. Dans cette ultime phase, un calcul de concentration environnementale est proposé qui tient compte de la métabolisation des médicaments mais également de leur dégradation dans les STEU (Besse, 2010). La dégradation des RM dans les STEU n'est pas stable. Dans le paragraphe suivant, les principaux facteurs responsables de la fluctuation des processus de dégradation dans les STEU sont présentés. Cette thèse est ciblée sur cette partie du cycle de vie des médicaments c'est-à-dire, après leur rejet dans les eaux usées brutes.

2.3 Dégradation des médicaments en STEU

Les eaux usées urbaines sont rejetées dans le milieu naturel après traitement en STEU. La dégradation des RM dans les STEU varie dans le temps en fonction notamment des conditions météorologiques. Les processus de traitement utilisés ont également un impact sur le rendement d'élimination des RM dans les STEU.

En général, dans une STEU, on distingue deux lignes différentes : la ligne des eaux et la ligne des boues. La ligne des eaux comprend trois stades, les deux premiers sont présentés dans la figure 7. Il s'agit :

- du traitement primaire : processus physique utilisé pour éliminer une partie des molécules organiques. Cela comprend le dégrillage, le dessablage, le dégraissage (ou déhuilage) et la décantation primaire ;
- du traitement secondaire : processus le plus souvent biologique mais quelque fois remplacé ou couplé à une voie physico-chimique. Ce traitement est utilisé pour

éliminer les molécules organiques sédimentaires et non sédimentaires contenues dans la phase aqueuse. Ce traitement secondaire comprend l'aération (ou oxygénation) et la décantation secondaire ;

- le traitement tertiaire : réalisé sur l'effluent à la sortie de la décantation secondaire. Il permet d'obtenir un traitement complémentaire aux traitements primaire et secondaire. Il comprend des traitements spéciaux (osmose inverse, bioréacteur à membrane, ...) pour diminuer le contenu des molécules qui n'ont pas été éliminées par les traitements primaire et secondaire. L'ensemble de ces traitements (primaire, secondaire et tertiaire) ont pour objectif de tendre vers une épuration des eaux.

De nombreuse STEU cumulent aujourd'hui les traitements primaires et secondaires, certaines, plus rares, utilisent des traitements tertiaires.
Dans la ligne des boues sont traitées toutes les boues produites pendant les phases de décantation de la ligne des eaux. Le but de cette ligne est d'éliminer la quantité élevée d'eau contenue dans les boues et d'en réduire le volume. L'objectif ici est également de stabiliser le matériel organique et de détruire les organismes pathogènes présent de façon à rendre le produit final moins dangereux pour l'environnement.

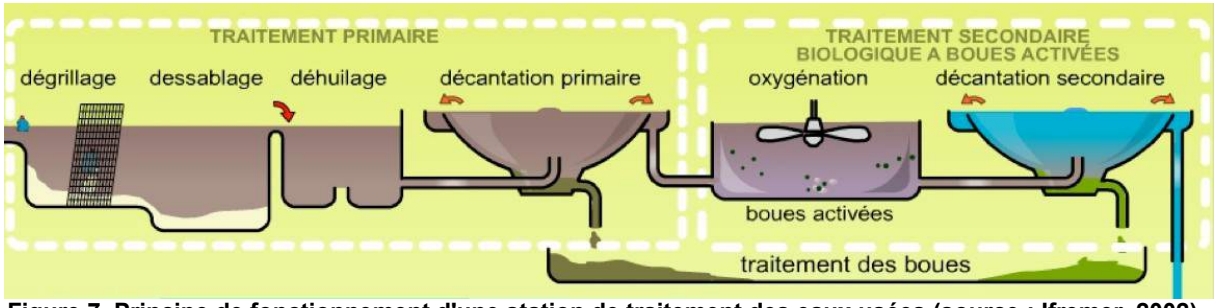


Figure 7. Principe de fonctionnement d'une station de traitement des eaux usées (source : Ifremer, 2002).

Il existe deux processus biologiques utilisables dans le traitement secondaire, le traitement par culture libre ou fixée. Avec les cultures libres, les bactéries évoluent librement dans les eaux usées, c'est le cas par exemple des boues activées ou des lagunages. Dans le cas des cultures fixées, les bactéries sont fixées sur un support, par exemple les disques biologiques, les filtres à sables ou les lits bactériens. En France, 60% des STEU sont des stations d'épuration à boues activées (IRSTEA, 2014). Ces dernières sont considérées comme des stations conventionnelles pour le traitement des eaux usées (Roig *et al.*, 2009). Les STEU n'ont pas été conçues pour éliminer les micropolluants dont les RM font partie. Dans le cadre du projet AMPERES, les travaux de recherches réalisés sur des STEU conventionnelles ont montré une dégradation incomplète des RM avec des rendements

d'élimination de la phase dissoute qui oscillaient entre moins de 30% et plus de 70% en fonction des molécules (Coquery, Choubert et Miège, 2010). Les rendements d'élimination des procédés biologiques dépendent ainsi des molécules. Les molécules organiques contenues dans l'effluent primaire peuvent être dégradées par les bactéries, adsorbées à la surface des flocs ou rester dissoutes dans le liquide interstitiel (Pomiès *et al.*, 2013). La part de ces phénomènes dépend des propriétés physico-chimiques propre à chaque molécule (Pomiès *et al.*, 2013). L'élimination des RM varie également en fonction des processus de traitement utilisés (Roig *et al.*, 2009). Radjenovic *et al.* (2009) ont comparé les traitements par boues activées et bioréacteurs à membrane pour 31 médicaments. Ils ont montré un rendement d'élimination sensiblement amélioré avec les bioréacteurs à membrane (Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2009). De plus, même si les eaux traitées par de la nanofiltration et de l'osmose inverse peuvent encore présenter des molécules récalcitrantes, ces technologies donnent de bons résultats dans la dégradation des RM (Fatta-Kassinos, Meric et Nikolaou, 2011). D'autres facteurs influencent la dégradation des composés pharmaceutiques dans les stations d'épuration. Il s'agit du temps de rétention hydraulique, du temps de séjour des boues (Roig *et al.*, 2009 ; Pomiès *et al.*, 2013) et de la température (Pomiès *et al.*, 2013). L'influence de la température suggère une variation saisonnière des rendements d'élimination. Certains auteurs ont démontré que les taux d'élimination en STEU étaient plus faibles en hiver qu'en été. Deux éléments peuvent expliquer cette variabilité saisonnière, l'augmentation des consommations de certains médicaments en hiver (McArdell *et al.*, 2003 ; Gracia-Lor *et al.*, 2012), qui engendre une augmentation des quantités de RM entrant dans les STEU, et la diminution des activités microbiennes due à l'abaissement des températures durant la saison hivernale (McArdell *et al.*, 2003 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2005 ; Castiglioni *et al.*, 2006). Les périodes de pluie peuvent également avoir un impact sur les capacités épuratrices des STEU puisqu'elles sont responsables de la réduction des activités microbiennes, de la perturbation des processus d'adsorption et de floculation et de la diminution des temps de résidences (Ternes, 1998 ; Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007).

Ainsi, les quantités de RM à l'entrée et la sortie des STEU varient en fonction des consommations, des saisons et des évènements météorologiques ponctuels tels que l'abaissement des températures et les évènements pluvieux (Heberer, 2002a ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2005 ; Gros *et al.*, 2010 ; Gracia-Lor *et al.*, 2012 ; Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013 ; Fairbairn *et al.*, 2016). Mais les concentrations environnementales de RM sont aussi contrôlées par les processus biotiques et abiotiques intrinsèques aux milieux aquatiques. Le paragraphe ci-dessous présente ces mécanismes naturels qui ont un rôle

essentiel dans le maintien de l'équilibre des écosystèmes.

2.4 Dégradation des médicaments dans les milieux naturels

Les processus biotiques (dégradation microbienne) et abiotiques (hydrolyse, adsorption, photolyse, dilution, ...) inhérents aux environnements aquatiques, et particulièrement aux eaux de surface, régulent les molécules qui sont rejetées dans ces milieux (Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2005). De nombreux médicaments sont ainsi susceptibles de réagir en milieux aqueux sous l'action d'agents biologiques, chimiques ou physiques. De ce fait, une fois rejetés dans les environnements aquatiques récepteurs des rejets anthropiques, les concentrations de certains RM peuvent diminuer. Dès leur entrée dans les milieux aquatiques, les RM et, plus globalement, les molécules exogènes, subissent une dilution qui permet l'atténuation de leurs concentrations (Gros *et al.*, 2010 ; Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013 ; Fairbairn *et al.*, 2016). De plus, soumis au rayonnement solaire, les RM peuvent subir une dégradation photochimique. En fonction des molécules, la photodégradation sera plus ou moins importante et des différences peuvent être observées au sein d'une même famille thérapeutique. C'est le cas des benzodiazépines, où le Lorazépam subit une photodégradation rapide avec un temps de demi-vie inférieur à une journée d'été ensoleillée alors que l'Oxazépam, le Diazépam, et l'Alprazolam, sont plutôt résistants à la photodégradation avec des temps de demi-vie respectivement égaux à 4, 7 et 228 jours (Calisto, Domingues et Esteves, 2011). En ce qui concerne les AINS, le Naproxène et le Diclofénac sont rapidement photodégradés, avec des demi-vies respectivement égales à 42 et 39 minutes, alors que l'Ibuprofène est photostable en raison de sa faible absorbance aux longueurs d'onde du spectre solaire (Packer *et al.*, 2003). Dans le cas du Bézafibrate et du Gemfibrozil, la photolyse engendre un dégradation de seulement 10% des molécules après 200 heures, ce qui permet de qualifier ces molécules de photostables (Cermola *et al.*, 2005). Les médicaments sont généralement présents sous forme ionisées dans les milieux aquatiques naturels ce qui complexifie les interactions entre les molécules et la phase solide (Fatta-Kassinos, Meric et Nikolaou, 2011). Aux pH des eaux naturelles, les RM possédant des pKa élevés sont positivement chargés et des interactions (cationiques, complexation, liaison hydrogène) peuvent affecter leur devenir (Silva *et al.*, 2011). Quoi qu'il en soit, l'adsorption des pharmaceutiques dépend des propriétés physico-chimiques des molécules et des matières en suspension (Silva *et al.*, 2011). Les antibiotiques appartenant à la famille des quinolones subissent, une fois rejetés dans le milieu naturel, une photo-transformation et une adsorption sur le sédiment (Golet, Alder et Giger, 2002). Cependant, les caractéristiques des quinolones indiquent que l'adsorption sur le sédiment est principalement responsable de

la diminution de leurs concentrations dans la phase dissoute (Golet, Alder et Giger, 2002). Pour certaines molécules, la proportion d'analytes portés par la phase particulaire peut atteindre 100% (Silva *et al.*, 2011). Lorsqu'elles sont soumises à des processus de dégradation biotique, certaines molécules pharmaceutiques, dont les quinolones, sont considérées comme persistantes (Golet, Alder et Giger, 2002). Ces dégradations par voie biologique, nommées aussi biodégradation, concernent les phénomènes de dégradation par les micro-organismes. Ces processus de biodégradation, particulièrement ceux liés aux activités microbiennes dans les biofilms naturels des rivières, ont la capacité de dégrader des molécules organiques dont les RM font partie (Winkler, Lawrence et Neu, 2001 ; Golet, Alder et Giger, 2002 ; Calamari *et al.*, 2003 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2005).
Les phénomènes d'atténuation in situ, qu'ils soient biotiques ou abiotiques, contribuent de façon plus ou moins importante à la préservation de la qualité des environnements aquatiques (Calamari *et al.*, 2003). Ainsi, une fois rejetés dans l'environnement, les concentrations des RM peuvent diminuer via des processus de dilution, photodégradation, biodégradation, ... (Kümmerer, 2004 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2005 ; Luo *et al.*, 2011 ; Deblonde, 2013). Ce processus de régulation, aussi appelé auto-épuration, est un service écosystémique intrinsèque aux milieux aquatiques qui est positivement corrélé à la qualité des milieux. C'est-à-dire que ce processus naturel sera d'autant plus important que la qualité des eaux sera grande (Maes *et al.*, 2016). Il est important de préciser que la dégradation des médicaments dans l'environnement est différente de celle observée lors de la métabolisation humaine. En effet, la Carbamazépine et le Diazépam qui sont rapidement métabolisés dans le corps humain, sont très stables dans les environnements aquatiques (Pal *et al.*, 2010).

Dans ce chapitre, il a été montré que l'exposition des milieux aquatiques aux RM ne dépendait pas seulement des niveaux de consommations des médicaments. Certaines molécules peuvent présenter des concentrations environnementales relativement cohérentes avec les données de consommation alors que d'autres présentes des concentrations environnementales déconnectées des données de consommation. En dehors du fait que les données d'exposition et de consommation aient été comparées à de larges échelles temporelles et spatiales, d'autres paramètres peuvent expliquer les comportements des RM, depuis leur absorption par les patients jusqu'à leurs rejets dans l'environnement. Les taux d'excrétion renseignent sur les quantités de principes actifs excrétées par le patient après l'ingestion d'un médicament. Une fois excrétés, les RM se retrouvent dans les eaux usées via les urines et/ou les fèces. En fonction de leur propriétés physico-chimiques, certaines molécules pourront se retrouver dans les STEU sous forme inchangée et d'autres pourront être complètement dégradées dans le réseau avant même de les atteindre, ce sera

notamment le cas des molécules facilement hydrolysables. Une fois dans les STEU, les RM subissent différents traitements (primaire, secondaire et parfois tertiaire). Les traitements secondaires sont, la plupart du temps, biologiques mais ces derniers peuvent être couplés ou remplacés par des traitements physico-chimiques. En fonction des procédés utilisés, du temps de séjour hydraulique, du temps de résidence des boues et de la mise en place ou non d'un traitement tertiaire, les concentrations de RM dans les eaux usées traitées varient. Les rendements d'élimination de la phase dissoute des STEU varient également en fonction des conditions météorologiques et saisonnières. En effet, lors d'évènements pluvieux, les capacités épuratrices sont diminuées à cause d'une diminution des activités microbiennes et d'une diminution des temps de séjour. De plus, pendant la saison hivernale, certains médicaments voient leur consommation doubler et l'abaissement des températures engendre une diminution des activités microbiennes responsables de la dégradation des molécules organiques. Les STEU jouent donc un rôle important dans la libération des RM dans les milieux aquatiques récepteurs. Elles sont ainsi considérées comme les principales sources de rejets de médicaments dans l'environnement. La fluctuation des capacités épuratrices des STEU en fonction des traitements utilisés mais également du contexte géographique, météorologique et saisonnier entraine une variabilité temporelle des concentrations environnementales des RM rejetés dans les milieux récepteurs et donc des risques écotoxicologiques associés. Quant aux paramètres intrinsèques à chaque molécule, c'est-à-dire les taux d'excrétion et les propriétés physico-chimiques des molécules, ils sont stables dans le temps. Que ce soit dans les STEU ou les environnements aquatiques, les caractéristiques physico-chimiques des RM (pKa, log Kow, solubilité, …) ainsi que celles des milieux considérés (pH, luminosité, diversité bactérienne, …) dictent le comportement des molécules. En effet, des changements de pH dans le milieu récepteur peuvent modifier l'adsorption de certains RM sur la phase particulaire, l'augmentation des débits peut atténuer les concentrations, l'abaissement des températures peut diminuer les activités microbiennes responsables de la biodégradation, … Ainsi, comme pour les STEU, les capacités auto-épuratrices des cours d'eau varient dans le temps en fonction des conditions météorologiques et des saisons. C'est un élément de plus qui favorise les variabilités spatio-temporelles des concentrations environnementales des RM et donc des risques environnementaux associés. L'ensemble de ces éléments tend à complexifier l'évaluation de l'exposition mais, lorsque cela est possible, la prise en compte d'un maximum de ces informations permet de rapprocher les concentrations estimées aux concentrations réelles. Les autres rejets, essentiellement diffus (épandage des boues de STEU sur les sols agricoles, utilisation des médicaments dans le cadre de la médecine vétérinaire, …), et les difficultés analytiques, ont aussi leur part de responsabilité dans les incertitudes associées à

l'évaluation de l'exposition des milieux aquatiques aux RM, à partir des données de consommation. S'il a été montré que pour certaines molécules les données de consommation pouvaient être relativement cohérentes avec les données environnementales (fréquence de détection et /ou concentrations), pour certaines molécules, ces données ne sont pas suffisantes. Ainsi, le choix des molécules à mesurer dans le cadre de travaux de recherche doit veiller à prendre en compte un maximum de ces paramètres.

Les molécules pharmaceutiques sont biologiquement actives et affectent les mécanismes de contrôle des organismes vivants, par exemple, en régulant le métabolisme, en influant sur l'équilibre hormonal ou en atténuant la transmission de signaux entre les cellules. De ce fait, une fois rejetées dans l'environnement, ces molécules peuvent avoir un impact négatif sur la faune et la flore et altérer la santé des écosystèmes. Cet effet peut se produire par l'intermédiaire de divers mécanismes, parmi lesquels certains ont été démontrés en laboratoire et dans le cadre d'observation de terrain (Weber et al., 2014). Les risques écotoxicologiques associés à la présence de RM dans la Garonne dépendent de l'exposition du milieu à ces molécules ainsi que de leur danger potentiel. La variabilité spatio-temporelle des concentrations de RM, dans les STEU et l'environnement, mentionnées plus haut, se répercutent sur les risques écotoxicologiques associés à la présence de RM dans la Garonne. En d'autres termes, il existerait une variabilité spatio-temporelle des risques écotoxicologiques associés à la présence de RM dans la Garonne due à l'ampltitude des concentrations de RM dans les STEU et l'environnement. Ces travaux de recherches ont notamment cherché à mettre en évidence cette amplitude.
Le chapitre suivant s'intéresse aux méthodologies utilisées en écotoxicologie pour évaluer la dangerosité des produits chimiques dont les RM font partie.

Chapitre 5. Évaluation de la dangerosité des molécules

Ce chapitre présente les différentes méthodologies rencontrées dans la littérature scientifique et utilisées en écotoxicologie pour évaluer la dangerosité de produits chimiques.

Pour évaluer la dangerosité de produits chimiques, des tests écotoxicologiques, réalisés la plupart du temps en laboratoire, sont effectués. À partir de ces données brutes de laboratoire, des Predicted No Effect Concentrations (PNEC) sont définies. Ces PNEC constituent des valeurs de référence utilisées pour les évaluations des risques écotoxicologiques. Les différentes méthodologies utilisées pour les données brutes et les PNEC sont présentées dans ce chapitre.

1. Données brutes de laboratoire

Le danger d'une molécule est fonction de sa toxicité intrinsèque. Son absorption par un organisme vivant peut perturber son métabolisme, provoquant des troubles physiologiques pouvant aller jusqu'à la mort de l'individu. La dangerosité d'une molécule est estimée par des approches biologiques qui évaluent :

- les effets sur les populations *in situ* ;
- les effets sur les individus au moyen de bio-essais réalisés en laboratoire ;
- les effets au niveau moléculaire avec des biomarqueurs.

Globalement, les organismes vivants sont mis en contact avec les molécules à tester et les effets de cette exposition sont observés.

Les perturbations biologiques induites par les interactions complexes *in situ* ne peuvent pas être simulées en laboratoire. Ainsi, les causes des effets mesurés *in situ* ne peuvent pas être clairement identifiées et la part de responsabilité des RM dans les toxicités engendrées est donc difficilement mesurable. Dans ce chapitre, ce sont les méthodologies appliquées dans le cadre des bio-essais et de biomarqueurs qui sont présentées.

1.1 Bio-essais

Ce sont des tests de toxicité effectués en laboratoire au cours desquels une population d'organismes est exposée à des concentrations croissantes d'une molécule afin d'évaluer les niveaux de concentration provoquant des effets toxiques (figure 8). Ces tests sont réalisés en conditions biotiques (espèce, âge) et abiotiques (lumière, température, milieu de culture ou support d'élevage) contrôlées sur différentes échelles d'organisation biologique, depuis la cellule (*in vitro*) à la communauté (mésocosme) en passant par des organismes *in toto*. Ces tests sont la plupart du temps conduits sur des espèces représentatives des différents niveaux trophiques (algue, crustacé, poisson).

Plusieurs bio-essais sont disponibles et certains bénéficient de protocoles normalisés, en particulier les bio-essais sur organismes entiers. Cela permet, d'une part, de maîtriser au mieux les facteurs connus pour influer sur la réponse des organismes et, d'autres part, de comparer les résultats obtenus sur différents polluants.

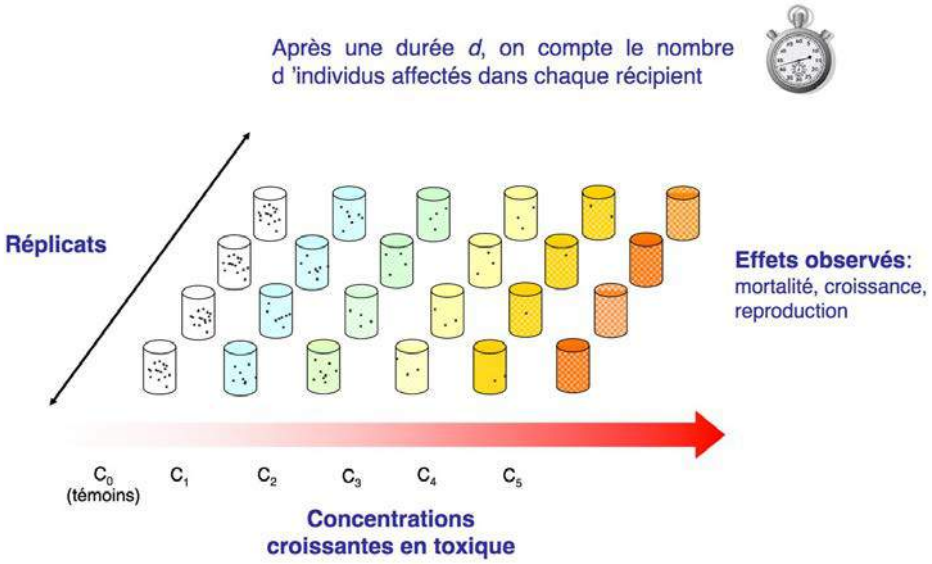


Figure 8. Principe des tests d'écotoxicité (source : INERIS, 2007)

Ces bio-essais sont essentiels à l'obtention d'informations sur les concentrations d'une molécule et les durées d'exposition qui induisent des effets sur la mortalité, la reproduction, la physiologie ou encore le comportement. Ils permettent d'établir des relations dose-réponse qui définissent divers indicateurs écotoxicologiques tels que les concentrations létales pour X % des individus exposés (CLX) ; les concentrations pour lesquelles des effets sont observés sur X% des individus exposés (CEX) ; les plus hautes concentrations en-dessous desquelles aucun effet n'a été observé (NOEC) ; les plus basses concentrations au-dessus desquelles des effets ont été observés (LOEC) ; … Ces différents indicateurs sont présentés dans la figure 9. Ils permettent de mesurer la toxicité des molécules étudiées.

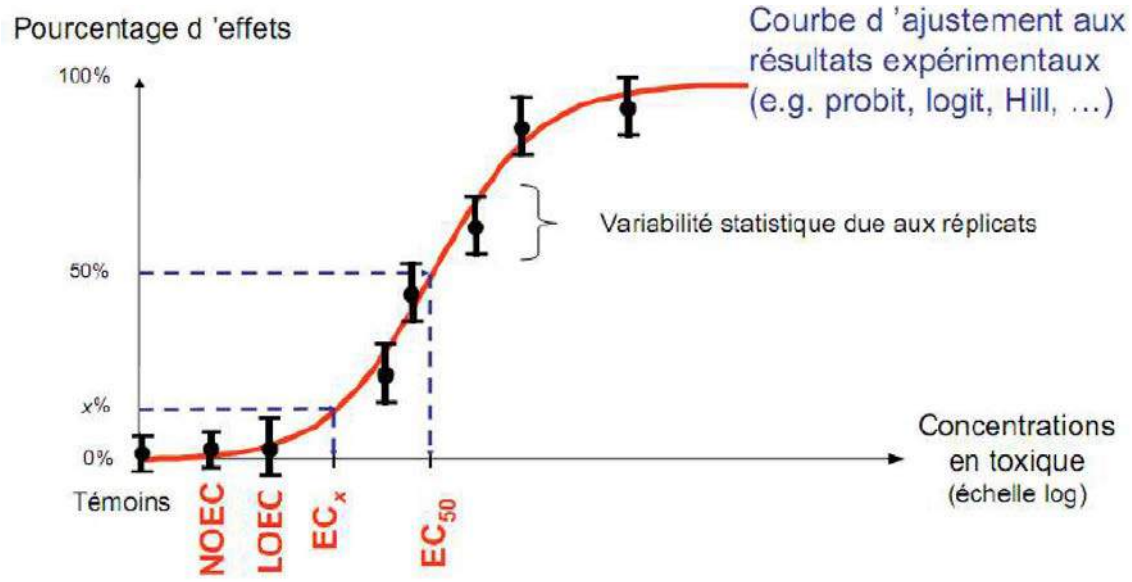


Figure 9. Courbe théorique de la relation dose-réponse (source : Payet, 2013).

Il existe deux types de toxicité, les essais de toxicité aiguë et les essais de toxicité chronique.

1.1.1 Essais de toxicité aiguë

Ces essais se déroulent pendant une brève période de la vie de l'organisme (de quelques heures à quelques jours en fonction du cycle de vie de l'organisme considéré). Ils sont rapides et peu couteux, ce qui explique le fait qu'ils soient les tests les plus couramment utilisés. Cependant, comme ces tests sont des essais à court terme, les concentrations utilisées pour produire un effet sont élevées. En général, sauf pour le cas de pollution ponctuelle, les concentrations environnementales de RM sont faibles, les effets potentiels seront donc visibles sur du long terme ce qui ne peut être mis en évidence par les essais de toxicité aiguë.

1.1.2 Essais de toxicité chronique

Contrairement aux essais de toxicité aiguë, les essais de toxicité chronique se déroulent sur une durée relativement longue de la vie de l'organisme considéré. Ces tests sont plus couteux mais ils permettent d'avoir une vision plus réaliste des nuisances engendrées par la présence de RM dans les environnements aquatiques. Les essais de toxicité chronique sont utilisés pour évaluer certains types de danger relatifs à la croissance, à la survie, à la reproduction et au développement de l'organisme testé. Les données de toxicité chronique sont plus difficiles à obtenir que les données de toxicité aiguë, et l'éventail des protocoles d'essai est moins normalisé.

1.2 Biomarqueurs

Les perturbations biologiques précoces induites par les interactions complexes *in situ* ne peuvent pas être simulées en laboratoire. Pour répondre à ce besoin, les biomarqueurs sur poissons, invertébrés et végétaux ont été développés.

Les biomarqueurs sont des mesures biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementales utilisés comme indicateurs écotoxicologiques qui intègrent la réponse d'un organisme à l'ensemble des conditions de son environnement, dont la contamination chimique. Il permet donc une évaluation des effets à l'échelle de l'individu. Ce sont des indicateurs sensibles à l'exposition de contaminants, ils sont donc utilisés comme signal précoce de la dégradation écologique. En plus de leur sensibilité, ils se caractérisent par un temps de réponse très court (heures, jours). Il n'y a pas que le stress chimique d'origine anthropique qui induit des réponses d'adaptation temporaire ou permanente au niveau biochimique ou physiologique chez les organismes vivants. L'ensemble de son environnement biotique et abiotique (habitat, nourriture, prédation, parasitisme), ou même sa dynamique de développement induisent également des mécanismes d'adaptation. Ainsi, le passage de l'état larvaire à l'état juvénile, l'acquisition de la maturité sexuelle, le statut reproducteur, la sénescence, jouent un rôle dans ces processus. De ce fait, la mise en œuvre de biomarqueurs et la fiabilité de leur interprétation, en terme de relation cause-effet ou de pronostic de risque, seront plus ou moins pertinentes selon les connaissances disponibles sur la biochimie et la physiologie de l'organisme sur lequel les mesures seront effectuées (GRAIE, 2009). Les mêmes indicateurs écotoxicologiques (CE50, NOEC, …) sont mesurés lors de tests effectués avec des biomarqueurs.
Les biomarqueurs mettent en évidence l'exposition ou les effets, d'un ou plusieurs contaminants. Il existe ainsi deux types de biomarqueurs. Les biomarqueurs d'exposition et les biomarqueurs d'effet.

1.2.1 Biomarqueurs d'exposition

Les biomarqueurs d'exposition indiquent que le polluant présent dans le milieu a pénétré dans l'organisme et active des mécanismes de régulation, d'adaptation et de défense. En réponse à une agression chimique, l'organisme mobilise son système de défense basé sur la sécrétion d'enzymes chargées d'éliminer le toxique avant qu'il ne se concentre dans l'organisme. Les biomarqueurs d'exposition sont une mesure du niveau d'expression de ces enzymes dans l'organisme et leur présence traduit une exposition à des agents polluants.

Des atteintes cellulaires, des anomalies chromosomiques et des échanges de chromatides peuvent également renseigner sur la présence de molécule mutagène et potentiellement cancérogène.

1.2.2 Biomarqueurs d'effet

Les biomarqueurs d'effets montrent qu'un xénobiotique est entré dans l'organisme et y a exercé un effet. Ils diagnostiquent un dépassement, éventuellement transitoire, des capacités de régulation de l'organisme et constituent un signal d'alerte d'apparition de perturbations du fonctionnement de l'organisme voire de sa population. Les biomarqueurs d'effet correspondent à des cibles moléculaires qui, lorsqu'elles sont atteintes, signifient que les mécanismes de défense ou de détoxication de l'organisme n'ont pas été suffisamment efficaces pour contrer l'action néfaste d'un xénobiotique. Les conséquences peuvent être parfois irréversibles, entraînant à terme la mort de l'animal ou bien une incapacité à se reproduire. De tels effets peuvent, par la suite, altérer la structure même des populations et donc des écosystèmes. Ces biomarqueurs peuvent être considérés comme des indicateurs de toxicité sur le long terme.

Faute de données expérimentales, les données de danger peuvent également être modélisées à partir des relations quantitatives structure-activité (QSAR).

1.3 Modélisation des dangers par des modèles QSAR

Les modèles QSAR sont des modèles d'estimation des effets de molécules à partir de leur structure moléculaire et de leur similarité avec d'autres molécules dont la toxicité aurait déjà été mesurée. Ces modèles sont recommandés par le règlement REACH pour limiter le recours aux expérimentations animales (Fayet, 2010). Le principe de telles méthodes est de mettre en place une relation mathématique pour une série de composés chimiques similaires à l'aide de méthodes d'analyses de données. Ces relations mathématiques relient de manière quantitative des propriétés moléculaires, aussi bien électroniques que géométriques, avec une observable macroscopique (activité biologique, toxicité, propriétés physico-chimique, …). L'objectif est donc d'analyser les données structurales afin de détecter des facteurs déterminants pour la propriété mesurée (Fayet, 2010). En pratique, le développement proprement dit d'un modèle débute par la collecte de données expérimentales fiables et en nombre le plus important possible. Il s'agit ensuite de développer une série de descripteurs qui caractérisent les structures moléculaires électroniques et géométriques des composés en vue de les relier à la propriété

expérimentale étudiée. Pour estimer son pouvoir prédictif, il est nécessaire de disposer de données expérimentales afin de déterminer la capacité du modèle à prédire ces valeurs (Fayet, 2010). Une fois cette relation mise en place et validée, elle peut alors être employée pour la prédiction des propriétés de nouvelles molécules pour lesquelles aucune valeur expérimentale ne serait disponible voire pour des molécules encore non synthétisées (Fayet, 2010). Des logiciels QSAR ont été développés dont le logiciel libre ECOSAR, de l'agence pour la protection de l'environnement des États-Unis (US-EPA), pour l'évaluation des effets sur les organismes aquatiques comme les poissons, les algues et les invertébrés (Hulzebos *et al.*, 2005). Ce modèle est le plus couramment utilisé au niveau mondial. En se basant sur la structure chimique et le log Kow, ECOSAR utilise une régression linéaire pour prédire l'écotoxicité des molécules. Depuis 1981, l'US-EPA utilise ce modèle pour prédire la toxicité des nouveaux composés chimiques lorsque ces derniers ne possèdent pas de données écotoxicologiques expérimentales. Dans le TGD proposé par l'agence européenne des produits chimiques, les modèles QSAR sont considérés comme des modèles fiables pour évaluer l'écotoxicité, la bio-accumulation et le Koc de nouvelles molécules (Hulzebos *et al.*, 2005). Cette modélisation concerne aussi bien les données de toxicité aiguë que les données de toxicité chronique. Cependant, comme la validation des modèles dépend de l'existence de données expérimentales (Hulzebos *et al.*, 2005), le nombre restreint d'essais de toxicité chronique engendre un nombre restreint de modélisation pour ce type de données. Ce sont donc essentiellement des toxicités aiguës qui sont prédites à partir du logiciel ECOSAR (Hulzebos *et al.*, 2005). Les données produites par le logiciel ECOSAR présentent un taux de performance de 87-90% par rapport aux données mesurées et ce pour plus de 2000 molécules (Sanderson, 2003). Les données produites par ce genre de modèles sont donc relativement fiables et le choix a été fait d'intégrer ces données dans la BDD développée pour ces travaux de recherches. Comme pour les bio-essais et les biomarqueurs, les données modélisées présentent les indicateurs de toxicité suivants : CE50, NOEC, …

2. PNEC

Pour l'Evaluation du Risque Environnemental (ERE), ce sont les Predicted No Effect Concentrations (PNEC) qui sont utilisées pour définir le seuil de danger. Ces données sont généralement calculées à partir de données de toxicité provenant de bio-essais ou de modélisations QSAR. Il existe deux méthodes pour le calcul des PNEC.

1. Utilisation de facteurs d'extrapolation, lorsqu'un nombre restreint de données de toxicité est disponible. Ces facteurs de sécurité sont appliqués afin de permettre

l'extrapolation des données obtenues en conditions biotiques et abiotiques contrôlées à l'environnement.

2. Utilisation d'une méthode statistique, lorsqu'un grand nombre de données est disponible.

2.1 Méthode des facteurs d'extrapolation

Cette méthode consiste, pour une molécule donnée, à utiliser les résultats des tests de toxicité effectués en laboratoire sur l'espèce la plus sensible, et d'y appliquer (division) un facteur d'extrapolation. Les objectifs sont de pouvoir extrapoler à l'ensemble d'un écosystème les effets observés sur une espèce sensible et de prédire une concentration en-dessous de laquelle il est peu probable qu'un effet inacceptable ne se produise. Les facteurs d'extrapolation sont définis par la réglementation et dépendent de l'abondance et la nature des données disponibles pour une molécule donnée (tableau VII). Cette méthodologie est décrite dans le chapitre 2 de la partie « Matériels et Méthodes » du manuscrit.

Tableau VII. Facteurs de sécurité utilisés par la procédure du Technical Guidance Document (TGD) (Cf. page 89) . CE(L)50 : Concentration Efficace (Létale) pour 50% des organismes testés; NOEC : No Observed Effect Concentrations ou plus petite concentration pour laquelle aucun effet n'est observé.

Données disponibles	Facteur de sécurité
Au moins une $CE(L)_{50}$ aiguë pour chacun des trois niveaux trophiques (algues, invertébrés, poissons)	1 000
Une NOEC long terme (invertébré ou poisson)	100
Deux NOEC long terme pour deux niveaux trophiques différents (algue et/ou invertébré et/ou poisson)	50
NOEC long terme pour au moins trois niveaux trophiques différents (algue et/ou invertébré et/ou poisson)	10

Lorsqu'un grand nombre de données d'écotoxicité est disponible, une PNEC peut être déterminée statistiquement. Même si les données de toxicité pour les médicaments, surtout sur le long terme, ne sont parfois pas nombreuses, certains auteurs ont pu utiliser cette méthode, présentée ci-dessous.

2.2 Méthode statistique

Cette méthode statistique se base sur la courbe de sensibilité des espèces (SSD) (figure 10). Cette procédure suppose que les données de toxicité disponibles pour les différentes

espèces sont distribuées suivant une loi statistique connue. Dans la mesure du possible, ce sont les NOEC qui sont utilisées pour construire la courbe SSD (Caquet, 2012). Lorsque plusieurs valeurs de NOEC sont disponibles pour une même espèce, si ce nombre est inférieur ou égal à 3, alors la valeur la plus faible est choisie, si le nombre de données est 4 ou plus, c'est la moyenne géométrique de ces NOEC sur le critère d'effet le plus sensible qui est utilisée (Tissier et Marchand, 2007 ; Caquet, 2012). Au niveau européen, le TGD préconise de n'utiliser cette méthode que s'il existe au moins 10 (de préférence 15) NOEC de toxicité chronique et déterminées sur des espèces différentes appartenant à huit groupes taxonomiques différents (European Chemicals Bureau, 2003). À partir de cette courbe SSD, une valeur de référence est déterminée, elle correspond au 5ème percentile de la distribution de ces données (HC5 : Hazardous Concentration for 5% species). La PNEC correspond à cette valeur de référence divisée par un facteur d'extrapolation de 1 à 5 qui est déterminé au cas par cas (European Chemicals Bureau, 2003).

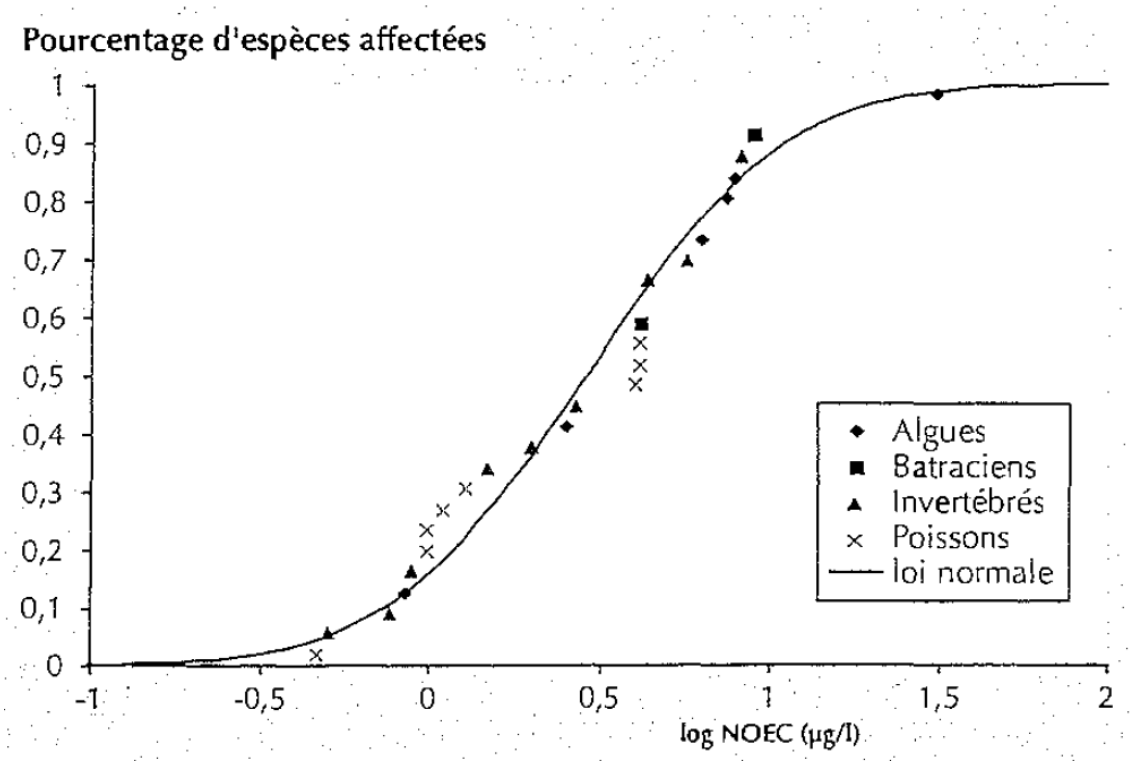


Figure 10. Courbe de distribution de sensibilité des espèce pour une molécule (source : Tissier et Marchand, 2007)

La prise de conscience de la contamination environnementale par les RM et leurs effets potentiels sur l'environnement ont conduit les à agir. Le chapitre suivant a pour objet la présentation des bases réglementaires pour l'évaluation des risques environnementaux de portée internationale, européenne et nationale.

Chapitre 6. Réglementation des résidus de médicaments

Ce chapitre présente les réglementations en vigueur au titre de la protection de l'environnement face à son exposition aux RM.

Dans cette partie, les bases réglementaires nationales et internationales et leur support technique respectif, qui décrivent les paramètres à calculer pour l'ERE, sont présentés.

La présence de RM dans l'environnement est avérée et les risques écotoxicologiques potentiels associés à la circulation de ces molécules dans le milieu naturel font de cette problématique un enjeu sociétal désormais pris en charge par les institutions. Ainsi, les États offrent, de manière directe ou indirecte, un cadre réglementaire et législatif afin de gérer les risques environnementaux associés aux rejets de RM dans l'environnement. En support à ces dispositions réglementaires, des guides techniques ont été développés. Ces documents décrivent, entre autres, les paramètres à calculer pour l'Évaluation du Risque Environnemental (ERE) et leurs équations respectives.

Dans cette partie, les bases réglementaires et législatives des États-Unis et de l'Union Européenne (UE) ainsi que les démarches proposées, sans entrer dans le détail des formules, sont présentées.

1. États-Unis

Aux États-Unis, le Federal Food, Drug and Cosmetic Act, a mené à la création de l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux, ou Food and Drug Administration (FDA). La FDA est notamment responsable de la surveillance et de la régulation de l'approbation de nouveaux médicaments sur le territoire des États-Unis. Une branche spécialisée de la FDA, le centre d'évaluation et de recherche sur les médicaments, ou Center for Drug Evaluation and Research (CDER), a notamment pour mission de s'assurer de la sécurité et de l'efficacité des médicaments mais aussi de leur impact sur l'environnement. Ainsi, une procédure d'ERE a été développée pour les nouveaux médicaments mis sur le marché (FDA, 1998). Depuis 1995, le CDER a élaboré une nouvelle directive prévoyant que « *même les anciennes spécialités pharmaceutiques devraient être soumises à cette réglementation lors de leur renouvellement [d'autorisation de mise sur le marché] afin de minimiser l'impact éventuel des médicaments sur l'environnement* » (Académie nationale de Pharmacie, 2008). La méthodologie proposée par la FDA pour l'ERE associée aux composés pharmaceutiques se décompose en plusieurs phases (figure 11). La première consiste à évaluer les mécanismes de dégradation de la molécule dans les milieux concernés. Si la molécule est rapidement éliminée, alors, seul un test d'inhibition microbienne est requis afin d'évaluer l'impact sur les STEU. Dans le cas contraire, une Expected Introductory Concentration (EIC) devra être calculée. Si la EIC calculée est inférieure à 10 $ng.L^{-1}$dans les effluents ou 100 $ng.L^{-1}$[a] dans les eaux de surface, que les résultats du test d'inhibition microbienne n'indiquent pas de risque potentiel et si le log Kow est inférieur ou égal à 3,5, la molécule est considérée comme présentant un impact

a Valeur déterminée à partir de résultats de tests d'écotoxicité aiguë.

négligeable sur l'environnement. Dans les autres cas, des évaluations de risque par quotient $CE(L)_{50}$[a]/MEEC[b] sont réalisées. En fonction de la complexité du test, la valeur seuil de ces rapports varient entre 10 et 1 000 (Besse et Garric, 2007).

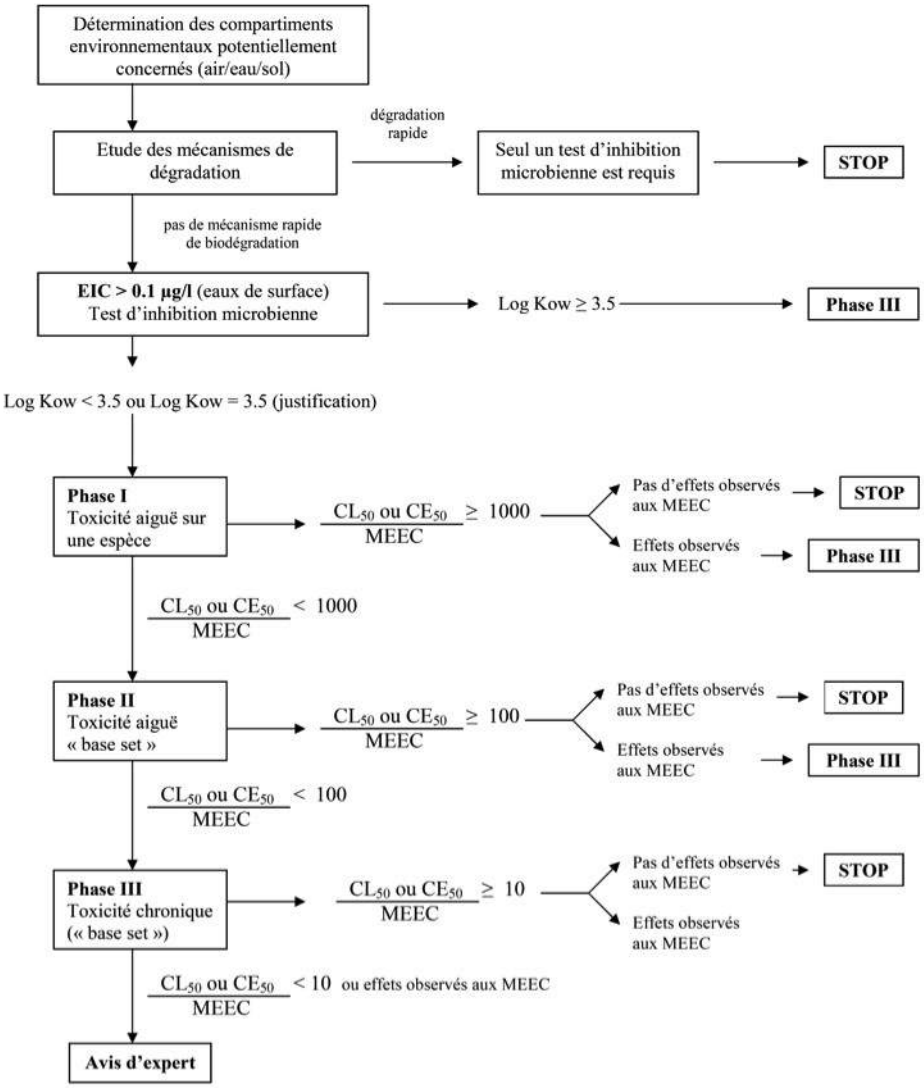


Figure 11. Schéma récapitulatif de l'approche proposée par la FDA (source : Besse et Garric, 2007)

2. Union Européenne

Différentes dispositions sont actuellement en vigueur au titre du droit communautaire. Ces dispositions concernent l'encadrement des conditions de mise sur le marché, des conditions d'utilisation en vue de préserver la santé publique et l'environnement, des activités de

a Concentration Efficace (Létale) pour 50% des organismes testés.
b Maximum Expected Environmental Concentration ou concentration maximale estimées dans le milieu récepteur.

production, de l'élimination des déchets et de la gestion des effluents (Académie nationale de Pharmacie, 2008). Ici, seules les dispositions ayant engendré le développement d'une méthodologie pour l'évaluation et/ou la prise en compte du risque environnemental sont présentées. Ces dernières sont régies par des règlements et directives concernant :

- les effluents et leurs impacts sur le milieu naturel, avec la Directive Cadre sur l'Eau ;
- les activités de production des composés chimiques, avec le règlement REACH[a];
- et la commercialisation des médicaments en Europe, avec les procédures d'autorisation de mise sur le marché.

2.1 Directive Cadre sur l'Eau

La Directive 2000/60/CE, ou Directive Cadre sur l'Eau (DCE), du Parlement européen et du Conseil, du 23 octobre 2000, établit un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau (Académie nationale de Pharmacie, 2008). Cette directive n'impose pas actuellement d'objectif ou de norme de qualité pour les RM, cependant, elle conduit les gestionnaires et les utilisateurs de l'eau à s'interroger *a priori* sur les conséquences de la contamination des eaux par ces molécules. En effet, la DCE fixe les critères pour l'atteinte du bon état des masses d'eau. Cela se traduit, entre autres, par la mesure du bon état chimique des masses d'eau permise par la surveillance des molécules prioritaires (Dulio, Morin et Staub, 2009). Ces molécules sont sélectionnées parmi celles qui présentent un risque significatif pour ou via l'environnement aquatique selon les critères définis à l'Article 16 de la DCE (Dulio, Morin et Staub, 2009). La première liste de molécules prioritaires a été adoptée en novembre 2001 avec la Décision 2455/2001/EC et est mise à jour tous les quatre ans (Dulio, Morin et Staub, 2009). L'Article 16, paragraphe 2, de la DCE précise également que « *La Commission soumet une proposition fixant une liste de substances prioritaires, sélectionnées parmi celles qui présentent un risque significatif pour ou via l'environnement aquatique… les priorités concernant les mesures à prendre à l'égard de ces substances sont établies sur la base du risque pour ou via l'environnement aquatique déterminé par une procédure simplifiée d'évaluation en fonction du risque, fondée sur des principes scientifiques et tenant particulièrement compte :*
- des données concernant le danger intrinsèque de la substance en cause et, en particulier, son écotoxicité aquatique et sa toxicité pour l'homme via les voies aquatiques d'exposition,
- des données de la surveillance attestant une contamination étendue de l'environnement, et
- d'autres facteurs éprouvés pouvant indiquer la possibilité d'une contamination étendue de l'environnement, tels que le volume de production ou le volume utilisé de la substance en

a Registration, Evaluation, Authorization, of Chemicals.

cause, et les modes d'utilisation. » De plus, la DCE oblige les États membres à identifier et inclure dans les programmes de surveillance une liste de polluants pertinents spécifiques au niveau national et des bassins versants (Dulio, Morin et Staub, 2009). Ces molécules doivent être sélectionnées sur la base, soit de leur présence en quantité significative, soit de leurs effets biologiques ou écotoxicologiques dans le bassin versant concerné (Dulio, Morin et Staub, 2009). Enfin, l'annexe VIII de la DCE établit une liste indicative des principaux polluants, notamment les « *substances et préparations, ou leurs produits de décomposition, dont le caractère cancérigène ou mutagène ou les propriétés pouvant affecter les fonctions stéroïdogénique, thyroïdienne ou reproductive ou d'autres fonctions endocriniennes dans ou via le milieu aquatique ont été démontrés* ».

2.2 Règlement REACH

La politique européenne sur les composés chimiques est basée sur la mise en place d'un système intégré d'enregistrement, d'évaluation, d'autorisation et de restriction des composés chimiques, REACH. Ce dernier oblige les entreprises qui fabriquent et importent des produits chimiques à évaluer les risques résultant de leur utilisation et à prendre les mesures nécessaires pour gérer tout risque identifié (Parlement européen, Conseil de l'Union européenne, 2007). Les procédures du système REACH sont régies à l'échelle communautaire, par le Règlement 1907/2006/CE du Parlement européen et du Conseil, du 18 décembre 2006, concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des composés chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces molécules, instituant une agence européenne des produits chimiques (ECHA), modifiant la directive 1999/45/CE et abrogeant le règlement 793/93/CEE du Conseil et le règlement 1488/94/CE de la Commission ainsi que la directive 76/769/CEE du Conseil et les directives 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE et 2000/21/CE de la Commission (Parlement européen, Conseil de l'Union européenne, 2007). À l'exception des titres III, IV et VIII du règlement REACH, les dispositions de ce dernier ne sont pas applicables aux molécules utilisées dans des médicaments à usage humain et vétérinaire. Cependant, la mise en œuvre de ce règlement impose une évaluation du risque chimique afin d'assurer la protection de la santé humaine et celle de l'environnement. Or, pour permettre la mise en œuvre d'une procédure commune à l'ensemble des États membres de l'Union Européenne, un guide méthodologique a été développé, le Technical Guidance Document (TGD) (European Chemicals Bureau, 2003). Ce dernier a servi de base pour le développement d'une méthodologie d'ERE spécifique aux molécules pharmaceutiques et appliquée à l'échelle communautaire (Besse, 2010). Cette dernière est présentée un peu plus loin dans ce chapitre. Les modalités de l'évaluation de la sécurité

chimique d'une molécule, sont exposées dans l'Annexe I du Règlement 1907/2006/CE et complétées par le TGD élaboré par l'ECHA. Selon cette annexe, les étapes nécessaires à l'évaluation de la sécurité chimique d'une molécule peuvent se résumer en trois phases :

- l'évaluation des dangers ;
- l'évaluation de l'exposition ;
- et la caractérisation du risque.

2.2.1 Évaluation des dangers

Cette étape consiste à identifier une concentration en-dessous de laquelle il ne devrait pas y avoir d'effet nocif pour l'environnement. Cette concentration est appelée « concentration prédite sans effet » (PNEC pour Predicted No Effect Concentration). Une PNEC est définie pour chacune des molécules considérées à partir de données disponibles sur l'écotoxicité de ces dernières. Ces données sont issues de résultats de tests de toxicité aiguë ou chronique effectués en laboratoire en conditions contrôlées. Selon le TGD, les données utilisées doivent être obtenues sur un certain nombre d'espèce représentative du milieu considéré. Pour les milieux aquatiques, le jeu de données doit représenter les espèces vivant à au moins trois niveaux trophiques différents (algues, invertébrés et poissons) (Tissier et Marchand, 2007). Lorsque des données fiables de toxicité sont disponibles, ce sont les résultats des essais sur l'espèce la plus sensible, autrement dit les plus faibles valeurs écotoxicologiques, assortis d'un facteur d'extrapolation, qui déterminent la PNEC (Tissier et Marchand, 2007). L'application d'un facteur d'extrapolation, aussi appelé facteur de sécurité, prend en compte un certain nombre d'éléments objectifs et aléatoires : l'amplitude des données, l'extrapolation du court terme au long terme, l'extrapolation des données du laboratoire au milieu naturel, l'extrapolation des données provenant d'un petit nombre d'espèces testées à une grande diversité dans l'environnement (Tissier et Marchand, 2007). Les facteurs d'extrapolation sont définis en fonction de l'abondance et la nature des données disponibles : moins il existe d'information sur la dangerosité de la molécule considérée, plus l'incertitude et le facteur de sécurité sont élevés (tableau VII) (Gourlay-Francé *et al.*, 2011).

2.2.2 Évaluation de l'exposition

L'évaluation de l'exposition a pour objectif d'établir une estimation de la concentration d'une molécule à laquelle l'environnement est ou peut être exposé. Cette évaluation se fait sur la base des quantités produites, de l'estimation des rejets dans l'environnement et des propriétés de la molécule (Tissier et Marchand, 2007). Une concentration environnementale prévisible (PEC) est ainsi estimée. Elle est équivalente à l'EIC et comparable à la MEEC de

la procédure proposée par la FDA (Besse et Garric, 2007).

2.2.3 Caractérisation des risques

Le principe repose sur la relation entre les effets indésirables d'une molécule sur des organismes représentatifs du milieu considéré et son niveau de contamination connu ou prévisible dans l'environnement (Tissier et Marchand, 2007). Ainsi, la caractérisation du risque est évaluée par la mise en relation de l'exposition et des effets potentiels, c'est-à-dire par le rapport PEC/PNEC. Si ce rapport est supérieur à 1, il est considéré qu'il existe un risque potentiel pour l'environnement (Besse et Garric, 2007 ; Tissier et Marchand, 2007).

2.3 Autorisation de Mise sur le Marché (AMM)

Pour être commercialisé en Europe, un produit pharmaceutique doit disposer d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Une AMM est octroyée soit par la Commission Européenne (CE), après évaluation par le Comité des médicaments à usage humain (CHMP) de l'Agence européenne des médicaments (EMA), soit par l'Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé (ANSM), pour les demandes d'AMM limitées au territoire français. Les procédures d'AMM des produits pharmaceutiques utilisés pour la médecine humaine ou animale sont régies par :

– le Règlement (CE) n° 726/2004 du Parlement européen et du Conseil, du 31 mars 2004 qui établit les procédures communautaires pour l'autorisation et la surveillance en ce qui concerne les médicaments à usage humain et vétérinaire, et qui institue l'EMA (Dulio, Morin et Staub, 2009) ;

– les Directives 2001/82/CE et 2001/83/CE du Parlement européen et du Conseil, du 6 novembre 2001 qui instituent respectivement un code communautaire relatif aux médicaments à usage vétérinaire et aux médicaments à usage humain (Dulio, Morin et Staub, 2009).

2.3.1 Contenu du dossier pour la délivrance de l'AMM

La délivrance d'une AMM est fondée sur l'évaluation du dossier d'AMM qui vise à démontrer la qualité, la sûreté et l'efficacité du médicament. Depuis peu, la notion de sûreté a été étendue aux effets sur l'environnement (Bouvier, Durand et Guillet, 2010). En effet, en accord avec les dispositions des directives 2001/82/CE et 2001/83/CE, une ERE est désormais nécessaire pour toutes les demandes d'AMM (Dulio, Morin et Staub, 2009). Cette obligation d'ERE est apparue progressivement dans le droit communautaire et n'a ainsi été

effective que pour les dossiers d'AMM déposés à partir de décembre 2006 (Bouvier, Durand et Guillet, 2010). L'une des conditions pour la délivrance de l'AMM est liée à l'appréciation du rapport bénéfice-risque. Pour les médicaments à usage humain, ce rapport est défini comme l'évaluation des effets thérapeutiques positifs du médicament au regard du risque pour la santé du patient ou la santé publique (Bouvier, Durand et Guillet, 2010) et exclut le risque pour l'environnement. Cela signifie que l'impact d'un médicament à usage humain sur l'environnement n'est pas un critère d'interdiction à sa mise sur le marché (Dulio, Morin et Staub, 2009 ; Bouvier, Durand et Guillet, 2010). Pour les médicaments à usage vétérinaire, le rapport bénéfice-risque prend en compte l'impact de ces derniers sur l'environnement (Bouvier, Durand et Guillet, 2010). En dépit de ces différences, quels que soit les usages, humain ou vétérinaire, les directives précisent que si un médicament impacte l'environnement, alors des mesures appropriées doivent être prises afin de limiter cet impact (Dulio, Morin et Staub, 2009).

2.3.2 Lignes directrices de l'évaluation du risque environnemental

Les modalités de l'ERE pour les médicaments à usage humain sont fixées par des lignes directrices élaborées par l'EMA (EMA, 2006) et regroupées dans un guide d'application (Bouvier, Durand et Guillet, 2010). Ce guide, révisé en 2006 et dérivé de la méthodologie proposée dans le TGD, considère les risques pour l'environnement associés à l'utilisation, le stockage et le rejet de médicaments et non pas les risques associés à la production (Besse et Garric, 2007 ; Dulio, Morin et Staub, 2009). La méthodologie proposée par l'EMA est constituée de plusieurs phases (figure 12). Dans un premier temps, une PEC est calculée à partir des quantités de médicaments consommés sur une année (Besse et Garric, 2007). À la différence de l'ERE réalisée pour les molécules chimiques, les PEC calculées sont comparées à 10 $ng.L^{-1}$, valeur limite maximale considérée admissible dans le milieu (Besse et Garric, 2007). Dans le cas où les molécules peuvent exercer des effets toxiques sur les organismes non-cibles à des concentrations inférieures à ce seuil, ce dernier peut ne pas être pris en compte (Besse et Garric, 2007). Pour les autres molécules, si leurs PEC sont supérieures à 10 $ng.L^{-1}$, les PEC sont affinées en tenant compte uniquement des données de consommation (étape 2A). Puis, de nouvelles PEC sont calculées prenant en compte la métabolisation des médicaments dans l'organisme, leur dégradation dans les STEU et leur adsorption sur les matières en suspension (MES) (étape 2B). Les valeurs de PNEC, qui déterminent le danger d'une molécule, sont dérivées à partir des données de toxicité chronique assorties d'un facteur de sécurité tenant compte des incertitudes existantes dans l'extrapolation de données de laboratoire à la réalité environnementale (Besse et Garric,

2007). Ce facteur est fixé à 10 et s'applique à la plus faible valeur de NOEC[a] (Besse et Garric, 2007). La procédure ne prend en compte que les données de toxicité chronique et propose de ne calculer de PNEC que lorsque trois valeurs de NOEC pour trois niveaux trophiques différents sont connues (Besse et Garric, 2007). La caractérisation du risque repose sur l'établissement du rapport PEC/PNEC. Si ce rapport est supérieur à 1, la molécule évaluée est considérée comme présentant un risque pour le milieu considéré.

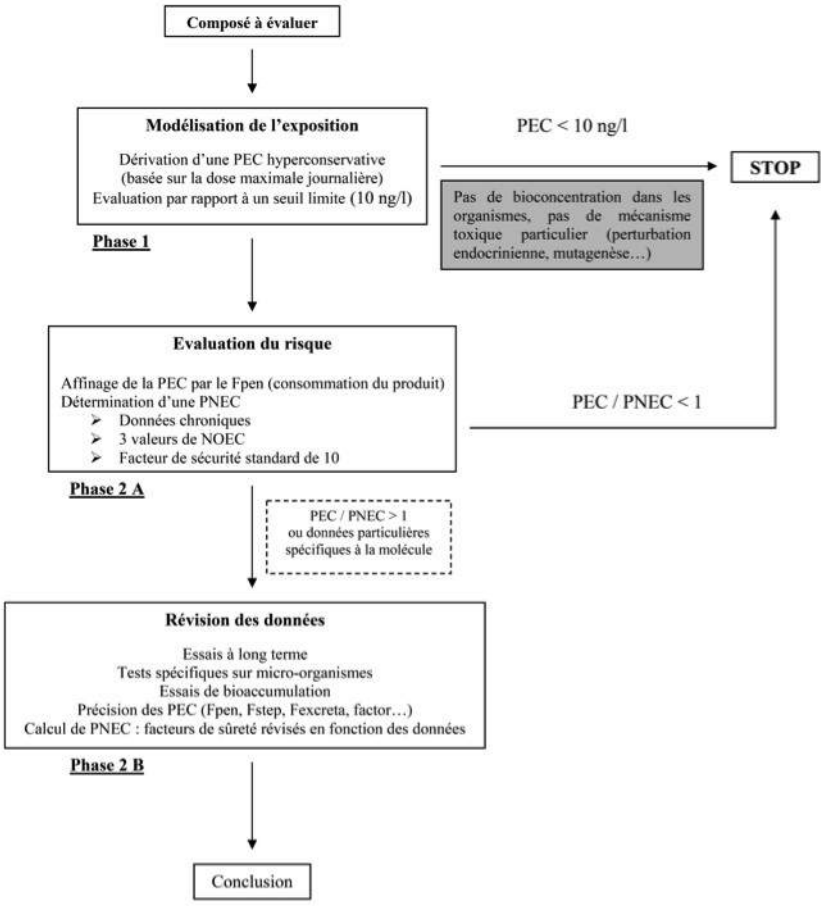


Figure 12. Schéma récapitulatif de la procédure EMA (source : Besse et Garric, 2007).

2.4 France

La France est régie par la réglementation de l'Union Européenne (UE). Elle doit ainsi répondre aux exigences définies :

- par la DCE ;
- par le règlement REACH ;

a No Observed Effect Concentration ou plus petite concentration pour laquelle aucun effet n'est observé.

- par les procédures de demande d'AMM, octroyée par l'Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé (ANSM) sur le territoire national.

Comme indiqué précédemment, chacune de ces dispositions réglementaires contribue à maitriser, de manière directe ou indirecte, l'impact des molécules pharmaceutiques sur l'environnement et la santé humaine. La maîtrise des risques liés aux résidus de médicaments dans l'eau fait également partie des conclusions des tables rondes du Grenelle de l'environnement (Cambou et Champredon, 2010).

Des actions sont ainsi menées au travers des plans nationaux pour prévenir les risques sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans l'environnement. L'action n°11 du Plan National Santé Environnement (PNSE 1) (2004-2008) visait, par exemple, à limiter les pollutions des eaux et des sols dues notamment aux perturbateurs endocriniens et aux molécules médicamenteuses (Cambou et Champredon, 2010). Les mesures 13 et 14 (chapitre A, plan prévention) du plan national de mobilisation contre le cancer 2003-2007, instauré par la loi n°2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique, ont renforcé la lutte contre les cancers professionnels et environnementaux, et recommandé notamment l'étude de résidus d'anticancéreux dans l'eau (Cambou et Champredon, 2010). La maîtrise des risques liés à la présence de résidus de médicaments dans l'eau proposée par le Grenelle de l'environnement est intégrée dans le PNSE 2 et fait l'objet d'une mention dans l'article 34 de la loi Grenelle 1 (Cambou et Champredon, 2010). Cette action s'inscrit également dans le plan d'action national contre la pollution des milieux aquatiques par les micropolluants présenté par le ministère en charge du développement durable, en Conseil des ministres le 13 octobre 2010 (Cambou et Champredon, 2010). Enfin, un Plan National sur les Résidus de Médicaments dans l'eau (PNRM) a été mis en place en 2011 pour améliorer la connaissance, évaluer les risques et réduire l'impact lié aux rejets de médicaments sur l'environnement (Kosciusko-Morizet et Delaporte, 2011).

3. Synthèse

La méthodologie d'ERE proposée par la FDA en 1998 est la plus ancienne des méthodologies. Ses bases sont les mêmes que celles des méthodologies proposées par l'ECHA en 2003 et l'EMA en 2006. Pour chacune de ces méthodes, la caractérisation du risque repose sur l'évaluation de deux critères : l'exposition et le danger. Cependant, les termes utilisés peuvent être différents en fonction des méthodologies considérées. Le tableau VIII regroupe les différentes terminologies utilisées dans le cadre des procédures d'ERE présentées ici. Ces dernières sont applicables aux médicaments à usage humain, mais il existe des guides techniques applicables aux médicaments à usage vétérinaire et

reposant sur les mêmes bases. L'application du guide technique proposé par l'EMA en 2006 ne se limite pas aux seuls États membres de l'UE. En effet, la Suisse a intégré dans son droit fédéral l'utilisation de cette méthodologie pour l'ERE. C'est dans l'article 44a de l'ordonnance sur les médicaments du 17 octobre 2001, qui régit l'autorisation de mise sur le marché des médicaments en Suisse, qu'il est précisé que « *Avant la première utilisation d'un principe actif pour médicament à usage humain, il y a lieu d'évaluer les risques pour l'environnement. L'évaluation s'effectue selon le guide du 1er juin 2006 pour l'évaluation du risque environnemental des médicaments à usage humain de l'Agence européenne des médicaments* » (Confédération Suisse, 2017).

Tableau VIII. Synthèse des critères d'ERE en fonction des méthodologies considérées.

	FDA, 1998 Food and Drug Administration - USA	**ECHA, 2003** European Chemicals Agency	**EMA, 2006** European Medicines Agency
Exposition	EIC ou MEEC	PEC	PEC
Danger	- Mécanisme de dégradation - Test d'inhibition microbienne - Lok Kow - CL50 ou CE50	PNEC	PNEC
Risque	(CL50 ou CE50)/MEEC	PEC/PNEC	PEC/PNEC

Avec le tableau ci-dessus, les méthodologies proposées par l'ECHA et l'EMA peuvent paraitre relativement proches, cependant, des différences existent et les deux principales sont présentées dans le tableau IX.

Tableau IX. Principales différences entres les méthodologies proposées par l'ECHA et l'EMA.

	ECHA, 2003	**EMA, 2006**
Application	Composés chimiques	Médicaments
Définition PNEC	Toxicité aiguë ou chronique assortie d'un facteur de sécurité variant de 10 à 1 000 (tableau VII)	Toxicité chronique assortie d'un facteur de sécurité égal à 10.

Le tableau IX suggère que la procédure définie par l'EMA serait la plus appropriée pour l'ERE liés à la présence de RM dans les milieux aquatiques. En effet, cette structure s'adresse spécifiquement aux médicaments alors que l'ECHA s'intéresse plus globalement aux composés chimiques. Cependant, l'EMA a restreint la définition des PNEC aux seules données de toxicité chronique assorties d'un facteur de sécurité égal à 10. Or, le manque de données sur les effets chroniques de ces molécules limite la définition des PNEC à un faible nombre de molécules pharmaceutiques. Dans le cadre de ces travaux, ce sont les règles proposées par l'ECHA qui ont donc été choisies pour l'ERE.

La présentation des différents cadres réglementaires et législatifs agissant de manière

directe ou indirecte sur les molécules pharmaceutiques, met en évidence la volonté des états de mettre en application le principe de précaution face aux potentiels risques écotoxicologiques associés à la présence de RM dans les milieux aquatiques. Pour soutenir les dispositions réglementaires mises en place pour la gestion de ces risques et permettre une harmonisation de l'évaluation des risques environnementaux, deux principales démarches ont été mises en place, l'une proposée par l'EMA, l'autre par la FDA. Ces démarches proposent d'utiliser des données conservatives et de prendre en compte quelques paramètres physico-chimiques des molécules pour évaluer l'exposition des milieux. Dans ce cas, les risques sont évalués à partir des pires cas d'exposition du milieu sans considérer les processus responsables de la régulation des concentrations dans le milieu naturel et les STEU. De cette façon, sur le long terme, une sur-estimation des risques est possible. Ces méthodologies peuvent donc être améliorées. En effet, la prise en compte de la variabilité spatio-temporelle des risques et donc de la probabilité d'occurrence de ces derniers est nécessaire à une estimation, la plus réaliste possible.

Le chapitre suivant fait le point sur les quelques travaux réalisés dans le cadre de cette problématique et l'originalité de l'approche utilisée dans ces travaux de thèse. Les objectifs et hypothèses sont exposés dans ce dernier chapitre.

Chapitre 7. Contexte et objectifs de l'étude

Ce chapitre traite des objectifs et hypothèses de la thèse.

Après avoir fait le point sur les travaux réalisés dans le cadre de cette problématique, l'originalité de l'approche utilisée dans ces travaux de thèse est présentée. Ensuite, les objectifs et hypothèses sont exposés dans ce dernier chapitre.

1. État des lieux des travaux de recherches

Un grand nombre de projets nationaux, tels que les projets AMPERES (Analyse de Micropolluants Prioritaires et Émergents dans les Rejets et des Eaux Superficielles) et ARMISTIQ (Amélioration de la Réduction des MIcropolluants dans les stations de traitement des eaux usées domeSTIQues), et internationaux, tel que le projet IRMISE (Impact des Rejets de Micropolluants Issus de Stations d'Épuration), sont menés sur la thématique des RM. De tels projets permettent de maintenir un état de vigilance sur cette problématique et d'adapter le cadre réglementaire. Plusieurs travaux ont été publiés. Ils se focalisent sur le danger, l'exposition et/ou la caractérisation des risques.

Pour la partie danger, des études écotoxicologiques réalisées en laboratoire ont montré que certains RM avaient un impact sur la reproduction, la croissance, l'alimentation, … de bactéries, d'algues, de poissons et d'invertébrés (Pascoe, Karntanut et Müller, 2003 ; Parrott et Blunt, 2005 ; Martinović *et al.*, 2007 ; Stanley *et al.*, 2007 ; Quinn, Gagné et Blaise, 2008). Que ce soit pour les RM ou pour les autres composés chimiques, en écotoxicologie, une même molécule peut présenter des valeurs de toxicité différentes en fonction de l'organisme testé et de l'effet observé. La diversité de ces données et leur dispersion dans l'ensemble des connaissances scientifiques ne favorise pas une ERE objective. Afin de regrouper les données d'écotoxicité disponibles et d'en faciliter l'accès, des Bases De Données (BDD) ont été créées.

Aux États-Unis en 1995, la division de l'écologie (MED) du laboratoire national de recherche sur les effets environnementaux et la santé (NHEERL) de l'agence de protection de l'environnement (US EPA) reçoit des fonds pour le développement d'une interface unique, appelée ECOTOX, afin d'aider à la recherche et la récupération des données provenant de trois BDD indépendantes : AQUIRE, PHYTOTOX et TERRETOX. En mars 1996, ECOTOX a été exclusivement remise à des utilisateurs gouvernementaux. En février 2000, cette interface devient disponible sur internet (US EPA, 2014). Elle permet ainsi l'accès aux données écotoxicologiques sur les milieux aquatiques (AQUIRE) et terrestres (PHYTOTOX et TERRETOX). Cette BDD ne se limite pas aux spécialités pharmaceutiques et l'ajout de données est soumis à quelques restrictions. Par exemple, seuls les tests réalisés sur des organismes représentatifs des milieux aquatiques ou terrestres, excluant les humains, les singes, les bactéries, les virus et les levures, sont inclus dans ECOTOX. De plus, les tests effectués *in vitro* ne sont pas inclus dans ECOTOX, … toutes les restrictions sont présentées sur le site internet de l'US EPA (US EPA, 2014). Elles limitent ainsi le nombre de données écotoxicologiques à ajouter dans ECOTOX. Cette BDD est une grande avancée pour

l'agrégation et le partage des données scientifiques en écotoxicologie. Cependant, l'homogénéisation des unités de mesure serait préférable afin de pouvoir comparer les données entre elles.

En Suisse, pour remédier au manque et à la difficulté d'accès aux données écotoxicologiques ainsi qu'à la complexité de mise en œuvre des calculs et des méthodes qui rendent les indicateurs d'écotoxicité aquatique difficilement exploitables, Payet (2013) a développé, dans le cadre de sa thèse, l'outil AiiDA (Aquatic Impact Indicators Database). Cet outil met à disposition plus de 500 000 tests uniques et sourcés sur plus de 3 600 espèces et 30 phyla. Cette BDD globale est utilisée pour calculer automatiquement les différents indicateurs d'écotoxicité aquatique ainsi que leurs incertitudes. AiiDA recouvre 7 500 molécules dont 5 400 avec une représentativité écologique de trois phyla ou plus (Payet, 2013). Alors que cette BDD présente un potentiel scientifique intéressant, cette dernière n'étant pas libre d'accès, son exploitation est limitée.

Enfin, une BDD a été développée à partir des molécules pharmaceutiques disponibles sur le marché suédois, WikiPharma. Cette BDD est accessible par tous et gratuitement. Elle est construite de telle manière que chacun puisse continuer à l'alimenter. L'objectif étant de garder cette interface à jour, afin qu'elle puisse être utilisée par le plus grand nombre de personnes travaillant sur ce domaine (Molander, Ågerstrand et Rudén, 2009). Comme pour ECOTOX, il n'y a pas d'homogénéisation des unités de mesures.

Ces bases de données se concentrent uniquement sur la toxicité de diverses molécules retrouvées dans l'environnement. D'autres équipes se sont attelées à évaluer l'exposition des milieux à ces molécules.

Dans le cas de l'évaluation des expositions, les études peuvent se focaliser sur l'exposition des milieux naturels mais également des effluents de STEU et des effluents hospitaliers. En mars 2015, lors de la conférence organisée sur les médicaments dans le cycle urbain de l'eau par le Groupe de Recherche Rhône Alpes sur les Infrastructures et l'Eau (GRAIE), T. Pouzol a présenté son travail sur la modélisation de l'évolution des flux de RM en réseau d'assainissement, en fonction des ventes et distributions, urbaines et hospitalières, afin d'aller vers un modèle prédictif (GRAIE, 26 et 27/03/15). Dans le cadre de cette conférence, M. Condamines a également présenté son travail sur une modélisation globale appliquée à l'échelle du lac Léman et du bassin de l'Arve, afin de tester des stratégies de réduction d'apport de médicaments issus des STEU (GRAIE, 26 et 27/03/15).

Le couplage de ces deux types de dispositifs basés sur l'évaluation du danger et de l'exposition, est l'essence même de la caractérisation des risques. En France, l'action 46 du PNSE3 prévoit de travailler sur la disponibilité et le partage de données permettant de

connaître le danger et l'exposition pour les RM humains et vétérinaires dans les eaux (Ministère des solidarités et de la santé, 2015). Aujourd'hui, en dépit du nombre relativement important d'outils, seul les suédois ont développé une classification des risques environnementaux liés à la présence de médicaments dans les eaux naturelles.

En août 2004, l'agence suédoise des produits médicamenteux (MPA) présente son rapport officiel commandité par le gouvernement suédois sur les effets des médicaments sur l'environnement. Dans ses conclusions, l'agence déclare que la mise en place d'une classification environnementale volontaire et nationale sous la responsabilité des industries pharmaceutiques, le Swedish Environmental Classification and Information System (SECIS), présenterait une bonne alternative au système européen. Ainsi, la société nationale des pharmacies suédoises (Stockholm County Council and Apoteket AM) a élaboré une classification sur les risques écotoxicologiques liés à la présence de RM dans l'environnement. Dans SECIS, les industries fournissent des données environnementales en se basant sur un guide technique spécialement développé dans le cadre de ce système de classification. Ce document se base sur celui proposé par l'agence européenne du médicament (EMA) et le document guide proposé par l'agence européenne des produits chimiques (ECHA) (Ågerstrand, Wester et Rudén, 2009). Cette classification recense les médicaments, utilisés sur le marché suédois (exposition) et leurs effets sur l'environnement (danger). Elle est publiée chaque année depuis 2005 sous forme d'un fascicule distribué aux différents acteurs de la santé suédoise, publics ou privés, et est également en libre accès sur http://www.janusinfo.se. Pour l'évaluation du danger, cette classification est basée sur l'évaluation :

1/ de la Persistance (P) des molécules, c'est-à-dire leur facilité à résister aux phénomènes responsables de l'auto-épuration des milieux ;

2/ de la Bioaccumulation (B), c'est-à-dire leur capacité à s'accumuler dans les tissus adipeux des organismes aquatiques ;

3/ et de la Toxicité (T), c'est-à-dire leur potentiel de dangerosité vis à vis des organismes aquatiques non cibles (Castensson *et al.*, 2009).

Chacun de ces critères se voit attribuer un score compris de 0 à 3. La somme de ces scores donne un indice PBT qui est ainsi compris entre 0 et 9 (Castensson *et al.*, 2009). Le risque est ensuite calculé en faisant le rapport de la concentration prédite dans l'environnement et la concentration prédite sans effets (PEC/PNEC) qui doit figurer dans l'évaluation des risques environnementaux des dossiers d'AMM (Académie Nationale de Médecine, Académie Nationale de Pharmacie et Académie Vétérinaire de France, 2015). La figure 13 présente une synthèse de la méthodologie utilisée en Suède.

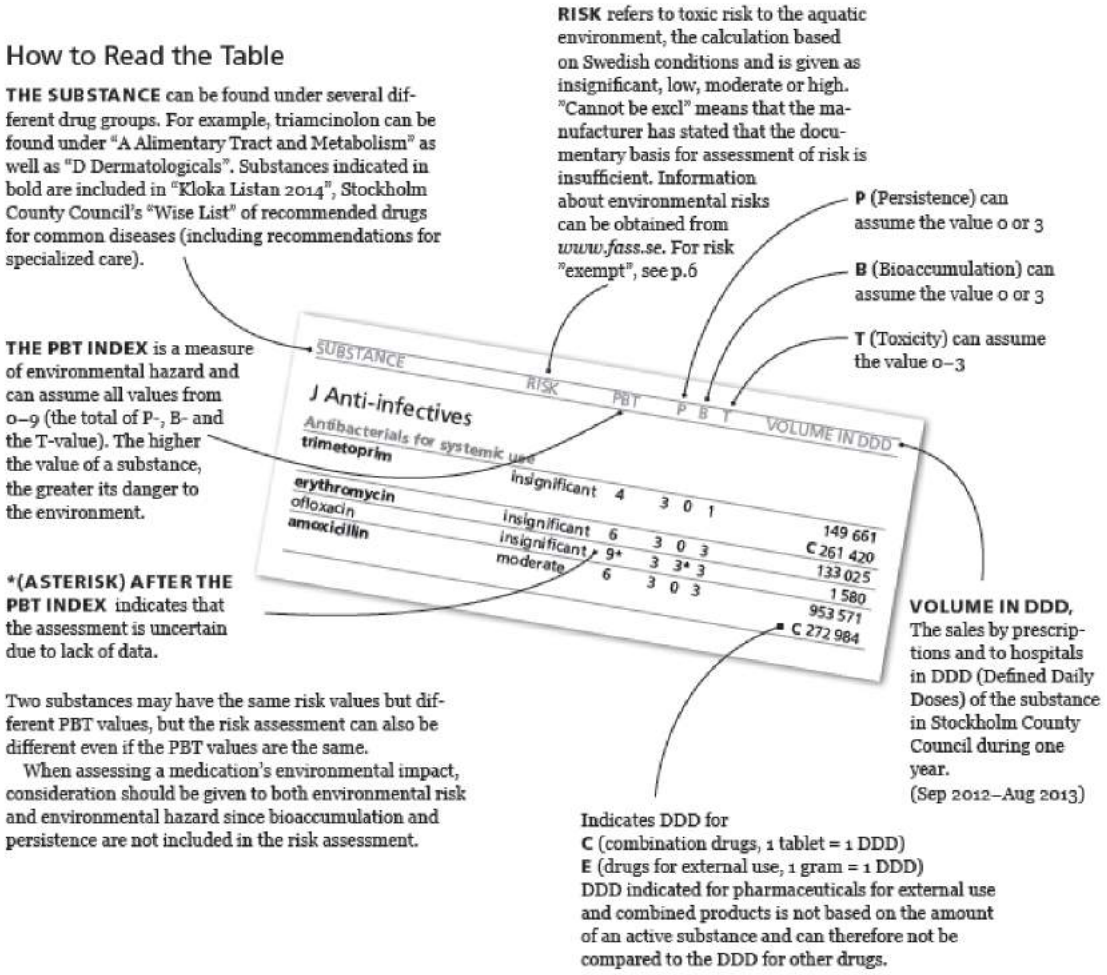


Figure 13. Synthèse de la méthodologie utilisée en Suède (source : Stockholm County Council, 2014).

Pour la définition des PNEC, les mêmes règles que celles décrites dans le TGD sont appliquées. Selon Bouvier *et al.* (2010), « *cette liste suédoise donne un avis sur le risque environnemental fondé sur le risque de toxicité aiguë pour le milieu aquatique, ce qui implicitement exclut le risque chronique.* » . De plus, cette liste intègre les molécules prescrites dans la région de Stockholm, dont 40% du nombre de principes actifs existent en France (Académie Nationale de Médecine, Académie Nationale de Pharmacie et Académie Vétérinaire de France, 2015). Le déploiement de cette dernière sur le territoire français va donc nécessiter d'une prise en compte de toutes les molécules présentes sur le territoire national. Cette démarche représente une initiative pionnière intéressante qui a fait l'objet d'une saisine en France de la « *Direction Générale de la Santé (DGS) datant du 1er avril 2015, relative à l'intérêt de la démarche adoptée par la municipalité de Stockholm auprès des prescripteurs pour une prise en compte de l'impact des RM sur l'environnement, l'Académie Nationale de Médecine (AnM), l'Académie Nationale de Pharmacie et l'Académie Vétérinaire de France (AnP et AVF) ont constitué un groupe d'expertise collective composé d'académiciens.* ». Selon ces Académies, la démarche mise en oeuvre par la communauté

urbaine de Stockholm qui apporte des informations sur les risques pour l'environnement liés aux RM et des conseils aux prescripteurs est, à l'heure actuelle, la seule au monde (Académie Nationale de Médecine, Académie Nationale de Pharmacie et Académie Vétérinaire de France, 2015). Toutefois, elles recommandent de faire examiner, par une instance compétente indépendante d'analyse collective, la validation des modes de calcul des indices et éléments chiffrés présentés dans le fascicule. En effet, cette démarche n'a fait l'objet d'aucune validation par un autre pays ou au niveau communautaire (Académie Nationale de Médecine, Académie Nationale de Pharmacie et Académie Vétérinaire de France, 2015).

De part l'originalité de la démarche proposée par les suédois, cette classification a été un des piliers fondateurs de ce travail de thèse. Contrairement au travail suédois et à ce que propose la réglementation, ces travaux de recherches intègrent les variabilités, temporelle et spatiale, des données d'exposition ainsi que la variabilité des données de danger disponibles dans la littérature scientifique. Le paragraphe suivant fait part des hypothèses et objectifs sur lesquels reposent la thèse.

2. Objectifs de l'étude

Cette étude bibliographique a montré que la France fait partie des pays où la consommation de médicaments est importante. Cette consommation n'est pas amenée à diminuer et ceci est notamment dû au fait que la population soit vieillissante. Ainsi, comme il a été montré dans le chapitre 3, la présence de médicaments dans les eaux de surface, souterraines et de boisson du territoire national a été mise en évidence et, si rien ne se passe, tout laisse à croire que l'exposition du milieu va aller crescendo. Tous les compartiments environnementaux sont affectés par la présence de RM mais les eaux de surface sont le réceptacle final d'une grande majorité de ces molécules. Le chapitre 2 a mis en évidence l'existence de diverses sources de contamination des milieux par les RM, la source principale étant les rejets d'eaux usées issus des STEU. Enfin, il a été montré que l'exposition des milieux aquatiques et des eaux usées aux RM dépend de divers facteurs qui vont influer sur leur potentiel de dégradation. L'exposition des milieux naturels aux RM est largement documentée et avérée, et ces molécules peuvent être dangereuses pour l'environnement. En effet, les molécules pharmaceutiques sont des molécules biologiquement actives qui génèrent des effets néfastes sur des organismes non cibles. Plusieurs travaux de recherches ont ainsi mis en évidence des seuils de toxicité au-delà desquels des effets sur les organismes testés étaient observés. Les effets induits sont

variables, cela va de la mortalité des individus aux changements de comportements.

Avec des RM présents dans les eaux usées et dans la Garonne, la ville de Toulouse n'échappe pas au phénomène. Dans l'objectif de soutenir des actions de gestion, de prévention, ou de traitement des RM qui permettront de limiter les risques écotoxicologiques, il convient de caractériser ces risques et d'évaluer leur variabilité temporelle. Dans le cadre de ces travaux de recherches, une Base De Données (BDD) a été créée qui intègre :

- des données de toxicité des RM disponibles dans la littérature scientifique et les rapports officiels d'organismes nationaux tels que l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA) ;

- des données d'exposition à l'échelle de l'agglomération toulousaine, issues de prélèvement et de mesures réalisées dans le cadre de ce travail.

Cette BDD permettra ainsi une évaluation objective des risques écotoxicologiques liés à la circulation des RM, provenant des eaux usées de la ville de Toulouse, dans la Garonne.

L'ensemble des éléments présentés dans cette étude bibliographique ont permis de définir les hypothèses de travail qui ont cadré l'étude afin de répondre à l'objectif principal.

- Hypothèse 1 : il existe des risques écotoxicologiques liés à la présence de RM dans la Garonne toulousaine.

Ces travaux de recherches ont été réalisés à partir de la démarche utilisée pour l'ERE, codifiée selon des principes qui s'appliquent aux principaux composés chimiques. Comme présenté dans le chapitre 5 de cette étude bibliographique, ces principes ont été initialement posés par l'Agence américaine de protection de l'environnement et repris par les textes juridiques communautaires concernant les molécules dangereuses. L'ERE des médicaments prévue par les directives 2011/83, pour les médicaments à usage humain, et 2011/82, pour les médicaments vétérinaires, voit son champ d'application et ses modalités définies par des lignes directrices adoptées par l'EMA. Selon les principes utilisés pour l'ERE, la notion de risque peut être définie comme la probabilité et la gravité d'un danger sur l'environnement. À partir de cette définition et de la démarche codifiée par l'EMA, ces recherches ont été réalisées sur trois volets, d'une part l'évaluation du danger biologique des RM, d'autre part l'évaluation de l'exposition des organismes à ces RM et enfin la caractérisation des risques liés à la circulation de ces molécules dans les eaux usées de l'agglomération toulousaine et la Garonne. La thèse s'est ainsi déployée selon sur ces trois volets :

- évaluation du danger : définir au moins une valeur de toxicité pour chaque RM ciblé, en fonction des résultats des tests de toxicité disponibles dans la littérature scientifique. L'objectif est d'identifier une valeur de toxicité représentative de l'ensemble des effets indésirables qu'un RM est capable de provoquer dans l'environnement ;
- évaluation de l'exposition : le principal objectif est d'estimer et mesurer les concentrations des RM auxquelles la Garonne toulousaine est susceptible d'être exposée ;
- caractérisation des risques : estimer les effets indésirables susceptibles de se produire dans la Garonne toulousaine compte tenu de l'exposition à ces molécules pharmaceutiques et des dangers identifiés dans ce travail.

Ainsi, la comparaison des données de dangers récoltées dans la littérature scientifique et des données d'exposition de la Garonne à Toulouse a permis de répondre à cette première hypothèse.

- Hypothèse 2 : les eaux usées de la ville de Toulouse sont principalement responsables de la présence de RM dans la Garonne.

La comparaison des flux de RM mesurés dans le fleuve en amont et en aval des rejets de la principale STEU de la ville a permis de répondre à cette hypothèse. De cette manière, les apports provenant des STEU et de l'amont du bassin versant ont également été mis en évidence.

- Hypothèse 3 : il existe une variabilité spatio-temporelle des concentrations de RM dans les eaux usées et la Garonne, à l'échelle de l'agglomération toulousaine, engendrant une instabilité des risques écotoxicologiques.

La fréquence des prélèvements (mensuels de 2015 à 2017) et les stations choisies (quatre stations réparties entre l'amont et l'aval de l'agglomération) ont permis de répondre à cette hypothèse. La prise en compte de cette variabilité permettra l'identification des pics de pollution ce qui, à court terme, facilitera la gestion de ces risques.

- Hypothèse 4 : il existe une régulation des concentrations de RM dans la Garonne, via des processus biotiques et abiotiques, qui participent au service naturel de régulation de la qualité de l'eau d'une rivière.

La comparaison des flux de RM entre les stations situées en amont et en aval de

l'agglomération, ainsi que la comparaison des concentrations environnementales prédites à partir des effluents de STEU et celles mesurées dans la Garonne ont permis d'étudier ce phénomène.

- Hypothèse 5 : la méthodologie classiquement utilisée pour l'ERE peut générer une sous-estimation des risques liés notamment à l'amplitude des données de danger des RM.

Le recensement d'un maximum de données de toxicités dans une seule BDD a permis de prendre en compte cette amplitude dans le calcul des risques écotoxicologiques et de mettre en évidence une potentielle sous-estimation de ces derniers lors de l'utilisation de la méthodologie classiquement utilisées qui consiste à n'utiliser qu'une seule donnée de danger.

Le développement d'une BDD qui intègre à la fois des données de danger et d'exposition, avec une homogénéisation des unités, permettra d'objectiver et simplifier l'évaluation des risques écotoxicologiques. À terme, le stockage de ces données dans une seule BDD permettra la caractérisation du risque via des lignes de codes qu'il suffira de rentrer dans le logiciel de gestion de la BDD. La prise en compte des différentes sources de variation des risques (exposition et danger) met en évidence la complexité de la problématique et la nécessité d'intégrer cette dynamique dans l'ERE associés aux RM. La partie suivante présente les méthodologies utilisées pour répondre à ces objectifs.

Partie 2.
Matériels et méthodes

Chapitre 1. Description de la base de données 111
1. Création de la BDD 113
2. Structuration de la BDD 114
Chapitre 2. Données écotoxicologiques (danger) 121
1. Sélection des RM 123
2. Données de danger intégrées à la BDD 126
3. Calcul de PNEC 129
4. Intégration des données de danger dans la BDD 131
Chapitre 3. Données d'exposition 135
1. Sélection des RM 137
2. Cartographie des stations 139
3. Stratégie d'échantillonnage 144
4. Calendrier des prélèvements 147
5. Méthodologies analytiques 148
6. Traitement des résultats 151
7. Influence du milieu naturel - Calcul des PEC 155
Chapitre 4. Caractérisation des risques écotoxicologiques 157

L'objet de cette partie est de présenter et de justifier les choix réalisés dans le cadre de la thèse. Comme évoqué précédemment, ces travaux de recherches ont été réalisés sur trois volets, l'évaluation du danger des RM, l'évaluation de l'exposition de la Garonne à ces RM et enfin la caractérisation des risques liés à la circulation de ces molécules dans les eaux usées et la Garonne à Toulouse. C'est sur cette base que la partie 2 a été construite. Elle se découpe ainsi en quatre chapitres. Les listes des RM pour les parties danger et exposition ne sont pas les mêmes. Les modalités de sélection des RM sont présentées au début des chapitres correspondant à la partie danger et exposition, c'est-à-dire au début des chapitres deux et trois, respectivement.

- Le premier chapitre est consacré à la description de la BDD développée ;
- Le deuxième chapitre présente les différentes données de danger et les critères qui ont permis de les sélectionner afin de les intégrer dans la BDD. Ce chapitre présente également la méthodologie utilisée pour le calcul des PNEC ;
- Le troisième chapitre présente la partie exposition avec notamment la description des stratégies d'échantillonnage ;
- Le quatrième chapitre fait le point sur la stratégie choisie pour l'évaluation des risques écotoxicologiques à partir des données de danger et d'exposition recueillies.

Chapitre 1. Description de la base de données

Ce chapitre présente une description de la BDD développée dans le cadre de la problématique liée à la présence de RM dans l'environnement, tant d'un point de vue technique que fonctionnel.

Dans ce chapitre, les tables qui constituent la BDD ainsi que les relations entre ces dernières sont présentées. La description de cette BDD a fait l'objet d'une publication consultable en annexe 2.

1. Création de la BDD

Une BDD est un outil permettant de collecter, stocker et analyser des données. Dans le cadre de ces travaux de thèse, la BDD est relationnelle, c'est-à-dire que l'organisation des données se fait sous forme de tables. Une table contient un groupe d'informations relatives à un sujet et les différents sujets d'une BDD sont connexes. Les liens existants entre les différentes tables se présentent sous forme de clé primaire et de clé étrangère. Dans la figure 14, la clé primaire est représentée par la colonne de la table 1 intitulée « Id_Table 1 » et la clé étrangère par la colonne « Id_Table 1 » de la table 2. Pour simplifier, la clé primaire est matérialisée par la pointe de la flèche et la clé étrangère par son départ. Les clés primaires sont des contraintes d'unicité, composées d'une ou plusieurs colonnes, qui permettent d'identifier de manière unique chaque ligne de la table considérée. Les clés étrangères représentent la valeur de la clé primaire d'une table connexe. Elles servent à établir des relations entre les tables. Contrairement aux clés primaires qui doivent être uniques, les clés étrangères peuvent prendre plusieurs fois la même valeur dans une table.

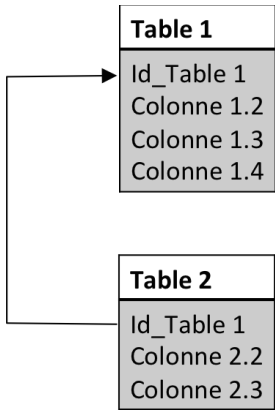


Figure 14. Exemple simplifié d'une BDD relationnelle.

Les logiciels qui permettent de créer, utiliser et maintenir des bases de données relationnelles sont des Systèmes de Gestion de Base De Données relationnels (SGBDD). Le SGBDD utilisé dans le cadre de ces recherches est Postgresql. C'est un logiciel libre d'accès qui utilise le langage informatique Structured Query Language (SQL) pour interroger la base. Ce langage est utilisé par pratiquement tous les systèmes relationnels et permet de commander des opérations d'algèbre relationnelle, des fonctions (minimum, maximum, comptage…), ... Le langage SQL est également utilisé pour ajouter ou supprimer du contenu dans la base de données. Les SGBD relationnels sont exploités par des interfaces de programmation. L'interface graphique utilisée ici est Datagrip. Cette interface est développée par la société Jetbrains. La figure 15 schématise les relations qui permettent à l'utilisateur de communiquer avec la BDD via le SGBDD.

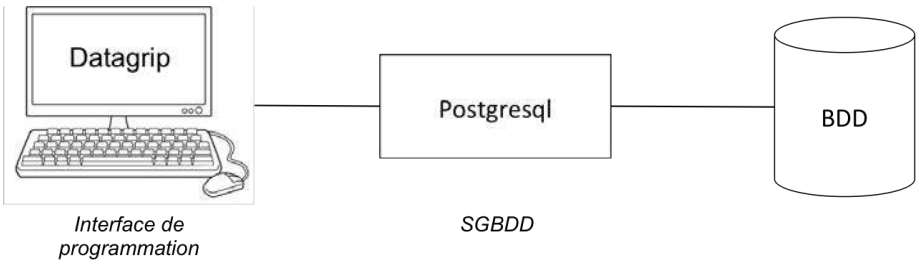


Figure 15. Système de communication entre l'utilisateur et la BDD.

2. Structuration de la BDD

La figure 16 présente la structure de la BDD, c'est-à-dire les différentes tables, les liaisons entre les tables et le type de donnée (numérique, caractère, …) pour chacune des colonnes de chaque table. La BDD contient 13 tables. Le tableau X présente en détail chacune des 13 tables constituant la BDD. Il est ainsi précisé, le nom des tables, le nom des colonnes, le type de données de chacune des colonnes et si ces dernières sont ou non des clés primaires ou étrangères. La figure 16 permet d'avoir une vision globale de la BDD en hiérarchisant les tables les unes en fonction des autres. Pour pouvoir renseigner une table présentant une liaison avec une autre, il faut nécessairement que la table présente au niveau au-dessus et à laquelle elle est reliée soit complétée.

Cette base de données a été construite sur les mêmes bases que celles utilisées pour la réalisation de ces travaux de recherches. Elle présente ainsi une partie danger et une partie exposition. Les tables qui caractérisent ces parties et qui sont nécessaires à l'évaluation des risques écotoxicologiques se situent aux troisième et quatrième niveaux. Leur mise à jour dépend donc de la mise à jour des tables des niveaux au-dessus. Les tables qui renseignent sur le danger des RM sont « toxicite » et « pnecvalue », celles qui renseignent sur l'exposition des milieux aux RM sont « step » et « milieunaturel ». Le tableau X renseigne sur les informations présentes dans les différentes tables de la BDD. Ces informations concernent :

- les molécules avec les tables « molecules » et « proprietesmolecules ». La table « molecules » stocke les informations générales concernant les molécules, c'est-à-dire, leur groupe thérapeutique, leur code du Chemical Abstract Service (CAS), leur code du Service d'Administration National des Données et Référentiels sur l'Eau (SANDRE), … La table « proprietesmolecules » donne des informations sur les propriétés physico-chimiques des molécules ;
- les sites de prélèvements avec les tables « stations » et « proprietesmilieux ». La table « stations » permet de stocker le nom des sites de prélèvements aussi bien pour les STEU étudiées que pour le milieu naturel. La table « proprietesmilieux »

renseigne sur les propriétés physico-chimiques des milieux au moment des prélèvements (température, pH, O_2, conductivité, …) ;

- les prélèvements avec les tables « echantillons » et « prelevements ». La table « echantillons » présente des informations sur les stratégies d'échantillonnage, le volume final des échantillons utilisé pour les analyses et les débits sur toute la durée d'une campagne de prélèvements. La table « prelevements » stocke les informations concernant les volumes prélevés, les débits au moment des prélèvements, les dates de prélèvement, … ;
- les analyses avec les tables « analyses » et « methodeanalytique ». La table « analyses » renseigne sur les dates de stockage et d'envoi des échantillons au laboratoire d'analyse, la table « methodeanalytique » donne les informations concernant les limites de détection et de quantification ainsi que les techniques analytiques utilisées pour chacune des molécules étudiées. Les concentrations mesurées par le laboratoire sont ensuite référencées dans les tables « step » et « milieunaturel » ;
- les références avec la table « references ». Cette table donne toutes les informations nécessaires à l'identification des publications utilisées pour la récolte des données de dangers référencées dans les tables « toxicites » et « pnecvalue ».

Cette BDD ainsi constituée permet de croiser les informations aussi bien sur les molécules, les milieux mais également sur les concentrations et la toxicité des molécules étudiées. Ces croisements sont permis grâce à des codes effectués en langage SQL. Lorsqu'une requête est effectuée, les résultats apparaissent sous forme de « vue ». Les vues sont des tables virtuelles, c'est-à-dire qu'elles n'ont pas d'existence physique, elles permettent simplement de visualiser des données en combinant différentes tables. Cela permet ainsi de visualiser uniquement certaines colonnes d'une ou plusieurs tables dans un même tableau, mais pour cela les tables à combiner doivent être reliées entre elles. Cette option a été utilisée pour analyser les résultats aussi bien pour la partie danger que pour la partie exposition. Ces données sont présentées dans la troisième partie du manuscrit de thèse.

Le chapitre suivant s'intéresse à la partie danger de la thèse. Elle traite notamment des critères de choix qui ont été utilisés pour intégrer des données de danger dans la BDD.

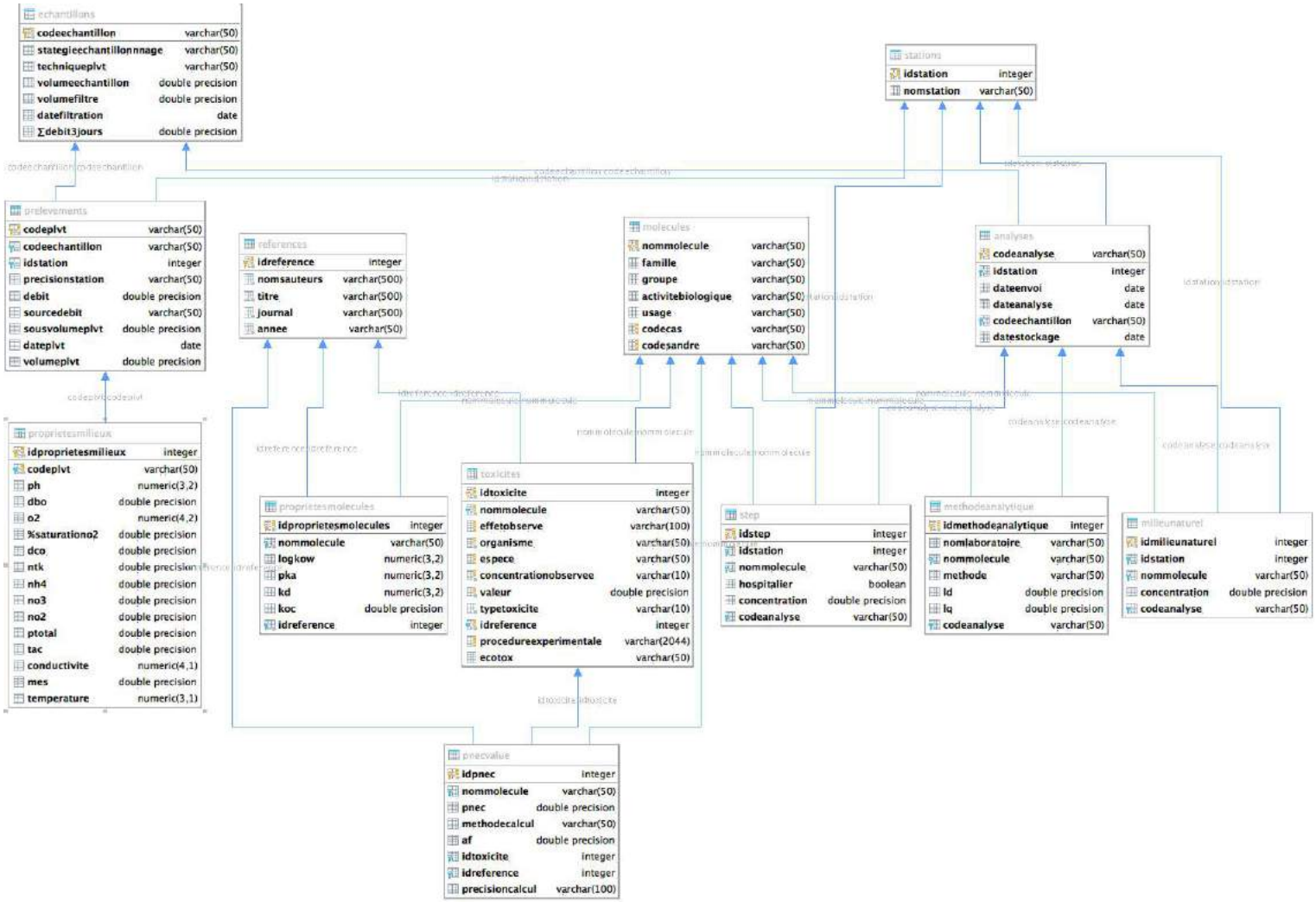


Figure 16. Diagramme représentant les relations existantes entre les différentes tables de la BDD.

Tableau X. Description des tables de la BDD.

Nom des tables	Nom des colonnes	Type de données	Commentaires	Description
1. stations	Idstation (clé primaire)	Integer	Les données de type « Integer » sont des nombre entiers	Identification des stations de prélèvements
	nomstation	Varchar(500)	Les données de type « Varchar (x) » sont des chaînes de caractères et « x » indique le nombre de caractères	Nom des stations de prélèvements
2. echantillons	codeechantillon (clé primaire)	Varchar(50)	-	Identification des échantillons prélevés
	strategieechantillonnage	Varchar(50)	-	Stratégie de prélèvement (ponctuel ou continu)
	techniqueprelevement	Varchar(50)	-	Technique de prélèvement (préleveur automatique ou prélèvement manuel)
	volumeechantillon	Double precision	Les données de type « Double precision » sont des nombres décimaux	Volume de l'échantillons final prélevé
	volumefiltre	Double precision	-	Volume de l'échantillon final filtré
	datefiltration	Date	Année/mois/jour	Date de filtration
	∑debit3jours	Double precision	-	Débit total sur toute la durée d'une campagne de prélèvements
3. analyses	codeanalyse (clé primaire)	Varchar(50)	-	Identification des échantillons filtrés
	idstation (clé étrangère)	Integer	-	Identification des stations de prélèvements
	dateenvoi	Date	-	Date d'envoi des échantillons au laboratoire d'analyses
	dateanalyse	Date	-	Dates de réception des résultats des analyses
	codeechantillon	Varchar(50)	-	Identification des échantillons prélevés
	datestockage	Date	-	Date de stockage des échantillons filtrés
4. molecules	nommolecule	Varchar(50)	-	Nom des molécules
	famille	Varchar(50)	-	Famille d'antibiotiques (macrolides, quinolones, ...)
	groupe	Varchar(50)	-	Sous-famille d'antibiotiques (bêtalactamines, ...)
	activitebiologique	Varchar(50)	-	Action thérapeutique (antibiotiques, cardiovasculaires, ...)
	usage	Varchar(50)	-	Utilisation domestique ou hospitalière
	codecas	Varchar(50)	-	Code international du Chemical Abstract Service (CAS)
	codesandre	Varchar(50)	-	Code national du service d'administration nationale des données et référentiels sur l'eau
5. references	Idreference (clé primaire)	Integer	-	Identification des références
	nomsauteurs	Varchar(500)	-	Nom des auteurs de la publication
	titre	Varchar(500)	-	Titre de la publication
	journal	Varchar(500)	-	Journal de la publication
	annee	Varchar(50)	-	Année de la publication
6. prelevements	codeplvt (clé primaire)	Varchar(50)	-	Identification des échantillons pour les prélèvements

	codeechantillon (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Identification des échantillons prélevés
	idstation (clé étrangère)	Integer	-	Identification des stations de prélèvements
	precisionstation	Varchar(50)	-	Précisions sur les entrées de la STEU qui en possède deux (entrée sud et entrée nord)
	debit	Double precision	-	Débit aux stations de prélèvements au moment des échantillonnages
	sourcedebit	Varchar(50)	-	Origine des données de débit (STEU ou banque hydro)
	sousvolumeplvt	Double precision	-	Volume d'échantillons récolté pour réalisé le mélange afin d'obtenir qu'un seul échantillon sur les 3 jours de prélèvements
	volumeprlvt	Double precision	-	Volume prélevé par jour pour une campagne de prélèvements
	dateplvt	Date	-	Date de prélèvements
7. milieunaturel	idmilieunaturel (clé primaire)	Integer	-	Identification des analyses réalisées sur les eaux naturelles
	idstation (clé étrangère)	Integer	-	Identification des stations de prélèvements
	nommolecule (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Nom des molécules
	concentration	Double precision	-	Concentrations mesurées dans le milieu naturel (ng.L^{-1})
	codeanalyse (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Identification des échantillons filtrés
8. step	idstep (clé primaire)	Integer	-	Identification des analyses réalisées sur les eaux de STEU
	idstation (clé étrangère)	Integer	-	Identification des stations de prélèvements
	nommolecule (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Nom des molécules
	hospitalier	Boolean	“vrai” ou “Faux”	Pour savoir si la STEU considérée est connectée ou non à des établissements de santé
	concentration	Double precision	-	Concentrations mesurées en STEU (ng.L^{-1})
	codeanalyse (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Identification des échantillons filtrés
9. methodeanalytique	idmethodeanalytique (clé primaire)	Integer	-	Identification de la méthode analytique
	nomlaboratoire	Varchar(50)	-	Nom du laboratoire qui effectue les analyses
	nommolecule (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Nom des molécules
	methode	Varchar(50)	-	Méthode utilisée par le laboratoire pour faire les analyses
	ld	Double precision	-	Limite de détection (ng.L^{-1})
	lq	Double precision	-	Limite de quantification (ng.L^{-1})
	codeanalyse (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Identification des échantillons filtrés
10.	idproprietesmolecules	Integer	-	Identification des

proprietesmolecules	(clé primaire)			propriétés des molécules
	nommolecule (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Nom des molécules
	logkow	Numeric (3,2)	Les données de type « Numeric (p,e) » sont des nombre décimaux où « p » précise le nombre de chiffre et « e » indique le nombre de chiffre après la virgule	Coefficient de partage octanol/eau
	pka	Numeric (3,2)	-	Constante d'acidité
	kd	Numeric (3,2)	-	Coefficient de partage phase solide/phase liquide
	koc	Double precision	-	Coefficient de partage carbone organique/eau
	idreference (clé étrangère)	Integer	-	Identification des références
11. pnecvalue	idpnec (clé primaire)	Integer	-	Identification PNEC
	nommolecule (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Nom des molécules
	pnec	Double precision	-	Concentration prédite sans effet (ng.L^{-1})
	methodecalcul	Varchar(50)	-	Méthode de calcul de PNEC (QSAR, TGD, …)
	af	Double precision	-	Facteur de sécurité utilisé pour calculer la PNEC
	idtoxicite (clé étrangère)	Integer	-	Identification de la toxicité
	idreference (clé étrangère)	Integer	-	Identification des références
	precisioncalcul	Varchar(100)	-	Précision sur la donnée de toxicité utilisée pour calculer la PNEC
12. toxicites	idtoxicite (clé primaire)	Integer	-	Identification de la toxicité
	nommolecule (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Nom des molécules
	effetobserve	Varchar(100)	-	Effet observé pendant le test de toxicité (mortalité, croissance, alimentation, …)
	organisme	Varchar(50)	-	Organisme testé (algue, poisson, crustacé, …)
	espece	Varchar(50)	-	Espèce testée
	concentrationobservee	Varchar(10)	-	Concentration observées (EC_x, NOEC, …)
	valeur	Double precision	-	Concentration toxique (ng.L^{-1})
	typetoxicite	Varchar(10)	-	Aiguë ou chronique
	idreference (clé étrangère)	Integer	-	Identification des références
	procedureexperimentale	Varchar(2044)	-	Description de la procédure expérimentales
	ecotox	Varchar(50)	-	Précision sur le type de tests : bio-essai, biomarqueur d'effet ou d'exposition
13. proprietesmilieux	idproprietesmilieux (clé primaire)	Integer	-	Identification des propriétés des milieux
	codeplvt (clé étrangère)	Varchar(50)	-	Identification des échantillons pour les prélèvements
	ph	Numeric (3,2)	-	Potentiel Hydrogène des milieux de prélèvements (milieu naturel et STEU)
	dbo	Double precision	-	Demande biochimique en oxygène dans les STEU
	o2	Numeric (4,2)	-	Oxygène dissout (mg.L^{-}

				^{1}) dans le milieu naturel et les eaux usées brutes et traitées
	%saturationo2	Double precision	-	Saturation en oxygène (%) dans le milieu naturel et les eaux usées brutes et traitées
	dco	Double precision	-	Demande chimique en oxygène dans les STEU
	ntk	Double precision	-	Azote total Kjeldahl ($mg.L^{-1}$) dans les STEU
	nh4	Double precision	-	Ammonium ($mg.L^{-1}$) dans les STEU
	no3	Double precision	-	Nitrate ($mg.L^{-1}$) dans les STEU
	no2	Double precision	-	Nitrite ($mg.L^{-1}$) dans les STEU
	ptotal	Double precision	-	Phosphore total ($mg.L^{-1}$) dans les STEU
	tac	Double precision	-	Titre alcalimétrique complet ($mg.L^{-1}$) dans les STEU
	conductivité	Numeric (4,1)	-	Conductivité (µS/cm) dans le milieu naturel et les eaux usées brutes et traitées
	mes	Double precision	-	Matières en suspension ($mg.L^{-1}$) dans le milieu naturel et les eaux usées brutes et traitées
	temperature	Numeric (3,1)	-	Température (°C) dans le milieu naturel et les eaux usées brutes et traitées

Chapitre 2. Données écotoxicologiques (danger)

Ce chapitre présente les données récoltées et intégrées dans la BDD pour évaluer la dangerosité des RM.

Dans ce chapitre, les molécules sélectionnées, les différents types de données de dangers intégrée à la BDD et les critères utilisés pour l'intégration de ces données dans la BDD, sont présentés.

Selon la réglementation européenne, l'évaluation des risques environnementaux repose sur la définition de deux facteurs 1/ le danger, 2/ l'exposition. Dans ce chapitre, la méthodologie déployée pour la partie danger est présentée.

1. Sélection des RM

Environ 3000 principes actifs, entrant dans la composition de médicaments utilisés en médecine humaine, sont présentes sur le territoire français. Pour les médicaments utilisés dans le cadre de la médecine vétérinaire, ce sont environ 600 principes actifs qui circulent sur le marché européen. Pour la construction du référentiel, l'ensemble de ces molécules ne pouvait être renseigné. Une sélection des molécules a donc été nécessaire. Pour cela, plusieurs critères ont été définis. À partir de ces critères, pour chacune des molécules, un score a été calculé. Les critères choisis sont les suivants :

- Critère 1. La détection des RM à l'entrée et/ou la sortie des STEU toulousaines étudiées lors de l'étude réalisée de 2011 à 2013.
- Critère 2. La détection des RM dans les eaux de surface françaises sur la base des résultats de 10 études réalisées sur le territoire national. Ces études sont (Rabiet *et al.*, 2006 ; Budzinski, 2008 ; Tamtam *et al.*, 2008 ; Almaric, Togola et Lopez, 2011 ; ANSES, 2011 ; Gabet-Giraud, 2011 ; Miège, Gabet et Coquery, 2011; Vystavna *et al.*, 2012 ; Botta, Fabrizio et Dulio, 2014 ; GRAIE, 26 et 27/03/15). À ces travaux viennent se rajouter les molécules détectées dans la Garonne dans le cadre de l'étude réalisée à Toulouse de 2011 à 2013.
- Critère 3. Les RM détectés à la sortie de STEU présentes sur le territoire national. Ce critère se base sur quatre références (Rabiet *et al.*, 2006 ; Gabet-Giraud, 2011 ; Miège, Gabet et Coquery, 2011 ; GRAIE, 26 et 27/03/15 ;).
- Critère 4. Les RM considérés comme prioritaires dans le cadre de la thèse de J.-P. Besse (Besse, 2010).
- Critère 5. Les RM présents sur la liste de vigilance de l'article 8-ter de la DCE (http://www.ineris.fr/aida/consultation_document/26932). Dans le cadre de la DCE, la Commission est chargée d'établir une liste de surveillance des polluants émergents. Cette liste comprend cinq molécules pharmaceutiques : le Diclofénac, le 17 alpha-éthinylestradiol ou Éthinylestradiol (EE2), le 17 beta-estradiol ou Estradiol (E2), l'Érythromycine, la Clarithromycine et l'Azithromycine (Commission européenne, 2015).
- Critères 6. Les RM détectés dans les projets de l'Agence de l'Eau Adour-Garonne (AEAG) sur cette problématique. Ces travaux sont les suivants : le projet « Effect-

based and chemical analytical monitoring for steroidal estrogens: An international project to cope with a monitoring challenge » qui est un projet de l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA) qui porte sur la surveillance des oestrogènes (publication en cours), un projet sur la Réduction et Gestion des micropolluAnts sur la métRopole borDelaise (REGARD) (REGARD, 2015), la campagne exceptionnelle d'analyse des molécules présentes dans les eaux souterraines réalisée par le Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM) (BRGM, 2011) et la thèse de S. Idder qui portait sur l'étude des RM dans le département de la Dordogne (Idder, 2012).

Certains critères ont été choisis en fonction de leur pertinence géographique (critères 1, 2 et 3) ou de leur caractère « prioritaire » (critères 4 et 5), d'autres ont été imposés par des financeurs de l'étude (critère 6). Les références associées ont été sélectionnées selon leur pertinence vis-à-vis du critère auquel elles sont associées, notamment leur localisation sur le territoire national, et de leur récence. Un premier niveau de sélection a été réalisé en faisant la liste de toutes les molécules recherchées dans au moins une des références citées précédemment. Puis, les scores ont été définis sur la base des notes présentées ci-dessous.

0 : molécules non détectées dans la référence considérée ou considérée comme non prioritaire ;

1 : molécule détectée au moins une fois dans la référence considérée mais non quantifiée ;

2 : molécule quantifiée au moins une fois dans la référence considérée ;

3 : molécule considérée comme prioritaires.

Pour chacun des critères, les molécules ont ainsi été notées selon une gamme de notes communes. Pour un critère donné, pour chaque référence associée et chacune des molécules, les notes attribuables sont présentées dans le tableau XI.

Tableau XI. Notes attribuables à chacune des molécules pour un critère et une référence associée.

	Notes attribuables			
	0	**1**	**2**	**3**
Critère 1	x	x	x	
Critère 2	x	x	x	x
Critère 3	x	x	x	
Critère 4	x			x
Critère 5	x			x
Critère 6	x	x	x	

Pour une molécule donnée, les scores correspondent à la somme de l'ensemble des notes obtenues. Ce sont les molécules avec les scores les plus élevés qui définissent la liste des 66 RM retenus pour l'évaluation du danger (tableau XII).

Tableau XII. Liste des molécules retenues pour l'évaluation du danger (66 RM). En rouge les RM inscrits sur la liste de vigilance de la DCE.

Famille thérapeutique	Molécules
Hormone sexuelle	17 beta-estradiol
Hormone sexuelle	17-alphaéthinylestradiol
Antirétroviral	Abacavir
Bétabloquant	Acébutolol
AINS	Acide salicylique
Antidépresseur	Amitriptyline
AINS	Acide acétylsalicylique
Bétabloquant	Aténolol
Antibiotique	Azithromycine
Bétabloquant	Bétaxolol
Hypolipémiant	Bézafibrate
Bétabloquant	Bisoprolol
Antiépileptique	Carbamazépine
Antibiotique	Cefotaxime
Antibiotique	Cefuroxime
Antibiotique	Ciprofloxacine
Antibiotique	Clarithromycine
Bronchodilatateur	Clenbutérol
Antibiotique	Clindamycine
Antinéoplasique	Cyclophosphamide
AINS	Diclofénac
Antinéoplasique	Doxorubicine
Antibiotique	Doxycycline
Anti-infectieux	Econazole
Antibiotique	Erythromycine
Hormone sexuelle	Estriol
Hormone sexuelle	Estrone
Antibiotique	Fluméquine
Hypolipémiant	Gemfibrozil
AINS	Ibuprofène
Antinéoplasique	Ifosfamide
Antirétroviral	Indinavir
Antibiotique	Josamycine
AINS	Kétoprofène
Antirétroviral	Lamivudine
Antibiotique	Lincomycine
Benzodiazépine	Lorazepam
Bétabloquant	Metoprolol
Antibiotique	Métronidazole
Bétabloquant	Nadolol
AINS	Naproxène
Antirétroviral	Nevirapine
Benzodiazépine	Nordiazépam
Antibiotique	Norfloxacine
Antibiotique	Ofloxacine
Benzodiazépine	Oxazepam
Bétabloquant	Oxprénolol
Analgésique	Paracétamol
Hypolipémiant	Pravastatine
Bétabloquant	Propranolol
Anti-ulcéreux	Ranitidine
Antirétroviral	Ritonavir
Antibiotique	Roxithromycine
Antirétroviral	Saquinavir
Bétabloquant	Sotalol
Antibiotique	Spiramycine
Antibiotique	Sulfadiazine
Antibiotique	Sulfadiméthoxine
Antibiotique	Sulfamérazine
Antibiotique	Sulfaméthizole
Antibiotique	Sulfaméthoxazole
Antibiotique	Sulfapyridine
Antibiotique	Tétracycline
Bétabloquant	Timolol
Antibiotique	Triméthoprime
Antirétroviral	Zidovudine

2. Données de danger intégrées à la BDD

Pour toutes les molécules retenues selon la méthodologie développée précédemment, les données de danger intégrées dans la BDD concernent les résultats issus :

- de bio-essais ;
- de modélisation QSAR ;
- de biomarqueurs ;
- les PNEC récoltées dans la littérature ;
- les PNEC calculées.

2.1 Bio-essais

La récolte des données de toxicité dans la littérature a mis en évidence l'absence de règle qui permette de caractériser le type de bio-essai, « aiguë » ou « chronique », en fonction de la durée d'exposition et des espèces étudiées. Pour l'ERE, la réglementation favorise les tests de toxicité effectués sur le long terme, s'ils existent, et adapte le facteur de sécurité permettant de calculer une PNEC, donnée nécessaire à l'ERE, en fonction des données de toxicité disponibles (page 83). Il est donc important de déterminer ce critère. Pour ces travaux de thèse, les bio-essais recensés dans la BDD se sont donc vus attribuer le critère « aiguë » ou « chronique » ceci afin de réaliser une évaluation des risques environnementaux qui répondent aux critères définis par la réglementation et choisir les facteurs d'extrapolation en connaissance de cause. La compilation des données scientifiques et des différents tests écotoxicologiques standardisés a permis de définir le caractère « aiguë » ou « chronique » des bio-essais en fonction des niveaux trophiques et des durées d'exposition. Le tableau XIII présente une synthèse de ces données. Cette synthèse a été utilisée comme référence lors de l'intégration des données de toxicité dans la BDD. Afin de ne pas limiter la BDD uniquement aux milieux aquatiques continentaux, tous les résultats des bio-essais recensés dans la littérature concernant les RM sélectionnés ont été relevés. La BDD contient ainsi des résultats de tests effectués aussi bien sur des bactéries marines que des poissons en passant par des mollusques et des champignons. La synthèse présentée dans le tableau XIII inventorie tous les organismes rencontrés lors de l'implémentation des tables « toxicites » et « pnecvalue » de la BDD. La colonne « Quelques tests standards » du tableau XIII n'est présentée qu'à titre informatif et ne signifie pas que seuls les tests standardisés sont référencés dans la BDD. Pour ces travaux de recherche qui visent à évaluer les risques environnementaux liés à la présence de RM dans la Garonne toulousaine, seuls les tests réalisés sur les organismes aquatiques ont été utilisés.

Tableau XIII. Règles de distinction entre les données d'écotoxicité aiguës et chroniques (h = heures ; mns = minutes).

	Niveau trophique	Espèce utilisée	Durée d'exposition	Effet observé	Quelques tests standards
Aiguë	Algue	*Pseudokirchneriella subcapitata* *Chlorella vulgaris*	< 48h	Croissance	
	Bactérie	*Vibrio fischeri*	< 30 mns	Bioluminescence	ISO 11348-3 AFNOR T90-320-30 Microtox
	Crustacé	*Daphnia sp.* *Americamysis bahia* *Ceriodaphnia dubia* *Artemia nauplii* *Thamnocephalus platyurus* *Hyalella azteca* *Gammarus pulex* *Atyaephyra desmarestii* *Artemia salina* *Streptocephalus proboscideus*	< 96h	Mobilité Coloration du tube digestif Mortalité	OCDE 202 ISO 6341 ISO 20665 AFNOR T90-301 US EPA 1991 US EPA 1993 US EPA 2002 EPA 600/4-90/027 Thamnotoxkit Rapidtoxkit Artoxkit M Streptoxkit F
	Diatomée	*Cyclotella meneghiniana*	96h	Croissance	Strain SAG 1020-1a
	Échinoderme	*Strongylocentrotus purpuratus*	96h	Développement larvaire	
	Hydre d'eau douce	*Hydra vulgaris* *Hydra attenuata*	96h	Mortalité Modification Morphologique	
	Insecte	*Chironomus sp.*	< 48h	Mortalité	
	Mollusque	*Planorbis carinatus*	72h	Mortalité	
	Plante	*Allium cepa*	< 72h	Croissance des racines Index mitotique	
	Poisson	*Danio rerio* *Oryzias latipes* *Brachydanio rerio*	< 96h	Mortalité Croissance	OCDE 203 OCDE 236 ISO 7346
	Rotifère	*Brachydanio calyciflorus*	24h	Mortalité	E1440-91 Rotoxkit
Chronique	Algue	*Pseudokirchneriella subcapitata* *Selenastrum capricornutum* *Microcystis aeruginosa* *Scenedesmus subspicatus* *Chlorella vulgaris*	> 72h	Croissance	OECD 201 ISO 8662 (T90-304) ISO 8692 Strain UTEX 1648
	Bactérie	*Aeromonas salmonicida* *Vibrio Fischeri*	> 20h	Croissance Mortalité Bioluminescence	
	Champignon		72h	Croissance	
	Crustacé	*Daphnia sp.* *Ceriodaphnia dubia* *Hyalella azteca*	> 7 jours	Croissance Reproduction Mortalité Mobilité	OCDE 211 ISO 20665 ISO 10706 AFNOR T90-376 US EPA 1994
	Cyanobactérie	*Synechococcus leopolensis*	96h	Croissance	Strain UTEX 625
	Diatomée	*Navicula pellucilosa* *Cyclotella meneghiniana* *Nitzschia closterium*	> 72h	Croissance	Strain SAG 1020-1a
	Insecte	*Chironomus sp.*	> 20 jours		
	Mollusque	*Planorbis carinatus* *Marisa cornuarietis*	> 21 jours	Croissance	
	Oligochète	*Lombricus*	28 jours		
	Plante	*Lemna sp.* *Myriophyllum sp.*	> 7 jours	Croissance	ISO 20079

		Glyceria maxime			
	Poisson	*Brachydanio rerio* *Cyprinus carpio* *Oryzias latipes* *Pimephales promelas* *Carassius auratus* *Leopomis macrochirus* *Oncorhynchus mykiss* *Danio rerio*	> 7 jours	Croissance Mortalité des embryons et des larves Lésions rénales et altération des branchies Indice gonado-somatique	OCDE 210 OCDE 212 OCDE 215 ISO 12890
	Rotifère	*Brachydanio calyciflorus*	> 48h	Reproduction Croissance	ISO 20666 AFNOR T90-377

2.2 Biomarqueurs

La mesure de biomarqueurs est considérée comme une méthode très sensible, précoce et prédictive d'effet à long terme. Dans le cadre de la thèse, les biomarqueurs ont été référencés dans la BDD et une précision quant au type de biomarqueur est intégrée dans la table « toxicites ». Le tableau XIV présente les différents biomarqueurs relevés dans la littérature et référencés dans la BDD.

Tableau XIV. Identification des biomarqueurs d'exposition ou d'effet référencés dans la BDD (source : (Garric, Morin et Vincent-Hubert, s. d.).

	Biomarqueur	Organisme ou cellule observé	Effet observé
Biomarqueur d'exposition	Vitellogénine	Poisson	Induction
	Activité EROD	Poisson	Induction
	Activité succinate déhydrogénase (SDH)	PLHC-1[a]	Induction
	Métallothionéines (MTT)	PLHC-1[a] RTG-2[b]	Induction
	Acéthylcholinestérase	PLHC-1[a]	Inhibition
	Quantité de protéine	PLHC-1[a] RTG-2[b]	Induction
	Métylthiazole (MTS)	PLHC-1[a] RTG-2[b]	Métabolisation
	Rouge neutre	PLHC-1[a] RTG-2[b]	Absorption
	G6PDH	PLHC-1[a] RTG-2[b]	Libération
	Croissance cellulaire	BF-2[c]	Induction
	Rubidium	Poisson	Libération
	Monocytes	Poisson	Accumulation
	Activité UDP-glucuronosyltransférase (UGT)	Poisson	Induction
	Activité BFCOD	Poisson	Induction
Biomarqueur d'effet	Fonction lysosomale	PLHC-1	Inhibition
	UmuC test	Bactérie	/
	Test Yeast Estrogen Screen (YES)	Levure	Modification de la colorimétrie

a : Hépatocytes de poisson (*Poeciliopsis lucida*)
b : Fibroblaste de poisson (*Oncorhynchus mykiss*) provenant de gonades
c : Fibroblaste de poisson (*Lepomis macrochirus*) provenant du tronc caudal

3. Calcul de PNEC

Pour l'ERE, comme le recommande la réglementation, ce sont les PNEC qui sont utilisées pour évaluer le danger. Ces données sont calculées à partir de résultats de tests écotoxicologiques auxquels des facteurs de sécurité sont appliqués afin de permettre l'extrapolation des données obtenues en conditions biotiques et abiotiques contrôlées à l'environnement (page 81).

Pour les RM qui en possèdent, toutes les PNEC récoltées dans la littérature, qu'elles soient issues d'une extrapolation de tests écotoxicologiques ou de méthode statistique (page 80), ont été référencées dans la BDD. Dans la BDD, ces différentes méthodologies utilisées pour l'obtention de PNEC sont précisées dans la colonne « methodecalcul » de la table « pnecvalue ». Cependant, tous les RM ne possèdent pas de PNEC disponibles dans la littérature scientifique. Il a donc été décidé de calculer des PNEC pour l'ensemble des RM à partir des résultats des bio-essais et les modèles QSAR intégrés dans la BDD. Ainsi, comme le recommande la réglementation, les calculs de PNEC ont été effectués à partir des données de toxicités (bio-essais et QSAR) et sur la base des règles définies par l'agence européenne des produits chimiques (European Chemicals Bureau, 2003). Dans la réglementation, le terme NOEC est utilisé pour définir les toxicités chroniques et le terme CE(L)50 est utilisé pour les toxicités aiguës. Pour le calcul des PNEC à partir des valeurs présentes dans la BDD, les toxicités chroniques, données avec « Chronique » précisé dans la colonne « typetoxicite » de la table « toxicites », et les toxicités aiguës, données avec « Aigue » précisé dans la colonne « typetoxicite » de la table « toxicites », sont utilisées. Les facteurs de sécurité (AF) ont ensuite été définis et appliqués (divisions) à ces données issues de bio-essais et modélisations. Les critères de définition des AF sont exposés dans le tableau VII et détaillés ci-dessous ainsi que dans la figure 17.

1) Un facteur de sécurité de 1 000 est appliqué à la plus petite valeur de toxicité aiguë disponible dans la BDD à condition que la molécule considérée possède au moins une donnée de toxicité aiguë pour chacun des taxons algue, crustacé et poisson. Dans le cas contraire, aucune PNEC n'est calculée.
2) Un facteur de sécurité de 100 est appliqué à la valeur de toxicité chronique disponible dans la BDD à condition que la molécule considérée possède au moins une donnée de toxicité aiguë pour chacun des taxons algue, crustacé et poisson et une toxicité chronique pour un des taxons suivant, crustacé ou poisson. Si ces conditions sont remplies et que la valeur de la toxicité chronique est portée par le taxon présentant la plus faible valeur de toxicité aiguë, alors un facteur de sécurité de 100 est appliqué à

la toxicité chronique. Si les taxons entre la toxicité chronique et la plus faible valeur de toxicité aiguë sont différents, alors le facteur de 1 000 est appliqué à la toxicité aiguë, sauf si la PNEC calculée à partir de la toxicité chronique est inférieure à celle calculée avec la toxicité aiguë.

3) Un facteur de sécurité de 50 est appliqué à la plus faible valeur de toxicité chronique disponible dans la BDD à condition que la molécule considérée possède au moins une donnée de toxicité aiguë pour chacun des taxons algue, crustacé et poisson et deux toxicités chroniques pour un des taxons suivant algue et/ou crustacé et/ou poisson. Si ces conditions sont remplies et que la valeur de la plus faible toxicité chronique est portée par le taxon présentant la plus faible valeur de toxicité aiguë, alors un facteur de sécurité de 50 est appliqué à la toxicité chronique la plus faible. Si les taxons sont différents, alors le facteur de 100 est appliqué à la toxicité chronique la plus faible.

4) Un facteur de sécurité de 10 est appliqué à la plus faible valeur de toxicité chronique disponible dans la BDD à condition que la molécule considérée possède au moins une donnée de toxicité aiguë pour chacun des taxons algue, crustacé et poisson et trois toxicités chroniques pour les taxons algue, crustacé et poisson. Si ces conditions sont remplies et que la valeur de la plus faible toxicité chronique est portée par le taxon présentant la plus faible valeur de toxicité aiguë, alors un facteur de sécurité de 10 est appliqué à la toxicité chronique la plus faible. Si les taxons sont différents, alors le facteur de 50 est appliqué à la toxicité chronique la plus faible.

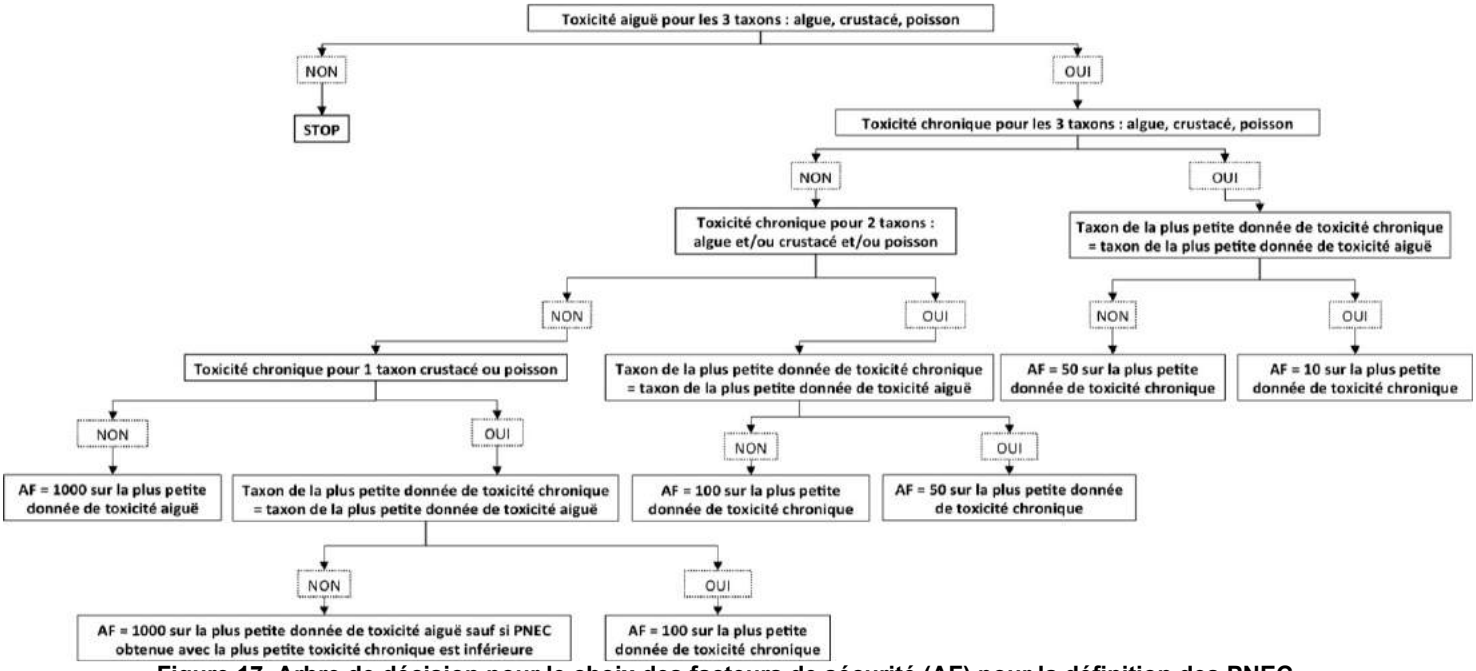


Figure 17. Arbre de décision pour le choix des facteurs de sécurité (AF) pour la définition des PNEC.

4. Intégration des données de danger dans la BDD

Que ce soit pour les bio-essais, les biomarqueurs ou les modélisations, il existe une multitude d'indicateurs écotoxicologiques utilisés pour évaluer le danger des RM et, plus globalement, des composés chimiques, sur des organismes : CE50, CL50 et, plus globalement CEX où X correspond au pourcentage d'individus d'une population atteint par l'effet observé, les concentrations d'inhibition de 50% de la population observée (IC50), la plus haute concentration pour laquelle aucun effet n'a été observé (NOEC ou NOAEL), la plus basse concentration pour laquelle un effet a été observé (LOEC ou LOEAL), les concentrations minimales d'inhibition (MIC) et les PNEC. Ces données sont récoltées dans la littérature scientifique en utilisant les mots clés de recherche : *pharmaceuticals, ecotoxicological risk assessment, antibiotics, toxicity, aquatic environment, analgesics, water, mortality ...*

Cette recherche a été réalisée sur le service d'information universitaire « Web of Science ». Toutes les données de danger rencontrées n'ont pas été intégrées à la BDD, des règles de sélection ont été établies. Ces règles ont permis de définir un arbre de décision qui est présenté ci-dessous (figure 18). Les critères utilisés pour inclure les données de danger dans la BDD sont listés ci-dessous. Ainsi, sont intégrées à la BDD les données de dangers dont :

- l'article original est disponible ;
- les données proviennent de bio-essais *in vivo* e t *in vitro*, de biomarqueur ou de modélisation ;
- l'expression est faite par les indicateurs de toxicité utilisés en écotoxicologie (CE50, NOEC, LOEC, PNEC …) ;
- les valeurs exprimées sont des valeurs exactes et non des valeurs bornées (inférieures ou supérieures à).

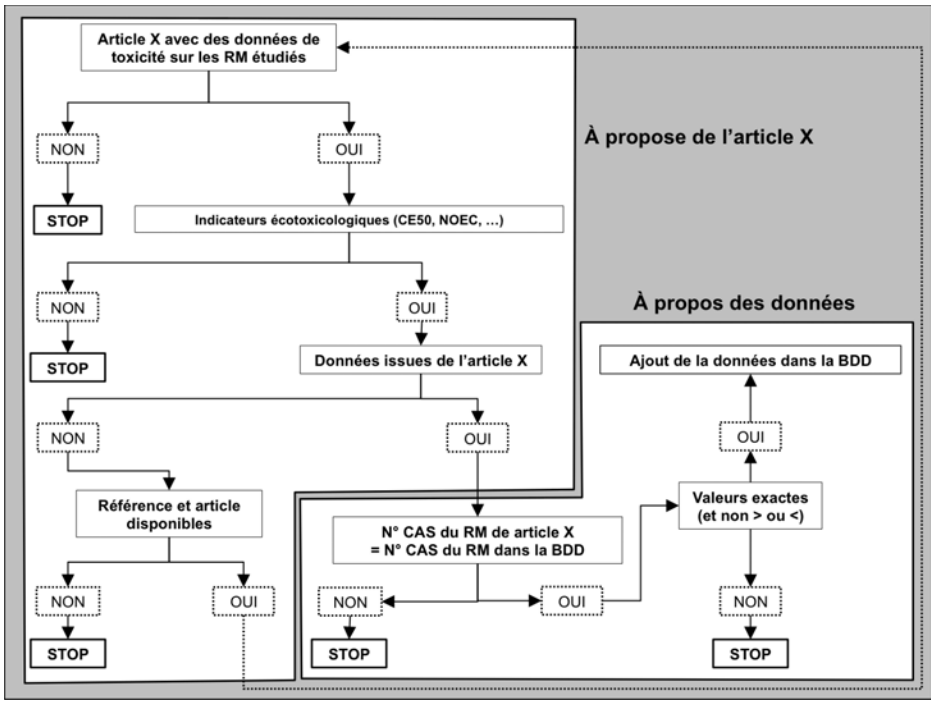


Figure 18. Arbre de décision utilisé pour l'addition de données de danger dans la BDD.

Pour présenter les données de danger, des extractions des tables « toxicites » et « pnecvalue » ont été réalisées sous format csv. Les fichiers obtenus ont ensuite été importés dans un fichier excel afin de pouvoir confectionner des graphiques et limiter l'utilisation du langage SQL qui n'est pas un langage intuitif. Certains résultats sont issus de requêtes SQL réalisées sur l'interface graphique de la BDD et exposées dans la partie 3 « Résultats » du manuscrit. Ci-dessous un exemple de commande SQL :

```
select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
```

Chaque couleur correspond à une fonction ou un élément particulier : le violet correspond au nom des colonnes, le bleu clair au nom des tables, les colonnes et les tables doivent être inscrites entre des doubles guillemets, le vert correspond au nom des valeurs entrées dans les colonnes des tables qui doivent être inscrites entre des simples guillemets, le jaune et le orange correspondent aux fonctions proposées par l'interface graphique de la BDD.

Dans les études d'écotoxicité réalisées sur les médicaments, les concentrations sont généralement trop élevées par rapport aux teneurs environnementales. Les effets étudiés sont donc essentiellement des effets aigus alors que les risques environnementaux liés aux RM sont surtout sur le long terme. La complexité et l'hétérogénéité des données rapportées dans la littérature pour les différentes classes médicamenteuses, avec des réponses qui diffèrent selon les méthodes utilisées, les conditions des tests et le temps d'exposition,

montrent que la prise en compte d'un seul essai biologique pour obtenir des informations écotoxicologiques cohérentes ne permet pas de fournir une image réaliste et complète des risques pour l'environnement. L'inclusion de tous ces tests écotoxicologiques dans la BDD rend compte de cette diversité des réponses, ce qui favorise une certaine objectivité dans l'ERE. Cela permet également de pallier au manque de données écotoxicologiques. En effet, pour certains RM n'ayant pas fait l'objet de tests réalisés en laboratoire sur un temps d'exposition plus ou moins important, l'utilisation des données disponibles (biomarqueurs, modélisation) pour appréhender le risque est possible. Ainsi, même si la réglementation recommande l'utilisation de données provenant de bio-essais, idéalement sur le long-terme, ou sur le court-terme, l'absence de telles données ne serait plus un frein à l'estimation des risques écotoxicologiques. Dans le chapitre sur la caractérisation des risques écotoxicologiques, la méthodologie utilisée pour prendre en compte cette amplitude des données de danger dans le calcul des risques est présentée.

Le chapitre suivant s'intéresse à la partie exposition de la thèse.

Chapitre 3. Données d'exposition

Ce chapitre présente les méthodologies utilisées pour la récupération et le traitement des données d'exposition qui sont intégrées dans la BDD.

Dans ce chapitre, les critères de sélection des molécules analysées, les stratégies d'échantillonnage et les méthodologies analytiques, sont exposés. Les stations de prélèvements sont également exposées donnant lieu à une présentation du réseau hydrique et des STEU étudiées. Les calculs effectués pour obtenir les PEC et la méthodologie utilisée pour évaluer l'influence du milieu naturel sur la régulation des concentrations de RM dans la Garonne sont présentés. Enfin, les traitements statistiques réalisés afin d'étudier les variabilités spatiale et temporelle des RM sont exposés.

Selon la réglementation européenne, l'évaluation des risques environnementaux repose sur la définition de deux facteurs 1/ le danger, 2/ l'exposition. Dans ce chapitre, la méthodologie déployée pour la partie exposition est présentée.

1. Sélection des RM

Comme pour la partie danger, une sélection des molécules à analyser a été faite. Cette sélection repose sur la même stratégie que pour la partie danger. Ce sont d'ailleurs les mêmes critères qui ont été utilisés (page 123). La seule différence réside dans le choix du premier critère dont la version pour la partie danger est « *la détection des RM à l'entrée et/ou la sortie des STEU toulousaines étudiées lors de l'étude réalisée de 2011 à 2013* » et devient pour la partie exposition « *la détection des RM à la sortie des STEU toulousaines étudiées »*. Comme pour la partie danger, un premier niveau de sélection a été réalisé en faisant la liste de toutes les molécules recherchées dans au moins une des références associées à chaque critère. À partir de cette première liste de RM, les scores ont été calculés pour chacune des molécules en se basant sur la même méthodologie que celle déployée pour la partie danger, c'est-à-dire en sommant les notes attribuées (page 123). Ce sont les molécules avec les scores les plus élevés qui ont définis la première liste des RM retenus. Pour des raisons budgétaires, cette liste a dû être réduite. Pour se faire, des risques écotoxicologiques ont été calculés à partir des concentrations mesurées en STEU lors de l'étude de 2011/2013 et des plus petites valeurs de PNEC intégrées à la BDD lorsque cette sélection a été effectuée. L'objectif étant de ne pas s'attarder sur les RM ne présentant, à priori, pas de risque pour la Garonne toulousaine. La méthodologie utilisée pour l'ERE est développée dans le chapitre suivant traitant de la caractérisation des risques. Elle est issue de la méthodologie proposée par la réglementation. Ainsi, lorsque des risques ont pu être calculés, la sélection des molécules a été faite en fonction de leur potentiel à risque, ce qui a permis de réduire la première liste de RM. L'arbre de décision présenté dans la figure 19 résume la méthodologie utilisée pour réduire le nombre de RM à analyser pour l'évaluation de l'exposition. Le tableau XV présente la liste finale des 26 RM analysés dans le cadre de ses travaux de recherches.

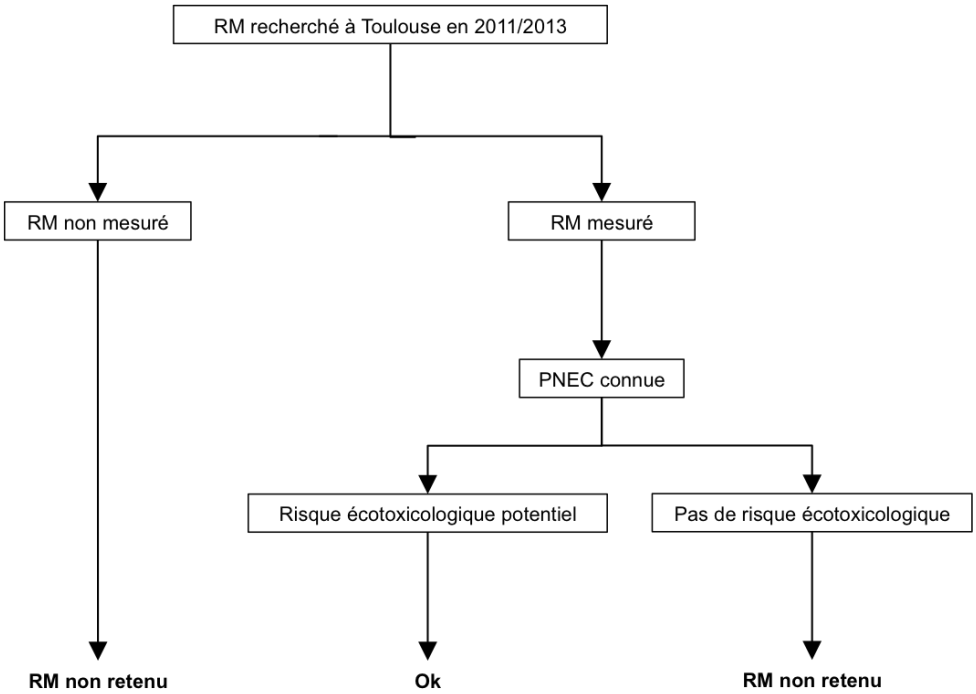


Figure 19. Arbre de décision pour la sélection des molécules à analyser dans le cadre de l'évaluation de l'exposition (Ok = sélection de la molécule pour l'évaluation de l'exposition du milieu à cette dernière).

Tableau XV. Liste des molécules retenues pour l'évaluation de l'exposition (26 RM). En rouge les RM inscrits sur la liste de vigilance de la DCE.

Famille	Molécule
AINS	Diclofénac
AINS	Ibuprofène
AINS	Kétoprofène
AINS	Naproxène
AINS	Acide salicylique
Analgésique	Paracétamol
Antibiotiques	Azithromycine
Antibiotiques	Ciprofloxacine
Antibiotiques	Clarithromycine
Antibiotiques	Erythromycine
Antibiotiques	Fluméquine
Antibiotiques	Ofloxacine
Antibiotiques	Sulfaméthoxazole
Antinéoplasique	Cyclophosphamide
Antiépileptique	Carbamazépine
Anti-ulcéreux	Ranitidine
Benzodiazépine	Lorazépam
Benzodiazépine	Oxazépam
Bétabloquant	Aténolol
Bétabloquant	Propranolol
Bétabloquant	Sotalol
Hypolipémiant	Bézafibrate
Hypolipémiant	Pravastatine
Hormone sexuelle	17 beta-estradiol
Hormone sexuelle	17-alphaéthinylestradiol
Hormone sexuelle	Estrone

2. Cartographie des stations

Pour l'évaluation de l'exposition, des prélèvements ont été réalisés sur huit stations (figure 20) :

- entrée et sortie de la STEU de Ginestous (avec raccordement d'établissements de soins) ;
- entrée et sortie de la STEU de Seilh (sans raccordement d'établissements de soins) ;
- et quatre stations, situées dans le milieu naturel en amont et en aval des STEU, dont une sur le Touch, un des affluents de la Garonne, et les autres dans la Garonne. Ces stations sont matérialisées par des étoiles sur la cartographie présentée par la figure 20.

La comparaison des résultats obtenus entre les différentes stations de prélèvements a permis de mesurer l'impact des rejets de la ville de Toulouse sur la présence de RM dans la Garonne. Les comparaisons des flux entrée/sortie des STEU et des flux amont/aval dans la Garonne par rapport aux sorties des STEU, ont permis de caractériser la dégradation de ces molécules respectivement dans les STEU et le milieu naturel.

Une description des STEU et du tronçon étudié de la Garonne est présentée ci-dessous.

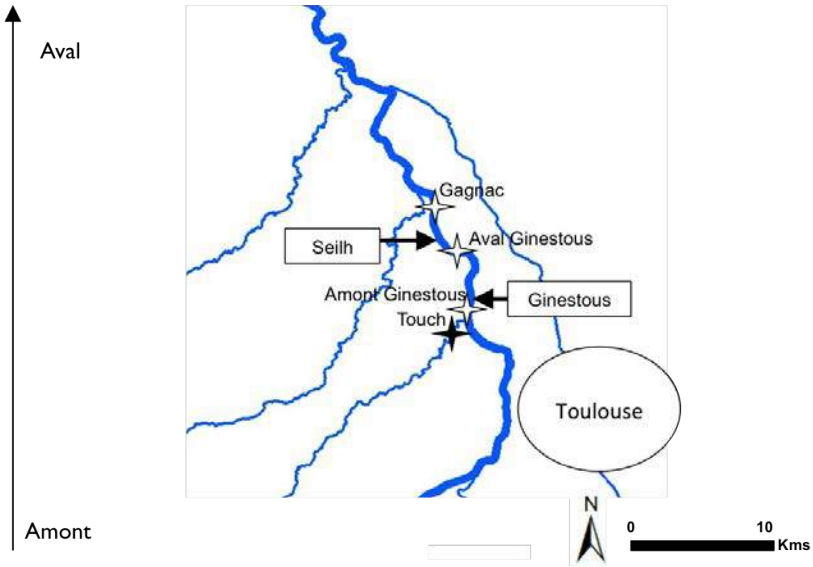


Figure 20. Cartographie des stations de prélèvements.

2.1 STEU de Ginestous

Toulouse, quatrième ville de France, a choisi dès 1940 les principes essentiels de son système d'assainissement actuel : la collecte séparée des eaux usées et des eaux pluviales

et la dépollution des eaux usées par l'usine de Ginestous (Véolia Eau, 2010). Cette usine se situe en rive droite de la Garonne (figure 22). Aujourd'hui, 1 000 kilomètres de réseaux acheminent les eaux usées jusqu'à l'usine de Ginestous, dont 82% proviennent de l'agglomération toulousaine et 18% de sept communes périphériques. La STEU de Ginestous assure ainsi le traitement de ces eaux usées avant de les rejeter dans la Garonne (Véolia Eau, 2010). Des établissements industriels, et des établissements de soins, sont également raccordés à l'usine. Les derniers travaux de rénovation et d'extension ont permis de faire passer la capacité de traitement de l'usine de 115 000 m3 à 160 000 m^3/jour en pointe (800 000 équivalent-habitant (EH)). Deux objectifs ont guidé ce projet : d'une part, faire face à l'augmentation de la population et à l'accroissement des activités économiques de la région et d'autre part, adapter les installations aux nouvelles contraintes réglementaires résultant de la loi sur l'eau de 1992 et des directives européennes pour la protection de l'environnement (Toulouse Métropole, s. d.). Ces travaux ont conduit à la structure actuelle de l'usine présentée dans la figure 21. Elle est ainsi constituée de quatre unités de traitements : G1, G2, G3 et G4. Les unités G1 et G2 peuvent atteindre une capacité de traitement de 450 000 et 100 000 EH respectivement. L'unité G3, qui réalise un traitement physico-chimique, a une capacité maximale égale à 250 000 EH. Enfin, l'unité G4, qui traite la totalité des eaux usées issues des unités G1, G2 et G3, a une capacité de traitement maximale égale à 800 000 EH.

Comme présenté dans l'étude bibliographique, l'usine comporte deux filières de traitement : la filière eau et la filière boue. Toutes les filières de traitement sont détaillées dans l'annexe 3. Les traitements des eaux usées et des boues sont sources de mauvaises odeurs. Des systèmes de traitement de ces odeurs (physico-chimique, thermique et biologique) sont ainsi présents sur la station. La description de la filière eau qui comporte six étapes de traitement est décrite en annexe 4. Globalement, la STEU de Ginestous utilise un traitement primaire et secondaire biologique pour dépolluer les eaux usées.

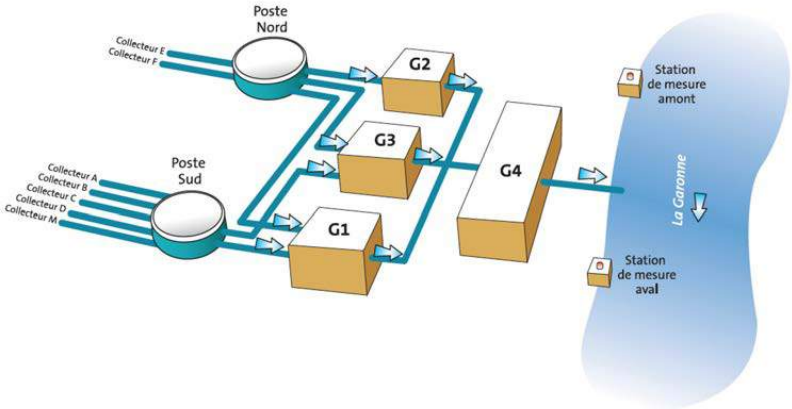


Figure 21. Schéma des filières de traitement de l'usine de Ginestous (source : Véolia Eau, 2010).

2.2 STEU de Seilh

En mai 2010, Toulouse Métropole a ouvert la nouvelle STEU de Seilh sur la région toulousaine. Elle se situe sur la rive gauche de la Garonne (figure 22) et bénéficie des six mêmes étapes de traitement que celles développées pour la STEU de Ginestous. Le traitement se fait donc par voie biologique à culture fixée, biofiltration et, contrairement à Ginestous, il n'y a pas de traitement par boue activée (Grand Toulouse, s. d.). Le temps de résidence des eaux est estimé à environ 4-5 heures. Un système de traitement des odeurs par voie physico-chimique est présent sur la station. Contrairement à la STEU de Ginestous, aucun établissement de soin n'est relié à cette station et sa capacité de traitement maximale est de 85 000 EH, soit 10 fois plus petite que Ginestous. Les rejets d'eaux usées traitées de la STEU de Seilh s'effectuent dans la Garonne à environ six kilomètres en aval des rejets de Ginestous.

Figure 22. Vue aérienne des STEU étudiées. À gauche la STEU de Seilh et à droite la STEU de Ginestous.

2.3 Garonne à Toulouse

La Garonne est un fleuve français qui prend sa source en Espagne et qui coule sur 529 kilomètres, dont 522 kilomètres sur le territoire français, et se jette dans l'océan Atlantique au niveau de l'estuaire de la Gironde (figure 23) (SIEAG, 2006 ; SANDRE, 2012). Le bassin versant s'étend sur trois anciennes régions : Midi-Pyrénées, Aquitaine et Languedoc-Roussillon (AEAG, 2014). Le bassin de la Garonne est le plus peuplé d'Adour-Garonne avec près de trois millions d'habitants (2010) (AEAG, 2014) avec les deux principales communautés urbaines, Toulouse (en amont) et Bordeaux (en aval), et quelques villes

moyennes (Agen, Marmande). À l'amont de Toulouse, le débit de la Garonne dépend de son enneigement et de la fonte des neiges. En aval, la Garonne a une alimentation pluviale due à ses principaux affluents. Le débit de la Garonne a été observé sur une période de 76 ans à une station située dans le département du Lot-et-Garonne, au Mas-d'Agenais. Le débit moyen inter-annuel enregistré à cette station est égal à 631 m^3 par seconde. La Garonne présente des fluctuations saisonnières de débits, avec une période de hautes eaux en hiver et au printemps et des débits mensuels moyens proches des 1 000 m^3 par seconde de décembre à mai, et une période de basses eaux d'été qui a lieu de juillet à octobre avec le débit mensuel moyen le plus bas enregistré au mois d'août et égal à 190 m^3 par seconde. La superficie totale du bassin versant de la Garonne est égale à 28 900 km^2 et l'occupation des sols est la suivante (SANDRE, 2012 ; AEAG, 2014):

- 3% représente des terrains artificialisés ;
- 36% des terres agricoles ;
- 37% des forêts et milieux semi-naturels ;
- 0,02% des zones humides ;
- 0,5% des eaux de surface ;
- 23,48% autres.

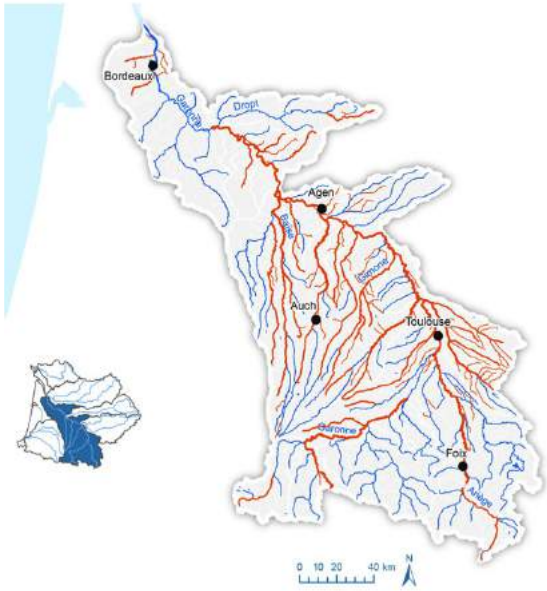


Figure 23. Bassin versant de la Garonne (source : AEAG, 2014)

Le tronçon du fleuve étudié dans le cadre de ces travaux de thèse fait environ 10 kilomètres. Comme présenté dans la figure 20, les trois stations étudiées sur ce tronçon de la Garonne sont, de l'amont vers l'aval (figure 24):

- « Amont Ginestous ». Cette station se situe à 540 mètres en amont des rejets de la STEU de Ginestous qui sont bien visibles sur la photo de droite de la figure 24. Pour cette station, les prélèvements ont été réalisés au milieu d'un pont.
- « Aval Ginestous ». Elle se situe à 4,5 kilomètres de la station « Amont Ginestous » et donc à 4 kilomètres en aval des rejets de Ginestous. Pour cette station, les prélèvements ont été réalisés en bord de Garonne sur la rive gauche.
- « Gagnac ». Cette station se situe à 5,8 kilomètres de la station « Aval Ginestous » et à 2,8 kilomètres en aval des rejets de la STEU de Seilh. Pour cette station, les prélèvements ont été réalisés au milieu d'un pont.

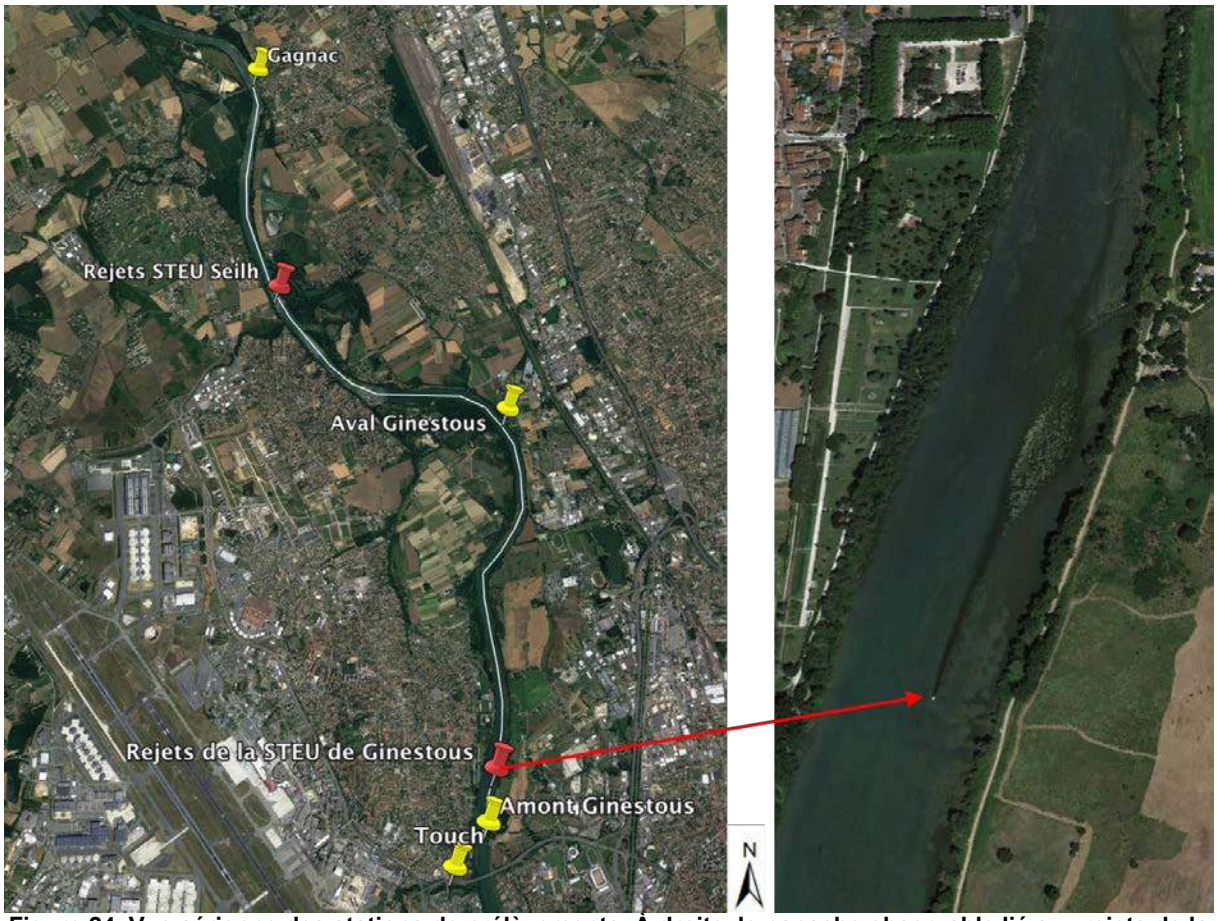


Figure 24. Vue aérienne des stations de prélèvements. À droite, le panache observable lié aux rejets de la STEU de Ginestous.

Ces stations sont localisées au niveau des points de suivi de la qualité de l'eau de l'AEAG (figure 25). Une station située sur un des affluents de la Garonne et dont la confluence avec la Garonne est située en amont de la zone de recherche a été étudiée. Cette station est celle du « Touch ». Cet affluent est soumis à une pression domestique significative (AEAG, 2014), ce qui a incité les prélèvements à cette station. La distance séparant la confluence Touch-Garonne avec la station « Amont Ginestous » est d'environ 200 mètres. Selon la banque hydro de France, le débit du Touch a été observé sur une période de 50 ans à Toulouse et son débit moyen inter-annuel est égal à 3,85 m^3 par seconde. Les prélèvements au niveau

de cette station ont été réalisés au milieu d'un pont.

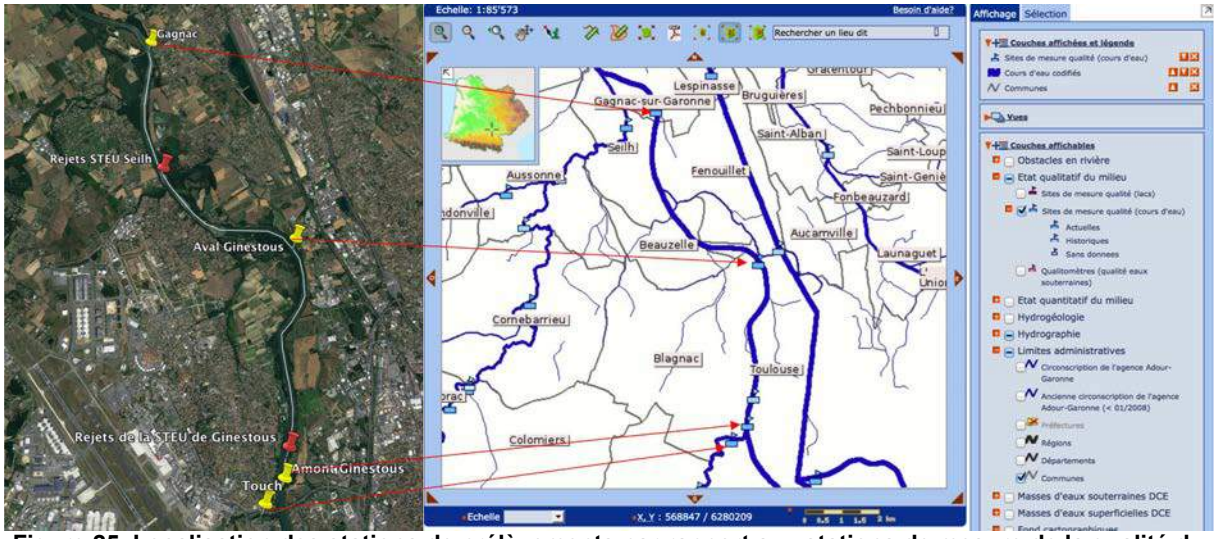


Figure 25. Localisation des stations de prélèvements par rapport aux stations de mesure de la qualité du cours d'eau. À droite, accès cartographique du Système d'Information sur l'Eau (SIE) du Bassin Adour-Garonne (source : http://adour-garonne.eaufrance.fr/carto).

3. Stratégie d'échantillonnage

Afin d'évaluer la contribution de l'agglomération toulousaine sur la présence de RM dans la Garonne, il est nécessaire de réaliser les prélèvements dans le milieu naturel en parallèle de ceux effectués en STEU. Les eaux usées brutes et les eaux traitées qui sont prélevées le jour X dans les STEU correspondent aux eaux du jour X-1. Ainsi, les prélèvements dans le milieu naturel sont décalés d'un jour par rapport à ceux réalisés en STEU et réalisés au jour X-1.

Les stratégies de prélèvements diffèrent en fonction des stations. Les prélèvements sont ponctuels dans le milieu naturel alors qu'ils sont continus dans les STEU. Que ce soit pour les prélèvements ou le stockage, les flacons utilisés sont en PolyEthylène Haute Densité (PEHD) (Nalgène).

Les analyses sont réalisées sur la phase dissoute des échantillons, des filtrations sont donc nécessaires. Ces dernières sont effectuées avec des filtres en fibre de verre, GF/F, de marque Whatman™ (porosité de 0,75 µm). Les eaux de STEU étant très chargées, une préfiltration avec des filtres GF/D de marque Whatman™ (porosité 2,7 µm) a été nécessaire.

3.1 STEU

En STEU, les prélèvements sont continus et effectués toutes les 24 heures pendant 72

heures, soit un prélèvement par jour pendant trois jours. Ces prélèvements sont asservis au débit, c'est-à-dire que 70 millilitres sont prélevés tous les 50 m^3 à la STEU de Seilh et 50 millilitres tous les 600 m^3 à la STEU de Ginestous. La figure 26 présente la stratégie d'échantillonnage pour les stations de prélèvements situées à la sortie de la STEU de Ginestous et à l'entrée et la sortie de la STEU de Seilh. La récupération des échantillons en STEU, étape 2 sur la figure 26, se fait le troisième jour. Le transport des flacons jusqu'au laboratoire s'effectue dans des glacières. Les filtrations et les mélanges sont réalisés le jour de la récupération des échantillons. Une fois la filtration effectuée, les échantillons sont stockés à -18°C en attendant d'être analysés.

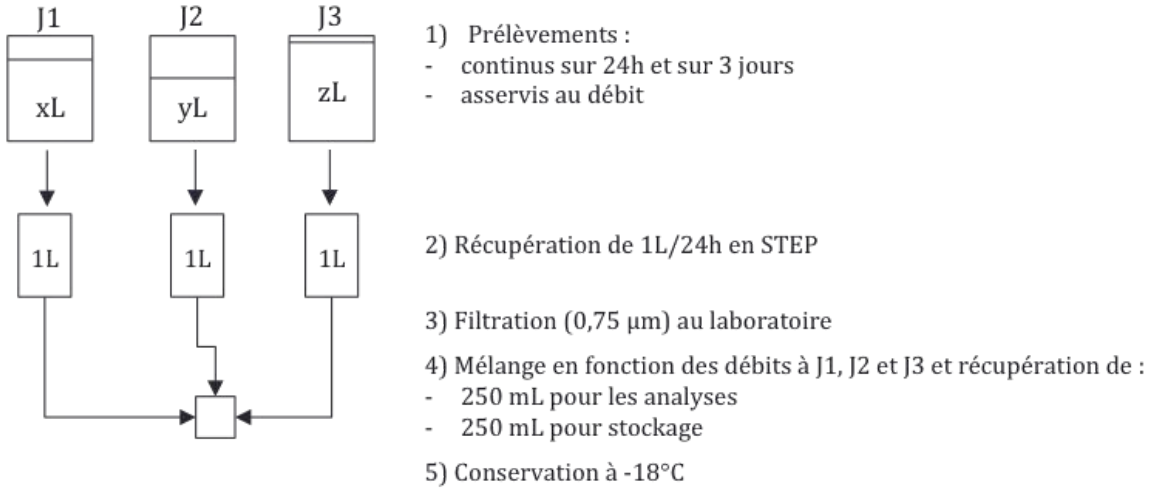


Figure 26. Stratégie d'échantillonnage pour la sortie de la STEU de Ginestous et l'entrée et la sortie de la STEU de Seilh (L = litre(s)).

Pour l'entrée de Ginestous, la stratégie est différente. En effet, comme présenté précédemment, la STEU présente trois entrées : G1, G2 et G3 et les prélèvements sont réalisés uniquement à G1 et G2 (figure 27). Pour des questions budgétaires, ces échantillons ont été mélangés afin de ne récupérer qu'un seul échantillon représentatif du flux total de l'entrée de la STEU de Ginestous. Ce flux total correspond à la somme des flux des trois filières G1, G2 et G3. En considérant que la concentration de RM à G1 (CG1) est égale à celle des eaux provenant du poste sud et allant vers G3 et que la concentration de RM à G2 (CG2) est égale à la concentration des eaux provenant du poste nord vers G3, le flux total pour l'entrée de la STEU de Ginestous est égal à :

$$Flux\ entrée\ total = Flux\ G1 + Flux\ G3 + Flux\ G2$$
$$Flux\ entrée = (CG1 \times DG1) + [(CG1 \times DSudG3) + (CG2 \times DnordG3)] + (CG2 \times DG2)$$

où D représente les débits.

L'équation ci-dessus illustre la nécessité de prendre en compte les débits, DG1, DG2,

DNordG3 et DSudG3 afin que le mélange des échantillons provenant de G1 et G2 soit représentatif de l'ensemble des eaux de l'entrée de la STEU. La figure 28 présente une synthèse de la stratégie d'échantillonnage effectuée pour les échantillons prélevés aux entrées de la STEU de Ginestous.

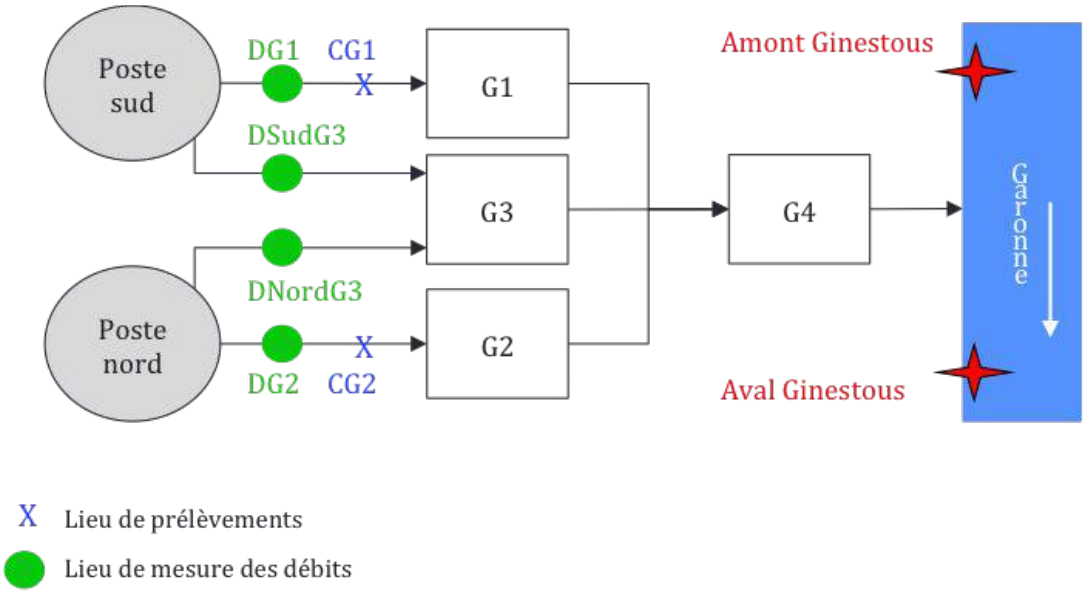


Figure 27. Schéma de la filière de traitement de la STEU de Ginestous avec la localisation des points de prélèvements et de mesure des débits à l'entrée de Ginestous.

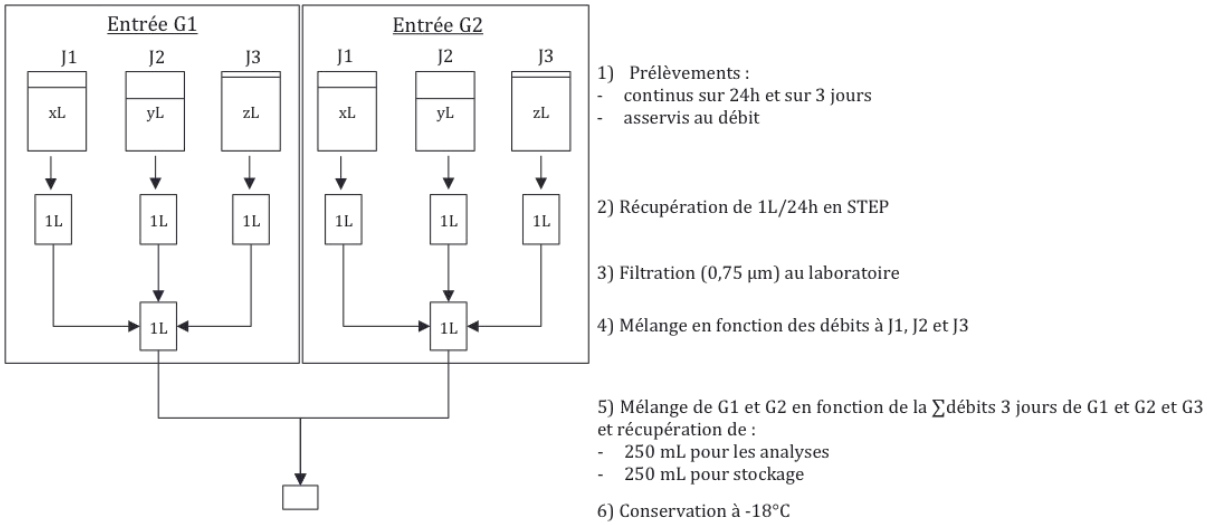


Figure 28. Stratégie d'échantillonnage pour les entrées de la STEU de Ginestous (L = litre(s) ; J = journée).

3.2 Milieu naturel

Dans le milieu naturel, les prélèvements sont ponctuels et effectués sur trois jours consécutifs à raison d'un prélèvement par jour. La figure 29 présente la stratégie d'échantillonnage pour les stations de prélèvements situées sur la Garonne et le Touch.

Durant une campagne, les prélèvements sont effectués de l'amont vers l'aval du tronçon étudié, c'est-à-dire, dans l'ordre des prélèvements, sur la station du Touch, puis sur la station « Amont Ginestous », « Aval Ginestous » et « Gagnac ». Le transport des flacons s'effectue dans des glacières. A la fin des journées J1 et J2, les échantillons sont conservés au réfrigérateur (entre 2°C et 4°C) jusqu'aux phases de filtration et mélange qui sont réalisées à la fin de la troisième journée de prélèvements, J3. Une fois la filtration effectuée, les échantillons sont stockés à -18°C en attendant d'être analysés.

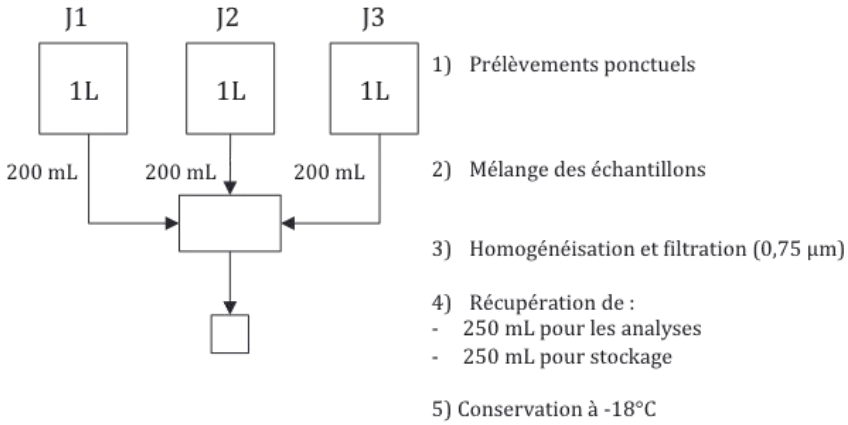


Figure 29. Stratégie d'échantillonnage pour les prélèvements dans le milieu naturel (J = journée).

4. Calendrier des prélèvements

Afin de caractériser l'évolution temporelle des flux de RM dans les STEU et le milieu naturel et évaluer les variations inter- et intra-annuelles, des prélèvements ont été réalisés (figure 30) :

- tous les mois à l'entrée et la sortie des deux STEU :
  - de mai 2015 à avril 2016 inclus pour l'entrée et la sortie des deux STEU ;
  - de mai 2016 à avril 2017 inclus pour les prélèvements effectués à la sortie de la STEU de Ginestous ;
- tous les deux mois dans le milieu naturel de juin 2015 à juin 2016 inclus, puis tous les mois de juin 2016 à avril 2017 inclus.

Au total, 125 échantillons ont ainsi été récoltés sur toute la durée de la thèse. Les calendriers détaillés pour les trois années sont présentés en annexe 5.

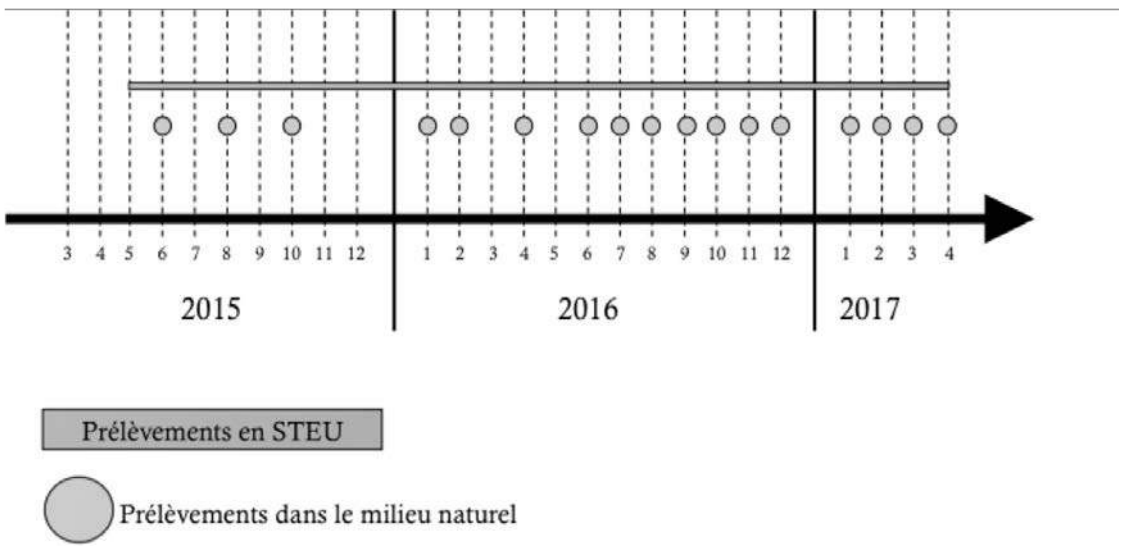


Figure 30. Calendrier des prélèvements réalisés en STEU et dans le milieu naturel (chiffre x = mois de l'année).

5. Méthodologies analytiques

Les analyses de RM ont été réalisées par le Laboratoire de Physico- et Toxico-Chimie de l'environnement (LPTC), Environnement et Paléo-environnement Océanique et Continentaux (EPOC, UMR 5805 CNRS), à Bordeaux.

Les analyses s'effectuent sur la phase dissoute et, dans la plupart des cas, une concentration des échantillons est nécessaire. Cette concentration s'effectue par une extraction sur phase solide (SPE). Dans cette étude, seul le Cyclophosphamide ne nécessite pas de phase de concentration, l'échantillon est donc injecté directement pour l'analyse. Le principe de la SPE repose sur la percolation de l'échantillon sur une cartouche contenant une phase adsorbante, où les analytes vont se fixer. Dans un second temps, l'élution de la cartouche par un solvant ayant une plus forte affinité avec les analytes que la phase stationnaire permet d'éluer les molécules d'intérêt dans un plus faible volume de solvant organique. Le choix de la phase stationnaire est donc primordial pour l'extraction. Pour les molécules neutres au pH d'extraction, une phase inverse mixte hydrophile-lipophile de type Oasis HLB (Hydrophilic-Lipophilic-Balanced) est utilisée. En revanche, pour des molécules ionisées au pH d'extraction, l'effet dissociant de l'eau va diminuer l'affinité des analytes pour la phase et engendrer de faibles rendements d'extraction. L'alternative est l'utilisation d'un adsorbant échangeur d'ion ayant une rétention améliorée envers les anions (Oasis MAX) ou les cations (Oasis MCX).

Dans le cadre de cette étude, pour l'analyse des médicaments, plusieurs techniques

séparatives ont été utilisées :

- la chromatographie en phase liquide (LC) ;
- la chromatographie en phase liquide ultra-performante (UPLC) ;
- et la chromatographie en phase liquide à résolution rapide (RRLC).

La séparation est basée sur les différences d'affinité entre analyte, phase stationnaire et phase mobile. Après séparation chromatographique, la détection est assurée par un couplage à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) de type triple quadrupôle. Cette technique souffre cependant de limites quant à l'ionisation des analytes. La source d'ionisation utilisée, par électronébulisation, est très sensible à la présence de sels ou d'additifs. Ainsi, dans le cas de matrices complexes telles que les eaux usées brutes, une suppression de signal peut survenir, affectant alors la sensibilité théorique observée dans du solvant. Les molécules sont ionisées en deux modes : mode d'ionisation positif (ESI+) ou mode d'ionisation négatif (ESI-). En mode d'ionisation positif, l'analyte va capter un proton H+ alors qu'en mode d'ionisation négatif, l'analyte va céder un proton pour former un anion. Le mode d'ionisation dépend des fonctions chimiques portées par l'analyte et en particulier de ses propriétés acido-basiques. Pour chacune des molécules analysées, les informations concernant les techniques d'extraction, de séparation et de détection sont présentées dans le tableau XVI. À l'exception des hormones qui ont été analysées en une seule fois, les analyses ont été effectuées sur trois périodes différentes. Les Limite de Détection (LD) et de Quantification (LQ) pour chacune de ces périodes (période 1, 2 et 3) sont présentées dans le tableau XVII. Le détail des périodes d'analyses de chacun des échantillons est présenté en annexe 6.

Tableau XVI. Méthodologies analytiques utilisées pour l'analyse des RM de l'étude.

Famille thérapeutique	Composés	Méthode d'extraction	Méthode de séparation	Méthode de détection	Prise d'essai
Analgésique	Paracétamol	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES +)	100 mL
Antibiotiques	Azithromycine	SPE cartouche HLB	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Ciprofloxacine	SPE cartouche HLB	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Clarithromycine	SPE cartouche HLB	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Erythromycine	SPE cartouche HLB	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Fluméquine	SPE cartouche HLB	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Ofloxacine	SPE cartouche HLB	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Sulfaméthoxazole	SPE cartouche HLB	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
Antinéoplasique (ou anticancéreux)	Cyclophosphamide	Injection directe	6490 LC	MS/MS (mode ES +)	100 µL
Antiépileptique	Carbamazépine	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES +)	100 mL
AINS	Acide salicylique	SPE cartouche Oasis MCX	UPLC ou RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Diclofénac	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Ibuprofène	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Kétoprofène	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
	Naproxène	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL
Anti-ulcéreux	Ranitidine	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES +)	100 mL
Benzodiazépines (ou anxiolytiques)	Oxazépam	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES +)	100 mL
	Lorazépam	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES +)	100 mL
Bétabloquants (ou cardiovasculaires)	Aténolol	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES +)	100 mL
	Propranolol	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES +)	100 mL
	Sotalol	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES +)	100 mL
Hormones sexuelles	17 béta-estradiol	SPE en ligne/injection directe	6490 LC	MS/MS (mode ES-)	1,8 mL
	17 alpha-éthinylestradiol	SPE en ligne/injection directe	6490 LC	MS/MS (mode ES-)	1,8 mL
	Estrone	SPE en ligne/injection directe	6490 LC	MS/MS (mode ES-)	1,8 mL
Hypolipémiant	Bézafibbrate	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES +)	100 mL
	Pravastatine	SPE cartouche Oasis MCX	RRLC	MS/MS (mode ES -)	100 mL

Tableau XVII. Limites de détection (LD), limite de quantification (LQ) et coefficients de variation (CV) pour chacune des campagnes d'analyses.

Famille thérapeutique	Composés	Période 1			Période 2			Période 3		
		LD ($ng.L^{-1}$)	LQ ($ng.L^{-1}$)	CV (%)	LD ($ng.L^{-1}$)	LQ ($ng.L^{-1}$)	CV (%)	LD ($ng.L^{-1}$)	LQ ($ng.L^{-1}$)	CV (%)
Analgésique	Paracétamol	2,1	7	3,1	0,2	0,8	3,1	0,3	1,1	0,8
Antibiotiques	Azithromycine	10,7	35,7	3,2	0,4	1,2	7,1	2,9	9,6	0,3
	Ciprofloxacine	20,8	69,4	2,1	0,6	2,1	1,4	1,8	5,9	4,8
	Clarithromycine	3,9	12,9	2,2	0,3	0,9	0,6	1,2	4,1	1,4
	Érythromycine	5,9	19,6	1,5	46	153,4	3,6	3,5	11,8	3,5
	Fluméquine	8,5	28,2	4,6	2,9	9,8	1,8	1,9	6,1	2,4
	Ofloxacine	2,2	7,3	1,7	0,1	0,4	2	0,2	0,6	0,7
	Sulfaméthoxazole	8	26,5	0,5	0,6	2	2	2,8	9,4	0,6
Antinéoplasique (ou anticancéreux)	Cyclophosphamide	0,5	1,6	0,3	0,1	0,3	0,3	1,3	4,3	2,6
Anti-épileptique	Carbamazépine	0,3	1,1	7,3	0,3	1,1	5,4	0,1	0,4	1
AINS	Acide salicylique	3,5	11,8	0,9	3,5	11,7	0,7	Non analysé	Non analysé	Non analysé
	Diclofénac	1,1	3,8	0,7	1,8	6,1	0,7	0,1	0,4	1,6
	Ibuprofène	0,3	1,1	4,2	0,2	0,5	4,2	0,5	1,6	1,6
	Kétoprofène	0,2	0,7	1,3	2,5	8,3	7,5	0,3	1	1,4
	Naproxène	0,4	1,5	4,8	0,5	1,8	4,8	0,3	1,1	1,4
Anti-ulcéreux	Ranitidine	2	6,7	3,8	1,3	4,4	1,6	0,2	0,6	0,7
Benzodiazépines	Oxazépam	0,6	2,1	5,3	1,1	3,7	2	0,9	3	4,9
	Lorazépam	1,8	6	7,7	2,7	9	7,7	2,7	9	4,3
Bétabloquants (ou cardiovasculaires)	Aténolol	1,6	5,3	3,6	1,1	3,5	3,6	1,2	4,1	2,3
	Propranolol	1,9	6,2	1,6	0,4	1,2	1,6	0,4	1,2	1,6
	Sotalol	0,8	2,8	2,2	3	9,9	2,2	0,6	2,1	3,9
Hormones sexuelles	17 béta-estradiol	0,05	0,2	2,2	0,05	0,2	2,2	0,05	0,2	2,2
	17 alpha-éthinylestradiol	0,2	0,7	5,7	0,2	0,7	5,7	0,2	0,7	5,7
	Estrone	0,1	0,4	3,1	0,1	0,4	3,1	0,1	0,4	3,1
Hypolipémiant	Bézafibbrate	2,3	7,8	1,2	1,1	3,5	0,6	0,7	2,5	1,3
	Pravastatine	0,05	0,2	6,9	0,05	0,2	6,9	0,7	2,3	2,6

6. Traitement des résultats

6.1 Analyses qualitatives

6.1.1 Pourcentages d'occurrence

Que ce soit pour les résultats des analyses effectuées sur les prélèvements en STEU ou dans la Garonne, des pourcentages d'occurrence ont été calculés pour chaque molécule a chacune des stations étudiées. Ce pourcentage est égal au nombre de fois qu'une molécule a été détectée (nombre d'occurrence) sur le nombre total de mesure.

$$Pourcentage\ d'occurrence = [\frac{(Nombre\ d'occurrence)}{(Nombre\ total\ de\ campagnes\ de\ prélèvements)}] * 100$$

Ce calcul a permis l'identification des RM les plus fréquemment détectés dans les STEU et la Garonne.

6.1.2 Analyses statistiques de base : moyenne et coefficients de variation

Pour les résultats provenant des concentrations de RM dans les eaux usées et le milieu naturel, les concentrations moyennes ont été calculées en intégrant l'ensemble des dates pour chaque molécule et à chaque station de prélèvements. Les coefficients de variation (CV) ont été calculés pour de rendre compte de la variation des concentrations mesurées en fonction des campagnes de prélèvements. Le calcul des CV, exprimés en pourcentage, a été fait selon l'équation suivante :

$$CV = [\frac{(Écart - type\ des\ concentrations)}{(Concentration\ moyenne)}] * 100$$

6.2 Rendements d'élimination des RM dans les STEU

Les prélèvements réalisés à l'entrée et la sortie des STEU étudiées permettent de calculer les rendements d'éliminations de la phase dissoute de ces dernières. Pour calculer ces rendements, les flux moyens pour chacune des molécules sont nécessaires. Le flux d'une molécule (exprimé en nanogramme par seconde) correspond au produit de sa concentration (exprimée en nanogramme par litre) et du débit (exprimé en litre par seconde). Dans cette étude, les prélèvements ont été réalisés sur trois jours continus en STEU. Les flux moyens ont donc été obtenus en utilisant les débits moyens sur ces trois jours de prélèvements. Pour chacune des trois journées de prélèvement, les débits ont été fournis par les techniciens de la STEU.

$$Flux\ moyen\ sur\ 3\ jours\,(ng.s^{-1}) = Concentration\,(ng.L^{-1}) \times Débit\ moyen\ sur\ 3\ jours\,(L.s^{-1})$$

Les rendements d'élimination (exprimés en pourcentage) résultent de la soustraction des flux moyens mesurés à l'entrée de la STEU considérée et des flux moyens mesurés à la sortie de cette même STEU. Ce calcul traduit l'effet du traitement de la STEU sur la réduction de la concentration en RM dans la phase dissoute entre l'entrée et la sortie de l'usine de traitement considérée.

$$Rendement\,(\%) = \frac{(Flux\ entrée\ STEU - Flux\ sortie\ STEU)}{(Flux\ entrée\ STEU)} \times 100$$

Le calcul des rendements permet de rendre compte de l'efficacité des STEU dans l'élimination des RM de la phase dissoute.

6.3 Variabilité spatiale des RM dans la Garonne

Pour cette partie exposition, les données ont été traités sur excel pour limiter l'utilisation du langage SQL. Pour les RM possédant des concentrations inférieures au seuil de détection (LD), la valeur de 0 a été attribuée. Pour les RM possédant des concentrations inférieures au seuil de quantification (LQ), la valeur correspondant à la LQ divisée par deux a été attribuée.

La Garonne est le réceptacle des eaux usées provenant des STEU de Ginestous et de Seilh. L'impact de l'agglomération toulousaine sur la présence de RM dans la Garonne est mis en évidence en comparant les flux et les concentrations de RM des stations situées en amont et en aval des rejets. Pour une station donnée, les flux sont calculés à partir des concentrations de RM mesurés à une date donnée et des débits correspondant, selon la formule suivante :

$$Flux\left(ng.s^{-1}\right)=Concentration\left(ng.L^{-1}\right)\times Débit\left(L.s^{-1}\right)$$

Pour chacune des campagnes de prélèvements, les débits de la Garonne et du Touch ont été récupérés sur la banque hydro de France (http://hydro.eaufrance.fr/). Pour le Touch, ce sont les débits de la station intitulée « Le Touch à Toulouse [Saint-Martin-du-Touch] » qui ont été récoltés. Sur les stations localisées sur la Garonne, « Amont Ginestous », « Aval Ginestous » et « Gagnac », la banque hydro ne possède aucune station de mesure des débits, il a donc fallu les estimer. Entre les stations « Amont Ginestous », « Aval Ginestous » et « Gagnac », aucun affluent est présent. Il a donc été considéré que les débits obtenus pour la station de Gagnac seraient équivalents à ceux des deux autres stations. Ces estimations ont été réalisées à partir des débits de la station de mesure la plus proche de Gagnac, c'est-à-dire, la station « La Garonne à Verdun-sur-Garonne », et des affluents situés entre ces stations, c'est-à-dire « La Save à Larra » ; « Le Girou à Cépet » ; « l'Hers à pont de périole » et « L'Aussonnelle à Seilh ». Ainsi, pour obtenir les débits de Gagnac, il a fallu soustraire les débits des affluents situés en aval de Gagnac au débit de la station située à Verdun (figure 31). La formule pour calculer le débit de Gagnac a donc été la suivante :

$$Débit\ Gagnac = Débit\ Verdun - \left(Débit\ Save + Débit\ Girou + Débit\ Hers + Débit\ Ausonnelle\right)$$

La somme des débits du Girou et de l'Hers à pont de périole donne le débit de l'Hers au niveau de la confluence avec la Garonne.

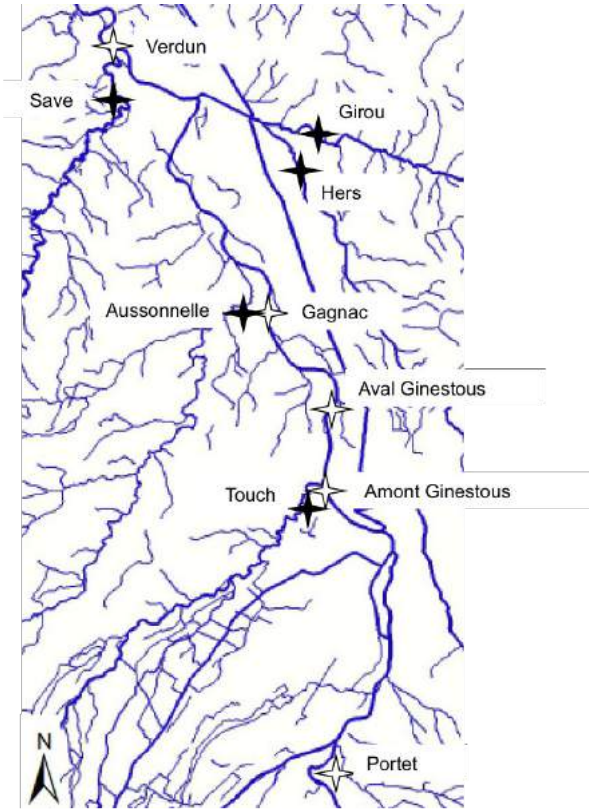


Figure 31. Cartographie des stations de mesure de la banque hydro de France et positionnement de la station de Gagnac.

L'étude de la station située en amont des rejets de Ginestous informe sur l'apport de RM provenant de l'amont du bassin versant et/ou du Touch. Pour tester les hypothèses formuler dans le cadre de ce travail, des analyses statistiques ont été réalisées sur le logiciel R. Dans un premier temps, ce sont des analyses descriptives qui ont été réalisées, pour les concentrations et les flux, à partir de deux Analyses en Composantes Principales (ACP). Une ACP est une analyse multivariée qui consiste à transformer des variables liées entre elles (ici les concentrations ou flux de molécules) en nouvelles variables décorrélées les unes des autres et nommées « composantes principales ». Ces analyses ont permis une première évaluation graphique. Pour conforter ces résultats descriptifs, des analyses inférentielles ont été réalisées. La première a consisté à réaliser des analyses de variance sur chaque molécule, ou ANOVA, pour tester l'effet de la localisation des stations. Ces analyses permettent de savoir si une ou des variable(s) dépendante(s) (ici les concentrations ou flux de molécules) sont en relation avec une ou des variable(s) indépendante(s) (ici les stations). Pour ce genre d'analyses, l'hypothèse nulle (H0) est « pour une molécule considérée, les concentrations ou les flux sont équivalents quelle que soit la station » et l'hypothèse alternative (H1) est « pour une molécule considérée, les concentrations ou les flux varient en fonction des stations ». Lorsque la p-value est inférieure à 0,05, H0 est rejetée. Ensuite, des tests de Student appariés ont été réalisés pour chacune des molécules. Ces tests ont été appariés car les stations se situant sur le même fleuve, les données issues

des stations étudiées sont considérées comme appariées. Ces tests comparent les moyennes des flux ou des concentrations, calculées pour chaque RM, et à chaque station en intégrant toutes les dates de prélèvements. Pour ces tests, les stations sont comparées deux à deux. Les résultats d'un test sont considérés comme significatifs si les p-values sont inférieures à 0,01. En effet, dans le cadre de tests à comparaisons multiples (ici trois comparaisons), pour limiter le risque de rejet à tort de l'hypothèse H0, la correction de Bonferroni est appliquée. Elle consiste à diviser le seuil de 0,05 par le nombre de comparaison réalisé. H0 de ce test est : il n'y a pas de différence entre les stations comparées pour une molécule donnée. Il y a donc une probabilité de 0,01 que cette hypothèse soit rejetée à tort, le risque est ainsi très limité.

6.4 Variabilité temporelle

Afin d'étudier la variabilité temporelle des concentrations de RM dans la Garonne, des analyses inférentielles ont été réalisées. L'une d'entre elles a consisté à réaliser des ANOVA où H0 : « pour une molécule considérée, les concentrations sont équivalentes quelle que soit la campagne de prélèvements considérée » et H1 : « pour une molécule considérée, les concentrations varient en fonction des campagnes de prélèvements ». Lorsque la p-value est inférieure à 0,05, H0 est rejetée. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces variations temporelles dont le débit. Afin d'étudier la relation entre ce facteur et les concentrations de RM, des tests de corrélation ont été réalisés pour chaque RM. Ces tests ont permis d'évaluer une association de dépendance entre les concentrations de RM (variables dépendantes) et le débit (variable indépendante). Les coefficients de corrélation R^2 permettent de rendre compte de l'importance de la relation, plus ces valeurs seront proches de 1 et plus la/les variable(s) dépendante(s) est/sont expliquée(s) par la/les variable(s) indépendante(s). De plus, le signe, positif ou négatif d'un R^2 informe sur une relation positive, l'augmentation de la/des variable(s) indépendante(s) entraine une augmentation de la/des variable(s) dépendante(s), ou négative, l'augmentation de la/des variable(s) indépendante(s) entraine une diminution de la/des variable(s) dépendante(s). Ensuite, pour les molécules présentant des risques écotoxicologiques pour la Garonne, des graphes ont été réalisés pour identifier les périodes où les concentrations sont les plus élevées.

7. Influence du milieu naturel - Calcul des PEC

Comme présenté dans l'étude bibliographique, le milieu naturel présente dès propriétés intrinsèques qui permettent la régulation des concentrations des molécules exogènes. Les

processus responsables de cette régulation peuvent être de nature abiotique (photodégradation, adsorption, …) et biotique (biodégradation). Pour mettre en évidence ce phénomène dans la Garonne, des Predicted Environmental Concentrations (PEC) ont été calculées (exprimées en nanogramme par litre). Une PEC permet d'estimer une concentration environnementale à partir de mesures effectuées à la sortie de STEU. Une PEC est ainsi calculée à partir des flux mesurés à la sortie de la STEU de Ginestous et des débits (exprimés en litre par seconde) de la Garonne.

$$PEC\left(ng.L^{-1}\right)=\frac{\left(Flux\,sortie\,STEU\left(ng.s^{-1}\right)\right)}{\left(Débit\,Garonne\left(L.s^{-1}\right)\right)}$$

Pour mettre en évidence ces processus de régulation, les valeurs de PEC ainsi obtenues et l e s Measured Environnemental Concentrations (MEC) mesurées à la station de prélèvements la plus proche de la STEU, la station « Aval Ginestous », ont été comparées. Pour cela, des ANOVA ont été réalisées. Pour ces analyses, H0 est « pour une molécule considérée, les PEC et les MEC sont équivalentes » et H1 est « pour une molécule considérée, les PEC et les MEC sont différentes ». Lorsque la p-value est inférieure à 0,05, H0 est rejetée.

La comparaison des PEC et MEC a permis de rendre compte du potentiel d'abattement des concentrations de RM provenant des eaux usées par le milieu naturel. Les résultats des analyses effectuées sur les prélèvements réalisés en STEU et dans le milieu naturel ont permis d'évaluer l'exposition de la Garonne aux RM présents dans les rejets d'eaux usées de l'agglomération toulousaine. Ces données sont intégrées à la BDD, ainsi, les concentrations mesurées dans les STEU sont référencées dans la table « step » et celles mesurées dans la Garonne et le Touch sont référencées dans la table « milieunaturel ». Les calculs effectués dans le cadre de cette thèse pour évaluer les risques écotoxicologiques dans la Garonne toulousaine, sont présentés dans le chapitre suivant.

Chapitre 4. Caractérisation des risques écotoxicologiques

Ce chapitre présente les méthodologies utilisées pour l'évaluation des risques environnementaux associés à la présence de RM dans la Garonne toulousaine.

Dans ce chapitre, la méthodologie utilisée pour l'ERE est déployée.

La caractérisation des risques écotoxicologiques s'effectue à partir des niveaux d'exposition de la Garonne aux RM, caractérisés par les PEC ou les MEC, et la dangerosité des molécules, caractérisée par les Predicted No Effect Concentrations (PNEC). Selon Tissier et Marchand, deux approches sont envisageables pour la caractérisation des risques : l'approche déterministe, proposée par le TGD, et l'approche probabiliste (Tissier et Marchand, 2007). L'approche déterministe caractérise le risque par le rapport PEC (ou MEC) /PNEC. Si ce rapport est supérieur à 1, alors la molécule donnée peut être considérée comme préoccupante pour l'environnement. Cette méthode est la plus souvent employée mais elle n'intègre ni l'incertitude, ni la variabilité de façon transparente. L'approche probabiliste signifie que le risque est défini comme une probabilité qu'un événement non souhaité ait lieu. L'approche déterministe ne permet pas de répondre à cette définition car les impacts d'un composé chimique ne sont pas clairement définis et la seule indication d'effet est la détermination d'une valeur seuil représentant une concentration environnementale sans effet (PNEC). Par ailleurs, les données de base requises pour conduire une évaluation du risque restent très limitées et génèrent un niveau d'incertitude élevé. La réponse apportée dans l'approche déterministe pour pallier ce niveau d'incertitudes dans l'évaluation de l'exposition est de se placer dans le pire cas raisonnable. Il est à craindre que la multiplication des pires cas puisse conduire à des évaluations du risque non réalistes. L'analyse quantitative du niveau d'incertitude dans la procédure d'analyse du risque constitue l'approche probabiliste. La détermination probabiliste de la PEC intègre la fluctuation des paramètres environnementaux et prend en compte l'incertitude sur la valeur de certains paramètres et la distribution des mesures existantes (Tissier et Marchand, 2007). En caractérisant les évolutions temporelles et spatiales des concentrations des RM étudiées et en prenant en compte la variabilité des données de toxicités, l'approche utilisée ici pour l'évaluation des risques peut être considérée comme étant un mélange entre l'approche déterministe et probabiliste.

Pour prendre en compte l'amplitude des données de danger et d'exposition, le calcul de risque a été réalisé à partir des PNEC minimales disponibles dans la BDD et des MEC minimales, maximales et médianes. Les PNEC minimales pour chaque RM ont été obtenues par le biais des commandes SQL qui sont présentées dans le chapitre 3 de la partie « Résultats » du manuscrit. Les PNEC calculées selon la méthodologie développé dans le chapitre 2 de cette partie « Matériels et méthodes » ont été intégrées aux PNEC récoltées dans la littérature scientifique. Puis, l'ensemble des PNEC de la BDD a été utilisé pour rendre compte de l'impact des RM sur l'ensemble des organismes utilisés pour la définition de ces seuils de toxicité. Ainsi, après avoir mis en évidence les molécules les plus

préoccupantes pour la Garonne via un calcul classique utilisant un quotient de risque égal au rapport MEC/PNEC, à partir des données d'exposition minimales, maximales et médianes, un graphique a été réalisé. Ce dernier met en parallèle l'ensemble des données de danger (PNEC) et d'exposition recueillies et disponibles pour ces molécules dans la BDD, ce qui permet d'évaluer :

- l'impact de ces molécules sur l'ensemble des organismes aquatiques (algues, poissons et crustacés) ;
- l'impact de l'amplitude des données de danger sur l'évaluation du risque ;
- et l'impact de l'amplitude des données d'exposition sur l'évaluation du risque.

Puis, à partir de ces résultats, des pourcentages d'occurrence de ces risques ont été calculés pour chacune des molécules. Ce pourcentage se calcule de la même façon que le pourcentage d'occurrence calculé dans le cadre de l'évaluation de l'exposition (page 151), il est égal au nombre de fois qu'une molécule a présenté une MEC supérieure à la PNEC utilisée (nombre d'occurrence) sur le nombre total de dates de prélèvement.

Dans ces travaux de recherches, pour caractériser l'impact des rejets d'eaux usées de l'agglomération toulousaine sur la présence de RM, une ERE est réalisée pour les molécules pharmaceutiques. Cette dernière est permise par la comparaison des données de danger récoltées dans la littérature scientifique, ou calculées selon la méthodologie décrite dans cette partie, et les données d'exposition de la Garonne et des STEU étudiées. Dans le cas de cette étude, le choix d'utiliser les MEC a été fait afin de limiter les risques de sur- ou sous-estimation de ces derniers. Ces données de danger et d'exposition sont référencées dans la BDD. Paradoxalement à la zone d'étude qui est relativement restreinte, il y a de la diversité dans les informations recueillies, aussi bien pour la partie danger que pour la partie exposition (fréquence de prélèvement). L'étude de l'ensemble de ces données donne des perspectives de compréhension et, par extension, de maîtrise de la problématique, importantes.

La partie suivante s'intéresse aux résultats de la thèse. Elle se découpe comme la partie 2, c'est-à-dire, avec une présentation des données de danger recueillies, des données d'exposition et des risques.

Partie 3.

Résultats

Chapitre 1. Évaluation des dangers 165
1. Description des données de danger 168
2. Comparaison des bio-essais et des modélisations QSAR 173
3. Variabilité des données issues des bio-essais et des modélisations 177
4. Variabilité des PNEC récoltées dans la littérature 188
5. PNEC calculées 191
Chapitre 2. Évaluation de l'exposition 195
1. Occurrence des RM 197
2. Variabilité spatiale dans la Garonne 208
3. Variabilité temporelle 217
4. Comparaison des PEC et des MEC 221
Chapitre 3. Caractérisation des risques écotoxicologiques 225
1. Sélection des données de danger et exposition 227
2. Caractérisation du risque global 232
3. Variabilité temporelle des risques écotoxicologiques 235

Cette partie est consacrée à la présentation des résultats et se décompose en trois chapitres.

Le premier chapitre décrit les données de danger récoltées dans la littérature scientifique. Il présente notamment l'amplitude des données de toxicité aiguë et chronique mais également des PNEC, en fonction des molécules mais également des organismes. Dans ce chapitre, la cohérence entre les données de danger, modélisées par QSAR et provenant de tests biologiques, collectées dans la littérature scientifique est traitée.

Le deuxième chapitre présente les résultats des analyses d'eaux usées brutes et traitées et d'eau provenant du milieu naturel. Dans ce chapitre, les rendements d'élimination des STEU, la variabilité spatiale des flux et des concentrations et la variabilité temporelle des concentrations de RM dans le milieu naturel, sont étudiés.

Enfin, le troisième chapitre présente les risques écotoxicologiques liés à la présence de RM dans la Garonne toulousaine en intégrant les variabilités spatio-temporelles des données d'exposition ainsi que la variabilité des données de danger. Ces risques écotoxicologiques ont été calculés en intégrant les PNEC récoltées dans la littérature sientifique et celles calculées dans le cadre de cette thèse à partir des données de danger brutes référencées dans la BDD (bio-essais et modélisations QSAR).

Chapitre 1. Évaluation des dangers

Ce chapitre décrit les données de danger récoltées dans la littérature scientifique.

Il présente dans le détail, toutes les données de danger intégrées à la BDD. Ainsi pour chacune des catégories de données de toxicité obtenues par des bio-essais, des modélisations et des biomarqueurs, le nombre de molécules et les principaux organismes utilisés sont présentés. Puis, la réglementation préconisant uniquement l'utilisation des données de bio-essais et de modélisation QSAR pour la définition des PNEC, la suite de ce chapitre ne s'est focalisée que sur ces données. Avant de ne considérer que ces données, la cohérence entre les données de toxicité modélisées et les données biologiques mesurées (bio-essais) a été analysée. Pour chacune des méthodologies utilisées pour l'obtention de données d'écotoxicité (bio-essais sur le court-terme (toxicité aiguë), bio-essais sur le long terme (toxicité chronique), modélisations et PNEC) la variabilité des résultats inter- et intra-moléculaire a été étudiée. Ces résultats ont permis de mettre en évidence les lacunes ainsi que les sources d'incertitudes dans l'ERE associées à l'amplitude de l'ensemble des données de danger.

Dans la BDD, 66 RM ont fait l'objet de recherche de données de danger. Ces 66 RM sont présentés dans le tableau XII cité dans le chapitre 2 de la partie 2 « Matériels et méthodes ». Toutes les données de danger (bio-essais, modélisations, biomarqueurs et PNEC) intégrées à la BDD sont issues de 127 articles. Les références bibliographiques de ces articles sont présentées en annexe 7. Parmi ces molécules, 47 présentent au moins une donnée de toxicité que ce soit des données issues de bio-essais, modélisations ou biomarqueurs et 19 RM ne possèdent aucune donnée de toxicité dans la BDD. Pour les données de PNEC, 52 RM présentent au moins une valeur et 14 n'en possèdent aucune.

Au total, 1237 données de toxicité ont été récoltées dans la littérature scientifique et référencées dans la BDD. Sur les 1237 données de toxicité :

- 933 (75%) sont des bio-essais dont :
  - 376 (40%) sont réalisés à court terme (aiguës),
  - 539 (58%) sont réalisés à long terme (chroniques)
  - et 19 ne présentent pas de précision sur la durée du test (2%) ;
- 143 (12%) sont issues de modélisations QSAR ;
- et 160 (13%) sont des valeurs provenant de biomarqueurs.

Concernant les PNEC, 382 valeurs ont été récoltées dans la littérature scientifique et référencées dans la BDD.

La figure 32 présente, pour chacune des catégories de données de danger (bio-essais, modélisations QSAR, biomarqueurs et PNEC) le nombre de RM possédant au moins une donnée de toxicité par catégorie. Le nombre de molécules en commun parmi les différentes données de danger est également présenté dans cette figure.

Pour la présentation des résultats, le 17 alpha-éthynylestradiol et le 17 beta-estradiol seront respectivement nommés EE2 et E2. Enfin, pour la plupart des graphes présentés dans ce chapitre, les données ont été log transformées afin d'améliorer la lisibilité des résultats.

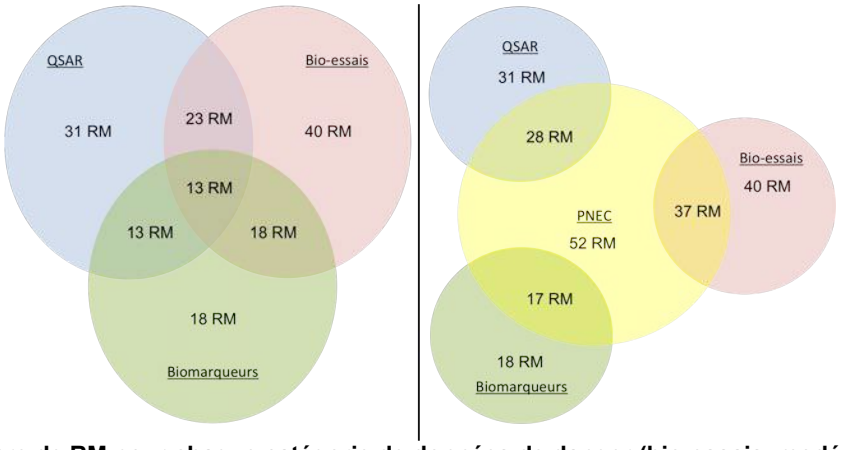


Figure 32. Nombre de RM pour chaque catégorie de données de danger (bio-essais, modélisations QSAR, biomarqueurs et PNEC). À gauche, comparaison entre le nombre de RM pour les différentes évaluations écotoxicologiques, à droite, comparaison entre le nombre de RM pour les PNEC et les données de toxicités.

Le tableau XVIII présente un résumé de toutes les données de toxicité présentent dans la BDD. Ce tableau est détaillé dans les paragraphes ci-dessous.

Tableau XVIII. Nombre de molécules, espèces et organismes présentant des données de toxicité provenant de bio-essais (total, aiguë et chronique), de modélisations et de biomarqueurs (total, effet et exposition).

	Nombre de molécules (% par rapport au 66 RM)	Nombre de valeurs	Nombre d'espèces	Nombre d'organismes
Bio-essais	40 (60%)	933	65	21
- aiguë	36 (54%)	376	37	15
- chronique	33 (50%)	539	47	15
Modélisations	31 (47%)	143	5	3
Biomarqueurs	19 (29%)	160	17	7
- effet	6 (9%)	18	3	4
- exposition	17 (26%)	142	15	4

1. Description des données de danger

Dans ce chapitre, si des requêtes SQL ont été réalisées sur l'interface graphique de la BDD, ces dernières sont présentées.

1.1 Bio-essais

Les bio-essais représentent 75% des données référencées dans la BDD. Sur les 66 RM ayant fait l'objet des recherches dans la littérature scientifique, 40 présentent au moins une donnée de toxicité issue de bio-essais. La requête ci-dessous est la commande qui a permis d'obtenir ce résultat dans l'interface graphique de la BDD.

```
select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
```

Comme exposé dans la partie « Matériels et méthodes », les bio-essais peuvent être réalisés sur une multitude d'organismes et d'espèces différentes. Pour l'ensemble des résultats des bio-essais (aiguë et chronique) référencés dans la BDD, 21 organismes différents sont utilisés pour des bio-essais.

```
select count (distinct "organisme")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
```

Les crustacés font partie des organismes les plus représentés dans la BDD avec 239 données provenant de bio-essais, soit 26%. Puis, dans l'ordre décroissant sont retrouvés, les macrophytes, les poissons, les algues, les cyanobactéries, les bactéries, les hydres et les rotifères avec respectivement 155 (17%), 120 (13%), 108 (11%), 88 (9%), 78 (8%), 56 (6%) et 42 (4%) résultats issus de tests réalisés sur ces organismes. L'ensemble de ces

organismes représentent ainsi environ 94% des résultats issus de bio-essais et référencés dans la BDD.

À l'échelles des espèces, 65 espèces différentes ont été utilisées. Le top 10 des espèces les plus utilisés est présenté dans le tableau XIX.

```
select count (distinct "espece")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
```

Tableau XIX. Top 10 des espèces les plus utilisées dans le cadre de bio-essais avec des molécules pharmaceutiques.

Espèces	Nombre de tests (%)
Lemna sp. (macrophyte)	153 (16%)
Daphnia sp. (crustacé)	136 (14%)
Vibrio fischeri (bactérie)	55 (6%)
Hydra sp. (hydre)	56 (6%)
Pseudokirchneriella subcapitata (algue)	48 (5%)
Pimephales promelas (poisson)	44 (5%)
Brachionus sp. (rotifère)	42 (5%)
Ceriodaphnia sp. (crustacé)	38 (4%)
Mycrocystis sp. (cyanobactérie)	30 (3%)
Anabaena sp. (cyanobactérie)	27 (3%)

Les *Lemna sp.* (macrophyte) et les *Daphnia sp.* (crustacé) sont les espèces les plus utilisées dans les études écotoxicologiques référencées dans la BDD. Ces deux espèces représentent 30% de l'ensemble des données avec 16% des données pour *Lemna sp.* et 14% pour *Daphnia sp.*. *Vibrio fischeri* (bactérie) et *Hydra sp.* (hydre) représentent chacun 6% des résultats des bio-essais intégrés dans la BDD, puis ce sont *Pseudokirchneriella subcapitata* (algue), *Pimephales promelas* (poisson) et *Brachionus sp.* (*rotifère)* qui sont utilisés dans 5% des cas pour chacune des espèces, devant *Ceriodaphnia sp.* (crustacé) qui représente 4% des données et *Mycrocystis sp. et Anabaena sp.* (cyanobactéries) qui représentent 3% des études pour chacune des deux espèces.

Dans la BDD, pour les bio-essais, une précision est apportée sur le type de toxicité, aiguë ou chronique. Cette information renseigne sur la durée d'exposition des organismes utilisés pour les tests écotoxicologiques. Les critères utilisés (organismes et durée d'exposition), pour qualifier les résultats des tests écotoxicologiques d'aiguë ou de chronique, sont exposés dans le tableau XIII du chapitre 2 de la partie « Matériels et méthodes ». Les résultats pour ces deux types de toxicité sont présentés ci-dessous.

1.1.1 Toxicité aiguë

Sur les 66 RM ayant fait l'objet de ces recherches dans la littérature scientifique, 36 présentent au moins une donnée de toxicité aiguë.

```
select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
and "typetoxicite"='Aigue'
```

Le nombre d'organismes est 15.

```
select count (distinct "organisme")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
and "typetoxicite"='Aigue'
```

En ce qui concerne les différentes espèces utilisées, elles sont au nombre de 37.

```
select count (distinct "espece")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
and "typetoxicite"='Aigue'
```

1.1.2 Toxicité chronique

Sur les 66 RM ayant fait l'objet de ces recherches dans la littérature scientifique, 33 présentent au moins une donnée de toxicité chronique.

```
select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
and "typetoxicite"='Chronique'
```

Les différents organismes utilisés sont au nombre de 15.

```
select count (distinct "organisme")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
and "typetoxicite"='Chronique'
```

En ce qui concerne les différentes espèces utilisées, elles sont au nombre de 47.

```
select count (distinct "espece")
from "toxicites"
where "ecotox"='Bioessais'
and "typetoxicite"='Chronique'
```

1.2 Modélisations QSAR

Les modélisations QSAR représentent 12% des données de toxicité référencées dans la BDD. Sur les 66 RM ayant fait l'objet des recherches dans la littérature scientifique, 31 présentent une donnée de toxicité aiguë issue de modélisation QSAR et quatre de modélisations sur le long-terme (toxicités chroniques).

```
select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
```

```
where "ecotox"='Modélisation'

select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
where "ecotox"='Modélisation'
and "typetoxicite"='Aigue'

select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
where "ecotox"='Modélisation'
and "typetoxicite"='Chronique'
```

Seulement trois organismes sont référencés dans la BDD pour les modélisations. Les nombres et les pourcentages des résultats pour chacun de ces trois organismes sont présentés dans le tableau XX. Les parts de représentativité des données dans la BDD pour chacun de ces organismes sont identiques.

```
select count (distinct "organisme")
from "toxicites"
where "ecotox"='Modélisation'
```

Tableau XX. Nombres et pourcentages des données de toxicité pour chacun des organismes utilisés dans le cadre des modélisations QSAR sur des molécules pharmaceutiques.

Espèces	Nombre de tests (%)
Algue	50 (34%)
Crustacé	47 (33%)
Poisson	47 (33%)

Pour l'ensemble des résultats issus des modélisations et référencés dans la BDD, cinq espèces différentes ont été utilisées.

```
select count (distinct "espece")
from "toxicites"
where "ecotox"='Modélisation'
```

1.3 Biomarqueurs

Les biomarqueurs représentent 13% des données de toxicité référencées dans la BDD. Sur les 66 RM ayant fait l'objet des recherches dans la littérature scientifique, 19 présentent au moins une donnée de toxicité issue de biomarqueurs. Ces derniers ont été différenciés selon s'ils représentent des biomarqueurs d'effet ou d'exposition. Ainsi, six molécules différentes ont des résultats avec des biomarqueurs d'effet et 17 avec des biomarqueurs d'exposition. Une molécule peut présenter des résultats aussi bien pour les biomarqueurs d'effet que d'exposition.

```
select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
where "ecotox"='Biomarqueur effet'
```

```
or "ecotox"='Biomarqueur exposition'

select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
where "ecotox"='Biomarqueur exposition'

select count (distinct "nommolecule")
from "toxicites"
where "ecotox"='Biomarqueur effet'
```

Concernant les organismes, sept sont représentés par les biomarqueurs, quatre sont référencés dans la BDD pour les biomarqueurs d'effet et quatre également pour les biomarqueurs d'exposition.

```
select count (distinct "organisme")
from "toxicites"
where "ecotox"='Biomarqueur effet'
OR "ecotox"='Biomarqueur exposition'

select count (distinct "organisme")
from "toxicites"
where "ecotox"='Biomarqueur effet'

select count (distinct "organisme")
from "toxicites"
where "ecotox"='Biomarqueur exposition'
```

Pour l'ensemble des résultats issus des biomarqueurs et référencés dans la BDD, 17 espèces différentes sont utilisées, trois espèces sont testées pour les biomarqueurs d'effet et 15 pour les biomarqueurs d'exposition. Une espèce peut être aussi bien testée avec des biomarqueurs d'effet que d'exposition. C'est pour cette raison que la somme des espèces des deux types de biomarqueurs n'est pas égale au nombre total d'espèces représentées par les biomarqueurs, soit 17. Les nombres et les pourcentages des cinq espèces les plus utilisées sont présentés dans le tableau XXI.

```
select count (distinct "espece")
from "toxicites"
where "ecotox"='Biomarqueur effet'
OR "ecotox"='Biomarqueur exposition'

select count (distinct "espece")
from "toxicites"
where "ecotox"='Biomarqueur effet'

select count (distinct "espece")
from "toxicites"
where "ecotox"='Biomarqueur exposition'
```

Les poissons et, plus particulièrement, les cellules hépatiques de poisson (PLHC-1) et le genre *Oncorhynchus sp.* sont utilisés avec des parts respectivement égales à 31% et 23 %.

Tableau XXI. Top 5 des espèces ou cellules les plus utilisées dans le cadre d'étude écotoxicologique utilisant des biomarqueurs et référencées dans la BDD.

Espèces	Nombre de tests (%)
PLHC-1 (cellule hépatique de poisson)	49 (31%)
Oncorhynchus sp. (poisson)	37 (23%)
Danio rerio (poisson)	20 (12%)
Saccharomyces cerevisae (Levure)	12 (7,5%)
Cyprinus carpio (poisson)	8 (5%)

2. Comparaison des bio-essais et des modélisations QSAR

Dans la BDD, pour l'ensemble des RM étudiés pour l'évaluation des dangers, 44 molécules possèdent au moins une donnée de toxicité aiguë provenant de bio-essais et/ou de modélisations et 23 RM possèdent à la fois au moins une donnée de toxicité mesurées (bio-essais) et une donnée QSAR. Dans la BDD, seulement 5% des données issues de la modélisation permettent d'évaluer une toxicité chronique. La comparaison des données issues des bio-essais et des modélisations a donc été réalisée seulement pour les toxicités aiguës.

Pour ces 44 molécules, les figures 33, 34 et 35 présentent les résultats pour chacun des trois organismes représentés par les modélisations QSAR, soit les algues, les crustacés et les poissons, respectivement. Afin de comparer les résultats provenant des bio-essais et des modélisations, chacune de ces figures regroupe les données prédites (modélisées) et réelles/mesurées (bio-essais). Enfin, pour réaliser ces graphiques, aucune distinction entre les différents indicateurs écotoxicologiques (CE50, NOEC, LOEC, …) n'a été faite. Comme le montrent les figures, que ce soit pour les algues, les crustacés ou les poissons, certaines molécules possèdent uniquement des valeurs de bio-essais ou de modélisations QSAR. En-dessous de chaque graphe, les valeurs minimales, médianes et maximales pour les valeurs prédites et mesurées sont mises en évidence. Les valeurs médianes sont représentées par un rectangle grisé sur les graphiques.

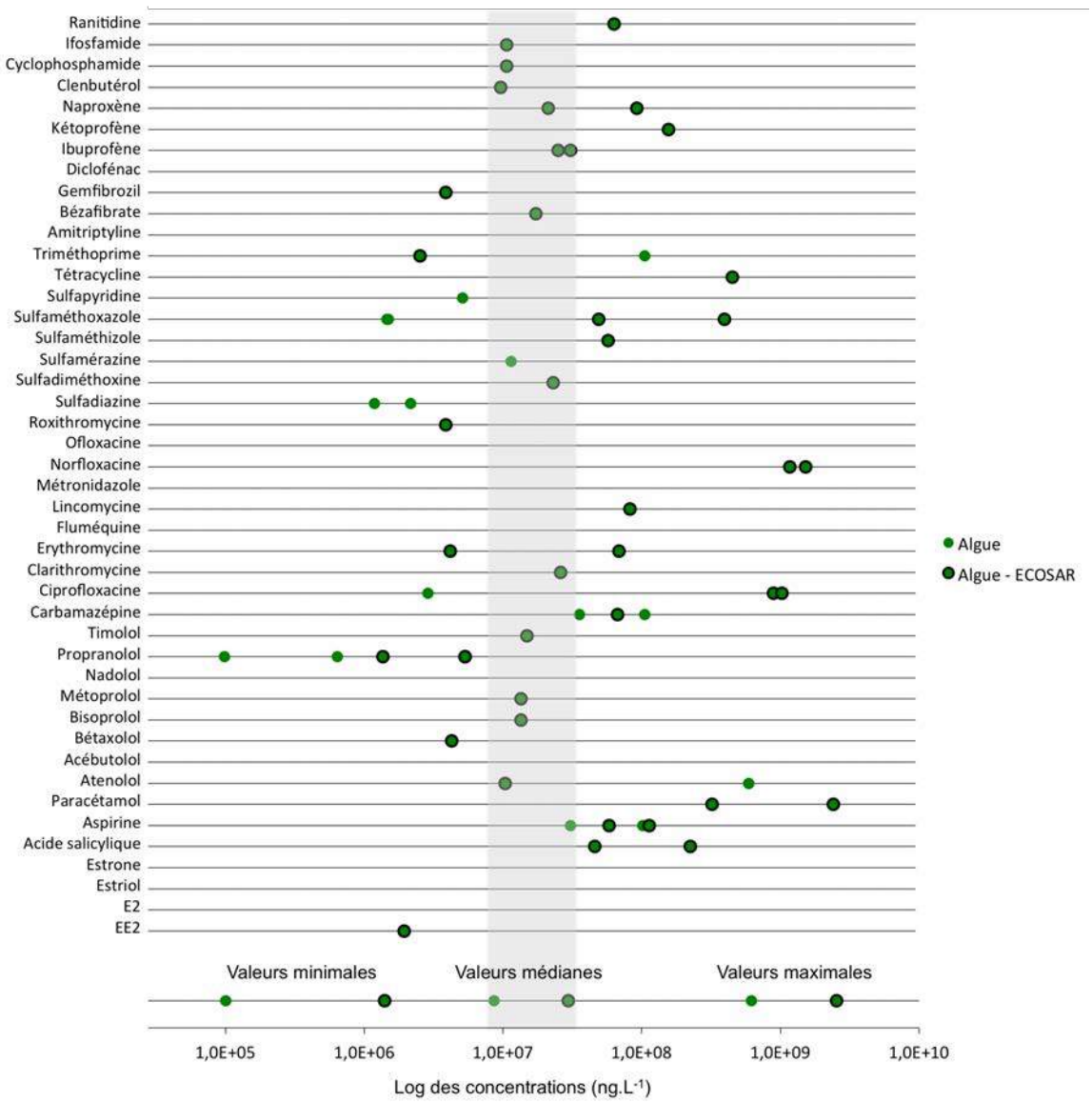


Figure 33. Résultats des tests écotoxicologiques provenant de bio-essais effectués sur le court-terme (toxicité aiguë) (n=16) et de modélisations QSAR (n=42) sur des algues. En grisé les valeurs médianes.

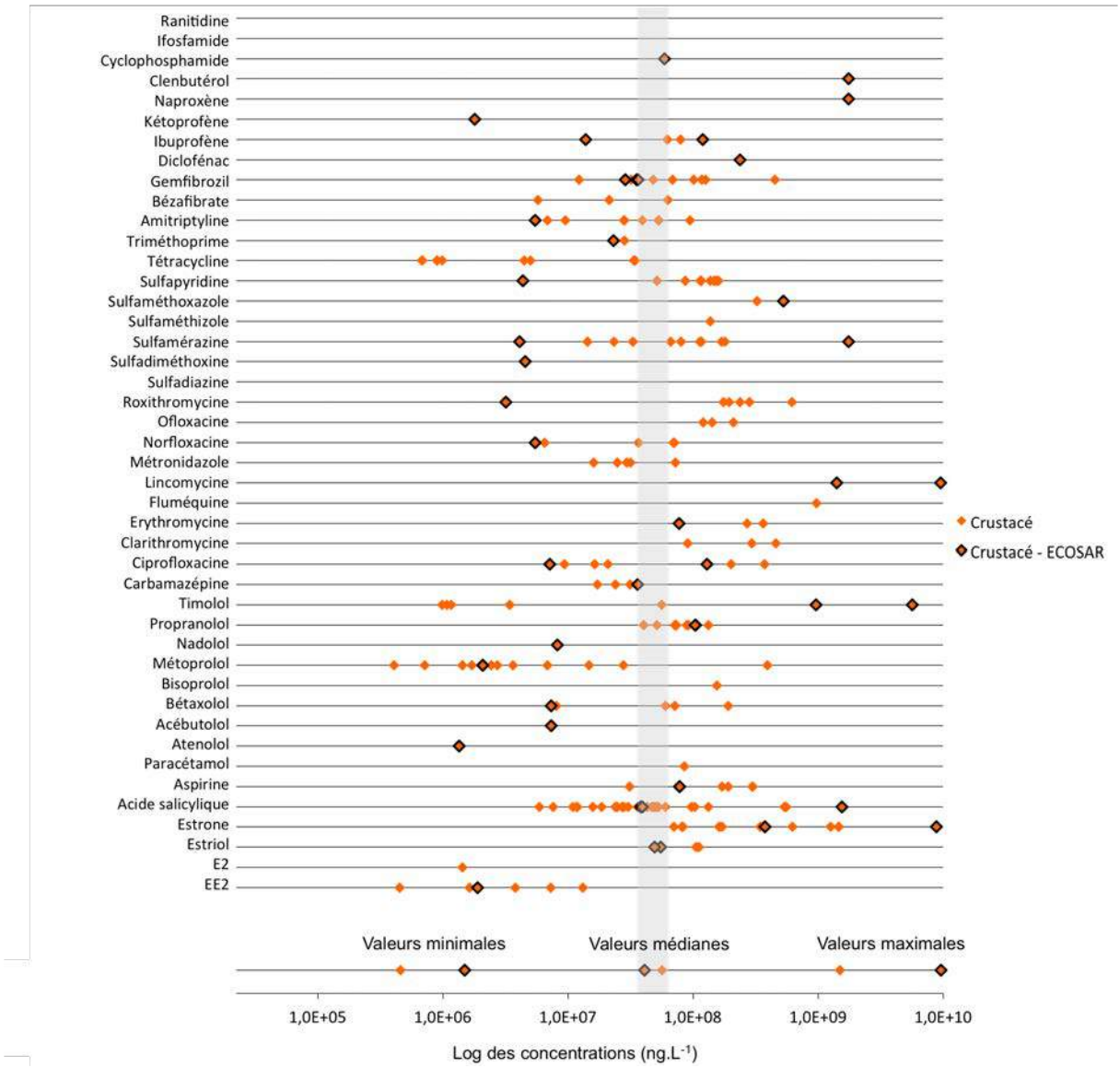


Figure 34. Résultats des tests écotoxicologiques provenant de bio-essais effectués sur le court-terme (toxicité aiguë) (n=176) et de modélisations QSAR (n=47) sur des crustacés. En grisé les valeurs médianes.

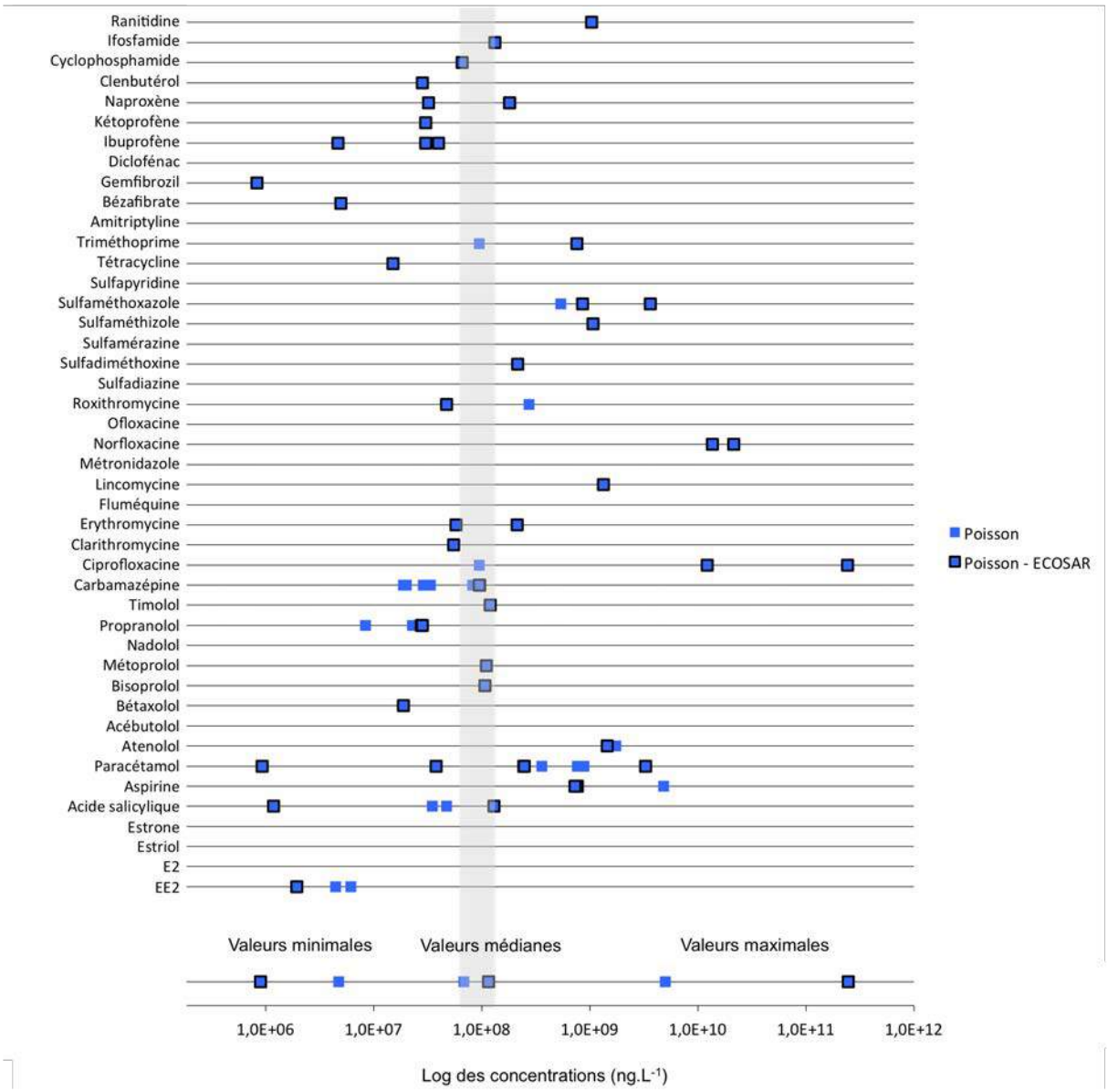


Figure 35. Résultats des tests écotoxicologiques provenant de bio-essais effectués sur le court-terme (toxicité aiguë) (n=20) et de modélisations QSAR (n=47) sur des poissons. En grisé les valeurs médianes.

L'objectif de ces graphiques n'est pas de rentrer dans le détail des comparaisons entre les valeurs des différents organismes car ceci est fait plus loin dans le manuscrit, mais plutôt de vérifier la cohérence entre les données modélisées et les données biologiques. Que ce soit pour les bio-essais ou les modélisations, il est possible de dire que les valeurs médianes pour ces trois organismes se situent entre la dizaine et la centaine de $mg.L^{-1}$, avec une sensibilité plus importante des algues, puis des crustacés et enfin des poissons. À l'échelle des organismes, pour une molécule donnée, il existe une assez grande amplitude des valeurs puisque, comme démontré précédemment, plusieurs genres et espèces peuvent être utilisés pour réaliser les tests écotoxicologiques ou modéliser les résultats. La plupart du temps pour les modélisations, aucune précision n'est apportée concernant l'espèce ayant fait

l'objet de la prédiction. C'est pour cette raison que les graphiques ont été réalisés à l'échelle des grands groupes d'organismes. Globalement, ces résultats démontrent que les valeurs provenant des bio-essais et des modélisations sont relativement similaires. En effet, les données sont du même ordre de grandeur pour l'ensemble des molécules, avec peut-être une légère sur-estimation des valeurs prédites pour les algues et les crustacés. En revanche, dans le cas des poissons, les valeurs minimale et maximale prédites englobent les résultats des bio-essais réalisés sur le court-terme et disponibles dans la BDD.

Partant de ce constat, il a été décidé de compiler les données provenant des bio-essais et des modélisations pour la présentation des prochains résultats. Comme il a été mentionné précédemment, il existe de l'amplitude dans les données d'écotoxicité disponibles dans la BDD. Cette amplitude est étudiée dans les paragraphes suivants.

3. Variabilité des données issues des bio-essais et des modélisations

Les bio-essais et les modélisations représentent 87% des données de toxicité incluses dans la BDD et la réglementation recommande l'utilisation de ces données pour l'ERE. Pour ces deux raisons, l'étude de l'amplitude des données de danger a porté sur les bio-essais et les modélisations et non sur les biomarqueurs. La description de l'amplitude des données de danger a été réalisée aussi bien sur les données issues de tests écotoxicologiques effectués sur du court-terme (aiguë) que sur ceux effectués sur du long-terme (chronique). Pour ces deux catégories de tests, aiguës ou chroniques, tous les résultats présentés ci-dessous sont issus des valeurs prédites (modélisations QSAR) ou mesurées (bio-essais).

3.1 Toxicité aiguë

3.1.1 Cas des 66 RM

Sur les 66 RM ayant fait l'objet de recherche de données de danger dans la littérature scientifique, 44 présentent au moins une donnée de toxicité aiguë obtenue par bio-essai ou modélisation. Ces 44 molécules sont exposées dans la figure 36 dans l'ordre croissant des concentrations médianes de toxicités aiguës et représentées par des points sur le graphe.

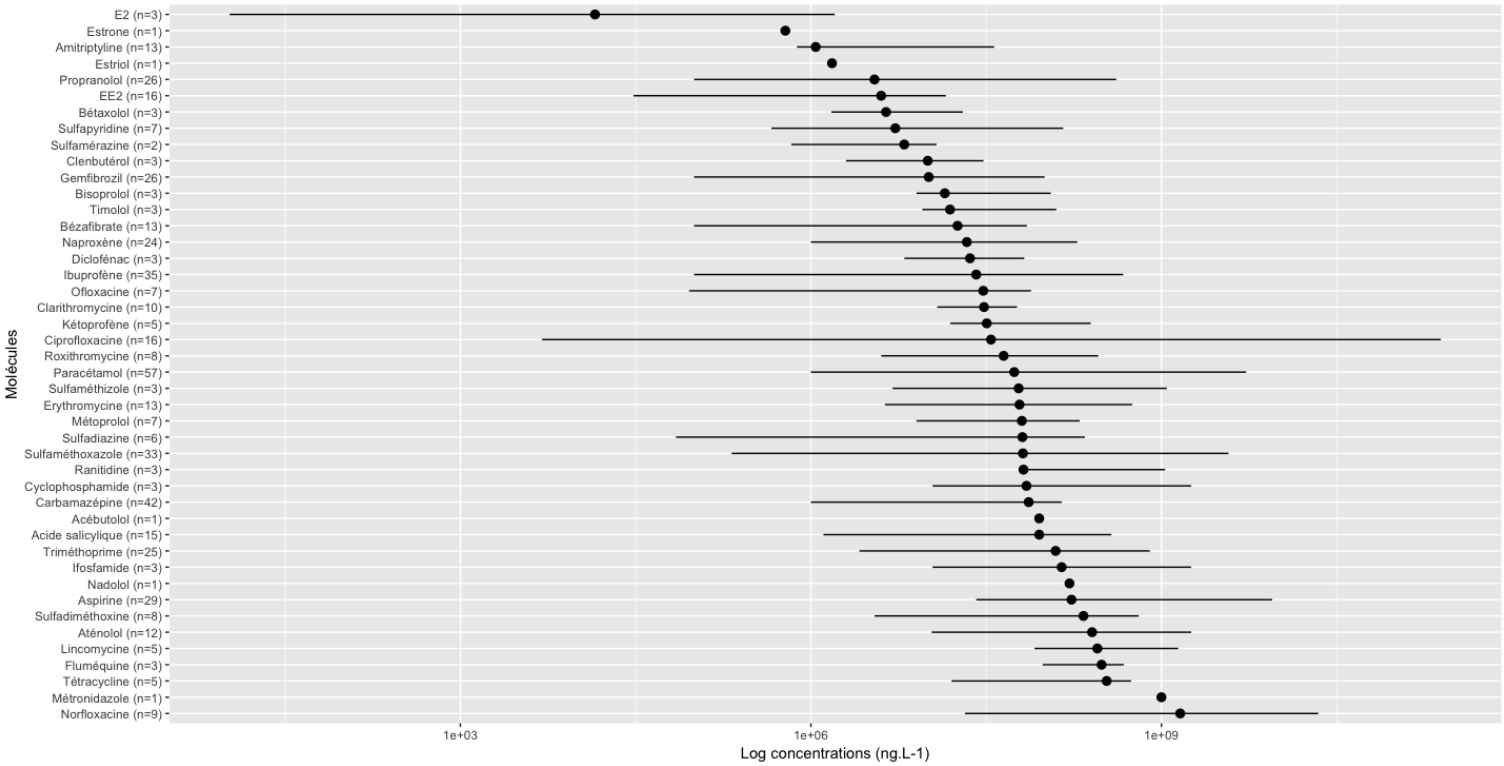


Figure 36. Valeurs minimales, médianes (points) et maximales des toxicités aiguës intégrées dans la BDD pour chacune des molécules possédant au moins une donnée de toxicité aiguë réelle ou modélisée.

Ce graphe met en évidence une amplitude des concentrations toxiques en fonction des molécules. L'hormone naturelle 17 beta-estradiol (E2) est la molécule présentant la plus faible valeur médiane de toxicité aiguë (14,2 µg.L^{-1}) et l'antibiotique Norfloxacine, qui appartient à la famille des fluoroquinolones, présente la valeur médiane la plus élevée (1,4 g.L^{-1}). À part E2, la plupart des molécules présentent des concentrations toxiques médianes comprises entre le mg.L^{-1} et le g.l^{-1}. Ce graphe met également en évidence une inégalité du nombre de données disponibles dans la BDD en fonction des molécules, le Paracétamol étant la molécule présentant le plus grand nombre de données.

Une variabilité intra-moléculaire est également observée. Globalement, les variations intra-moléculaires peuvent aller d'un facteur 10 pour la Clarithromycine à un facteur 10^{10} pour la Ciprofloxacine. Cette variabilité intra-moléculaire peut être liée aux différentes espèces utilisées et aux différents effets observés. La figure 37 présente les différentes concentrations toxiques mesurées et modélisées en fonction des molécules et des principaux organismes aquatiques utilisés pour l'évaluation des risques écotoxicologiques dans les milieux aquatiques (algues, crustacés, poissons, bactéries et cyanobactéries). Les valeurs médianes sont à peu près du même ordre de grandeur quel que soit l'organisme utilisé (10^7 ng.L^{-1}). Cependant, les gammes de concentrations, représentées par l'écart des concentrations entre les valeurs minimales et maximales, sont plus ou moins étendues en fonction des organismes (figure 37). Les bactéries présentent la gamme de concentration la

plus faible avec une valeur minimale égale à 10 $mg.L^{-1}$ et une valeur maximale égale à 650 $mg.L^{-1}$, soit une variation de près d'un facteur 100. À l'inverse, les poissons ont une valeur minimale égale à 4,7 $mg.L^{-1}$ et une valeur maximale supérieure à 246 $g.l^{-1}$, soit une différence proche d'un facteur 10^5. L'étude à l'échelle des organismes permet de rendre compte de la variabilité de la sensibilité de ces derniers en fonction du RM considéré et, certains résultats, comme la sensibilité des bactéries, peuvent paraître surprenants. En effet, les antibiotiques étant des molécules spécifiquement créées pour lutter contre les infections bactériennes, elles devraient être les plus sensibles à cette classe thérapeutique. C'est le cas pour la Norfloxacine et la Clarithromycine. Cependant, la Tétracycline serait plus dangereuse pour les poissons que pour les bactéries.

À partir de la figure 37, la sensibilité des organismes est évaluée à partir de la concentration minimale relevée pour une molécule considérée. L'organisme auquel cette concentration est associée est considéré comme le plus sensible à cette molécule, ainsi quelques tendances peuvent être observées. Les cyanobactéries ne rentrent pas dans cette évaluation car elles ne présentent pas assez de données pour permettre une comparaison entre les molécules. Il est possible de dire que les crustacés sont les organismes les plus sensibles aux RM considérés (19 RM sur 42), suivis par les algues (11 RM), les poissons (7 RM) et les bactéries (5 RM). Cependant pour six molécules, l'E2, l'Acébutolol, le Nadolol, le Métronidazole, la Fluméquine et l'Ofloxacine, les données disponibles concernent des résultats de tests ou de modélisations ont été réalisés uniquement sur des crustacés ou, pour une molécule, la Sulfamérazine, uniquement sur les algues. Pour ces dernières, il n'est donc pas possible d'affirmer que les crustacés ou les algues sont effectivement les organismes les plus sensibles. D'autre part, il est possible de faire des regroupements de molécules en fonction de leur usage thérapeutique et des organismes aquatiques qui se trouvent être les plus sensibles à ces dernières. Les algues sont ainsi sensibles aux anticancéreux (Cyclophoshamide et Ifosfamide) et à un certain nombre d'antibiotiques (Triméthoprime, Sulfamyridine, Sulfaméthoxazole, Sulfadiazine, Roxithromycine, Lincomycine et Erythromycine). La forte sensibilité des crustacés est observable pour une majorité de cardiovasculaires (Timolol, Métoprolol et Bisoprolol, Bétaxolol) et pour quelques antibiotiques (Ciprofloxacine, Sulfaméthizole et Sulfadiméthoxine). Les bactéries sont les organismes les plus sensibles aux AINS (Naproxène, Kétoprofène, Aspirine et Acide salicylique). Enfin, les poissons sont sensibles aux hypolipémiants (Gemfibrozil et Bézafibrate), à la Carbamazépine et au Paracétamol.

L'étude des valeurs minimales permet de dire que les crustacés sont les organismes les plus sensibles. Les algues ont une sensibilité aux RM également importante. Enfin, pour chacun des organismes présentés sur la figure 37, les RM qui présentent les concentrations

toxiques les plus faibles et qui peuvent donc être considérés comme les plus dangereux sont, dans l'ordre croissant des concentrations : la Ciprofloxacine pour les cyanobactéries, le Propranolol pour les algues, l'EE2 pour les crustacés, le Paracétamol pour les poissons et la Clarithromycine pour les bactéries. La figure 37 met également en évidence une inégalité du nombre de données disponibles dans la BDD en fonction des organismes. Les cyanobactéries sont clairement les organismes les moins représentés contrairement aux crustacés qui sont les organismes les plus représentés. Dans le paragraphe suivant, le nombre de données de toxicité aiguë intégrées dans la BDD en fonction des organismes est présenté. Ces chiffres ont été calculés uniquement pour les RM analysés dans le cadre de l'évaluation de l'exposition.

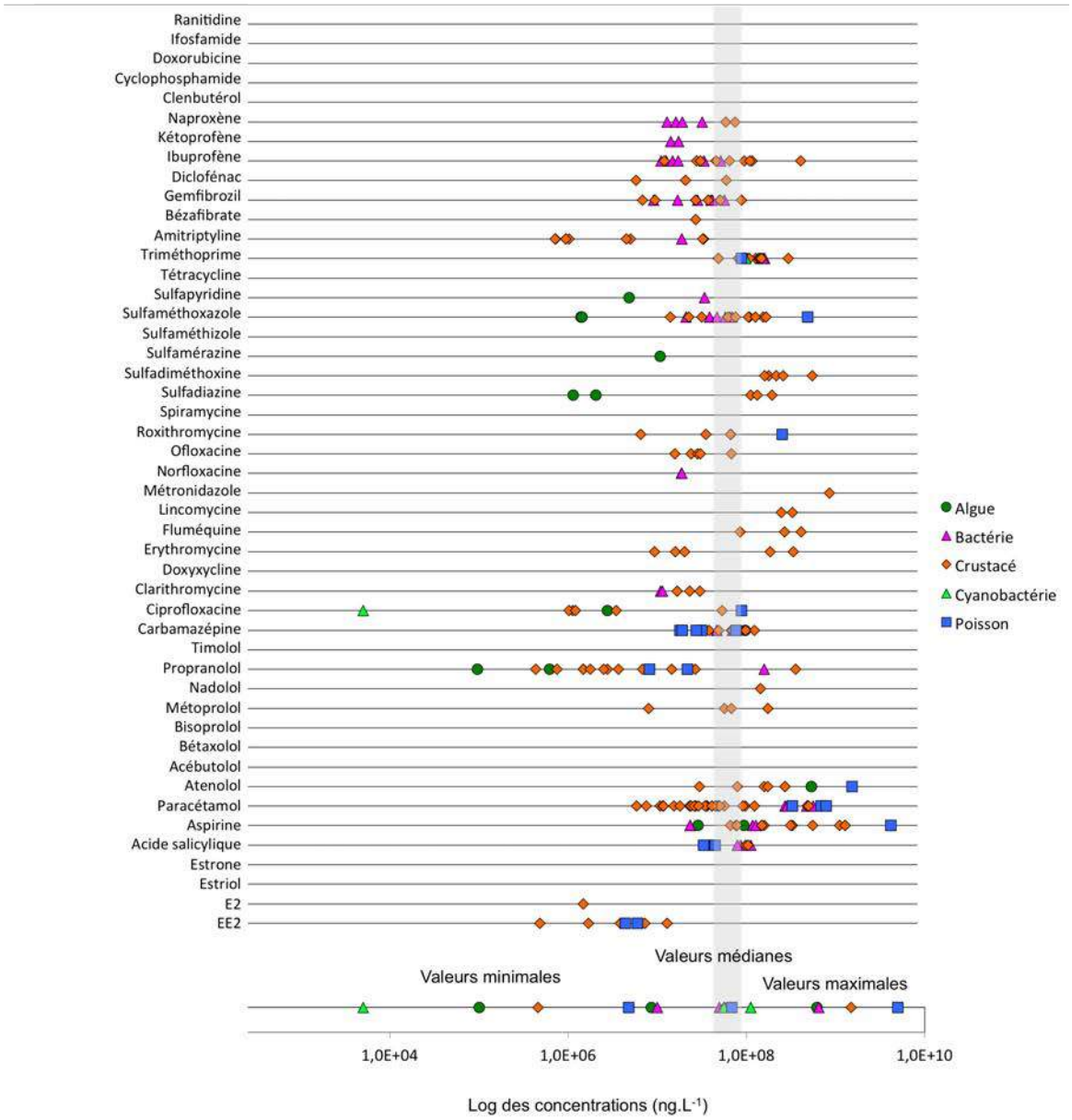


Figure 37. Concentrations toxiques issues des tests d'écotoxicité aiguë en fonction des molécules et des organismes testés. En grisé les valeurs médianes.

3.1.2 Zoom sur les RM recherchés dans le cadre de l'évaluation de l'exposition

Pour les 26 molécules ayant fait l'objet des recherches analytiques dans les eaux usées et naturelles, les données de toxicité (aiguë et chronique) sont présentés dans l'annexe 8. La commande SQL qui a permis d'avoir ces résultats pour chacune des molécules est exposée ci-dessous.

```
select count ("organisme")
from "toxicites"
where "organisme"='Poisson'
and "ecotox"='Bioessais'
and "nommolecule"='Ciprofloxacine'

select count ("organisme")
from "toxicites"
where "organisme"='Poisson'
and "ecotox"='Modélisation'
and "nommolecule"='Ciprofloxacine'
```

L'annexe 8 met en évidence le manque de données de toxicité actuellement disponibles dans la BDD pour certaines de ces molécules et/ou certains organismes. Le Lorazépam, l'Oxazépam, le Sotalol, la Pravastatine et l'Azithromycine ne présentent aucune donnée de toxicité dans la BDD. Excepté pour ces cinq molécules, en considérant tous les organismes présents dans la BDD, les valeurs minimales de toxicité aiguë (bio-essais et modélisations) et les espèces correspondantes sont présentées dans le tableau XXII. Les bactéries sont les organismes les moins utilisés dans les tests écotoxicologiques. Ce tableau met en évidence la variabilité de la sensibilité des organismes en fonction des RM. Les hormones sont particulièrement dangereuses pour les échinodermes et, plus précisément, pour l'espèce *Strongylocentrotus purpuratus* avec une gamme de concentrations allant de 30 $\mu g.L^{-1}$ pour l'EE2 à 604 $\mu g.L^{-1}$ pour l'Estrone. Comme précisé précédemment, et selon les données QSAR présentés dans le tableau XXII, la plus grande sensibilité des poissons au Paracétamol est démontrée. De même, les algues sont les organismes les plus sensibles aux cardiovasculaires, Aténolol et Propranolol. La Ciprofloxacine est la molécule possédant la concentration toxique la plus basse avec 5 $\mu g.L^{-1}$. Aucune tendance particulière est observée sur la sensibilité d'une espèce ou d'un organisme particulier vis-à-vis des antibiotiques et des AINS. Globalement, ces résultats soulignent à nouveau l'amplitude des données de toxicité aiguë intégrées dans la BDD en fonction des molécules mais également des organismes, des espèces et des paramètres étudiés.

Qu'en-est-il pour les toxicités chroniques ? C'est ce dont il est question dans les paragraphes suivants.

Tableau XXII. Plus petites valeurs de toxicité aiguë (bio-essais et modélisations) référencées dans la BDD pour chacun des RM analysé. N. d. (= no data) signifie qu'il n'y a pas encore de donnée dans la BDD.

Famille	Molécule	Organisme	Espèce	Valeur ($ng.L^{-1}$)	Paramètre	Référence
Antibiotiques	Ciprofloxacine	Cyanobactérie	*Mycrocystis aeruginosa*	5 000	QSAR	(Halling-Sørensen, 2000)
	Clarithromycine	Bactérie	*Vibrio fischeri*	12 080 000	Inhibition de la bioluminescence	(Ortiz de García *et al.*, 2014)
	Érythromycine	Algue	*n. d.*	4 300 000	QSAR	(Sanderson, 2003)
	Fluméquine	Crustacé	*Artemia nauplii*	96 350 000	Mortalité	(Migliore *et al.*, 1997)
	Ofloxacine	Diatomée	*Cyclotella meneghiniana*	90 600	Inhibition de croissance	(Ferrari *et al.*, 2004)
	Sulfaméthoxazole	Macrophyte	*Lemna minor*	210 000	Inhibition de croissance	(Białk-Bielińska *et al.*, 2011)
Analgesiques	Paracétamol	Poisson	*n. d.*	1 000 000	QSAR	(Sanderson, 2003)
Antiépileptiques	Carbamazépine	Hydre	*Hydra attenuata*	1 000 000	Changements morphologiques	(Quinn, Gagné et Blaise, 2008)
Anticancéreux	Cyclophosphamide	Algue	*n. d.*	11 000 000	QSAR	(Sanderson, 2003)
Anti-ulcéreux	Ranitidine	Crustacé	*n. d.*	63 000 000	QSAR	(Sanderson, 2003)
Cardiovasculaires	Aténolol	Algue	*Desmodesmus subspicatus*	10 800 000	QSAR	(Cleuvers, 2005)
	Propranolol	Algue	*Pseudokirchneriella subcapitata*	100 000	Inhibition de croissance	(Hiroshi *et al.*, 2007)
Hormones sexuelles	EE2	Échinoderme	*Strongylocentrotus purpuratus*	30 300	Développement larvaire	(Roepke, Snyder et Cherr, 2005)
	E2	Échinoderme	*Strongylocentrotus purpuratus*	14 200	Développement larvaire	(Roepke, Snyder et Cherr, 2005)
	Estrone	Échinoderme	*Strongylocentrotus purpuratus*	604 400	Développement larvaire	(Roepke, Snyder et Cherr, 2005)
Hypolipémiants	Bézafibrate	Hydre	*Hydra attenuata*	100 000	Changements morphologiques	(Quinn, Gagné et Blaise, 2008)
AINS	Acide salicylique	Poisson	*n. d.*	1 280 000	QSAR	(Sanderson, 2003)
	Diclofénac	Crustacé	*Atyaephyra desmarestii*	6 300 000	Mortalité	(Nieto *et al.*, 2013)
	Ibuprofène	Hydre	*Hydra attenuata*	100 000	Changements morphologiques	(Quinn, Gagné et Blaise, 2008)
	Kétoprofène	Bactérie	*Vibrio fischeri*	15 600 000	Inhibition de la bioluminescence	(Farré *et al.*, 2001)
	Naproxène	Hydre	*Hydra attenuata*	1 000 000	Changements morphologiques	(Quinn, Gagné et Blaise, 2008)

3.2 Toxicité chronique

3.2.1 Cas des 66 RM

Sur les 66 RM ayant fait l'objet de recherche de données de danger dans la littérature scientifique, 33 présentent au moins une donnée de toxicité chronique, que ce soit des données obtenues par des bio-essais ou des modélisations. Ces 33 molécules sont exposées dans la figure 38 dans l'ordre croissant des concentrations toxiques médianes. Ce graphe met en évidence une variabilité des données en fonction des molécules. L'hormone synthétique EE2 est la molécule présentant la plus faible valeur médiane de toxicité chronique (13 $ng.L^{-1}$) et le cardiovasculaire Acébutolol, présente la valeur médiane la plus élevée (240 $mg.L^{-1}$).

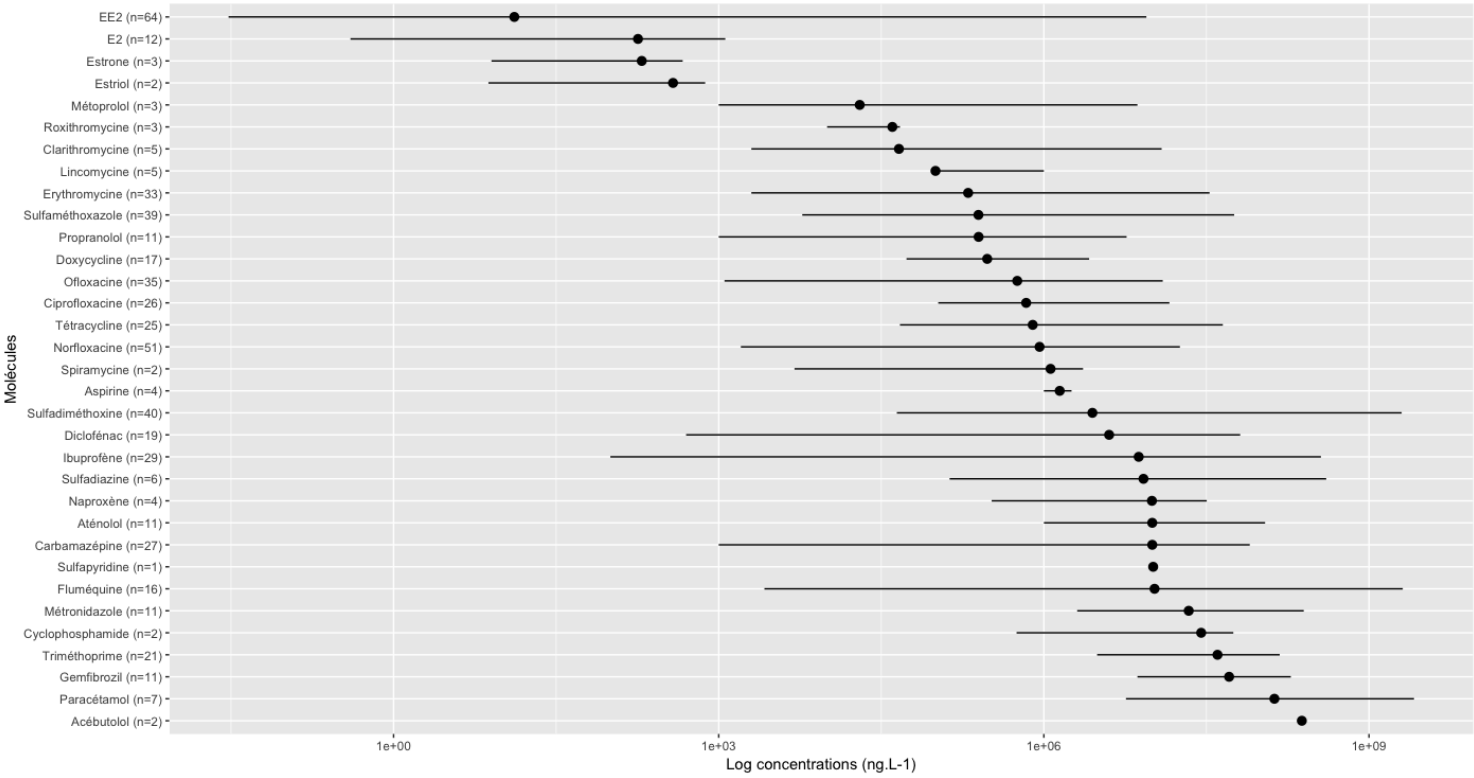


Figure 38. Valeurs minimales, médianes (points) et maximales des toxicités chroniques intégrées dans la BDD pour chacune des molécules possédant au moins une donnée de toxicité chronique réelle ou modélisée.

Excepté pour les hormones qui présentent les plus basses concentrations médianes, allant de la dizaine de ng.L^{-1} à quelques centaines de ng.L^{-1}, la plupart des molécules présentent des concentrations médianes comprises entre quelques dizaines de µg.L^{-1} et quelques centaines de mg.L^{-1}. Les concentrations peuvent donc varier d'un facteur 10^5 en fonction des molécules considérées.

Comme pour la toxicité aiguë, une différence d'amplitude intra-moléculaire est observée, avec une absence de différence pour l'Aspirine et jusqu'à une amplitude de 10^{11} pour l'EE2. Cette différence d'amplitude intra-moléculaire peut être liée aux différentes espèces utilisées et aux différents effets observés. La figure 39 présente les différentes concentrations toxiques mesurées et modélisées en fonction des molécules et des principaux organismes aquatiques utilisés. Dans ce graphique, seules les données concernant les principaux organismes utilisés dans l'ERE des milieux aquatiques (algues, crustacés, poissons, bactéries et cyanobactéries) sont représentés. Les valeurs médianes sont plutôt éparses avec la plus faible valeur pour les poissons, quelques centièmes de ng.L^{-1}. La concentration minimale pour les poissons est largement inférieure aux concentrations minimales des autres organismes et semble mettre en évidence une forte toxicité des hormones sexuelles. Pour les autres organismes, les valeurs minimales sont du même ordre de grandeur (µg.L^{-1}). Pour les valeurs maximales, les poissons et les crustacés, avec un ordre de grandeur

supérieur à 100 mg.L^{-1}, ont des concentrations à peu près 10 fois moins importantes que les algues, les cyanobactéries et les bactéries qui présentent des valeurs maximales supérieures au g.l^{-1}. Les gammes de concentrations sont là aussi plus ou moins importantes en fonction des organismes. Cependant, les algues, bactéries et cyanobactéries ont des gammes quasiment identiques (du µg.L^{-1} au g.l^{-1}). Les crustacés ont la plus petite amplitude de concentrations (µg.L^{-1} à 100 mg.L^{-1}) contrairement aux poissons qui présentent la plus grande gamme de concentrations (inférieur au ng.L^{-1} jusqu'à 100 mg.L^{-1}). À première vue, il semble possible de dire que les poissons sont les organismes les plus sensibles aux RM présents sur cette figure (9 RM sur 30), suivis par les cyanobactéries (7 RM), les crustacés (6 RM), les algues (6 RM) et les bactéries (2 RM). Mais vu que tous les taxons n'ont pas été testés pour tous les RM, il est difficile d'en tirer des conclusions fermes. En effet, pour six molécules, le Cyclophosphamide, la Roxithromycine, l'Aspirine, l'Estrone, l'Estriol et l'E2, les données disponibles concernent uniquement des résultats de tests ou de modélisation réalisés sur un seul organisme. Pour ces dernières, il n'est donc pas possible d'identifier un organisme plus sensible que les autres. En ne prenant pas en compte ces molécules, quelques tendances peuvent être observées en fonction de l'usage thérapeutique et des organismes. Les cyanobactéries sont ainsi sensibles aux antibiotiques (Triméthoprime, Sulfapyridine, Sulfaméthoxazole, Sulfadiazine, Spiramycine, Norfloxacine et Erythromycine), les algues sont également sensibles aux antibiotiques (Tétracycline, Sulfadiméthoxine, Roxithromycine, Métronidazole et Clarithromycine), les poissons aux AINS (Ibuprofène et Diclofénac) et cardiovasculaires (Aténolol et Métoprolol) et les bactéries à deux antibiotiques (Ofloxacine et Fluméquine). Aucune tendance particulière est observée pour les crustacés qui sont surtout sensibles au Paracétamol, Naproxène, Ciprofloxacine et Propranolol.

L'étude des valeurs minimales des molécules possédant des concentrations toxiques pour au moins deux organismes différents permet de dire que ce sont finalement les cyanobactéries qui sont les organismes les plus sensibles. Les algues ont également une sensibilité importante à ces RM. Enfin, pour chacun des organismes présentés sur la figure 39, les RM qui présentent les concentrations toxiques les plus faibles et qui peuvent donc être considérés comme les plus dangereux parmi les RM étudiés sont, dans l'ordre croissant des concentrations (donc du danger) : l'EE2 pour les poissons, le Propranolol pour les crustacés, l'Ofloxacine pour les bactéries, la Norfloxacine pour les cyanobactéries et la Clarithromycine pour les algues. Dans trois cas sur cinq, les antibiotiques sont les molécules présentant les plus basses concentrations toxiques (chroniques) pour chacun des cinq niveaux trophiques étudiés.

La figure 39 met également en évidence une inégalité du nombre de données disponibles dans la BDD en fonction des organismes. Pour la plupart des molécules les bactéries et les

poissons sont les organismes les moins représentés. Dans le paragraphe suivant, le nombre de données de toxicité chronique intégrées dans la BDD en fonction des organismes est présenté. Ces chiffres ont été calculés uniquement pour les RM analysés dans le cadre de l'évaluation de l'exposition.

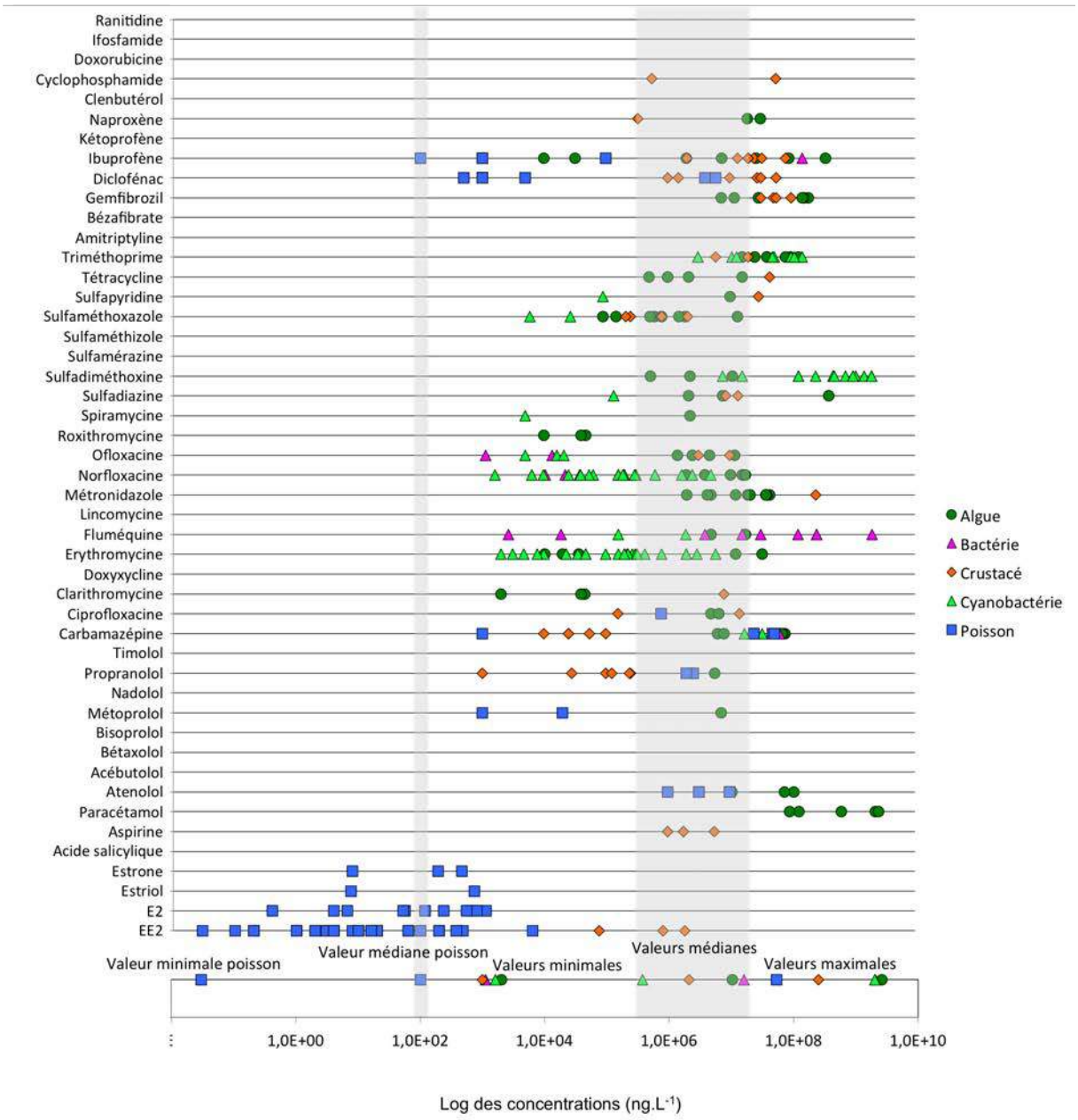


Figure 39. Concentrations toxiques issues des tests d'écotoxicité chronique en fonction des molécules et des organismes testés. En grisé les valeurs médianes.

3.2.2 Zoom sur les RM analysés dans le cadre de l'évaluation de l'exposition

Le tableau XXIII considère tous les organismes présents dans la BDD et renseigne sur les plus petites valeurs de toxicité chronique (bio-essais et modélisations) intégrées dans la

BDD pour les RM ayant fait l'objet des recherches analytiques.

Tableau XXIII. Plus petites valeurs de toxicité chronique (bio-essais et modélisations) référencées dans la BDD pour chacun des RM analysé. N. d. (= no data) signifie qu'il n'y a pas encore de donnée dans la BDD.

Famille	Molécule	Organisme	Espèce	Valeur ($ng.L^{-1}$)	Paramètre	Référence
Antibiotiques	Ciprofloxacine	Lentille d'eau	*Lemna gibba*	106 000	Inhibition de la croissance (nombre de fronde)	(Brain *et al.*, 2004)
	Clarithromycine	Algue	*Pseudokirchneriella subcapitata*	2 000	Inhibition de la croissance	(Isidori, Lavorgna, Nardelli, Pascarella, *et al.*, 2005)
	Érythromycine	Cyanobactérie	*Synechoccus leopoliensis*	2 000	Inhibition de la croissance	(Ando *et al.*, 2007)
	Fluméquine	Bactérie	*Vibrio fischeri*	2 640	Inhibition de la bioluminescence	(Backhaus, Scholze et Grimme, 2000)
	Ofloxacine	Bactérie	*Vibrio fischeri*	1 130	Inhibition de la bioluminescence	(Backhaus, Scholze et Grimme, 2000)
	Sulfaméthoxazole	Cyanobactérie	*Synechococcus leopoliensis*	5 900	Inhibition de la croissance	(Ferrari *et al.*, 2004)
Analgesiques	Paracétamol	Crustacé	*Daphnia magna*	5 720 000	Mortalité	(Kim *et al.*, 2012)
Antiépileptiques	Carbamazépine	Poisson	*Cyprinus carpio*	1 000	Cytotoxicité au niveau des reins	(Triebskorn *et al.*, 2007)
Anticancéreux	Cyclophosphamide	Crustacé	Daphnia magna	560 000	Inhibition de la reproduction	(Grung *et al.*, 2008)
Anti-ulcéreux	Ranitidine	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Cardiovasculaires	Aténolol	Poisson	*Pimephales promelas*	1 000 000	Altération du rapport entre le poids et la taille	(Winter *et al.*, 2008)
	Propranolol	Crustacé	*Hyalella azteca*	1 000	Inhibition de la reproduction	(Huggett *et al.*, 2002)
Hormones sexuelles	EE2	Poisson	*Oryzias latipes*	0,03	Intersexualité	(Metcalfe *et al.*, 2001)
	E2	Poisson	*Oryzias latipes*	0,4	Intersexualité	(Metcalfe *et al.*, 2001)
	Estrone	Poisson	*Oryzias latipes*	8	Intersexualité	(Metcalfe *et al.*, 2001)
Hypolipémiants	Bézafibrate	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
AINS	Acide salicylique	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Diclofénac	Poisson	*Salmo trutta et f. fario*	500	Infiltration/accumulation de monocytes dans le foie	(Hoeger et al., 2005)
	Ibuprofène	Poisson	*Oryzias latipes*	100	Mortalité des nouveaux nés	(Han *et al.*, 2010)
	Kétoprofène	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Naproxène	Crustacé	*Ceriodaphnia dubia*	330 000	Inhibition de la reproduction	(Isidori, Lavorgna, Nardelli, Parrella, *et al.*, 2005)

Le tableau XXIII met en évidence que l'EE2 est la molécule possédant la concentration toxique la plus basse avec 0,03 $ng.L^{-1}$. Les hormones sexuelles sont d'ailleurs particulièrement dangereuses pour les poissons et, plus précisément, pour l'espèce *Oryzias latipes* avec des gammes de concentrations allant de 0,03 $ng.L^{-1}$ pour l'EE2 à 8 $ng.L^{-1}$ pour l'Estrone. En revanche, aucune tendance est observée quant à la sensibilité d'une espèce ou d'un organisme particulier vis-à-vis d'une classe de thérapeutique donnée. Globalement, ces résultats illustrent la grande amplitude des données de toxicité chronique intégrées dans la BDD que ce soit pour les molécules mais également pour les organismes, les espèces ou les paramètres étudiés.

3.3 Comparaison toxicité aiguë et chronique

Pour une molécule donnée, les organismes les plus sensibles peuvent être différents en fonction des temps d'exposition, court-terme ou long-terme. Dans ce paragraphe, la comparaison des données de toxicité aiguë et chronique est réalisée.

La figure 40 met en parallèle les valeurs minimales, médianes (points) et maximales des toxicités aiguës et chroniques pour les RM possédant au moins une donnée de toxicité aiguë ou chronique, soit 47 RM.

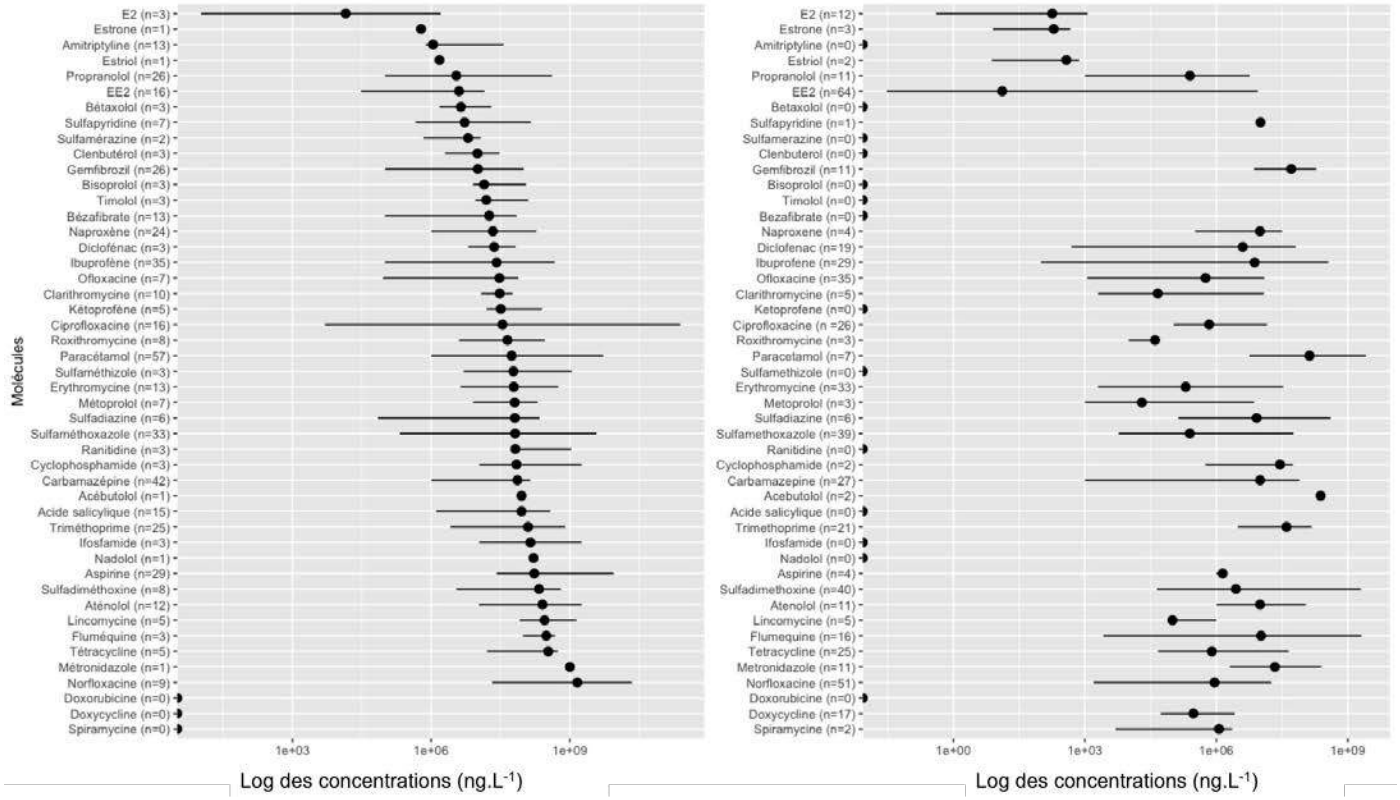


Figure 40. Valeurs minimales, médianes (points) et maximales des toxicités aiguës (gauche) et chroniques (droite) intégrées dans la BDD pour chacune des molécules possédant au moins une donnée de toxicité aiguë ou chronique réelle ou modélisée.

Sur les graphiques, les molécules sont présentées dans l'ordre croissant des concentrations médianes des toxicités aiguës. À noter que l'échelle des deux graphiques est différente. La mise en parallèle de ces deux figures met clairement en évidence le manque de données de toxicité chronique par rapport aux données de toxicité aiguë. En effet, sur ces 47 RM, 3 ne présentent aucune donnée de toxicité aiguë (Doxorubicine, Doxycycline et Spiramycine) dans la BDD contre 14 pour la toxicité chronique (Amitriptyline, Bétaxolol, Sulfamérazine, Clenbutérol, Bisoprolol, Timolol, Bézafibrate, Kétoprofène, Sulfaméthizole, Ranitidine, Acide salicylique, Ifosfamide, Nadolol, Doxorubicine). Cette figure ne met pas en évidence d'aberration sur les concentrations médianes aiguës et chroniques relevées dans la

littérature. Ainsi, pour chaque RM, les concentrations médianes chroniques sont inférieures ou égales aux concentrations médianes aiguës. Concernant les gammes de concentrations des toxicités chroniques, pour les 31 molécules possédant des données aiguës et chroniques, les plages chroniques sont globalement supérieures à celles des toxicités aiguës (15 RM sur 31).

La comparaison des figures 37 et 39 confirme ce qui a été mentionné précédemment, à savoir, que les gammes de concentrations sont globalement plus larges pour les toxicités chroniques par rapport aux toxicités aiguës. Concernant les valeurs médianes, elles sont en général plus importantes pour les toxicités aiguës que pour les toxicités chroniques.
Ces figures mettent aussi en évidence une plus grande diversité des organismes utilisés pour l'évaluation des toxicités chroniques par rapport aux toxicités aiguës. Cela peut expliquer le fait que les gammes de concentrations soient plus importantes dans le premier cas. Les crustacés sont ainsi préférentiellement utilisés pour l'évaluation des toxicités aiguës par rapport aux autres organismes et les cyanobactéries le sont moins. Au contraire, le nombre de tests réalisés sur des cyanobactéries pour les toxicités chroniques est largement majoritaire. Concernant la sensibilité des espèces en fonction des temps d'exposition à court ou long terme, une variabilité est également observée. Pour chacune des deux figures et pour les molécules possédant des données de toxicité sur au moins deux organismes différents, la sensibilité des organismes en fonction des temps d'exposition est évaluée. Dans le cas des toxicités aiguës, ce sont les crustacés puis les algues qui sont les organismes les plus sensibles pour la majorité des RM étudiés. Pour les toxicités chroniques, ce sont les cyanobactéries puis les algues qui sont les organismes les plus sensibles.

Les PNEC utilisées pour le calcul des risques sont calculées à partir des données provenant de bio-essais ou de modélisations (aiguës et chroniques). La variabilité inter- et intra-moléculaire des données en fonction des organismes, des temps d'exposition, … génère une difficulté pour l'évaluation du danger des RM et donc pour la définition des PNEC. L'amplitude des PNEC disponibles dans la BDD, issues ou non des données précédemment décrites, est présentée dans le paragraphe suivant.

4. Variabilité des PNEC récoltées dans la littérature

Actuellement dans la BDD, 382 PNEC sont disponibles pour 52 molécules pharmaceutiques. Toutes ces données sont issues de la littérature scientifique. Cela montre le grand nombre

de données disponibles pour certains RM. Quand les articles présentaient l'information la méthodologie utilisée par les auteurs pour définir les PNEC (page 80 : facteur d'extrapolation ou courbe SSD), cette dernière a été précisée dans la BDD.

```
select count (distinct "nommolecule")
from "pnecvalue »
```

Ces 52 molécules sont exposées dans la figure 41 dans l'ordre croissant des PNEC médianes, représentées par des points sur le graphe. Cette figure met en évidence une amplitude des PNEC médianes, comprises entre quelques dizièmes de ng.L^{-1} à quelques centaines de µg.L^{-1}, soit un facteur 10^8. L'hormone synthétique EE2 est la molécule présentant la plus faible valeur médiane (0,1 ng.L^{-1}) et l'anticancéreux Cyclophosphamide présente la valeur médiane la plus élevée (984 µg.L^{-1}).

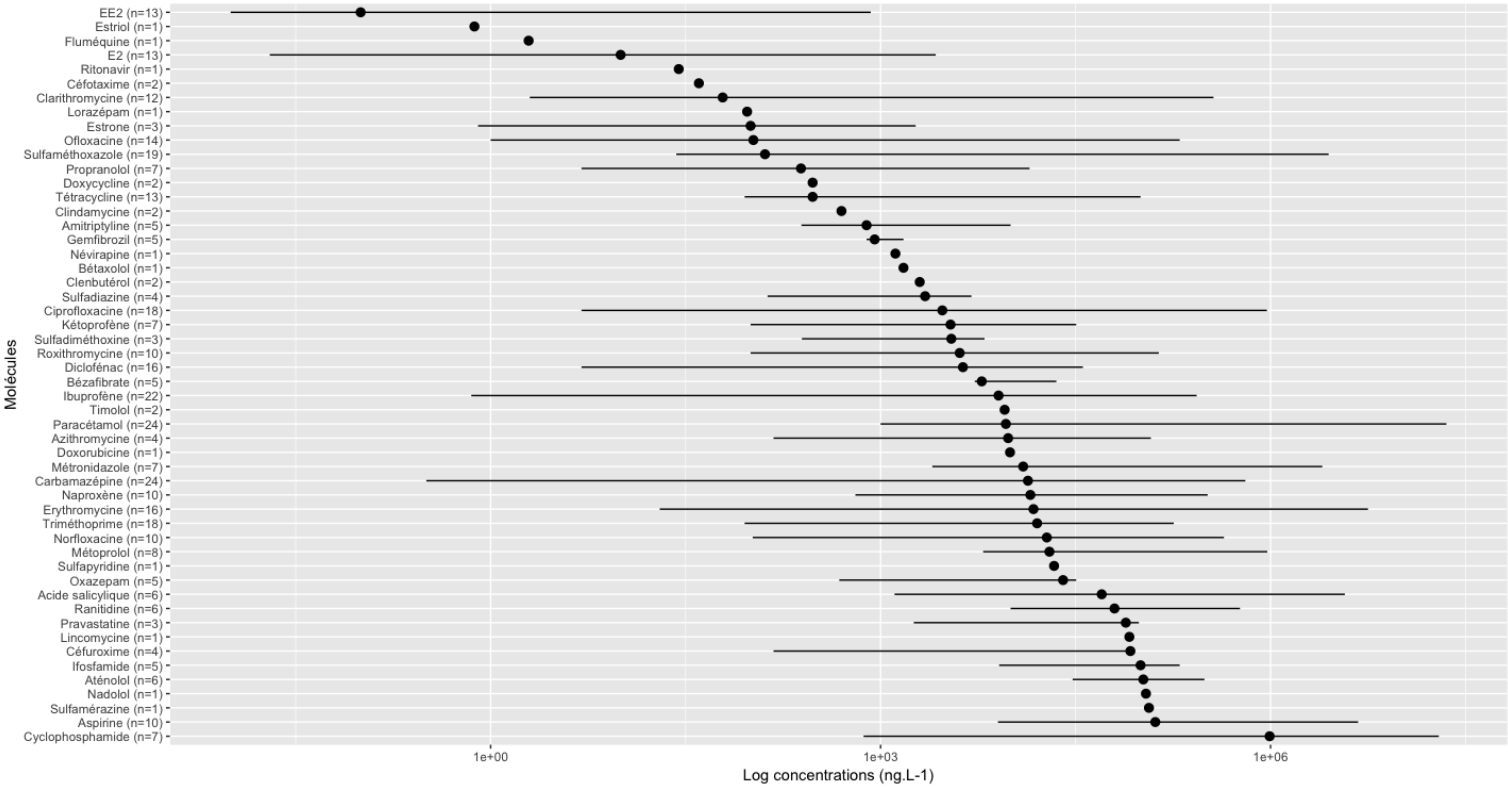


Figure 41. Valeurs minimales, médianes (points) et maximales des PNEC intégrées dans la BDD pour chacune des molécules possédant au moins une donnée PNEC.

À côté de cette variabilité inter-moléculaire qui peut s'expliquer par des modes d'action différents, une grande variabilité intra-moléculaire est également observée. Ces variations intra-moléculaires peuvent être nulles ou aller jusqu'à un facteur 10^6 pour la Carbamazépine. Cette variabilité intra-moléculaire peut être expliquée par les différentes espèces utilisées et la variété d'effets observés. La figure 42 présente les différentes PNEC des molécules en fonction des principaux groupes taxonomiques aquatiques (algues, crustacés, poissons, bactéries et cyanobactéries). Les gammes de PNEC sont plus ou moins larges en fonction des groupes taxonomiques. Cela montre que, même pour un même groupe taxonomique,

les PNEC trouvées dans la littérature peuvent être très différentes. Les cyanobactéries présentent la gamme de concentration la plus petite avec des valeurs minimale et maximale respectivement égales à 16 $ng.L^{-1}$ et 90 $ng.L^{-1}$, soit une variation de quelques dizaines de $ng.L^{-1}$. À l'inverse, les poissons ont des valeurs minimale et maximale respectivement égales à 0,02 $ng.L^{-1}$ et 984 $\mu g.L^{-1}$, soit un facteur supérieur à 10^6. À partir des PNEC minimales, il est possible de dire que les algues sont les plus sensibles pour une majorité des RM (17 RM sur 57), suivis par les poissons (11 RM), les crustacés (4 RM) et les bactéries (3 RM). Cependant pour 14 molécules, les PNEC ne sont disponibles que pour un seul groupe taxonomique. Il n'est donc pas possible d'identifier le groupe taxonomique le plus sensible pour ces molécules. Il est aussi possible de classer la sensibilité des groupes taxonomiques en fonction des classes thérapeutiques. Les algues sont les plus sensibles aux anticancéreux (Cyclophoshamide et Ifosfamide), aux antiviraux (Nevirapine, Ritonavir) et à un certain nombre d'antibiotiques (Amitriptyline, Tétracycline, Sulfadiméthoxine, Sulfadiazine, Roxithromycine, Erythromycine, Clarithromycine, Ciprofloxacine). La forte sensibilité des poissons est observable pour le Paracétamol, les AINS (Acide salicylique, Ibuprofène et Diclofénac) et les hypolipémiants (Bézafibrate et Gemfibrozil). Les bactéries sont surtout sensibles aux antibiotiques (Norfloxacine et Ofloxacine). Pour chacun des groupes taxonomiques présentés sur la figure 42, les RM qui présentent les concentrations toxiques les plus faibles et qui peuvent donc être considérés comme les plus dangereux sont, dans l'ordre croissant des concentrations toxiques : l'EE2 pour les poisson, l'Ofloxacine pour les bactéries, la Clarithromycine pour les algues et l'Erythromycine pour les crustacés.

La figure 42 met également en évidence une inégalité du nombre de données disponibles dans la littérature en fonction des groupes taxonomiques. Les cyanobactéries sont les moins représentées contrairement aux algues qui sont les plus représentées. Ainsi, les PNEC ne sont souvent calculées que sur un nombre restreint d'organismes et ne couvrent pas l'ensemble des taxons. D'où la nécessité d'attribuer des facteurs de sécurité suffisamment élevés pour compenser ce manque de données.

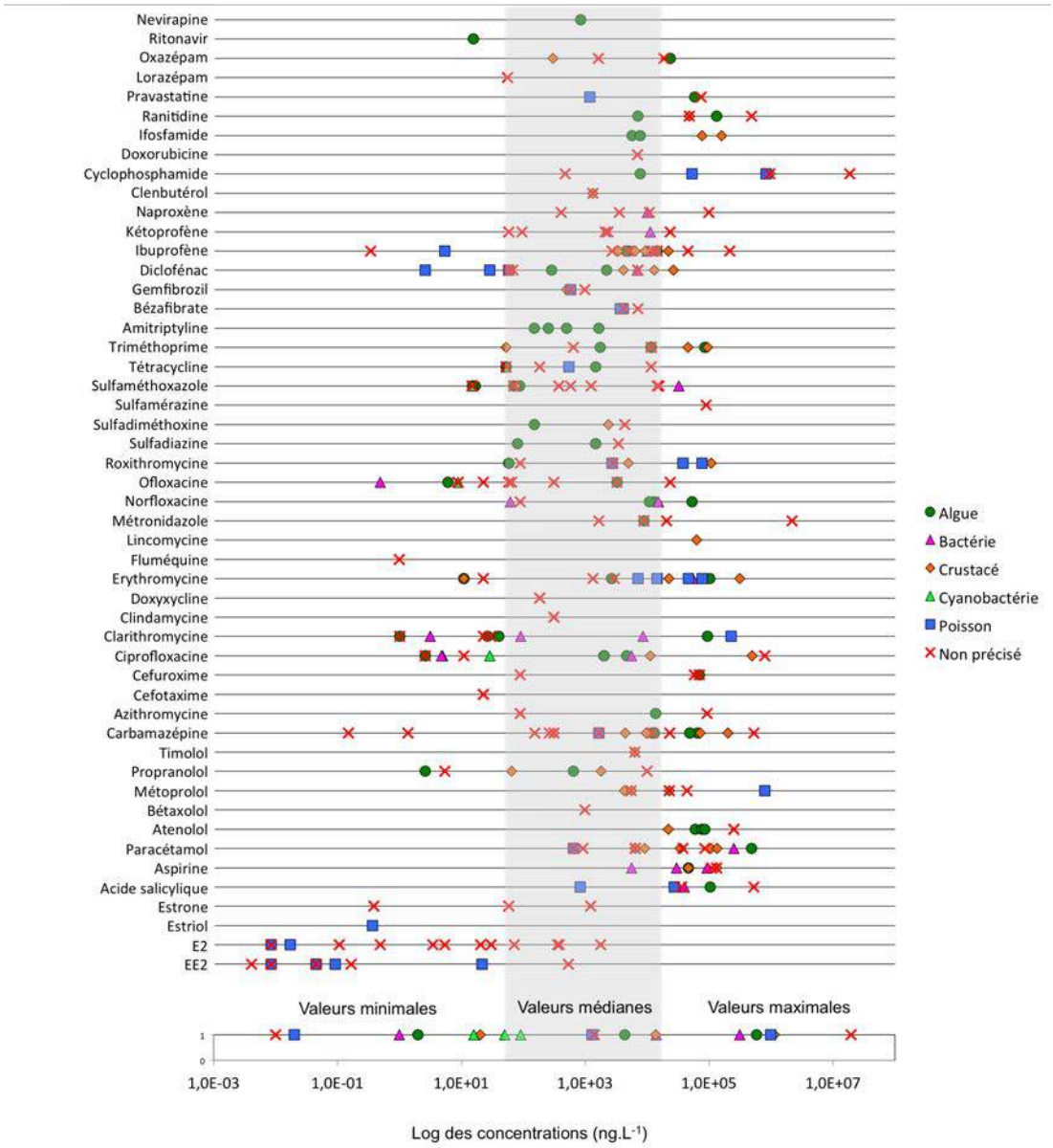


Figure 42. PNEC en fonction des molécules et des organismes testés. Les croix rouges indiquent les données pour lesquelles aucun organisme est précisé. En grisé, les valeurs médianes.

5. PNEC calculées

Pour les RM ayant fait l'objet des recherches analytiques, les PNEC calculées sont présentées dans le tableau XXIV. Ce tableau présente également les données écotoxicologiques brutes référencées dans la BDD et utilisées pour calculer les PNEC selon les recommandations réglementaires ainsi que les facteurs de sécurité (AF) appliqués au regard des données écotoxicologiques disponibles. Lorsque, pour une molécule, aucune donnée de toxicité ou le minimum requis par la réglementation (toxicité aiguë pour algue, poisson et crustacé) n'est pas disponible dans la BDD pour les bio-essais ou modélisations, alors la mention « n. d. » est indiquée dans le tableau. Dans le cas où des valeurs de bio-essais et de modélisations sont disponibles, les valeurs des bio-essais ont été privilégiées.

Tableau XXIV. Données de toxicité disponibles dans la BDD (aiguë et chronique) et utilisées pour définir les facteurs de sécurité (AF) et calculer les PNEC. N. d. = pas de données.

Familles thérapeutiques	Molécules	Aiguë ($ng.L^{-1}$)			Chronique ($ng.L^{-1}$)			AF	PNEC ($ng.L^{-1}$)
		Algue	Crustacé	Poisson	Algue	Crustacé	Poisson		
AINS	Acide salicylique	$4,8.10^{7}$	$1,1.10^{8}$	$3,7.10^{7}$	n. d.	n. d.	n. d.	1 000	$3,7.10^{4}$
	Diclofénac	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Ibuprofène	$2,6.10^{7}$	$1,3.10^{7}$	$8,9.10^{7}$	$1,0.10^{4}$	$2,0.10^{6}$	100	50	2
	Kétoprofène	$1,6.10^{8}$	$2,4.10^{8}$	$3,2.10^{7}$	n. d.	n. d.	n. d.	1 000	$3,2.10^{4}$
	Naproxène	$2,2.10^{7}$	$6,6.10^{7}$	$3,4.10^{7}$	$1,9.10^{7}$	$3,3.10^{5}$	n. d.	50	6 600
Analgésiques	Paracétamol	$3,3.10^{8}$	$6,4.10^{6}$	$3,7.10^{8}$	$1,3.10^{8}$	$5,7.10^{6}$	n. d.	50	$1,1.10^{5}$
Antibiotiques	Azithromycine	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Ciprofloxacine	$2,9.10^{6}$	$1,1.10^{6}$	$1,0.10^{8}$	$5,0.10^{6}$	$1,5.10^{5}$	$7,8.10^{5}$	10	$1,5.10^{4}$
	Clarithromycine	$2,7.10^{7}$	$1,8.10^{7}$	$5,8.10^{7}$	2 000	$8,1.10^{6}$	n. d.	100	20
	Erythromycine	$4,3.10^{6}$	$1,0.10^{7}$	$6,1.10^{7}$	$1,0.10^{4}$	$2,2.10^{5}$	n. d.	50	206
	Fluméquine	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Ofloxacine	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Sulfaméthoxazole	$1,5.10^{6}$	$1,5.10^{7}$	$5,6.10^{8}$	$9,0.10^{4}$	$2,1.10^{5}$	n. d.	50	1 800
Anticancéreux	Cyclophosphamide	$1,1.10^{7}$	$1,7.10^{9}$	$7,0.10^{7}$	n. d.	$5,6.10^{5}$	n. d.	100	5 600
Anti-épileptiques	Carbamazépine	$3,7.10^{7}$	$4,3.10^{7}$	$2,0.10^{7}$	$6,4.10^{6}$	$1,0.10^{4}$	1 000	10	100
Anti-ulcéreux	Ranitidine	$6,6.10^{7}$	$6,3.10^{7}$	$1,0.10^{9}$	n. d.	n. d.	n. d.	1 000	$6,3.10^{4}$
Benzodiazépines	Lorazépam	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Oxazépam	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Cardiovasculaires	Aténolol	$6,2.10^{8}$	$3,3.10^{7}$	$1,8.10^{9}$	$1,0.10^{7}$	n. d.	$1,0.10^{6}$	100	$1,0.10^{4}$
	Sotalol	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Propranolol	$1,0.10^{5}$	$4,6.10^{5}$	$9,0.10^{6}$	$5,8.10^{6}$	1 000	$2,0.10^{6}$	50	20
Hormones sexuelles	E2	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	EE2	2.10^{6}	$5,1.10^{5}$	$4,7.10^{6}$	n. d.	$7,8.10^{4}$	0,03	100	$3,0.10^{-4}$
	Estrone	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Hypolipémiants	Bézafibrate	$1,8.10^{7}$	$3,0.10^{7}$	$5,3.10^{6}$	n. d.	n. d.	n. d.	1 000	5 300
	Pravastatine	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.

La figure 43 permet de visualiser le positionnement des PNEC calculées par rapport aux PNEC récoltées dans la littérature scientifique. Parmi les 16 RM analysés dans le cadre de cette thèse et pour lesquels des PNEC ont pu être calculées, 12 présentent des PNEC calculées inférieures à la médianes des PNEC collectées.

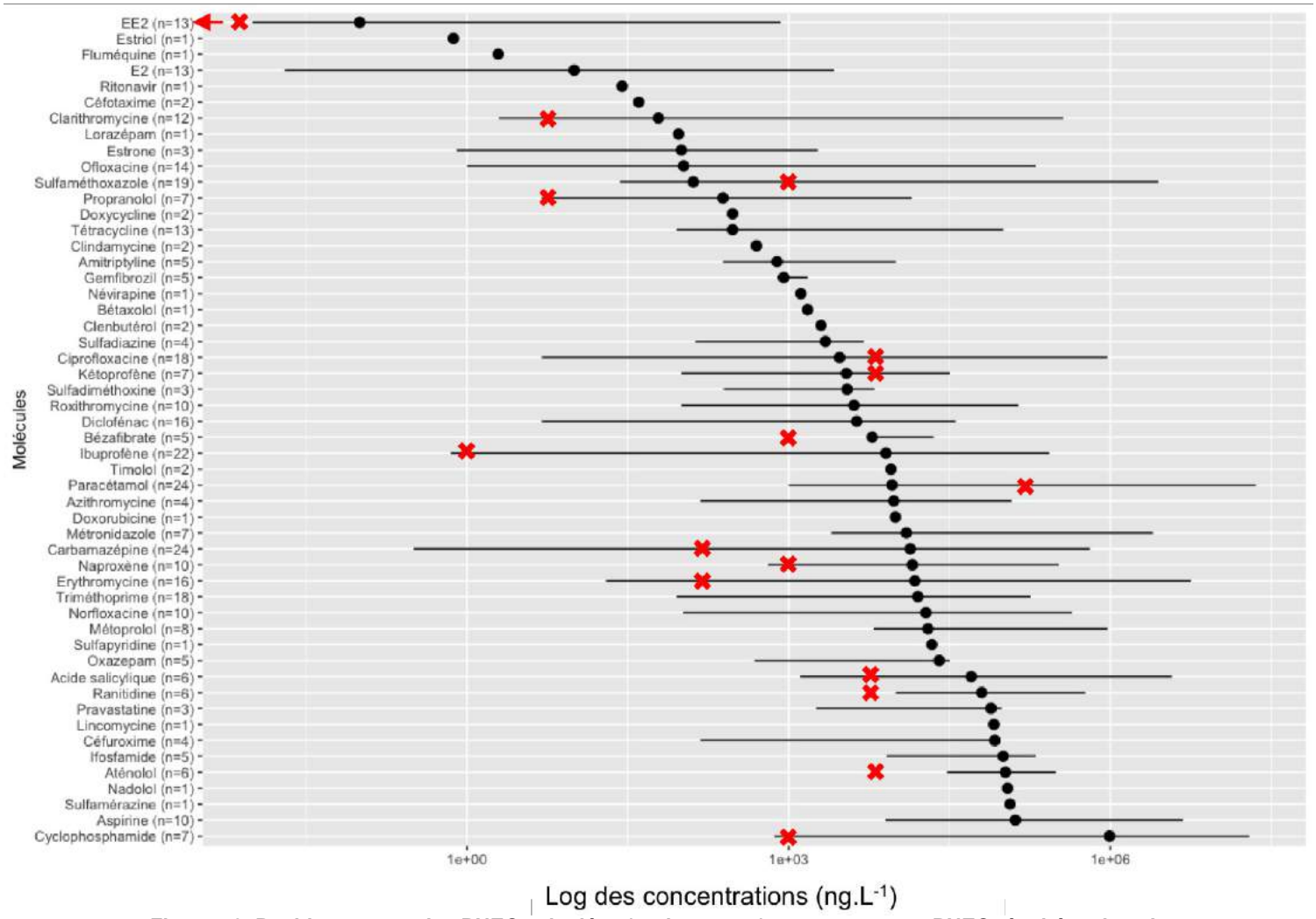


Figure 43. Positionnement des PNEC calculées (croix rouges) par rapport aux PNEC récoltées dans la littérature scientifique.

Dans ce chapitre, il a été montré que les données de danger brutes, disponibles dans la littérature scientifique (bio-essais et modélisations) et référencées dans la BDD, varient en fonction de plusieurs critères (groupes taxonomiques et espèces testés, molécules, …). Des différences entre les toxicités aiguës et chroniques ont été mises en évidence. Ces différences sont présentées ci-dessous.

1. *Des gammes de concentrations globalement plus larges pour les toxicités chroniques par rapport aux gammes de concentration rencontrées pour les toxicités aiguës.*
2. *Une plus grande diversité des groupes taxonomiques utilisés dans le cadre des tests écotoxicologiques réalisés sur le long terme par rapport à ceux réalisés sur le court*

terme.

3. *Une différence de sensibilité des groupes taxonomiques en fonction des temps d'exposition :*
    - *les cyanobactéries sont globalement les plus sensibles aux RM dans le cas des tests réalisés sur le long terme,*
    - *alors que ce sont les crustacés pour les tests réalisés sur le court-terme.*
4. *Quelles que soient les toxicités considérées, les antibiotiques sont souvent, pour au moins deux des cinq groupes taxonomiques étudiés (bactéries et cyanobactéries) les RM les plus dangereux parmi les 66 répertoriés ici.*

Les PNEC sont définis à partir de l'extrapolation des données de dangers brutes. Par conséquent, les facteurs responsables de l'amplitude de ces données brutes (groupes taxonomiques et espèces testées, molécules,...) sont également responsables de l'amplitude des PNEC. Cette amplitude engendre des incertitudes sur les risques écotoxicologiques évalués à partir de ces valeurs de PNEC. À cette source d'incertitude du risque vient s'ajouter une autre incertitude liée à la variation des concentrations de RM dans le milieu naturel. En effet, dans l'environnement, les concentrations en RM peuvent varier en fonction du temps et de l'espace. Le chapitre suivant a pour objectif de mettre en évidence ces variations.

Chapitre 2. Évaluation de l'exposition

Ce chapitre présente les concentrations mesurées dans les eaux usées brutes et traitées ainsi que dans les eaux de la Garonne toulousaine.

Il expose les rendements d'élimination des STEU, la variabilité spatiale des flux et des concentrations ainsi que la variabilité temporelle des concentrations dans le milieu naturel. Pour les molécules présentant des concentrations significativement différentes en fonction du temps, l'influence du débit de la Garonne sur les concentrations est étudiée. Enfin, les processus biotiques et abiotiques responsables de l'atténuation des concentrations de RM dans la Garonne sont étudiés en comparant les PEC, calculées à partir des concentrations mesurées dans les effluents de Ginestous, et les MEC de la station « Aval Ginestous ».

Tous les résultats des analyses sont intégrés à la BDD dans la table « step », pour les résultats des analyses effectuées sur les eaux des deux STEU étudiées, et dans la table « milieunaturel », pour les résultats provenant des eaux prélevées dans le Touch et la Garonne. Les résultats bruts des analyses de RM dans les eaux usées (brutes et traitées) et dans les eaux naturelles sont présentés en annexe 9, pour les analyses effectuées sur la période 1, en annexe 10 pour la période 2, et en annexe 11 pour la période 3.

1. Occurrence des RM

1.1 Dans les STEU

Dans ce paragraphe, les résultats des deux STEU sont étudiés mais seuls ceux de la STEU de Ginestous sont présentés. Les résultats de Seilh sont visibles en annexe. Dans le texte, lorsqu'aucune différence n'a été observée entre les deux STEU, aucune précision n'est apportée. En revanche, s'il existe des différences entre Ginestous et Seilh, des parenthèses viennent préciser la STEU concernée par les résultats présentés.

Vingt-six RM ont pu être analysés. La recherche analytique de 22 RM a été réalisée sur les eaux usées brutes des STEU ainsi que sur les eaux usées traitées de Seilh sur six campagnes de prélèvements : juin 2015, août 2015, octobre 2015, janvier 2016, février 2016 et avril 2016. Pour les hormones (E2, EE2 et Estrone), seulement deux campagnes ont bénéficié des recherches analytiques : juin 2015 et octobre 2015. Enfin, l'Acide salicylique n'a pas été recherché sur l'échantillon de janvier 2016 (troisième période d'analyses).
Pour les eaux de sortie de Ginestous, 22 RM ont été recherchés sur 15 campagnes, les hormones ont été recherchées sur quatre campagnes, et l'Acide salicylique sur 11 campagnes (Annexes 9, 10 et 11). Les résultats présentés ici sont donc issus de deux à 15 dates de prélèvements selon les molécules et la localisation.
Le tableau XXV présente les pourcentages d'occurrence, les concentrations moyennes et les Coefficients de Variation (CV) (%) pour les 26 RM recherchés dans les eaux usées brutes et traitées de Ginestous. Pour la STEU de Seilh, ces résultats sont présentés en annexe 12. Le nombre d'échantillon correspond au nombre de date (n), ce nombre est au maximum égal à six aux entrées des STEU (ne). Aux sorties des STEU, le nombre d'échantillon varie entre 2 et 15 (ns) avec un maximum égal à 6 pour la sortie de Seilh.

Tableau XXV. Occurrence (%), concentrations moyennes (ng.L^{-1}) et coefficient de variation (CV) (%) des concentrations dans les eaux usées brutes et traitées à Ginestous (ne = nombre d'échantillon en entrée ; ns = nombre d'échantillon en sortie). Les CV liés aux méthodologies analytiques sont présentés dans le tableau XVII.

Familles thérapeutiques	Molécules	Occurrence (%)		Concentration moyenne (ng.L^{-1})		CV (%)	
		Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie
AINS	Acide salicylique (ne=5 et ns=14)	100	100	39 445	200	12	95
	Diclofénac (ne=6 et ns=15)	100	100	1 029	776	48	18
	Ibuprofène (ne=6 et ns=15)	100	100	11 436	244	32	79
	Kétoprofène (ne=6 et ns=15)	100	100	3 255	332	17	27
	Naproxène (ne=6 et ns=15)	100	100	4 213	369	18	25
Analgésiques	Paracétamol (ne=6 et ns=15)	100	93	202 824	732	24	112
Antibiotiques	Azithromycine (ne=6 et ns=15)	100	100	524	113	24	40
	Ciprofloxacine (ne=6 et ns=15)	100	100	1 095	469	30	21
	Clarithromycine (ne=6 et ns=15)	100	100	536	221	50	55
	Érythromycine (ne=6 et ns=15)	0	0	0	0	/	/
	Fluméquine (ne=6 et ns=15)	67	73	5	4	84	88
	Ofloxacine (ne=6 et ns=15)	100	100	1 132	691	37	28
	Sulfaméthoxazole (ne=6 et ns=15)	100	100	425	150	30	52
Anticancéreux	Cyclophosphamide (ne=6 et ns=15)	100	100	20	18	29	33
Anti-épileptiques	Carbamazépine (ne=6 et ns=15)	100	100	524	523	20	11
Anti-ulcéreux	Ranitidine (ne=6 et ns=15)	83	73	68	6	53	110
Benzodiazépines	Lorazépam (ne=6 et ns=15)	100	100	171	37	110	22
	Oxazépam (ne=6 et ns=15)	100	100	1 177	1 333	26	24
Cardiovasculaires	Aténolol (ne=6 et ns=15)	100	100	1 450	760	27	19
	Propranolol (ne=6 et ns=15)	100	100	305	337	15	15
	Sotalol (ne=6 et ns=15)	100	100	1 029	1 136	16	17
Hormones sexuelles	E2 (ne=2 et ns=2)	0	0	0	0	/	/
	EE2 (ne=2 et ns=2)	0	0	0	0	/	/
	Estrone (ne=2 et ns=2)	100	100	252	5	81	56
Hypolipémiants	Bézafibrate (ne=6 et ns=15)	100	100	505	155	21	27
	Pravastatine (ne=6 et ns=15)	100	100	1 186	208	66	53

Le pourcentage d'occurrence qui correspond au rapport entre le nombre de détection d'une molécule donnée et le nombre total d'échantillon (ou dates) pour une station considérée, permet une première approche qualitative. Avec les données d'occurrence, quatre groupes de molécules ont ainsi été identifiés à Ginestous et Seilh :

- les molécules jamais détectées, ni à l'entrée ni à la sortie de la STEU. Ce sont les hormones sexuelles E2 (naturelle) et EE2 (synthétique), et l'antibiotique Érythromycine ;
- les molécules présentant des pourcentages d'occurrence à l'entrée supérieurs aux

pourcentages d'occurrence à la sortie. Il s'agit de l'anti-ulcéreux Ranitidine (Ginestous), de l'antibiotique Fluméquine (Seilh) et de l'analgésique Paracétamol ;

- les molécules présentant des pourcentages d'occurrence à la sortie supérieurs aux pourcentages d'occurrence à l'entrée. C'est le cas de l'antibiotique Fluméquine (Ginestous) et de l'anxiolytique Lorazépam (Seilh) ;
- enfin, les molécules toujours détectées (100%) aussi bien à l'entrée qu'à la sortie de la STEU de Ginestous. Ce sont : l'hormone naturelle Estrone, les antibiotiques Azithromycine, Clarithromycine, Sulfaméthoxazole, Ofloxacine, Ciprofloxacine, l'anti-cancéreux Cyclophosphamide, les hypolipémiants Pravastatine et Bézafibrate, les anxiolytiques Lorazépam (Ginestous) et Oxazépam, l'anti-épileptique Carbamazépine, les cardiovasculaires Aténolol, Sotalol et Propranolol et les AINS Diclofénac, Naproxène, Kétoprofène, Ibuprofène et Acide salicylique.

Des divergences sont observables entre les concentrations moyennes à l'entrée et la sortie des STEU. Là encore, des regroupements de molécules peuvent être réalisés.

- Le premier groupe est constitué des molécules dont les concentrations moyennes à la sortie sont inférieures aux concentrations moyennes à l'entrée. C'est le cas pour la plupart des RM étudiés ici, l'Estrone, tous les antibiotiques excepté la Fluméquine (Ginestous), la Ranitidine, la Pravastatine, le Lorazépam, le Bézafibrate, les cardiovasculaires : l'Aténolol, les AINS et le Paracétamol.
- Le second groupe comprend les molécules dont les concentrations moyennes sont relativement similaires entre l'entrée et la sortie. C'est le cas de la Fluméquine (Ginestous), l'Oxazépam, le Cyclophosphamide, le Sotalol, le Propranolol, et la Carbamazépine.

Les CV renseignent sur la variabilité des concentrations en fonction du temps. Ils ont pu être calculés uniquement pour les molécules détectées dans les STEU. Pour une molécule donnée, plus le pourcentage est grand, plus les concentrations entre les différentes campagnes varient. À l'entrée des STEU, quatre catégories de molécules sont identifiées au regard de ces CV.

- La première catégorie, présente uniquement à Ginestous, est constituée des RM présentant un CV inférieur à 20%. Il s'agit des cardiovasculaires Sotalol et Propranolol, et des AINS Kétoprofène, Naproxène et Acide salicylique.
- La deuxième catégorie est constituée de RM avec un CV compris entre 20 et 50%. Il s'agit de l'Estrone (Seilh), des antibiotiques Azithromycine (Ginestous), Sulfaméthoxazole, Ofloxacine, Ciprofloxacine, de l'anti-cancéreux Cyclophosphamide, de l'anxiolytique Oxazépam, de l'hypolipémiant Bézafibrate, de l'anti-épileptique Carbamazépine, des cardiovasculaires Aténolol, Sotalol (Seilh),

Propranolol (Seilh), des AINS Diclofénac (Ginestous), Ibuprofène (Ginestous), Naproxène (Seilh), et de l'analgésique Paracétamol. Pour ces molécules, une variation des concentrations est observable entre les campagnes mais reste inférieure à 50%.

- La troisième catégorie est constituée de RM avec un CV compris entre 50% et 100%. Il s'agit de l'hormone naturelle Estrone (Ginestous), des antibiotiques Azithromycine (Seilh) Clarithromycine et Fluméquine, de l'anti-ulcéreux Ranitidine, de l'hypolipémiant Pravastatine, des AINS Diclofénac (Seilh) et Acide salicylique (Seilh). Ces molécules présentent une forte variabilité des concentrations à l'entrée de la STEU.
- La quatrième catégorie est constituée de RM avec un CV supérieur à 100%. Il s'agit de l'anxiolytique Lorazépam, et des AINS Kétoprofène (Seilh) et Ibuprofène (Seilh). Les concentrations mesurées pour ces molécules à l'entrée des STEU sont donc extrêmement variables.

Même si globalement les catégories précédemment citées sont constituées des mêmes molécules à l'entrée et à la sortie des STEU, soulignant donc une variabilité des concentrations semblable entre les eaux usées brutes et traitées, certains RM présentent une variabilité des concentrations différente entre l'entrée et la sortie des STEU. Le Tableau 30 met en évidence l'augmentation ou la diminution ainsi que l'intensité des différences de variabilité entre l'entrée et la sortie de Ginestous et de Seilh pour ces molécules. Le nombre de flèche indique la marge d'accroissement du CV et est estimée en fonction des quatre catégories précédemment décrites. Pour une molécule donnée, une seule flèche indique le passage d'une catégorie à la suivante (n+1), deux flèches indiquent le passage à une catégorie (n+2) et met en évidence une différence de variabilité relativement importante entre l'entrée et la sortie des STEU. De cette façon le Sulfaméthoxazole (Ginestous), la Ranitidine (Ginestous), le Kétoprofène (Ginestous), le Cyclophosphamide (Seilh), le Naproxène et l'Ibuprofène présentent une légère augmentation de la variabilité des concentrations à la sortie des STEU par rapport à l'entrée. Les CV de l'Azithromycine (Seilh), la Clarithromycine (Seilh), le Lorazépam (Seilh), le Sotalol (Seilh), la Carbamazépine (Ginestous) et de l'Aténolol (Ginestous) sont légèrement plus faibles à la sortie par rapport à l'entrée de la STEU. Pour le Lorazépam (Ginestous), le Sulfamétoxazole (Seilh), l'Ibuprofène (Seilh) et le Diclofénac, cette diminution est plus marquée. Pour ces molécules, ces tendances renseignent sur le fait que quelles que soient leurs concentrations à l'entrée des STEU, leurs concentration à la sortie est relativement stable, et ce d'autant plus que le CV sera élevé à l'entrée et bas à la sortie. À partir des CV, la variabilité temporelle des concentrations de RM dans les STEU peut être envisagée. Cette variabilité serait plus ou

moins marquée en fonction des molécules et des sites de prélèvements (entrée ou sortie).

Tableau XXVI. Comparaison de la variabilité des concentrations (CV) des RM entre l'entrée et la sortie des STEU. La marge d'accroissement des CV est représentée par le nombre de flèche. Pour une molécule donnée, une/des flèche(s) vers le haut indique(nt) une augmentation du CV entre l'entrée et la sortie de la STEU considérée, et une/des flèche(s) vers le bas indique(nt) une diminution du CV entre l'entrée et la sortie de la STEU considérée.

Familles thérapeutiques	Molécules	Comparaison des CV entre l'entrée et la sortie des STEU (↑ ou ↓ de la variabilité des concentrations entrée l'entrée et la sortie)
AINS	Acide salicylique (Ginestous)	↑↑
	Diclofénac	↓↓
	Ibuprofène	↑ (Ginestous) ↓↓ (Seilh)
	Kétoprofène (Ginestous)	↑
	Naproxène	↑
Analgésiques	Paracétamol	↑↑
Antibiotiques	Azithromycine (Seilh)	↓
	Clarithromycine (Seilh)	↓
	Sulfaméthoxazole	↑ (Ginestous) ↓↓ (Seilh)
Anticancéreux	Cyclophosphamide (Seilh)	↑
Anti-ulcéreux	Ranitidine (Ginestous)	↑
Anti-épileptiques	Carbamazépine (Ginestous)	↓
Benzodiazépines	Lorazépam	↓↓ (Ginestous) ↓ (Seilh)
Cardiovasculaires	Aténolol (Ginestous)	↓
	Sotalol (Seilh)	↓

Pour aller un peu plus loin dans la comparaison des concentrations entre l'entrée et la sortie des STEU, des rendements d'élimination de la phase dissoute, c'est-à-dire les taux d'abattement des flux de molécules entre la phase dissoute à l'entrée et à la sortie des STEU, ont été calculés et sont présentés dans le tableau XXVII pour la STEU de Ginestous et en annexe 13 pour la STEU de Seilh. Ces calculs de rendements ont été réalisés sur un maximum de six dates durant lesquelles des prélèvements ont été réalisés à la fois à l'entrée et la sortie de la STEU, soit en juin, août et octobre 2015 et en janvier, février et avril 2016. Pour les molécules non recherchées (Acide salicylique en janvier 2016 et les hormones en août 2015, janvier 2016, février 2016 et avril 2016) et celles présentant des concentrations inférieures aux limites de détection à l'entrée et la sortie des STEU, aucun rendement d'élimination n'a pu être calculé.

Tableau XXVII . Rendements d'élimination des RM à la STEU de Ginestous. Les rendements avec des pourcentages inférieurs à 30% sont représentés en rouge, les rendements avec des pourcentages compris entre 30 et 70% sont représentés en orange et les rendements avec des pourcentages supérieurs à 70% sont représentés en vert.

GINESTOUS	%	juin-15	août-15	oct-15	janv-16	févr-16	avr-16	Min	Max	Médiane
AINS	Acide salicylique	99,7		99,8		99,7	99,7	99,7	99,8	99,7
	Diclofénac	-117,3	38,7	8,6	32,9	33,8	30,1	-117,3	38,7	31,5
	Ibuprofène	98,2	92,0	99,0	98,1	95,1	98,2	92,0	99,0	98,1
	Kétoprofène	90,7	88,3	93,9	90,1	88,0	88,1	88,0	93,9	89,2
	Naproxène	90,3	87,0	91,8	91,2	93,9	92,5	87,0	93,9	91,5
Analgésiques	Paracétamol	99,8	99,1	99,9	99,9	100,0	99,7	99,1	100,0	99,8
Antibiotiques	Azithromycine	83,0	86,3	66,9	77,4	74,8	59,3	59,3	86,3	76,1
	Ciprofloxacine	69,9	36,1	35,1	58,3	68,8	47,3	35,1	69,9	52,8
	Clarithromycine	57,9	68,6	49,0	69,6	51,8	14,0	14,0	69,6	54,8
	Fluméquine		-135,6		-8,5	-7,4	46,2	-135,6	46,2	-8,0
	Ofloxacine	31,8	14,2	30,6	43,2	49,7	24,6	14,2	49,7	31,2
	Sulfaméthoxazole	68,8	54,2	47,8	79,4	74,0	73,6	47,8	79,4	71,2
Anticancéreux	Cyclophosphamide	-20,2	-12,6	-4,1	10,5	11,4	12,1	-20,2	12,1	3,2
Anti-épileptiques	Carbamazépine	-7,5	-15,2	23,3	-10,4	16,4	-4,2	-15,2	23,3	-5,8
Anti-ulcéreux	Ranitidine		84,3	100,0	92,9	97,0	97,6	84,3	100,0	97,0
Benzodiazépines	Lorazépam	77,8	-580,1	87,3	90,1	-497,7	-81,9	-580,1	90,1	-2,0
	Oxazépam	1,9	-19,1	-8,3	0,5	-6,7	-13,9	-19,1	1,9	-7,5
Cardiovasculaires	Aténolol	36,9	52,5	44,8	36,1	32,4	46,1	32,4	52,5	40,9
	Propranolol	-14,2	-7,3	-18,7	-31,5	-17,6	0,3	-31,5	0,3	-15,9
	Sotalol	-9,2	12,4	-7,3	-15,7	-7,2	-11,3	-15,7	12,4	-8,2
Hormones	Estrone	95,0		99,2				95,0	99,2	97,1
Hypolipémiants	Bézafibrate	58,7	75,3	67,7	66,7	49,9	56,5	49,9	75,3	62,7
	Pravastatine	-42,7	93,2	-61,6	95,4	80,0	93,4	-61,6	95,4	86,6

Trois classes de rendements d'élimination ont été réalisées avec un code couleur pour faciliter l'analyse. Toutes les molécules présentant des concentrations moyennes à l'entrée supérieures aux concentrations moyennes à la sortie (tableau XXV) présentent des rendements médians supérieurs à 30% ou 70% (tableau XXVII). Cela signifie donc qu'elles sont plus ou moins bien éliminées de la phase dissoute. Cependant, à Seilh, la Clarithromycine, le Sotalol et le Propranolol, qui ont également des concentrations moyennes à l'entrée supérieures aux concentrations moyennes à la sortie, présentent un mauvais rendement médian (rouge) et sont donc mal dégradés par la STEU. À Ginestous, le Lorazépam, qui appartient également à ce premier groupe de molécule, présente un rendement médian négatif (rouge) due à une forte disparité des concentrations en entrée (CV = 110% avec un minimum mesuré en août 2015 et février 2016 égal à 4,5 ng.L^{-1} et un maximum mesuré en janvier 2016 égal à 445 ng.L^{-1}). Pour cette molécule, quelles que soient les concentrations mesurées à l'entrée de la STEU, les concentrations mesurées à la sortie sont relativement stables, ce qui a pour conséquence une grande variabilité des rendements d'élimination calculés pour cette molécule à Ginestous. Avec des rendements médians au moins égaux à 84%, l'Estrone, la Fluméquine (Seilh), la Ciprofloxacine (Seilh), la

Pravastatine (Seilh), la Ranitidine (Ginestous), les AINS (excepté le Diclofénac) et le Paracétamol sont les molécules les mieux éliminées par les STEU. L'Acide salicylique (Ginestous) et le Paracétamol ont une nette augmentation du CV à la sortie des STEU par rapport à l'entrée (tableau XXVI). Pour ces molécules, qui présentent des taux d'élimination dans la phase dissoute importants, ces tendances renseignent sur la fluctuation des processus responsables de leur dégradation dans la STEU, et ce d'autant plus que le CV sera bas à l'entrée et élevé à la sortie. Même si tous les antibiotiques à Ginestous et l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole et l'Ofloxacine à Seilh, ainsi que le Diclofénac et la Pravastatine ont des rendements d'élimination médians bons (compris entre 30 et 70%) voire très bons (supérieurs à 70%), ces derniers sont très variables, surtout pour la Pravastatine.
Les RM appartenant au second groupe (Fluméquine (Ginestous), Cyclophosphamide, Carbamazépine, Oxazépam, Sotalol et Propranolol), c'est-à-dire ayant des concentrations moyennes similaires entre l'entrée et la sortie ou supérieures à la sortie par rapport l'entrée, ont un mauvais rendement d'élimination médian (rouge). Ce sont donc des molécules difficilement éliminées par les STEU.

1.2 Comparaison Ginestous – Seilh

Les STEU étudiées présentent des capacités, des raccordements et des traitements secondaires différents. La STEU de Ginestous a une capacité de 800 000 EH et la STEU de Seilh de 85 000 EH, soit quasiment 10 fois moindre. D'autre part, la STEU de Ginestous est raccordée à des établissements de soins contrairement à celle de Seilh. Enfin, la STEU de Seilh ne possède pas de phase de traitement par boues activées contrairement à la STEU de Ginestous. Même s'il existe une étape de biofiltration à la fin de la filière de la STEU de Seilh, il peut être considéré que le traitement utilisé à Seilh est essentiellement basé sur de la physico-chimie. Ces divergences engendrent-elles des rendements d'élimination des RM étudiés différents entre les deux STEU ?

Les rendements médians d'élimination sur les six campagnes de prélèvements ont été catégorisés. Chaque catégorie est associée à un code couleur identique à celui utilisé dans le paragraphe précédent : inférieurs à 30% en rouge, compris entre 30 et 70% en orange et supérieurs à 70% en vert. La figure 44 présente le nombre de molécules pour chaque catégorie de rendement et pour les deux STEU.

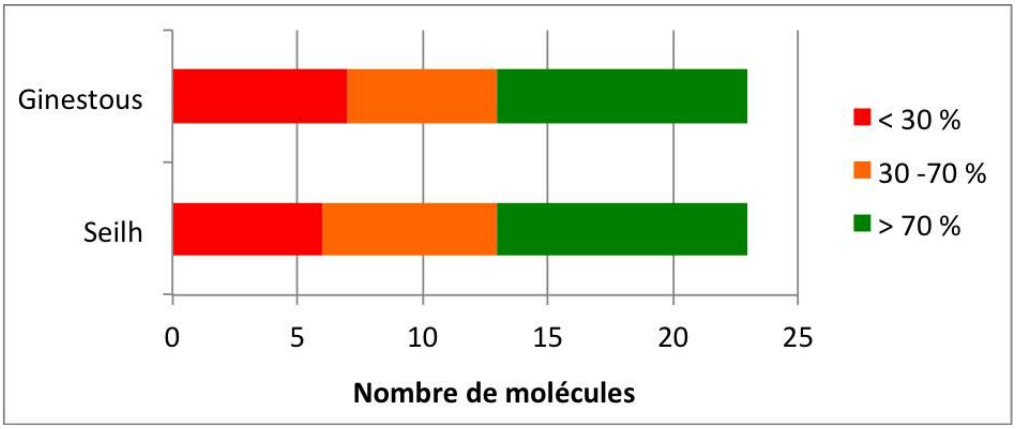


Figure 44. Nombre de molécules par classe de rendement dont le pourcentage d'élimination suit un code couleur (rouge = inférieurs à 30% ; orange = entre 30 et 70% ; vert = supérieurs à 70%) (et pour toutes les molécules présentant au moins un rendement calculable).

Pour les trois catégories, les deux STEU présentent le même nombre de molécules (à une molécule près). Cette figure montre donc que les rendements d'élimination des RM dans la phase dissoute, en termes de nombre de molécules éliminées, sont similaires entre Ginestous et Seilh. Cependant, la comparaison des rendements médians pour chaque molécule souligne quelques divergences entre les deux STEU (tableau XXVIII).

Tableau XXVIII. Comparaison des rendements d'élimination médians des STEU pour chacune des molécules étudiées.

		Seilh			Ginestous		
		< 30%	30 - 70%	> 70%	< 30%	30 - 70%	> 70%
AINS	Acide salicylique			x			x
	Diclofénac		x			x	
	Ibuprofène			x			x
	Kétoprofène			x			x
	Naproxène			x			x
Analgésiques	Paracétamol			x			x
Antibiotiques	Azithromycine		x				x
	Ciprofloxacine			x		x	
	Clarithromycine	x				x	
	Fluméquine			x	x		
	Ofloxacine			x		x	
	Sulfaméthoxazole		x				x
Anticancéreux	Cyclophosphamide	x			x		
Anti-épileptiques	Carbamazépine	x			x		
Anti-ulcéreux	Ranitidine		x				x
Benzodiazépines	Lorazépam		x		x		
	Oxazépam	x			x		
Cardiovasculaires	Aténolol		x			x	
	Propranolol	x			x		
	Sotalol	x			x		
Hormones sexuelles	Estrone			x			x
Hypolipémiants	Bézafibrate		x			x	
	Pravastatine			x			x

Les antibiotiques, l'anti-ulcéreux Ranitidine et l'anxiolytique Lorazépam ne sont pas dans les mêmes catégories de rendements d'élimination à Ginestous et à Seilh. Il existe des différences de rendement entre Ginestous et Seilh pour ces molécules. La Fluméquine est la plus affectée puisqu'elle a un rendement supérieur à 70% à Seilh et inférieur à 30% à Ginestous. Toutes les autres molécules appartiennent aux mêmes catégories de rendement à Ginestous et à Seilh. Ainsi, le Cyclophosphamide, l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Sotalol et le propranolol présentent des rendements d'élimination inférieurs à 30% dans les deux STEU. Le Bézafibrate, l'Aténolol et le Diclofénac présentent des rendements compris entre 30 et 70% dans les deux STEU. Enfin, l'Estrone, la Pravastatine, les AINS (excepté le Diclofénac) et le Paracétamol avec des rendements supérieurs à 70%, sont donc facilement éliminés dans les deux STEU.

Ainsi, le type de fonctionnement des STEU ne semble pas influencer de manière prépondérante la dissipation des RM dans les STEU. Une fois traitées par les STEU toulousaines, les eaux usées sont rejetées dans la Garonne. Quel est l'impact de ces rejets d'eaux usées traitées dans la Garonne ? Le paragraphe suivant présente les résultats des concentrations de RM mesurées dans les eaux naturelles. Il met notamment en évidence les variabilités spatiales de ces molécules dans le milieu afin de caractériser l'impact de l'agglomération toulousaine sur la présence de RM dans la Garonne.

1.3 Dans le milieu naturel

Les recherches analytiques de 26 RM ont été réalisées dans les eaux du Touch et de la Garonne durant 17 campagnes de prélèvements : juin, août et octobre 2015, janvier, février, avril, juin, juillet août, septembre, octobre, novembre et décembre 2016, janvier, février, mars et avril 2017. Pour les hormones sexuelles (E2, EE2 et Estrone), seulement cinq campagnes ont bénéficié des recherches analytiques : juin et octobre 2015, février, juin et août 2016. Enfin, l'Acide salicylique n'a pas été recherché les échantillons de janvier 2016 et janvier, février, mars et avril 2017 (troisième période d'analyses). Les résultats présentés ici sont donc issus de minimum cinq et maximum 17 échantillons. Le tableau XXIX présente les pourcentages d'occurrence, les concentrations moyennes et les CV (%) pour les 26 RM recherchés.

Tableau XXIX. Occurrence (%), concentrations moyennes (ng.L^{-1}) et CV (%) des concentrations dans les eaux du Touch et de la Garonne (T. = Touch ; Gin. = Ginestous ; n = nombre d'échantillons). Les CV liés aux méthodologies analytiques sont présentés dans le tableau XVII.

Famille	Molécules	Taux de détection (%)				Concentration moyenne (ng.L^{-1})				Coefficient de variation (CV) (%)			
		T.	Amont Gin.	Aval Gin.	Gagnac	T.	Amont Gin.	Aval Gin.	Gagnac	T.	Amont Gin.	Aval Gin.	Gagnac
AINS	Acide salicylique (n=12)	100	100	100	100	70	23	27	35	188	37	47	27
	Diclofénac (n=17)	100	100	100	100	61	23	37	36	61	69	68	69
	Ibuprofène (n=17)	76	24	50	65	24	2	4	10	130	188	126	145
	Kétoprofène (n=17)	29	29	31	29	9	13	14	17	175	171	157	186
	Naproxène (n=17)	100	71	100	100	13	2	7	7	83	95	46	51
Analgésiques	Paracétamol (n=17)	100	100	100	100	390	49	75	84	207	57	65	81
Antibiotiques	Azithromycine (n=17)	41	41	44	41	2	2	1	2	124	124	126	125
	Ciprofloxacine (n=17)	65	0	25	47	2	0	1	1	95	/	196	133
	Clarithromycine (n=17)	100	94	100	100	11	6	7	6	48	28	45	14
	Érythromycine (n=17)	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	/
	Fluméquine (n=17)	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	/
	Ofloxacine (n=17)	71	65	81	88	5	1	6	5	114	91	91	68
	Sulfaméthoxazole (n=17)	47	41	38	41	2	0	1	1	115	123	156	147
Anticancéreux	Cyclophosphamide (n=17)	35	0	69	71	0	0	0	0	191	/	134	94
Anti-épileptiques	Carbamazépine (n=17)	100	100	100	100	19	4	11	12	37	52	62	55
Anti-ulcéreux	Ranitidine (n=17)	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	/
Benzodiazépines	Lorazépam (n=17)	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	/
	Oxazépam (n=17)	100	100	100	100	37	11	25	26	50	55	60	57
Cardiovasculaires	Aténolol (n=17)	100	35	100	100	9	1	8	9	60	202	89	57
	Propranolol (n=17)	100	76	100	100	5	3	4	5	48	250	63	52
	Sotalol (n=17)	100	94	100	100	30	6	19	19	39	71	55	62
Hormones sexuelles	E2 (n=5)	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	/
	EE2 (n=5)	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	/
	Estrone (n=5)	100	100	100	100	1	1	4	2	69	28	30	38
Hypolipémiants	Bézafibrate (n=17)	82	53	94	88	2	1	2	2	99	99	56	65
	Pravastatine (n=17)	47	0	19	6	1	0	0	0	188	/	215	412

Avec les pourcentages d'occurrence, quatre groupes de molécules ont été identifiés.

- Le premier groupe constitué des molécules jamais détectées est composé des hormones sexuelles E2 (naturelle) et EE2 (synthétique), les antibiotiques Érythromycine et Fluméquine, l'anti-ulcéreux Ranitidine et l'anxiolytique Lorazépam.
- Le deuxième groupe est constitué des molécules souvent (pourcentage d'occurrence supérieur à 50%) voire toujours (100%) détectées dans au moins trois stations sur quatre. Il s'agit de l'Estrone, la Clarithromycine, l'Ofloxacine, l'Oxazépam, le Bézafibrate, la Carbamazépine, le Sotalol, le Propranolol, l'Aténolol, le Diclofénac, le Naproxène, l'Ibuprofène, l'Acide salicylique et le Paracétamol.

- Le troisième groupe comprend les molécules présentant des pourcentages d'occurrence inférieurs à 50% dans au moins trois stations sur quatre. C'est le cas de l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole, la Ciprofloxacine, la Pravastatine et le Kétoprofène.
- Le quatrième groupe est constitué des molécules présentant des pourcentages d'occurrence inférieurs à 50% dans deux stations et supérieurs à 50% dans les deux autres. Seul le Cyclophosphamide se retrouve dans cette situation.

Les CV renseignent sur la variabilité des concentrations en fonction des différentes dates de prélèvements (tableau XXXII). Globalement, les CV sont élevés puisqu'ils sont au minimum égal à 28%, ce qui suggère une variabilité temporelle des concentrations de RM dans le milieu naturel non négligeable. L'Estrone, l'Acide salicylique et le Paracétamol présentent des CV beaucoup plus importants sur le Touch par rapport à la Garonne attestant d'une variabilité temporelle des concentrations pour ces molécules plus marquée sur cet affluent que sur la Garonne. Pour les autres RM, trois catégories de molécules sont identifiées.

- La première catégorie est constituée d'un RM présentant un CV compris entre 20 et 50% dans au moins trois stations sur quatre. Dans ce cas, la variabilité temporelle des concentrations est faible. Il s'agit de la Clarithromycine.
- La deuxième catégorie est constituée de neuf RM avec un CV compris entre 50% et 100% dans au moins trois stations sur quatre. Il s'agit de l'Ofloxacine, l'Oxazépam, le Bézafibrate, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Propranolol, le Diclofénac et le Naproxène. Ces molécules présentent une forte variabilité temporelle des concentrations sur la majorité des stations. L'Aténolol et le Propranolol présentent un CV supérieur à 200% dans la station située en amont des rejets de Ginestous. Leurs concentrations varient donc énormément à cette station.
- La troisième catégorie est constituée de sept RM avec un CV supérieur à 100% dans au moins trois stations sur quatre. Il s'agit de l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole, la Ciprofloxacine, le Cyclophosphamide, la Pravastatine, le Kétoprofène et l'Ibuprofène. Ces molécules présentent une très forte variabilité temporelle des concentrations sur la majorité des stations.

Comme pour les STEU, la variabilité des concentrations mise en évidence par le CV est plus ou moins marquée en fonction des molécules et des sites de prélèvements. Cette variabilité temporelle des concentrations de RM dans le milieu naturel est discutée plus loin.

2. Variabilité spatiale dans la Garonne

L'étude de la variabilité spatiale des RM dans le milieu naturel a été réalisé en utilisant toutes les analyses effectuées sur toutes les dates des prélèvements réalisés de juin 2015 à avril 2017.

2.1 En terme de flux

Dans un premier temps, l'étude graphique permet d'identifier les molécules pouvant présenter des flux médians différents en fonction de la localisation des stations sur le tronçon de fleuve étudié (figure 45).

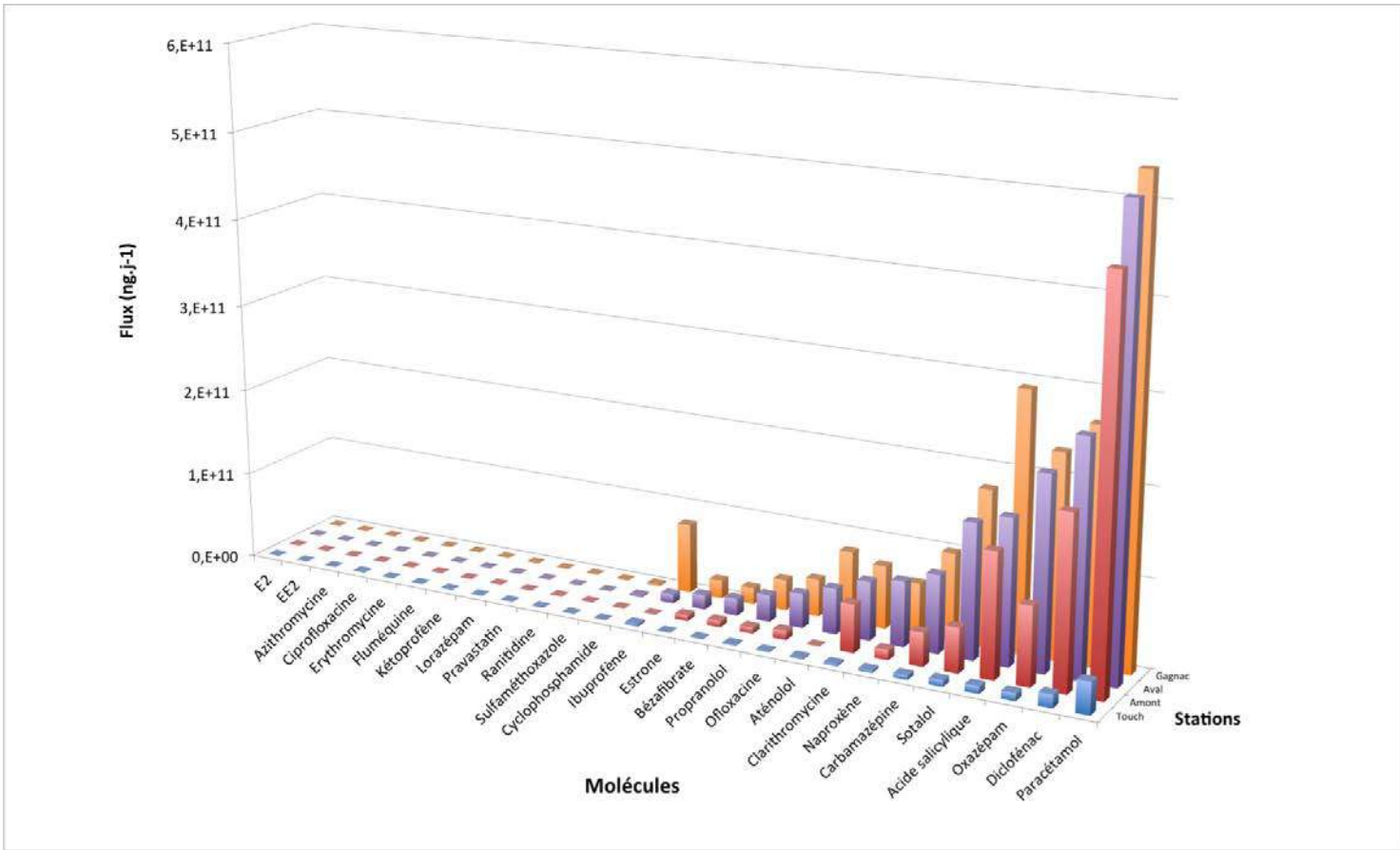


Figure 45. Flux médians des RM étudiés en fonction des stations : Touch (bleu), amont Ginestous (rouge), aval Ginestous (violet) et Gagnac (orange).

Des divergences sont observables entre les concentrations moyennes du Touch et celles des stations localisées sur la Garonne (tableau XXIX). En effet, excepté pour le Kétoprofène, les concentrations moyennes mesurées dans le Touch sont au moins égales, voire supérieures, à celle mesurées dans la Garonne, que ce soit sur la station située en amont des rejets de Ginestous, que sur celle située en aval ou à Gagnac. Cependant, la Figure 41 montre que les flux médians de RM provenant du Touch sont négligeables par rapport à

ceux de la Garonne. Ainsi, même si les concentrations moyennes peuvent être importantes pour certaines molécules (tableau XXIX), le faible débit de cet affluent par rapport à celui de la Garonne, n'impacte que faiblement les flux de RM dans cette dernière. En moyenne, sur l'ensemble des campagnes de prélèvements, les débits respectifs du Touch et de la Garonne sont égaux à 2302 $l.s^{-1}$ et 139005 $l.s^{-1}$, soit 60 fois plus faible pour le Touch (figure 20). Avec ce graphique, l'augmentation des flux médians de RM aux stations situées en aval des rejets de Ginestous est mise en évidence, démontrant le fort impact des rejets de RM de l'émissaire de Ginestous sur les flux de RM dans la Garonne. La différence entre les flux amont-aval est surtout marquée pour l'Acide salicylique, l'Ibuprofène, l'Estrone, le Bézafibrate, le Propranolol, l'Ofloxacine, l'Aténolol, le Naproxène, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Oxazépam, le Diclofénac. Certaines molécules présentent déjà dans la Garonne (en amont) des flux relativement élevés (Paracétamol, Carbamazépine, Sotalol, Oxazépam, Diclofénac). Deux groupes de molécules ont des comportements divergents : l'Ibuprofène et l'Acide salicylique voit leur flux fortement augmenté entre l'aval de Ginestous et Gagnac tandis que les flux de Paracétamol et de Clarithromycine sont relativement stables dans le cours d'eau. Pour toutes les molécules ayant été mesurées au moins une fois à une station de prélèvement, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur les flux calculés sur les trois stations de la Garonne (figure 46). L'E2, l'EE2, l'Érythromycine, la Fluméquine, la Ranitidine et le Lorazépam ont donc été exclus de l'analyse. Les composantes 1 (axe horizontal) et 2 (axe vertical) de l'ACP expliquent respectivement 34% et 14% de la variance des flux, ce qui est élevé.

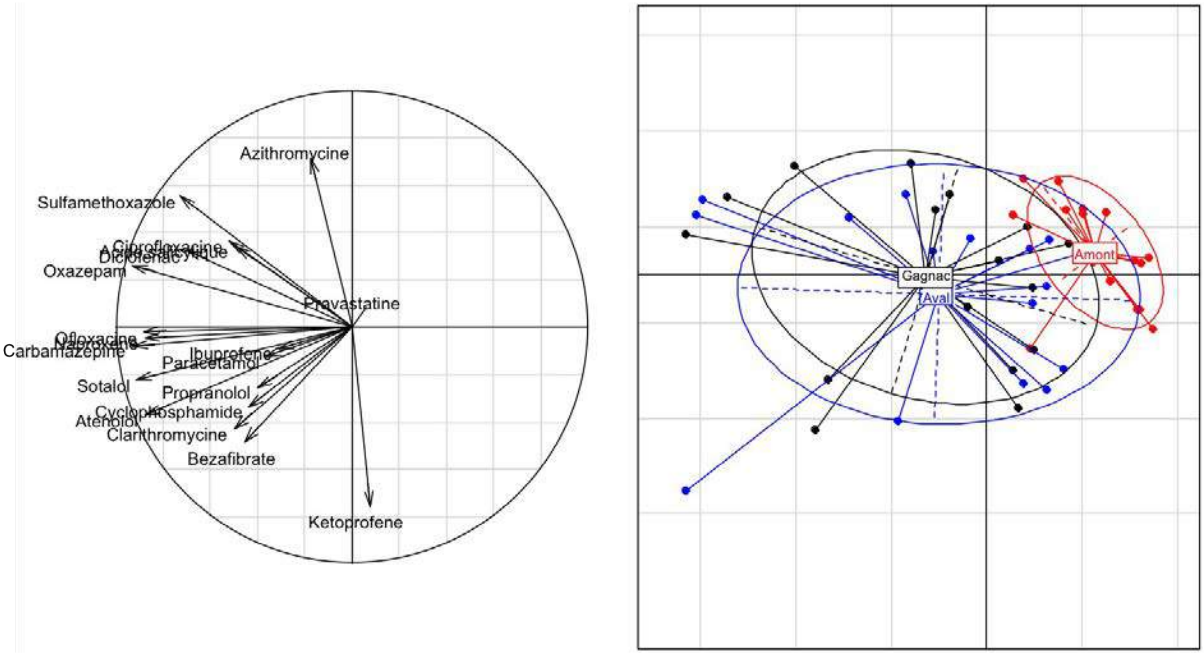


Figure 46. Résultat de l'analyse en composantes principales (ACP) généré à partir des flux de RM. La projection sur les deux principaux axes est affichée : à gauche les RM détectés, à droite les stations de prélèvements (bleu = « Aval Ginestous », noir = « Gagnac » et rouge = « Amont Ginestous »).

Cette figure montre que le cocktail de molécules représenté par la composante 1 (ou axe 1) est différent entre la station « Amont Ginestous » et les deux autres situées en aval des rejets. Pour vérifier la significativité de ces résultats, un test non paramétrique a été réalisé (test de Friedman) en utilisant les coordonnées des molécules sur l'axe 1 de l'ACP et pour chacune des stations. Avec ce test, la p-value est inférieure à 0,05, les différences mises en évidence graphiquement sont donc significatives. Il y a donc bien une différence, en terme de composition du flux global de RM, entre les trois stations sur la Garonne. Un test post-hoc de Nemenyi, utilisé en post-hoc lorsqu'un test de Friedman est significatif, a été réalisé afin de comparer les stations deux à deux. Des différences significatives apparaissent entre les stations « Amont Ginestous » et « Aval Ginestous » et entre « Amont Ginestous » et « Gagnac » mais pas entre les stations « Aval Ginestous » et « Gagnac ». Pour confirmer les résultats de cette analyse descriptive, des ANOVA ont été réalisées pour chacune des molécules avec comme variable expliquée, les flux des molécules et comme variable explicative, les stations. Les résultats de ces ANOVA ont montré des différences de variance significatives (p-value inférieure à 0,05) entre les différentes stations de prélèvements sur la Garonne pour 14 RM sur les 20 ayant fait l'objet de cette analyse. Ces molécules sont l'Estrone, l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole, l'Ofloxacine, le Cyclophosphamide, l'Oxazépam, le Bézafibrate, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac, le Naproxène, l'Ibuprofène et l'Acide salicylique. Pour identifier les molécules pour lesquelles des différences de flux existent entre la station située en amont des rejets de Ginestous et les stations situées à l'aval, des tests de Student ont été réalisés. Les résultats sont présentés dans le tableau XXX.

Tableau XXX. Valeurs de la probabilité (p-value) de l'hypothèse nulle (H0) : les flux de RM sont identiques entre deux stations testées avec le test de Student.
Significativité : * p-value compris entre 0,005 – 0,01 ; ** p-value < 0,005 ; *** p-value < 0,0005.

	Molécules	Amont Ginestous vs Aval Ginestous	Amont Ginestous vs Gagnac
AINS	**Acide salicylique**	*0,68*	*0,01*
	Diclofénac	*0,02*	*3,3e-04***
	Ibuprofène	*0,01*	*9,6e-03**
	Kétoprofène	*0,67*	*0,8*
	Naproxène	*9,4e-06****	*4,2e-04****
Analgésiques	**Paracétamol**	*0,07*	*0,1*
Antibiotiques	**Azithromycine**	*0,03*	*0,01*
	Ciprofloxacine	*0,12*	*0,08*
	Clarithromycine	*0,25*	*0,09*
	Ofloxacine	*0,004***	*0,02*
	Sulfaméthoxazole	*0,2*	*0,01*
Anticancéreux	**Cyclophosphamide**	*0,03*	*0,02*
Anti-épileptiques	**Carbamazépine**	*1,0e-06****	*5,2e-10****
Benzodiazépines	**Oxazépam**	*8,7e-10****	*3,4e-10****
Cardiovasculaires	**Aténolol**	*0,004***	*2,1e-04****
	Propranolol	*0,8*	*0,92*
	Sotalol	*3,9e-05****	*2,2e-04****
Hormones sexuelles	**Estrone**	*0,01*	*0,02*
Hypolipémiants	**Bézafibrate**	*0,03*	*0,05*
	Pravastatine	*0,16*	*0,33*

Des différences de flux significatives entre les stations « Amont Ginestous » et « Aval Ginestous » sont mises en évidence. Elles concernent l'Ofloxacine, l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol et le Naproxène. Les comparaisons « Amont Ginestous » et « Gagnac », montrent des différences significatives pour l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac, le Naproxène et l'Ibuprofène. La figure 47 présente les diagrammes en boîte des flux de ces derniers en fonction des stations et renseignent sur le sens d'évolution des flux (augmentation ou diminution). Les diagrammes en boîte de toutes les autres molécules sont présentées en annexe 14. Pour tous les RM présentant des flux significativement différents entre la station amont et les deux autres stations de l'aval, cette différence est marquée par une augmentation des flux de l'amont vers l'aval. Cette augmentation peut être expliquée par les rejets de la STEU de Ginestous.

Ces résultats mettent ainsi en évidence l'impact de l'agglomération toulousaine sur la présence de RM dans la Garonne. L'absence de différence de flux entre les stations « Aval Ginestous » et « Gagnac » signale un impact plus faible des rejets de la STEU de Seilh par rapport à ceux de Ginestous.

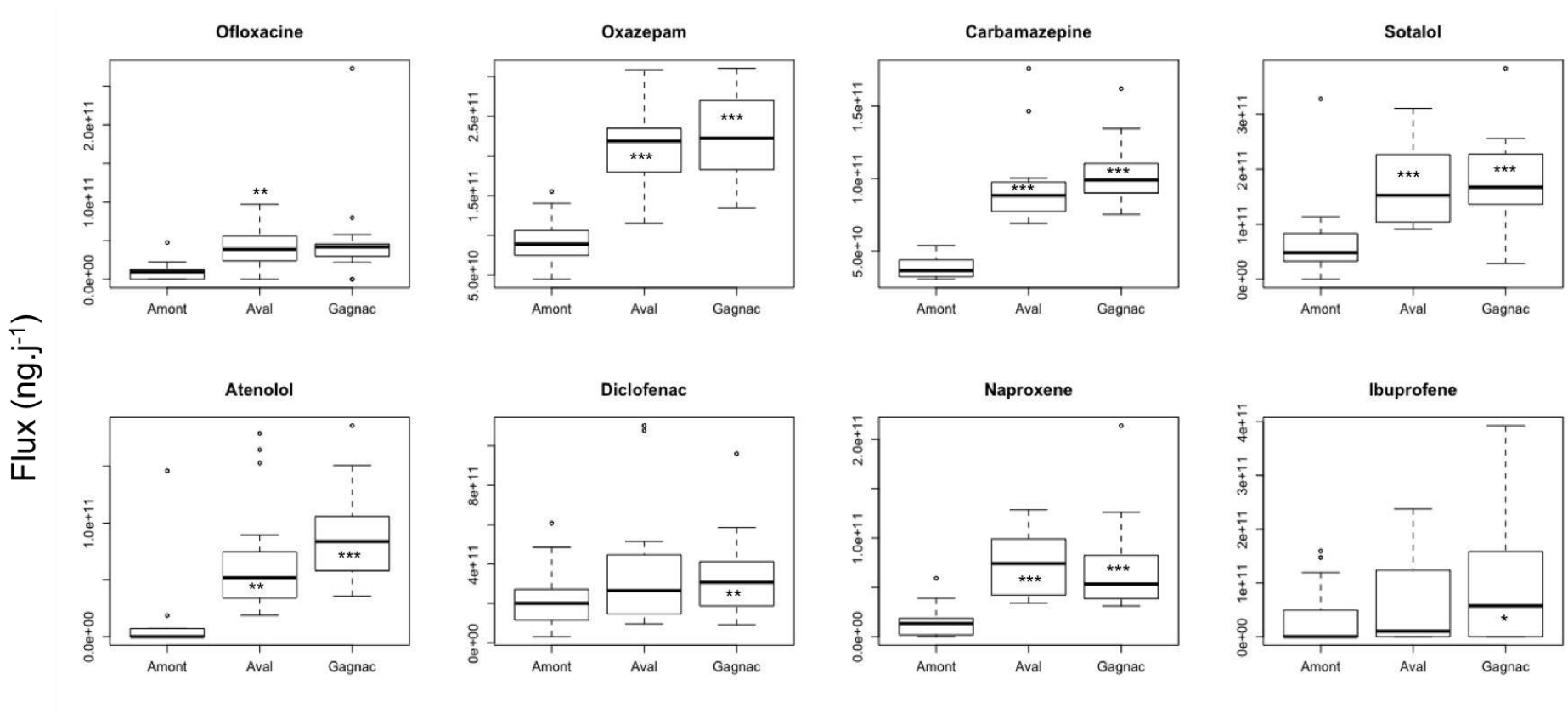


Figure 47. Diagrammes en boîte des flux (ng.j^{-1}) des RM présentant des différences de flux significatives entre les stations Amont-Aval et Amont-Gagnac en fonction des stations (Amont = « Amont Ginestous » ; Aval = « Aval Ginestous »). La significativité des résultats des test-T est illustrée par des « * ». Significativité : * p-value compris entre 0,005 – 0,01 ; ** p-value < 0,005 ; *** p-value < 0,0005.

2.2 En termes de concentrations

Les résultats de l'ACP généré à partir des concentrations des RM mesurées dans la Garonne sont présentés dans la figure 48. Les composantes 1 (axe horizontal) et 2 (axe vertical) de l'ACP expliquent respectivement 39% et 14% de la variance des concentrations, ce qui est élevé.

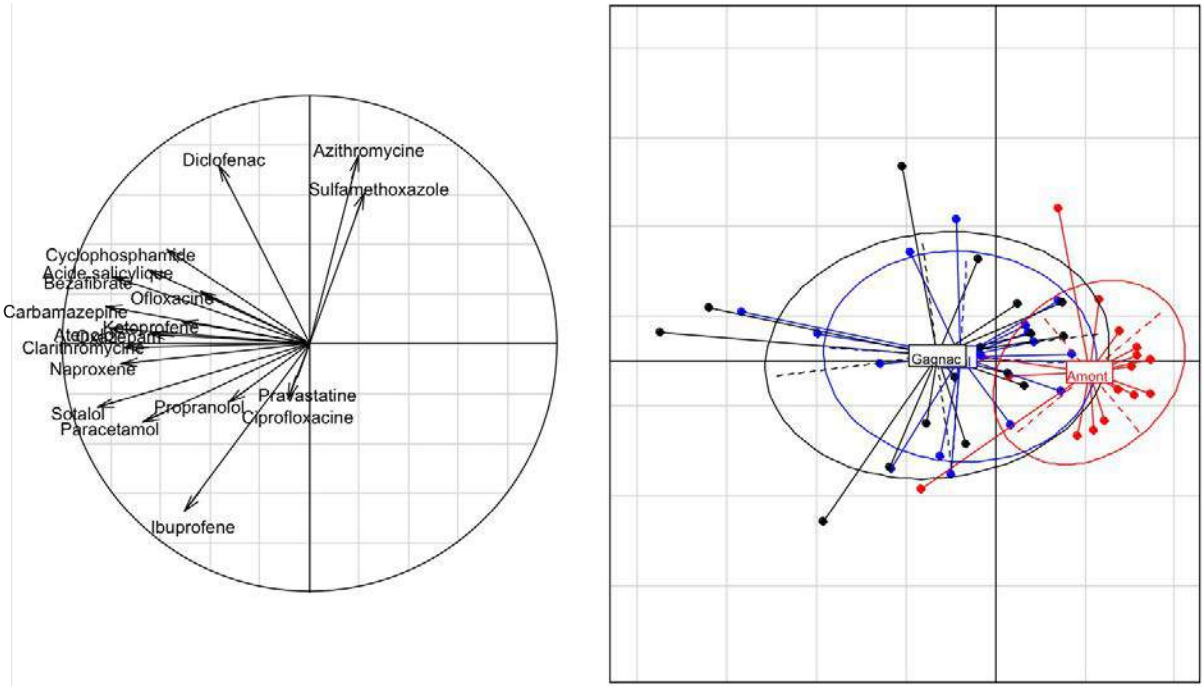


Figure 48. Résultat de l'analyse en composantes principales (ACP) généré à partir des concentrations de RM. La projection sur les deux principaux axes est affichée : à gauche les RM détectés, à droite les stations de prélèvements (bleu = « Aval Ginestous », noir = « Gagnac » et rouge = « Amont Ginestous »).

En terme de concentrations, le cocktail de molécule représenté par la composante 1 est, graphiquement, différent entre la station « Amont Ginestous » et les deux autres situées en aval des rejets. Selon le test de Friedman, le test post-hoc de Nemenyi, cette différence est significative entre la station localisée en amont des rejets de Ginestous et les deux autres stations situées en aval des rejets. Pour confirmer les résultats, des ANOVA ont été réalisées à partir des concentrations des molécules ayant été détectées au moins une fois. Les résultats de ces ANOVA ont montré des différences de variance significatives (p-value inférieure à 0,05) entre les différentes stations de prélèvements sur la Garonne pour 14 RM sur les 20 ayant fait l'objet de ces analyses. Ces molécules sont identiques à celles mises en évidence pour l'étude des flux, c'est-à-dire l'Estrone, l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole, l'Ofloxacine, le Cyclophosphamide, l'Oxazépam, le Bézafibrate, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac, le Naproxène, l'Ibuprofène et l'Acide salicylique. Les résultats des tests de Student pour ces molécules sont présentés dans le tableau XXXI.

Tableau XXXI. Valeurs de la probabilité (p-value) de l'hypothèse nulle (H0) : les concentrations de RM sont identiques entre deux stations testées avec le test de Student.
Significativité : * p-value compris entre 0,005 – 0,01 ; ** p-value < 0,005 ; *** p-value < 0,0005.

	Molécules	Amont Ginestous vs Aval Ginestous	Amont Ginestous vs Gagnac
AINS	**Acide salicylique**	*0,28*	*9,4e-04***
	Diclofénac	*0,006**	*2,3e-04****
	Ibuprofène	*7,2e-03**	*0,03*
	Kétoprofène	*0,93*	*0,39*
	Naproxène	*4,4e-07****	*4,2e-06****
Analgésiques	**Paracétamol**	*0,04*	*0,05*
Antibiotiques	**Azithromycine**	*0,008**	*0,02*
	Clarithromycine	*0,18*	*0,06*
	Ciprofloxacine	*0,06*	*6,90e-03*
	Ofloxacine	*2,1e-03***	*2,0e-04****
	Sulfaméthoxazole	*0,06*	*0,02*
Anti-cancéreux	**Cyclophosphamide**	*9,4e-03**	*4,8e-04****
Anti-épileptiques	**Carbamazépine**	*5,8e-05****	*2,6e-06****
Benzodiazépines	**Oxazépam**	*2,2e-05****	*4,8e-06****
Cardiovasculaires	**Sotalol**	*2,4e-04***	*4,1e-04***
	Aténolol	*2,3e-03***	*4,5e-05****
	Propranolol	*0,65*	*0,62*
Hormones sexuelles	**Estrone**	*0,08*	*0,01*
Hypolipémiants	**Bézafibrate**	*8,1e-03**	*0,02*
	Pravastatine	*0,08*	*0,33*

Les différences de concentrations significatives entre les stations « Amont Ginestous » et « Aval Ginestous » mises en évidence par ce T-test concernent l'Azithromycine, l'Ofloxacine, le Cyclophosphamide, l'Oxazépam, le Bézafibrate, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac, le Naproxène et l'Ibuprofène. Les comparaisons « Amont Ginestous » et « Gagnac », montrent des différences significatives pour l'Ofloxacine, le Cyclophosphamide, l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac, le Naproxène et l'Acide salicylique. La figure 49 présente les diagrammes en boîte des concentrations de ces molécules en fonction des stations. Les diagrammes en boîte de toutes les autres molécules sont présentées en annexe 15. Excepté pour l'Azithromycine, pour tous les RM présentant des concentrations significativement différentes entre la station amont et les deux autres stations de l'aval, cette différence est marquée par une augmentation des concentrations de l'amont vers l'aval. Cette augmentation est expliquée, comme pour les flux, par les rejets de l'agglomération toulousaine principalement via la STEU de Ginestous.

Toutes les données issues des tableaux XXIX, XXX et XXXI, des figures 47 et 49 et des

annexes 14 e t 15 mettent en évidence trois groupes de molécules en fonction de leur détection dans les différentes stations de prélèvements situées dans le milieu naturel. Le premier groupe de molécules est constitué des RM jamais détectés dans le milieu naturel quelle que soient les stations de prélèvements. Il s'agit des hormones sexuelles E2 et EE2, des antibiotiques Erythromycine et Fluméquine, et de l'anxiolytique Lorazépam. Le deuxième groupe de molécule est constitué des RM uniquement mesurés en aval des rejets de l'agglomération toulousaine, c'est-à-dire en aval des rejets de Ginestous et à Gagnac. Ces molécules sont l'antibiotique Ciprofloxacine, l'hypolipémiant Pravastatine et l'anticancéreux Cyclophosphamide. Le troisième groupe est constitué de toutes les autres molécules qui ont été détectées au moins une fois à toutes les stations de la Garonne (amont et aval de Ginestous ainsi que Gagnac). Ce sont donc des molécules omniprésentes dans le tronçon du fleuve étudié.

En fonction des données utilisées, flux ou concentrations, les molécules présentant des différences entre les stations amont et aval sont différentes. Huit molécules présentent des flux significativement plus élevés entre les stations «Amont Ginestous » et « Aval Ginestous » et/ou « Amont Ginestous » et « Gagnac » (Ofloxacine, Oxazépam, Carbamazépine, Sotalol, Aténolol, Naproxène, Diclofénac, Ibuprofène). Douze molécules, incluant les huit précédentes et l'Azithromycine, le Cyclophosphamide, le Bézafibrate et l'Acide salicylique, présentent des concentrations significativement plus élevées entre les stations «Amont Ginestous » et « Aval Ginestous » et/ou « Amont Ginestous » et « Gagnac ». Le paragraphe suivant présente la variabilité temporelle des concentrations des RM dans le fleuve.

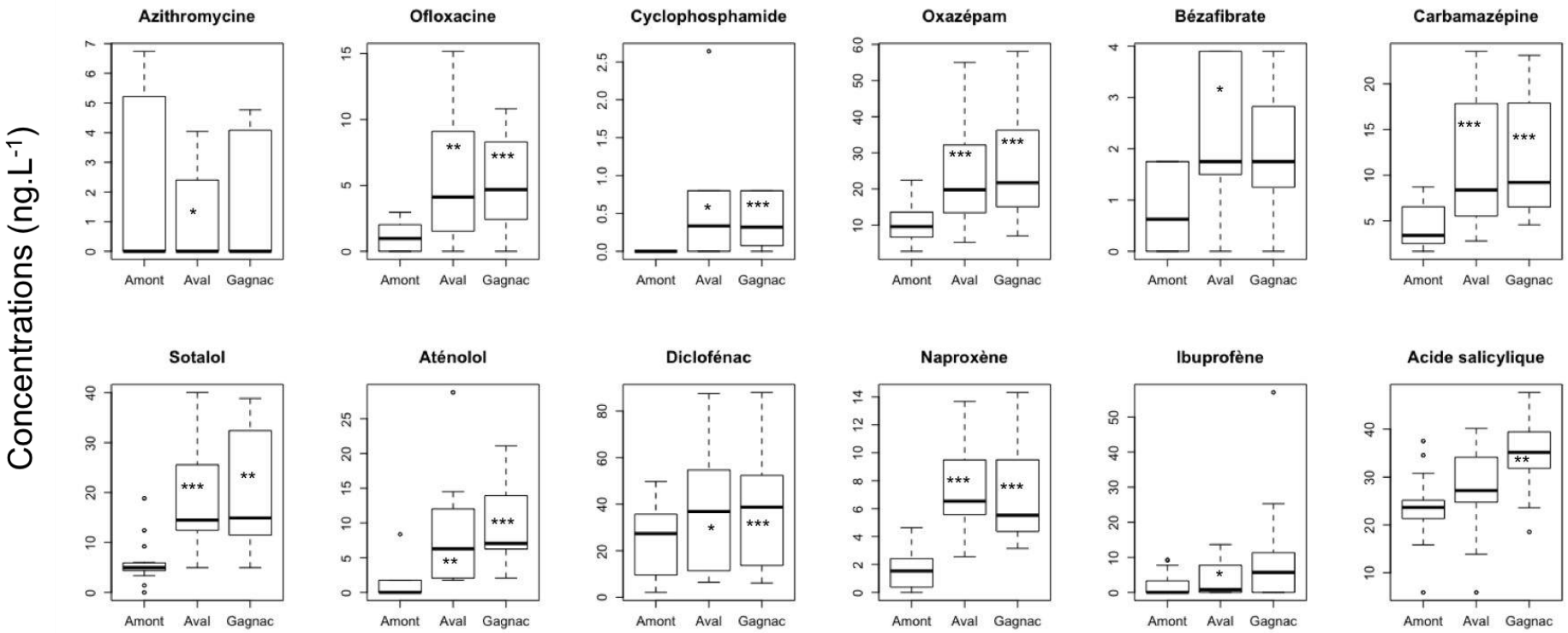


Figure 49. Diagrammes en boîte des concentrations (ng.l^{-1}) des RM présentant des différences de concentrations significatives, entre les stations amont-aval et amont-Gagnac, en fonction des stations (Amont = « Amont Ginestous » ; Aval = « Aval Ginestous »). La significativité des résultats des test-T est illustrée par des « * ».
Significativité : * p-value compris entre 0,005 – 0,01 ; ** p-value < 0,005 ; *** p-value < 0,0005.

3. Variabilité temporelle

Pour étudier la variabilité des concentrations dans la Garonne en fonction du temps, des analyses de variance à un facteur ont été effectuées sur l'ensemble des analyses effectuées sur les prélèvements réalisés de juin 2015 à avril 2017 et sur les trois stations situées sur la Garonne « Amont Ginestous », « Aval Ginestous » et « Gagnac ». Les résultats de ces ANOVA ont montré des différences significatives (p-value inférieure à 0,05) entre les différentes dates de prélèvement pour 11 RM sur les 20 intégrés dans cette analyse statistique. Ces molécules sont l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole, l'Ofloxacine, l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac, le Kétoprofène, le Naproxène et le Paracétamol. Parmi ces molécules, certaines ont également des concentrations variables en fonction des stations. Il s'agit de l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole, l'Ofloxacine, l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac et le Naproxène. Pour ces molécules, la figure 50 présente une évolution de leurs concentrations en fonction des dates et des stations de prélèvements. Excepté pour l'Azithromycine, cette figure illustre bien la différence entre les stations situées à l'aval des rejets de Ginestous et celle située en amont où les concentrations sont presque toujours inférieures. Les concentrations évoluent globalement de la même manière en fonction du temps entre les stations « Aval Ginestous » et « Gagnac » avec des pics quelques fois plus importants à la station « Aval Ginestous ». Pour illustrer le cas d'une variabilité des concentrations significative entre les dates de prélèvements (effet date) un graphe similaire est présenté dans la figure 51. La variabilité temporelle peut notamment être due à la fluctiation des quantités de RM entrant dans le milieu et à la fluctuation du débit de la Garonne. Pour étudier l'impact du débit, un test de corrélation a été réalisé. Le test de corrélation a été réalisé sur tous RM présentant des variances de concentrations significativement différentes en fonction du temps soit l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole, l'Ofloxacine, l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac, le Kétoprofène, le Naproxène et le Paracétamol. Les résultats du test sont présentés dans le tableau XXXII. Pour rendre compte de l'impact du débit par rapport aux quantités déversées dans la Garonne par les effluents de Ginestous, le test de corrélation a été réalisé sur les stations situées en aval des rejets de la STEU. Les débits des stations sur la Garonne sont identiques et des différences non significatives entre les concentrations des stations « Aval Ginestous » et « Gagnac » ont été mise en évidence, le test a donc été réalisé uniquement à la station « Aval Ginestous ».

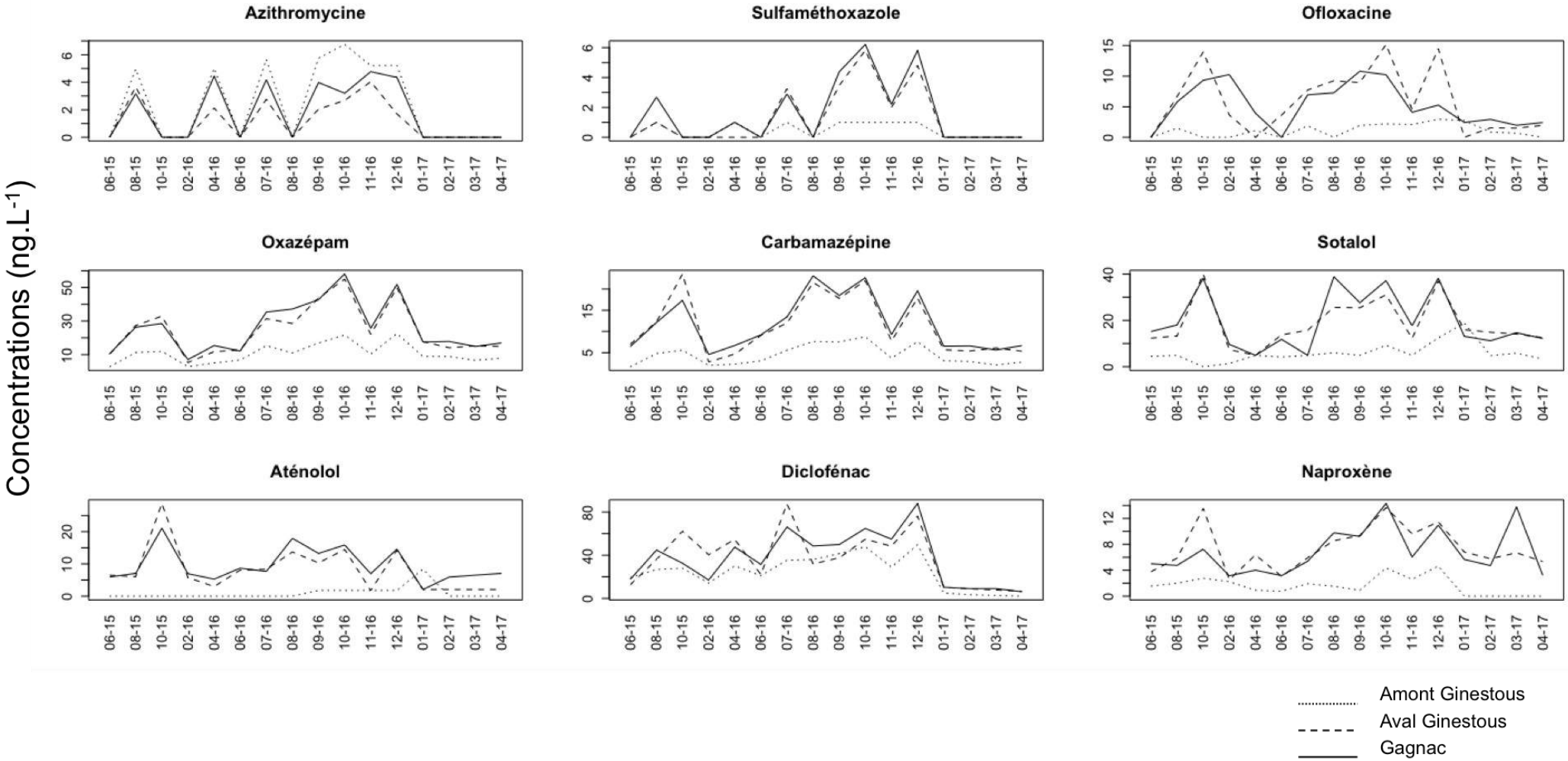


Figure 50. Évolution des concentrations de RM en fonction des campagnes et des stations de prélèvements, uniquement pour les RM présentant des variations significatives en fonction du temps et de l'espace. Les CV liés aux méthodologies analytiques sont présentés dans le tableau 151.

Effet date

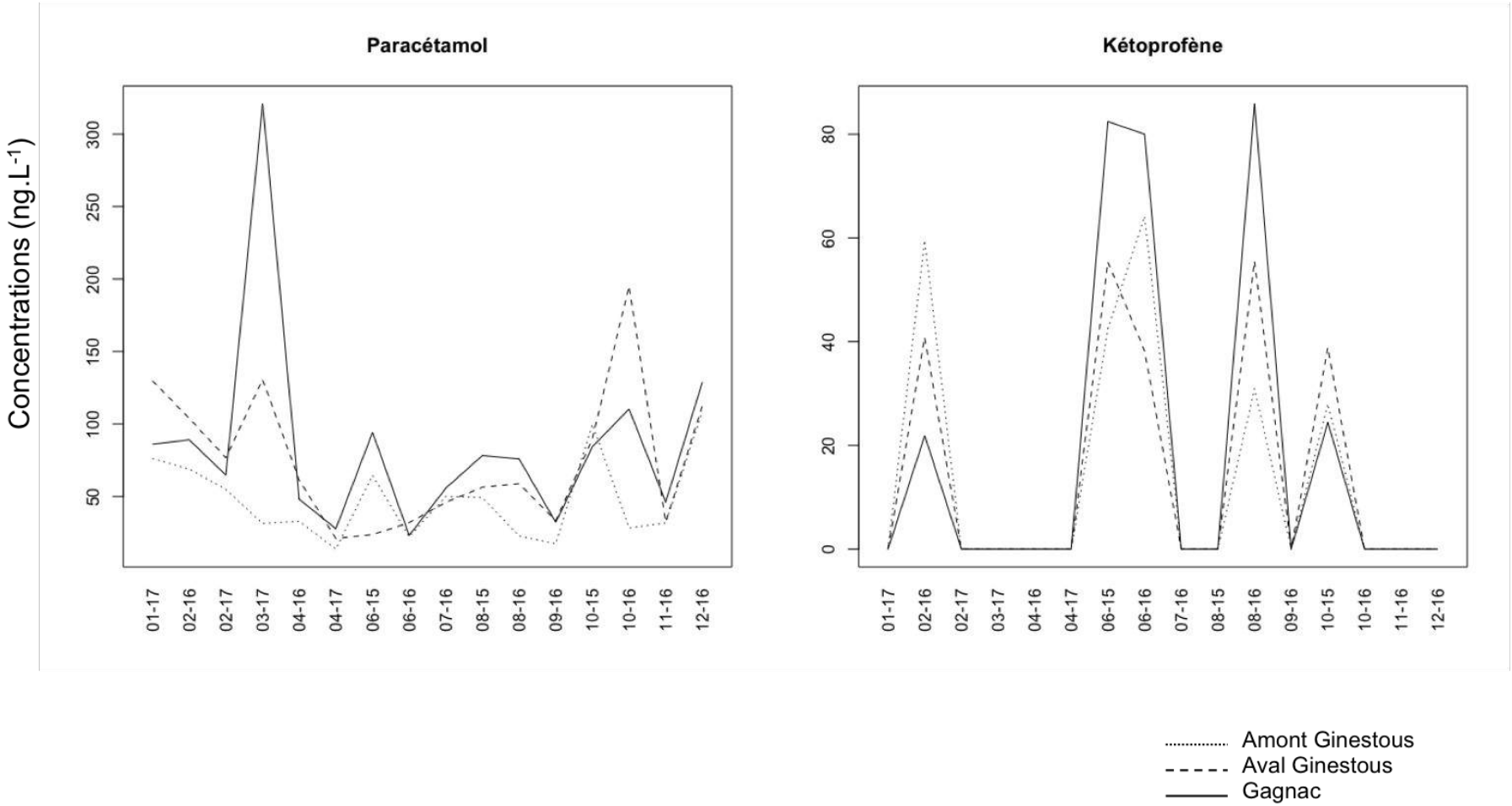


Figure 51. Effet date sur les concentrations de RM mesurées dans la Garonne.

Tableau XXXII. Résultats du test de corrélation à la station « Aval Ginestous ». Variable dépendante = concentrations ; variable indépendante = débit ; coefficient de corrélation = R^2.

		R^2
AINS	**Diclofénac**	-0,62
	Kétoprofène	0,14
	Naproxène	-0,38
Analgésiques	**Paracétamol**	0,02
Antibiotiques	**Azithromycine**	-0,42
	Sulfaméthoxazole	-0,55
	Ofloxacine	-0,51
Anti-épileptiques	**Carbamazépine**	-0,72
Benzodiazépines	**Oxazépam**	-0,72
Cardiovasculaires	**Sotalol**	-0,41
	Aténolol	-0,36

Le coefficient de corrélation R^2 indique la part expliquée de la variable dépendante, les concentrations, par la variable indépendante, le débit. L'obtention des débits est décrite dans le chapitre 3 de la partie « Matériels et méthodes ». Pour la plupart des molécules, les relations entre la concentration et le débit sont négatives, l'augmentation du débit entrainant une dilution des rejets. Les R^2 sont relativement élevés puisqu'au minimum égal à 36% pour l'Aténolol et 72% pour la Carbamazépine et l'Oxazépam. Pour ces molécules, le débit a donc un rôle relativement important sur l'évolution de leur concentration dans la Garonne. En revanche, et de manière plus surprenante, le débit ne semble pas jouer de rôle majeur sur les concentrations de certains RM tels que le Kétoprofène et le Paracétamol (R^2 très faible). Si le débit ne joue pas un rôle majeur pour certains RM, d'autres facteurs peuvent rentrer en jeu (température, biodiversité bactérienne, rayonnements ultra-violets, …) dans l'évaluation des concentrations de RM dans la Garonne, ce point est exposé dans la partie « Discussion » du manuscrit.

Le paragraphe suivant s'intéresse à la comparaison des concentrations environnementales prédites (PEC), calculées à partir des concentrations mesurées dans les effluents de la STEU Ginestous, et les MEC mesurées à la station « Aval Ginestous ». Cette comparaison met en évidence les processus biotiques et abiotiques responsables de la régulation de ces contaminants rejetés dans le fleuve.

4. Comparaison des PEC et des MEC

Pour les molécules ayant été détectées à la sortie de Ginestous, des PEC ont été calculées. Pour tous les RM détectés dans la STEU de Ginestous ou dans la Garonne (E2, EE2 et Érythromycine exclus) des ANOVA ont été réalisées pour comparer les valeurs de PEC obtenues avec les MEC mesurées à la station « Aval Ginestous ». Les résultats ont montré des différences significatives pour 10 RM sur les 23 ayant fait l'objet de cette analyse. Ces molécules sont l'Acide salicylique, Ciprofloxacine, Clarithromycine, Diclofénac, Estrone, Fluméquine, Lorazépam, Paracétamol, Pravastatine et Ranitidine. La figure 52 présente les diagrammes en boîte des MEC et des PEC pour chacune de ces molécules. Les diagrammes en boîte de toutes les autres molécules sont présentées en annexe 16. La figure 52 permet d'identifier deux groupes de RM.

- Le premier groupe est constitué des molécules pour lesquelles les MEC sont supérieures aux PEC. C'est le cas de l'Acide salicylique, la Clarithromycine, le Diclofénac, l'Estrone et le Paracétamol. Dans le cadre de l'étude réalisée à Toulouse de 2011 à 2013 (Destrieux, annexe 17), une comparaison entre les PEC et les MEC a été effectuée. Les résultats ont également montré des MEC supérieures aux PEC pour la Clarithromycine. Toutes ces molécules ont été mesurées au niveau de la station de prélèvements située sur la Garonne en amont des rejets de Ginestous, avec des pourcentages d'occurrence au moins égaux à 94% pour la Clarithromycine (tableau XXIX). Ainsi, plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces différences entre les PEC et les MEC de ces molécules : 1/ leur présence déjà en amont du bassin versant ; et/ou 2/ leur rémanence dans le cours d'eau.
- Le second groupe est constitué des molécules pour lesquelles les MEC sont inférieures aux PEC. C'est le cas de la Ciprofloxacine, la Fluméquine, le Lorazépam, la Pravastatine et la Ranitidine. Dans le cadre de l'étude réalisée à Toulouse de 2011 à 2013, la Ciprofloxacine présentait également des MEC inférieures aux PEC. Les pourcentages d'occurrence de ces molécules au niveau de la station de prélèvements située sur la Garonne en amont des rejets de Ginestous sont égaux à 0% (tableau XXIX). Ces différences peuvent être expliquées par leur haut potentiel de dégradation de ces RM dans le cours d'eau.

Les autres RM ne présentent pas de différences significatives entre les PEC et les MEC. Il s'agit de l'Aténolol, Azithromycine, Bézafibrate, Carbamazépine, Cyclophosphamide, Ibuprofène, Kétoprofène, Naproxène, Ofloxacine, Oxazépam, Propranolol, Sotalol et Sulfaméthoxazole.

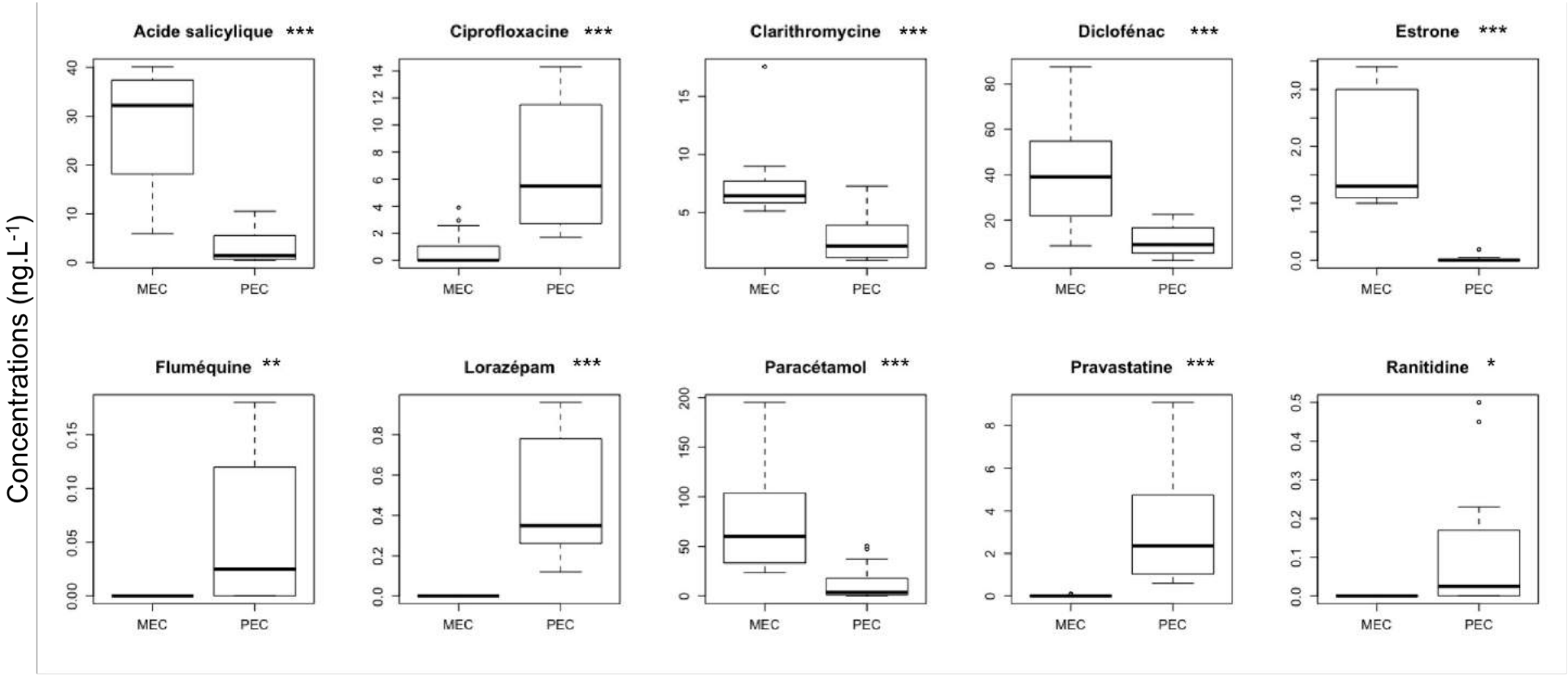


Figure 52. Diagrammes en boîte des concentrations (ng.L^{-1}) des RM présentant des différences entre MEC et PEC significatives. La significativité des résultats des test-T est illustrée par des « * ». Significativité : * p-value compris entre 0,025 – 0,05 ; ** p-value < 0,025 ; *** p-value < 0,0025.

Dans ce chapitre, les rendements d'élimination des RM de la phase dissoute des STEU ont été présentés. Les résultats ont montré des rendements globalement similaires entre les deux STEU étudiées. Cependant, les antibiotiques ont montré des rendements d'élimination STEU dépendants. L'exemple le plus flagrant est celui de la Fluméquine, qui présente des rendements supérieurs à 70% à la STEU de Seilh et inférieurs à 30% à celle de Ginestous. Au contraire, les AINS (excepté le Diclofénac) et le Paracétamol sont des molécules présentant des rendements d'élimination stables quelle que soit la STEU considérée. Pour ces molécules, les taux d'élimination de la phase dissoute sont très bons puisqu'au moins égaux à 90%. Les flux de RM provenant du Touch sont négligeables par rapport à ceux de la Garonne. Certaines molécules présentent des pourcentages d'occurrence égaux à 100% en STEU et dans le milieu naturel, au niveau des stations situées en aval des rejets de la ville de Toulouse. Ces molécules ont donc été détectées à toutes les dates de prélèvements, il s'agit de la Clarithromycine, le Sotalol, l'Aténolol, la Propranolol et le Naproxène. D'autres RM sont mesurés dans 100% des cas dans la Garonne, quelle que soit la station considérée (amont ou aval des rejets). Il s'agit de l'Estrone, l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Diclofénac, le Paracétamol et l'Acide salicylique. Le Cyclophosphamide présente des concentrations significativement plus élevées en aval des rejets de l'agglomération par rapport à la station située en amont et est détecté uniquement en aval de Toulouse. Les rejets de la ville seraient donc responsables de la présence de Cyclophosphamide dans la Garonne. De même pour la Pravastatine et la Ciprofloxacine, bien qu'elles ne soient pas systématiquement détectées à l'aval des rejets. Pour ces deux molécules, l'impact de l'agglomération toulousaine est aussi démontré. Les autres molécules ne sont soit jamais détectées dans la Garonne (E2, EE2, Érythromycine, Fluméquine, Ranitidine et Lorazépam), soit omniprésentes le long du tronçon étudié (Ibuprofène, Kétoprofène, Naproxène, Propranolol, Sotalol, Aténolol, Azithromycine, Clarithromycine, Sulfaméthoxazole, Ofloxacine et Bézafibrate). Les différences entre les stations sont plus ou moins marquées en fonction des données utilisées (flux ou concentrations). Dans tous les cas, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les stations « Aval Ginestous » et « Gagnac ». Huit molécules présentent des flux et des concentrations significativement plus élevés aux stations situées à l'aval de Ginestous par rapport à la station amont (Ofloxacine, Oxazépam, Carbamazépine, Sotalol, Aténolol, Naproxène, Diclofénac, Ibuprofène) et constituent donc la signature toulousaine. Dans ce chapitre, la variabilité temporelle des concentrations a également été présentée. Cette variabilité dépend notamment du débit des cours d'eau. Ainsi l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole, l'Ofloxacine, l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac et le Naproxène présentent des corrélations négatives entre leurs concentrations et le débit de la Garonne, ce qui est caractéristique d'un effet de

dilution. Enfin, la comparaison des PEC et des MEC a mis en évidence :

- *une atténuation des concentrations des RM rejetés dans le fleuve par la STEU de Ginestous (MEC inférieures aux PEC). C'est le cas de la Ciprofloxacine, la Fluméquine, le Lorazépam, la Pravastatine et la Ranitidine ;*
- *une persistance de certains RM dans le fleuve (MEC supérieures aux PEC). C'est le cas de l'Acide salicylique, la Clarithromycine, le Diclofénac, l'Estrone et le Paracétamol ;*
- *une bonne prédiction des concentrations environnementales via les effluents de la STEU de Ginestous (MEC égales aux PEC). C'est le cas de l'Aténolol, l'Azithromycine, le Bézafibrate, la Carbamazépine, le Cyclophosphamide, l'Ibuprofène, le Kétoprofène, le Naproxène, l'Ofloxacine, l'Oxazépam, le Propranolol, le Sotalol et le Sulfaméthoxazole.*

Ainsi, le choix d'utiliser les PEC pour l'ERE peut générer, selon les molécules, une sur- ou une sous-estimation des risques écotoxicologiques. Dans le prochain chapitre, la caractérisation des risques écotoxicologiques associés à la présence de RM dans la Garonne est traitée. Pour cette ERE, ce sont donc les MEC qui ont été utilisées.

Chapitre 3. Caractérisation des risques écotoxicologiques

Ce chapitre présente les risques écotoxicologiques liés à la présence de RM dans les eaux de la Garonne toulousaine.

Il expose les gammes de risque en fonction des molécules et permet de caractériser les molécules les plus problématiques pour la Garonne à Toulouse. La variabilité spatiale de ces risques est étudiée en évaluant ces derniers en amont des rejets de l'agglomération (« Amont Ginestous ») et en aval de ces mêmes rejets à partir de la moyenne des concentrations des stations « Aval Ginestous » et « Gagnac ». Une fois les molécules à risque identifiées, la variabilité temporelle des concentrations de ces dernières, et donc des risques associés, est étudiée.

1. Sélection des données de danger et exposition

Pour l'évaluation des risques présentée ci-dessous, les PNEC calculées ont été intégrées aux PNEC récoltées dans la littérature scientifique et référencées dans la BDD. Les plus petites PNEC ont été utilisées pour cette ERE. La commande SQL qui a permis d'accéder aux PNEC minimales de chaque RM est présentée ci-dessous.

```
select min (pnec)
from "pnecvalue"
where "nommolecule"='17 alpha-éthinylestradiol'
```

Toutes ces valeurs de PNEC sont regroupées dans le tableau XXXIII. Sur les 26 RM étudiés, seul le Sotalol ne possède aucune donnée de PNEC. Cette molécule n'a donc pas pu faire l'objet d'une évaluation de son risque écotoxicologique.

Tableau XXXIII. PNEC minimales, médianes, maximales des molécules recherchées dans les eaux usées brutes et traitées et dans le milieu naturel.

		PNEC min ($ng.L^{-1}$)
AINS	**Acide salicylique**	1280
	Diclofénac	5
	Ibuprofène	0,7
	Kétoprofène	100
	Naproxène	640
Analgésiques	**Paracétamol**	1 000
Antibiotiques	**Azithromycine**	150
	Ciprofloxacine	5
	Clarithromycine	2
	Érythromycine	20
	Fluméquine	1,9
	Ofloxacine	1
	Sulfaméthoxazole	26,8
	Ofloxacine	1
Anticancéreux	**Cyclophosphamide**	740
Anti-épileptiques	**Carbamazépine**	0,3
Anti-ulcéreux	**Ranitidine**	1.10^{4}
Anxiolytiques	**Lorazépam**	94
	Oxazépam	481
Cardiovasculaires	**Sotalol**	n. d.
	Aténolol	$1,0.10^{4}$
	Propranolol	5
Hormones sexuelles	**E2**	0,02
	EE2	3.10^{-4}
	Estrone	0,8
Hypolipémiants	**Bézafibrate**	5 300
	Pravastatine	1 800

Une ERE à partir de PEC qui seraient soit supérieures soit inférieures aux MEC engendrerait une surestimation ou une sous-estimation des risques. L'évaluation des risques écotoxicologiques a donc été faite à partir des MEC. Les tableaux XXXIV et XXXV présentent les MEC minimales, médianes et maximales utilisées pour l'ERE pour la station « Amont Ginestous » et pour les stations situées en aval des rejets de la ville, respectivement. Pour ces dernières, les différences de flux et de concentrations de RM n'étant pas significatives entre les stations « Aval Ginestous » et « Gagnac » (page 208), ce sont les MEC moyennes entre ces deux stations et à chaque date de prélèvements qui ont été utilisées. Pour simplifier la lecture, cette station sera nommée « Moyenne aval Ginestous ». À partir de ces données, les quotients de risque (MEC/PNEC) ont pu être calculés. Les résultats sont présentés dans le paragraphe suivant.

Tableau XXXIV. MEC minimales, médianes et maximales pour les RM mesurés à la station « Amont Ginestous », provenant des résultats des analyses effectuées sur les prélèvements réalisés de juin 2015 à avril 2017.

		MEC min ($ng.L^{-1}$)	MEC médian ($ng.L^{-1}$)	MEC max ($ng.L^{-1}$)
AINS	**Acide salicylique**	5,9	22,3	37,5
	Diclofénac	2,1	26,8	49,7
	Ibuprofène	0	0	9,3
	Kétoprofène	0	0	64,2
	Naproxène	0	1,5	4,6
Analgésiques	**Paracétamol**	13,8	49,3	108,9
Antibiotiques	**Azithromycine**	0	0	6,7
	Ciprofloxacine	0	0	0
	Clarithromycine	0	5,8	6,9
	Érythromycine	0	0	0
	Fluméquine	0	0	0
	Ofloxacine	0	1,1	3
	Sulfaméthoxazole	0	0	1
Anti-cancéreux	**Cyclophosphamide**	0	0	0
Anti-épileptiques	**Carbamazépine**	1,7	3,7	8,7
Anti-ulcéreux	**Ranitidine**	0	0	0
Benzodiazépines	**Lorazépam**	0	0	0
	Oxazépam	2,8	8,9	22,5
Cardiovasculaires	**Aténolol**	0	0	8,4
	Propranolol	0	0,6	35
	Sotalol	0	5	18,8
Hormones sexuelles	**E2**	0	0	0
	EE2	0	0	0
	Estrone	0,4	0,7	0,9
Hypolipémiants	**Bézafibrate**	0	1,3	1,8
	Pravastatine	0	0	0

Tableau XXXV. MEC minimales, médianes et maximales pour les RM mesurés à la station « Moyenne aval Ginestous », provenant des résultats des analyses effectuées sur les prélèvements réalisés de juin 2015 à avril 2017.

		MEC min ($ng.L^{-1}$)	MEC médian ($ng.L^{-1}$)	MEC max ($ng.L^{-1}$)
AINS	**Acide salicylique**	12,2	29,6	43,9
	Diclofénac	6,3	40,3	82,2
	Ibuprofène	0	5,6	28,5
	Kétoprofène	0	0	70,7
	Naproxène	2,9	6	14
Analgésiques	**Paracétamol**	24,4	67,4	225,8
Antibiotiques	**Azithromycine**	0	0	4,4
	Ciprofloxacine	0	0,3	2,5
	Clarithromycine	4,6	6,3	12
	Érythromycine	0	0	0
	Fluméquine	0	0	0
	Ofloxacine	0	5,3	12,7
	Sulfaméthoxazole	0	0	6
Anti-cancéreux	**Cyclophosphamide**	0	0,4	1,4
Anti-épileptiques	**Carbamazépine**	3,7	8,8	22,3
Anti-ulcéreux	**Ranitidine**	0	0	0
Benzodiazépines	**Lorazépam**	0	0	0
	Oxazépam	6,2	20,7	56,6
Cardiovasculaires	**Aténolol**	2,1	6,5	25
	Propranolol	1,9	3,3	10
	Sotalol	5	14,4	39,1
Hormones sexuelles	**E2**	0	0	0
	EE2	0	0	0
	Estrone	1,3	1,8	3,2
Hypolipémiants	**Bézafibrate**	0	1,8	3,9
	Pravastatine	0	0	0,6

1.1 Quotient de risque

Les résultats des quotients de risques (QR) pour les stations amont et aval sont présentés dans les tableaux XXXVI et XXXVII, respectivement. Ces QR ont été calculés pour les RM ayant été détectés au moins une fois dans la Garonne excluant donc l'E2, l'EE2, le Lorazépam, la Ranitidine, l'Erythromycine et la Fluméquine. Pour rappel, un quotient supérieur à 1 signifie que les concentrations mesurées sont supérieures aux seuils de toxicité considérés. Dans ce cas, il existe un risque potentiel pour l'environnement. Globalement, que ce soit en amont ou en aval des rejets de l'agglomération, des risques potentiels. En amont de Ginestous, avec les MEC minimales, un seul RM présente un QR

supérieur à 1, la Carbamazépine, puis les MEC médianes et maximales ajoutent respectivement trois autres RM, la Clarithromycine, le Diclofénac et l'Ofloxacine, et encore trois, l'Estrone, l'Ibuprofène et le Propranolol. En aval de Ginestous, avec les MEC minimales, trois RM présentent un QR supérieur à 1, l'Estrone, la Clarithromycine, et le Diclofénac, puis les MEC médianes et maximales ajoutent respectivement deux autres RM, l'Ibuprofène et l'Ofloxacine, et un seul, la Clarithromycine. Parmi ces molécules à risque, deux sont inscrites sur la liste de vigilance de la DCE, la Clarithromycine et le Diclofénac. La Carbamazépine présente des QR supérieurs à 1 quelle que soit la station ou la date considérée.

Tableau XXXVI. Quotient de risque (MEC/PNEC) pour les MEC minimales, médianes et maximales pour la station « Amont Ginestous ». Rouge = quotients supérieurs à 1 ; orange = quotients proches de 1. Pour les quotients inférieurs à 0,01, des valeurs nulles sont indiquées.

		PNEC min		
		Min	**Médiane**	**Max**
AINS	**Acide salicylique**	0	0,02	0,03
	Diclofénac	0	5,3	9,9
	Ibuprofène	0	0	13,1
	Kétoprofène	0	0	0,6
	Naproxène	0	0	0,01
Analgésiques	**Paracétamol**	0	0,05	0,1
Antibiotiques	**Azithromycine**	0	0	0,04
	Ciprofloxacine	0	0	0
	Clarithromycine	0	2,9	3,4
	Ofloxacine	0	1,1	3
	Sulfaméthoxazole	0	0	0,04
Anti-cancéreux	**Cyclophosphamide**	0	0	0
Anti-épileptiques	**Carbamazépine**	5,7	12,4	29
Benzodiazépines	**Oxazépam**	0	0,02	0,05
Cardiovasculaires	**Aténolol**	0	0	0
	Propranolol	0	0,1	7
	Sotalol	/	/	/
Hormones sexuelles	**Estrone**	0	0,9	1,1
Hypolipémiants	**Bézafibrate**	0	0	0
	Pravastatine	0	0	0

Tableau XXXVII. Quotient de risque (MEC/PNEC) pour les MEC minimales, médianes et maximales pour la station « Moyenne aval Ginestous ». Rouge = quotients supérieurs à 1. Pour les quotients inférieurs à 0,01, des valeurs nulles sont indiquées.

		PNEC min		
		Min	Médiane	Max
AINS	Acide salicylique	0	0,02	0,03
	Diclofénac	1	8	16
	Ibuprofène	0	8	40
	Kétoprofène	0	0	0,7
	Naproxène	0	0,01	0,02
Analgésiques	Paracétamol	0,02	0,07	0,2
ANtibiotiques	Azithromycine	0	0	0,03
	Ciprofloxacine	0	0,05	0,5
	Clarithromycine	2	3	6
	Ofloxacine	0	5	13
	Sulfaméthoxazole	0	0	0,2
Anti-cancéreux	Cyclophosphamide	0	0	0
Anti-épileptiques	Carbamazépine	12	30	74
Benzodiazépines	Oxazépam	0,01	0,04	0,1
Cardiovasculaires	Aténolol	0	0	0
	Propranolol	0,4	0,7	2
	Sotalol	/	/	/
Hormones sexuelles	Estrone	1	2	4
Hypolipémiants	Bézafibrate	0	0	0
	Pravastatine	0	0	0

Ces molécules peuvent donc être déclarées à risque pour la Garonne lorsque ces dernières sont présentes dans la Garonne. Sur les 26 RM analysés, sept présentent des risques potentiels pour la Garonne toulousaine soit 27% des molécules étudiées. Ces résultats montrent également que même s'il existe des risques potentiels avec les concentrations de RM mesurées en amont des rejets de la ville de Toulouse, les risques en aval calculés à partir des MEC minimales concernent un plus grand nombre de molécules. Les QR calculés à partir des MEC de la station « Moyenne aval Ginestous », sont présentés sous forme de diagramme en boîtes dans les figures 54 et 54bis. Ce type de représentation graphique permet de visualiser l'effet de la variation temporelle des concentrations sur la mesure du risque.

La comparaison des concentrations mesurées dans la Garonne et de l'ensemble des PNEC disponibles dans la BDD est faite dans le paragraphe suivant. Cette comparaison permet d'avoir une vision des risques écotoxicologiques sur l'ensemble des groupes taxonomiques utilisés pour la définition des PNEC.

2. Caractérisation du risque global

Pour les molécules potentiellement dangereuses pour la Garonne toulousaine identifiées précédemment, les MEC minimales, médianes et maximales de la station « Moyenne aval Ginestous » ont été superposées aux PNEC disponibles dans la BDD (figure 53). Cette figure montre clairement que les gammes de concentrations mesurées sont plus ou moins grandes en fonction des molécules. L'Estrone présente la gamme la moins étendue avec une MEC minimale égale à 1,3 ng.L^{-1} et une MEC maximale égale à 3,2 ng.L^{-1} et l'Ofloxacine la plus large allant de 0 ng.L^{-1} à 12,7 ng.L^{-1}. Ces variations de concentrations environnementales engendrent des variations dans les risques écotoxicologiques.

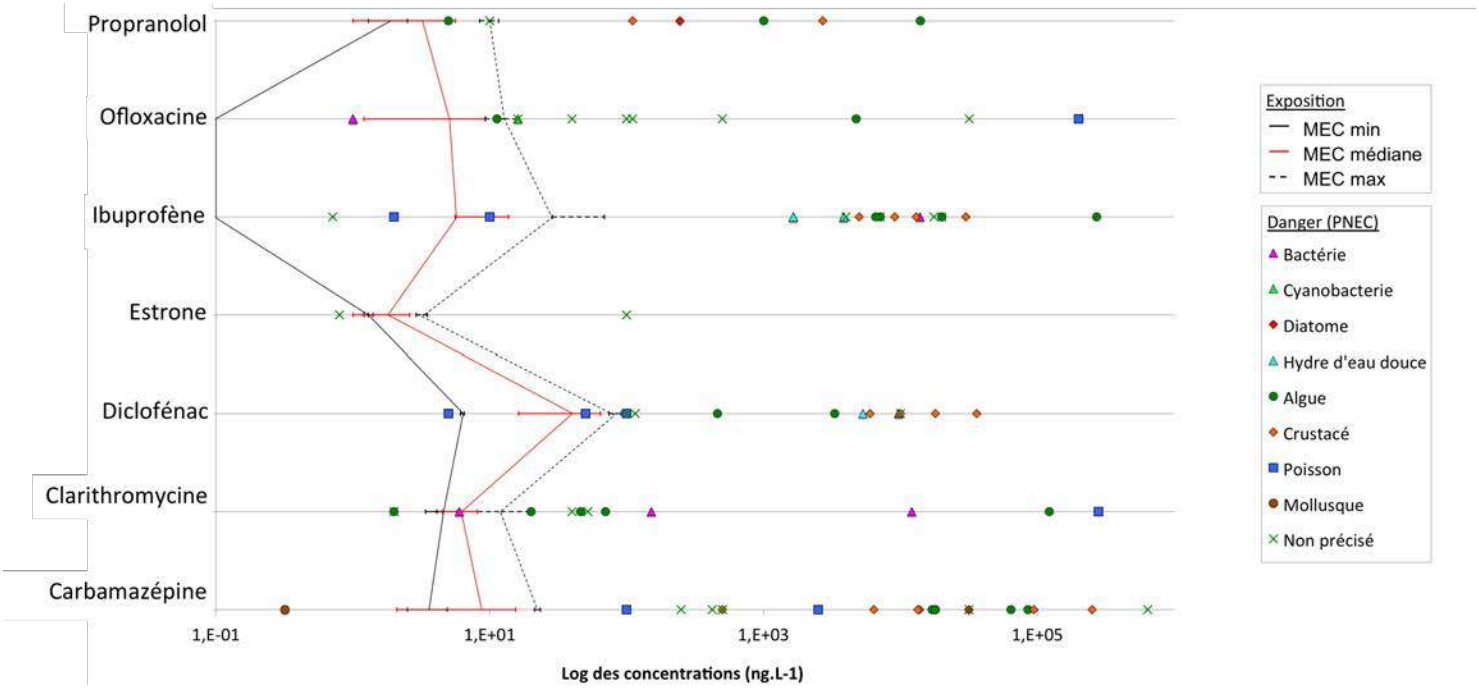


Figure 53. Gammes des MEC de la station « Moyenne aval Ginestous » des RM potentiellement dangereux pour la Garonne et de toutes les valeurs de PNEC disponibles dans la BDD avec distinction de l'organisme utilisé. Les croix vertes indiquent les PNEC pour lesquelles aucun organisme est précisé dans les références d'où proviennent les valeurs ou obtenues par la méthode SSD.

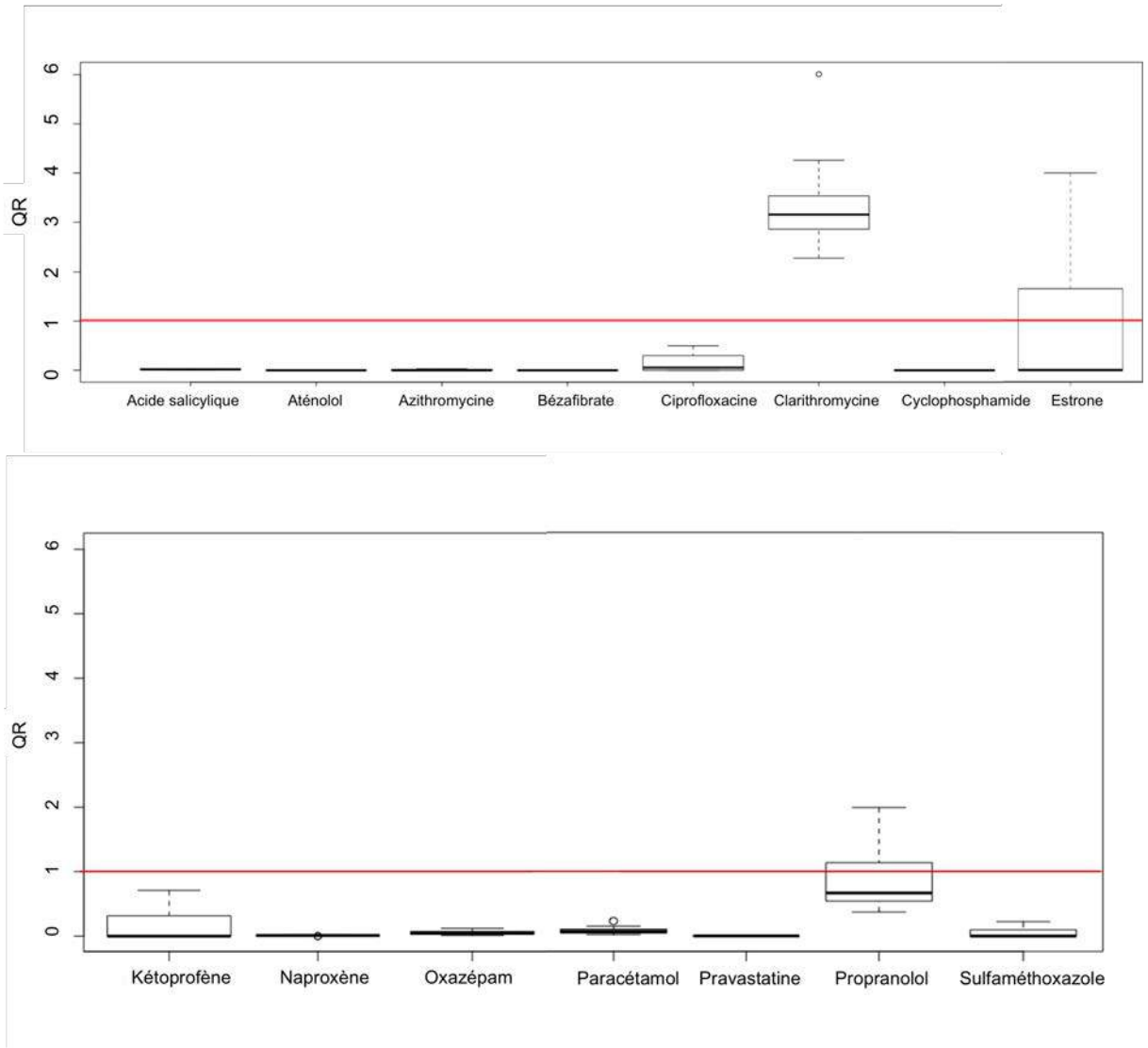


Figure 54. Diagrammes en boîte des quotients de risque des RM étudiés. Le trait rouge correspond à un QR égal à 1 et au-dessus duquel un risque potentiel pour la Garonne toulousaine existe.

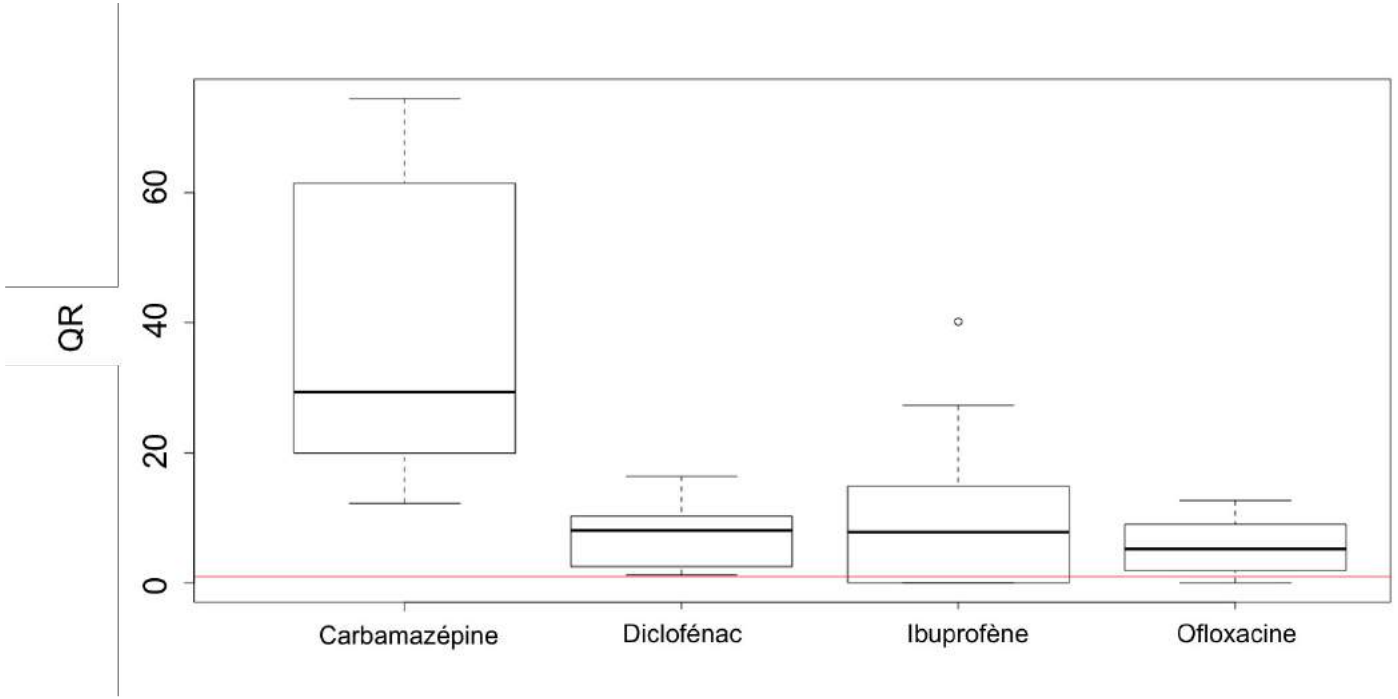


Figure 51bis. Diagrammes en boîte des quotients de risque des RM étudiés. Le trait rouge correspond à un QR égal à 1 et au-dessus duquel un risque potentiel pour la Garonne toulousaine existe.

Ainsi, en fonction des molécules et des concentrations, plus ou moins de groupes taxonomiques peuvent être impactés par la présence de RM dans le milieu (figure 53). Pendant les pics de concentrations, la figure 53 indique que l'Ofloxacine affecterait les bactéries et les algues et le Diclofénac probablement différentes espèces de poissons. Pour la Carbamazépine, la figure 53 informe que quelle que soient les concentrations mesurées durant cette étude, seuls les mollusques seraient affectés par la présence de cette molécule dans la Garonne toulousaine. Quelle est la fréquence de dépassement des seuils de toxicité (PNEC) ? La réponse à cette question est donnée dans le paragraphe suivant qui traite de la variabilité temporelle des concentrations de ces sept RM.

3. Variabilité temporelle des risques écotoxicologiques

La figure 55 présente l'évolution du nombre de molécules à risque pour la Garonne toulousaine, parmi celle recherchées dans le cadre de cette étude, en fonction des mois de prélèvements des années 2015, 2016 et 2017. Entre les différentes années de prélèvements, le mois d'août présente la plus grande amplitude du nombre de molécules à risque dans la Garonne.

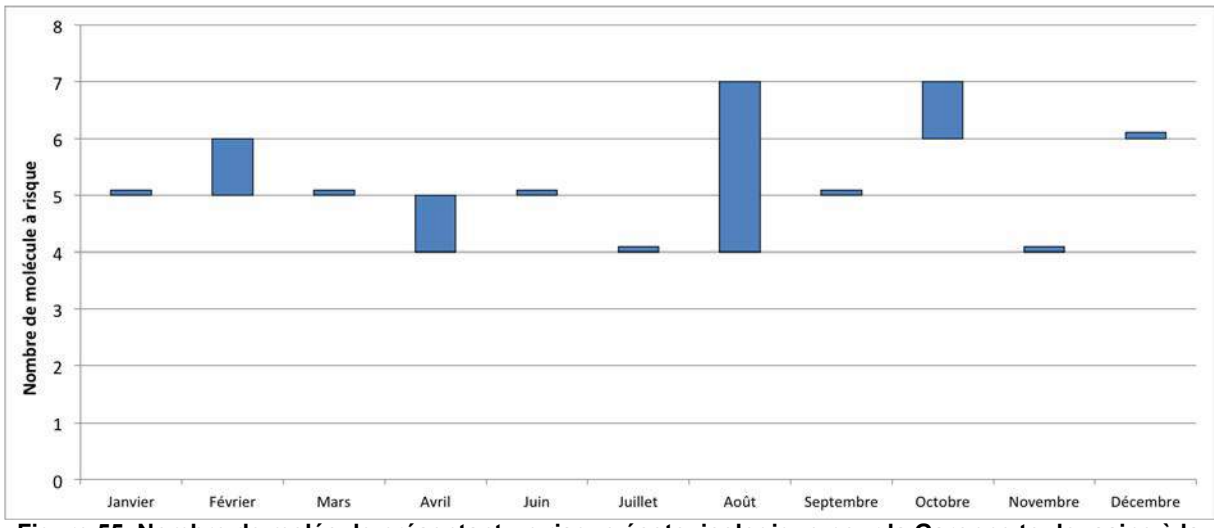


Figure 55. Nombre de molécule présentant un risque écotoxicologique pour la Garonne toulousaine à la station « Moyenne aval Ginestous » des mois.

Dans le chapitre précédent, la variation temporelle des concentrations de certains RM dans la Garonne a été mise en évidence. Parmi les molécules présentant un risque écotoxicologique pour la Garonne seuls l'Ofloxacine, la Carbamazépine et le Diclofénac ont des concentrations significativement différentes en fonction du temps. La figure 56 illustre l'évolution temporelle des concentrations des molécules potentiellement problématiques à la station « Moyenne aval Ginestous » de sorte à pouvoir identifier les périodes à risque. Les molécules pour lesquelles une variabilité temporelle a été mise en évidence dans le chapitre

précédent (page 217) sont marquées sur la figure 56 d'un nombre d'astérisque correspondant à leur niveau de significativité. La variabilité temporelle des MEC à la station située en aval des rejets est également mise en évidence avec la figure 57. Ces figures mettent en évidence des variabilités inter- et intra-annuelles pour chacune des molécules. Ces variabilités ne permettent pas de dégager une tendance générale concernant des périodes où les concentrations de ces RM seraient plus à risque que d'autres. En 2015 et 2017, les prélèvements n'ayant pas été effectués tous les mois et les dates de prélèvements ne correspondant pas les comparaisons inter-annuelles n'ont été possibles qu'entre les années 2015/2016 et 2016/2017. Ainsi, parmi ces molécules, le Diclofénac, la Carbamazépine et l'Ofloxacine semblent être les plus soumises aux variations inter-annuelles.

Qu'en-est-il au niveau des dépassements des seuils de toxicité ? Les figures 58 et 59 présentent l'évolution temporelle des quotients de risque pour les sept molécules potentiellement dangereuses pour la Garonne toulousaine. Ces quotients de risques sont calculés à partir des concentrations de la station « Moyenne aval Ginestous » et des PNEC minimales. Avec ces données, des pourcentages d'occurrence des risques pour chacune des molécules ont été calculés. Les molécules présentant un pourcentage d'occurrence égal à 100% sont la Clarithromycine, le Diclofénac, l'Estrone et la Carbamazépine. Ensuite, l'Ofloxacine, l'Ibuprofène et le Propranolol présentent des pourcentages respectivement égaux à 93%, 62% et 31%.

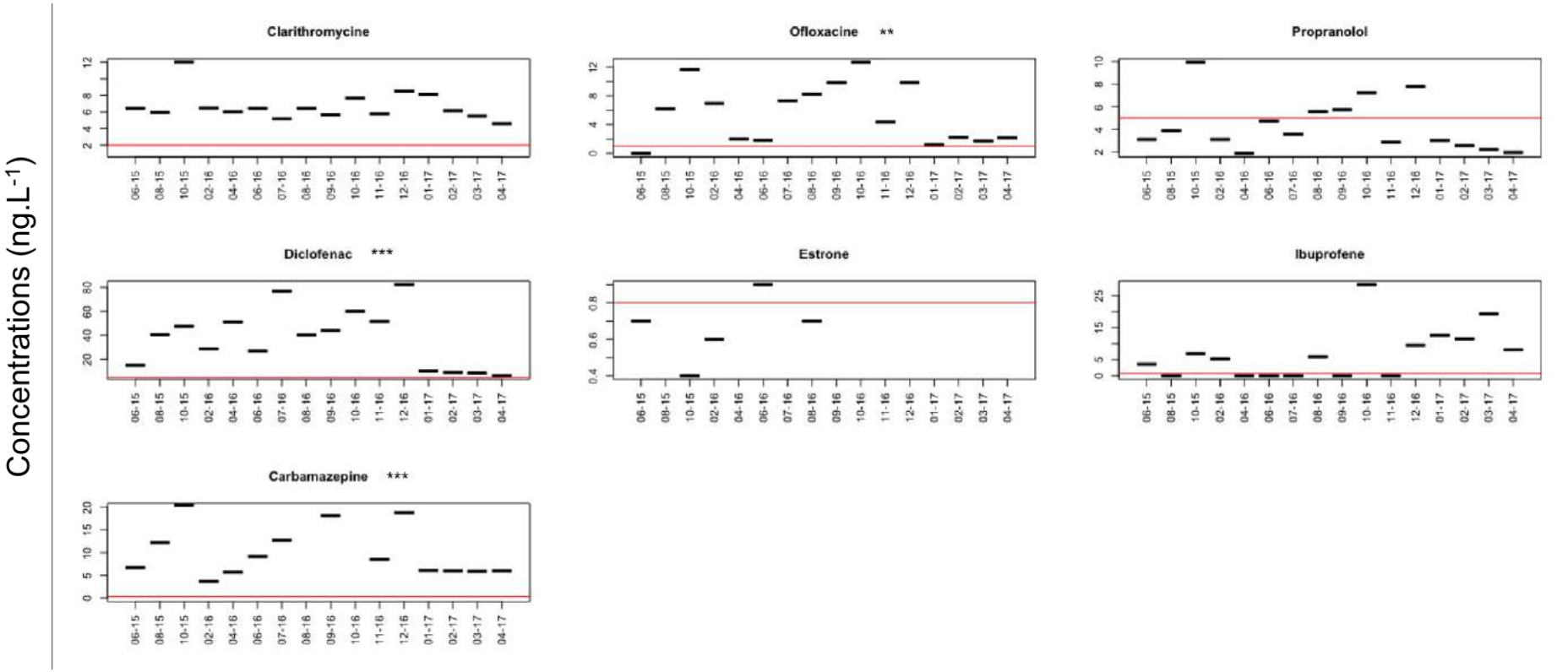


Figure 56. Concentrations des RM présentant des risques écotoxicologiques potentiels pour la Garonne à la station « Moyenne aval Ginestous » en fonction du temps. Les astérisques signalent les molécules pour lesquelles une variabilité temporelle a été mise en évidence. ** p-value < 0,005 ; *** p-value > 0,0005.

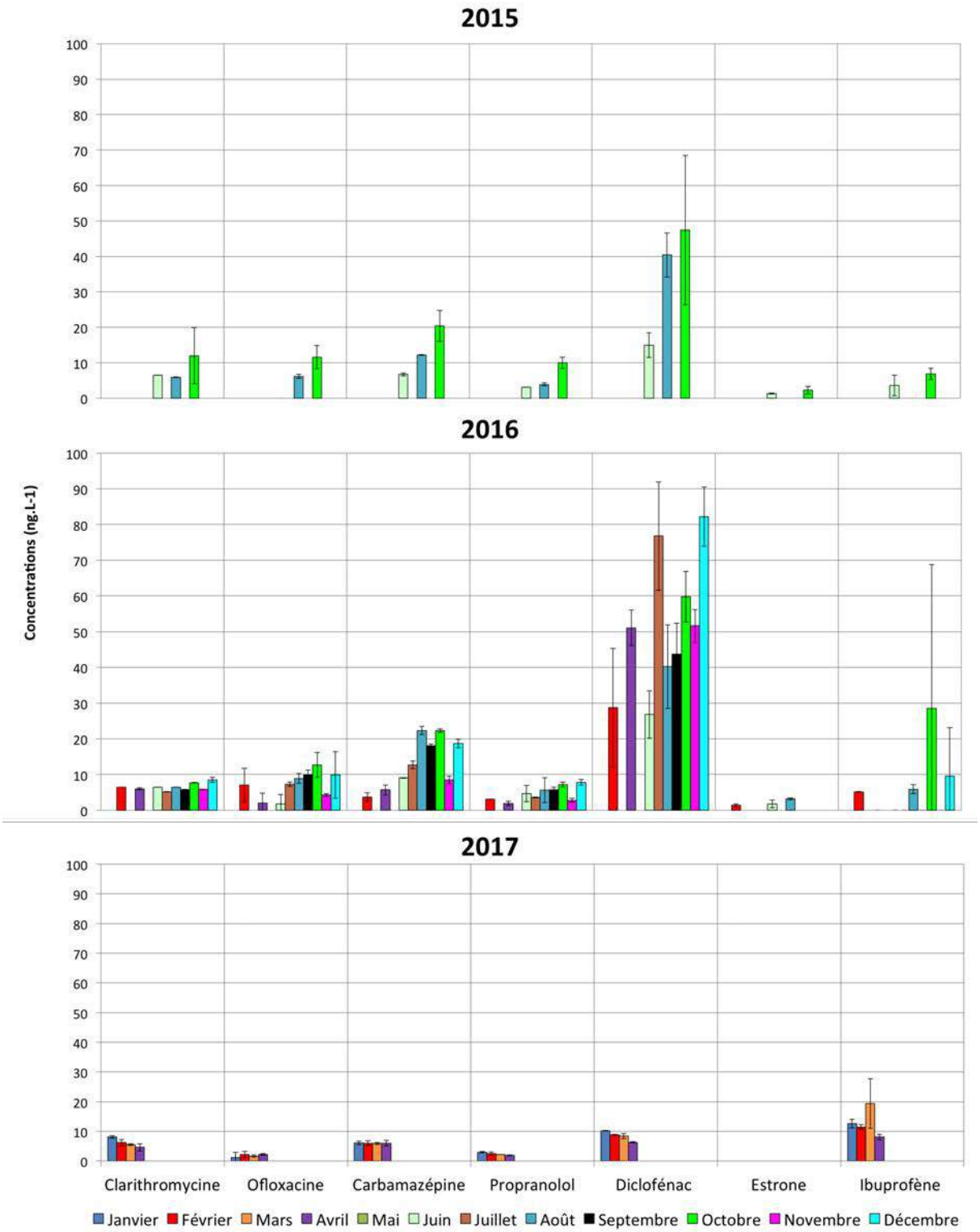


Figure 57. Concentrations des RM potentiellement dangereux pour la Garonne toulousaine à la station « Moyenne aval Ginestous » en fonction des campagnes de prélèvements.

Excepté pour le mois d'octobre 2015, les QR de la Clarithromycine sont relativement constants sur l'ensemble des dates. Il en est de même pour le Propranolol et l'Estrone. Ces trois molécules présentent ainsi une faible variabilité de leur QR. Pour la Clarithromycine et

l'Estrone les valeurs oscillent respectivement autour de 2,3 à 6 et 1,8 à 4. Pour ces molécules, les QR sont toujours supérieurs à 1, les risques écotoxicologiques associés à la présence de Clarithromycine et d'Estrone dans la Garonne sont donc avérés quelle que soit la période de l'année. Pour le Propranolol, les valeurs oscillent de 0,4 à 2. Ainsi, alors même qu'aucune influence significative du temps sur les concentrations mesurées n'a été mise en évidence, les risques environnementaux associés à la présence de Propranolol dans la Garonne fluctuent entre des périodes à risque et des périodes à non risque car leur concentrations garonnaises sont relativement proches des PNEC. L'ampltiude des QR pour le Diclofénac, l'Ofloxacine, l'Ibuprofène et la Carbamazépine est beaucoup plus importante mais ces QR sont globalement toujours supérieurs à 1. Les risques écotoxicologiques associés à la présence de ces RM dans la Garonne sont donc toujours avérés.

Dans ce chapitre, des risques potentiels pour la Garonne toulousaine ont été mis en évidence pour 27% des RM analysés en aval des rejets de la ville de Toulouse. Les molécules les plus problématiques pour la Garonne toulousaine sont la Carbamazépine, l'Ibuprofène, l'Ofloxacine, le Diclofénac, la Clarithromycine, le Propranolol et l'Estrone. Parmi ces RM, la Clarithromycine, le Diclofénac sont sur la liste de vigilance de la DCE. Même si certaines molécules présentent des fluctuations des QR, les risques écotoxicologiques pour ces molécules peuvent être avérés quelle que soit la période de l'année. C'est le cas du Diclofénac, Clarithromycine et Carbamazépine. Dans ce cas la variabilité temporelle de ces risques peut générer des effets sur un nombre plus ou moins important de groupes taxonomiques. Ainsi, même si les risques sont toujours avérés, il peut être intéressant de considérer cette fluctuation pour rendre compte de l'impact sur l'écosystème. Seuls la Carbamazépine (anxiolytique), le Diclofénac (AINS) et l'Ofloxacine (antibiotique) ont une variation temporelle des concentrations et donc des risques écotoxicologiques significative. Cependant, la variabilité inter-annuelle n'a pas permis d'identifier des périodes à risques pour ces molécules.

La partie suivante discute de l'ensemble des résultats présentés. Elle a pour objectif de faire le lien entre ces données et celles disponibles dans la littérature scientifique afin de tenter d'expliquer les tendances observées.

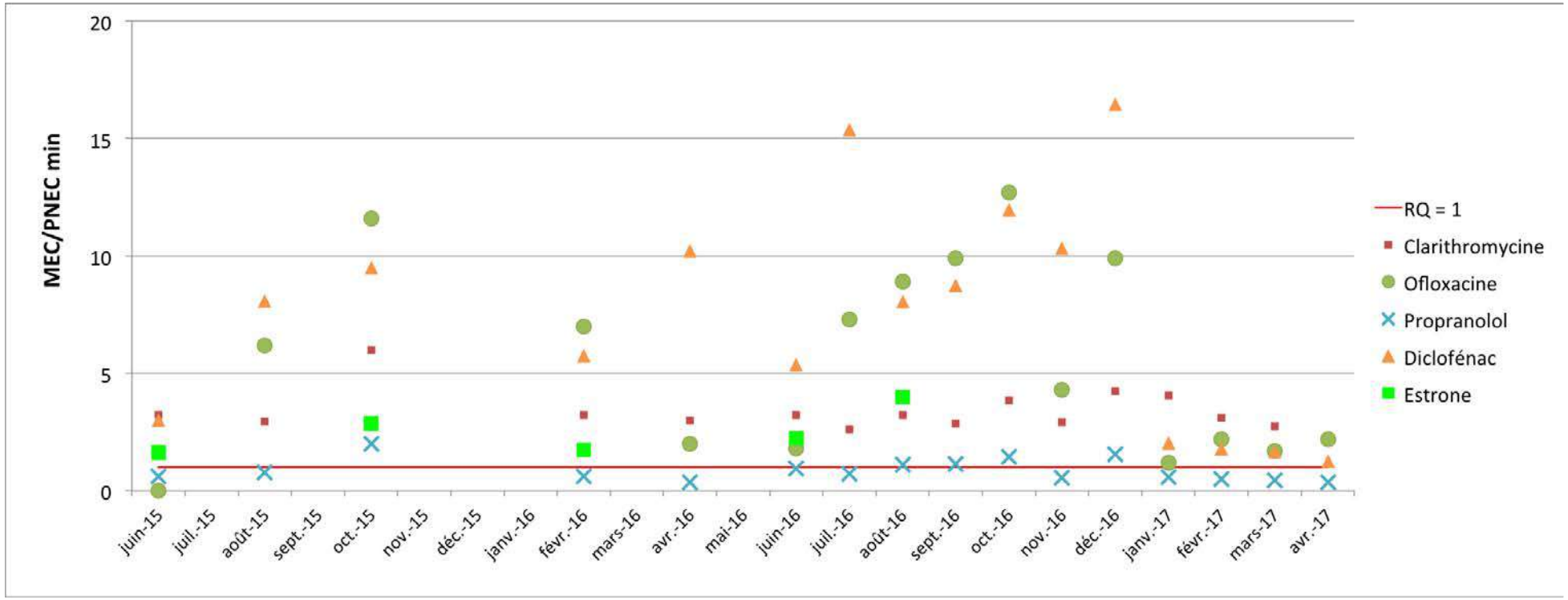


Figure 58. Variation temporelle des quotients de risque (MEC/PNEC minimale).

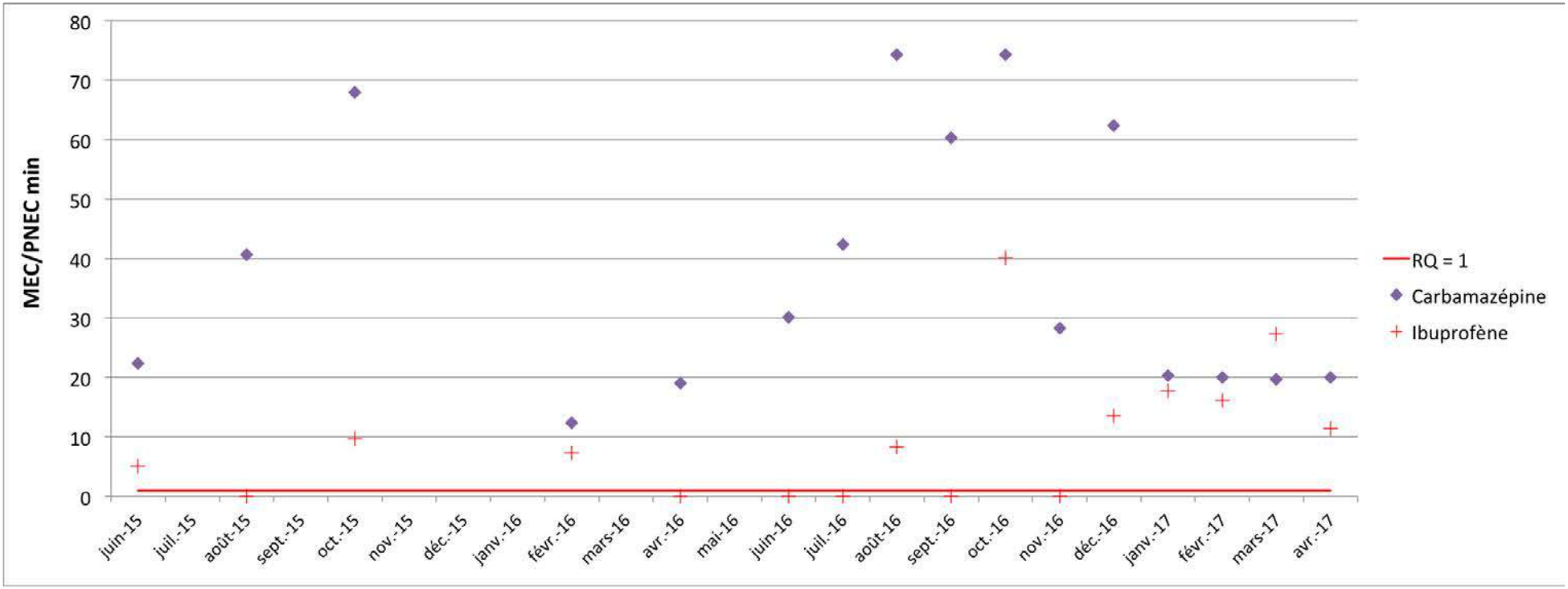


Figure 59. Variation temporelle des quotients de risque (MEC/PNEC minimale) de la Carbamazépine et de l'Ibuprofène.

Partie 4.

Discussion

Chapitre 1. Évaluation des dangers 247
1. Modélisations QSAR 249
2. Variabilité des données de danger 250
3. PNEC 252
4. Évaluation de l'effet des mélanges 254
5. Effets écotoxicologiques non quantifiables 256
Chapitre 2. Évaluation de l'exposition 259
1. Comportement des RM dans les STEU 261
2. Comportement des RM dans la Garonne 264
3. AINS 267
4. Antibiotiques 270
5. Anti-épileptiques : Carbamazépine 273
6. Cardiovasculaires 274
7. Hormones 275
Chapitre 3. Caractérisation des risques 277
1. Risques écotoxicologiques à Toulouse 279
2. Autres sources d'incertitudes 281
3. Impacts potentiels sur la santé humaine 283
Chapitre 4. Discussion générale 289

Cette partie reprend et discute les différents résultats.

Elle s'attache à mieux comprendre et expliquer les résultats obtenus en les confrontant entre eux et aux résultats présentés dans la littérature.

Chapitre 1.

Évaluation des dangers

Cette partie concerne les résultats présentés sur les dangers des molécules pharmaceutiques et, plus particulièrement, les données référencées dans la BDD. Elle discute sur les variabilités inter- et intra-moléculaires mises en évidence.

La BDD actuelle est composée, pour la partie danger, de 1237 données d'écotoxicité brutes dont 75% sont issues de bio-essais, 12% de modélisations et 13% de biomarqueurs, et 382 PNEC. Pour les bio-essais, les macrophytes (*Lemna* sp.) et les crustacés (*Daphnia sp.*) sont les espèces les plus utilisées dans les études écotoxicologiques référencées dans la BDD. Sur les 21 groupes taxonomiques représentés dans la BDD par les bio-essais, les macrophytes et les crustacés représentent 30% de l'ensemble des données avec 16% et 14% respectivement. Ces résultats ne sont pas surprenants puisque ces groupes taxonomiques sont abondants dans les eaux douces, largement distribués et faciles à entretenir en laboratoire (Wang, 1990 ; Lewis, 1995 ; Molander, Ågerstrand et Rudén, 2009).

1. Modélisations QSAR

En ce qui concerne les modélisations des données d'écotoxicité brutes récoltées dans la littérature (toxicité aiguë ou chronique), elles sont issues du logiciel libre ECOSAR qui propose des prédictions sur les poissons, algues et crustacés. La comparaison graphique des données issues de bio-essais et de modélisations QSAR a montré des concentrations toxiques prédites (QSAR) globalement cohérentes avec les concentrations toxiques mesurées (bio-essais). Ces résultats concordent avec ce qui est retrouvé dans la littérature. En effet, une étude sur la validation des prédictions par ECOSAR a montré une cohérence entre les valeurs prédites et mesurées pour 87 à 90% des données (avec moins de 3% de faux négatifs), et ce pour plus de 2000 composés chimiques différentes (Sanderson, 2003). Sur la base de leur écotoxicité aquatique, une classification des composés chimiques est proposée par le système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (GHS). Une étude a comparé les classes GHS de produits pharmaceutiques avec les classes prédites par ECOSAR et a mis en évidence une prédiction correcte de ces dernières avec, 96% de similitude pour les poissons, 94% pour les crustacés et 92% pour les algues (Sanderson et Thomsen, 2009). Cependant, certains auteurs préconisent de rester vigilants avec l'utilisation de ce genre de données. En effet, avec l'utilisation d'un facteur de sécurité égal à 10, la prédiction des toxicités aiguës par ce genre de modèle est plus ou moins fiable en fonction des organismes considérés. Ainsi, une étude a révélé que ces prédictions étaient meilleures chez les poissons (69%) que chez les crustacés (64%) et les algues (60%) avec une tendance à une sur-estimation des valeurs, et donc une sous-estimation de la toxicité, pour les algues et les crustacés (Reuschenbach *et al.*, 2008). Les résultats présentés dans cette thèse sont en accord avec les données de Reuschenbach et al. (2008) puisqu'une sur-estimation des valeurs prédites pour les algues et les crustacés a également été mise en évidence. Ainsi, même si les concentrations prédites par ECOSAR

pour les poissons, algues et crustacés se situent dans la gamme des concentrations mesurées, la performance du modèle peut encore être améliorée (Reuschenbach *et al.*, 2008). Ces modèles présentent malgré tout l'intérêt de hiérarchiser les molécules et de dégager des molécules prioritaires.

2. Variabilité des données de danger

Que ce soit pour les toxicités aiguës ou chroniques, l'étude des concentrations toxiques provenant des bio-essais et des modélisations a montré des variabilités inter- et intra-moléculaires. La variabilité inter-moléculaire est liée aux propriétés physico-chimiques intrinsèques à chaque molécule. La variabilité intra-moléculaire est liée aux groupes taxonomiques considérés, aux espèces testées, aux effets observés et aux indicateurs écotoxicologiques utilisés (CE50, NOEC, LOEC, ...). En effet, dans les résultats présentés, rien ne permet de différencier les indicateurs écotoxicologiques utilisés par les auteurs puisque la sélection des données a été faite uniquement sur la durée d'exposition des tests (court-terme ou long-terme). La variabilité intra-moléculaire ne permet pas une caractérisation claire de la dangerosité des RM les uns par rapport aux autres. En revanche, l'étude des concentrations minimales toxiques a permis de mettre en évidence, parmi les principaux groupes taxonomiques aquatiques servant communément de base aux études écotoxicologiques (poissons, algues, crustacés, bactéries et cyanobactéries), ceux qui semblent les plus sensibles pour chacun des groupes thérapeutiques étudiés. Un résumé de ces résultats est présenté dans le tableau XXXVIII. Ce tableau démontre que, pour une famille thérapeutique donnée, les groupes taxonomiques les plus sensibles peuvent être différents en fonction de si les tests de toxicité considérés sont effectués sur le court-terme ou le long-terme. Dans la partie « Résultats », il a été mis en évidence que la sensibilité des bactéries vis à vis des antibiotiques, alors qu'elle devrait être importante, ne l'était pas forcément. Le tableau 42 confirme cette tendance. En fait, l'écotoxicité des antibiotiques n'est pas si simple à expliquer. En effet, la sensibilité des bactéries aux antibiotiques va dépendre de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de la souche bactérienne pour un antibiotique donné. Certaines bactéries seront naturellement résistantes à un antibiotique et la CMI sera très élevée (voire inexistante). Pour d'autres espèces bactériennes très sensibles, une faible concentration suffira à inhiber le fonctionnement bactérien. C'est pour cette raison que les concentrations qui sont efficaces en thérapeutique sont différentes en fonction des antibiotiques. Ainsi, pour certains antibiotiques, les doses usuelles pour garantir une efficacité seront en milligrammes, alors que pour d'autres ce seront des grammes. De telles variabilités peuvent ainsi engendrer une écotoxicité de certains antibiotiques plus

importante pour d'autres espèces que les bactéries (Frédéric EYVRARD (pharmacien hospitalier), com. pers.).

Tableau XXXVIII. Organismes sensibles aux différentes familles thérapeutiques étudiées pour les toxicités aiguës et chroniques.

Famille thérapeutique	Toxicité aiguë	Toxicité chronique
AINS	Bactéries et poissons	Crustacés et poissons
Analgésiques	Poissons	Crustacés
Antibiotiques	Algues et crustacés	Algues et cyanobactéries
Anticancéreux	Algues	*Test sur un seul organisme*
Anti-épileptiques	Poissons	Poissons
Anti-ulcéreux	Crustacés	*Pas de données*
Bronchodilatateurs	Crustacés	*Pas de données*
Cardiovasculaires	Algues et crustacés	Poissons et crustacés
Hormones	Crustacés	Poissons
Hypolipémiants	Poissons	Algues

Ceci met en évidence la nécessité de multiplier les tests d'écotoxicité effectués sur le long-terme pour que ces derniers puissent être pris en compte dans l'évaluation des risques. C'est aussi pour ça que dans les guidelines un minimum de trois taxons est considéré comme nécessaire pour établir une PNEC. Dans la littérature scientifique, il est souvent précisé qu'il existe un manque de données de toxicité chronique pour les molécules pharmaceutiques (Carlsson *et al.*, 2006). Ceci est vérifié ici puisque 44 molécules possèdent au moins une donnée de toxicité aiguë référencée dans la BDD contre 33 avec au moins une donnée de toxicité chronique. Ce manque d'expérimentation en laboratoire limite les modélisations pour les toxicités chroniques. Ainsi, dans la BDD, seulement huit données de toxicité chronique proviennent de modélisations. Une autre différence qui a été mise en évidence entre les toxicités aiguës et chroniques, est les gammes de concentrations toutes molécules confondues. En effet, pour la toxicité aiguë, les concentrations varient de quelques dizaines de $\mu g.L^{-1}$ pour les cyanobactéries à quelques dizaines de $g.L^{-1}$ pour les poissons, soit un facteur 10^5. Pour la toxicité chronique, les concentrations varient de quelques centièmes de $ng.L^{-1}$ pour les poissons à quelques dizaines de $g.L^{-1}$ pour les algues, soit un facteur 10^{11}. Plusieurs raisons peuvent expliquer ces différences. La première concerne, pour l'ensemble des RM, une plus grande quantité de données pour chacun des principaux groupes taxonomiques (poissons, algues, crustacés, cyanobactéries et bactéries) dans le cadre des toxicités chroniques permettant ainsi une homogénéisation du nombre de données entre les différents groupes taxonomiques. Dans le cas des toxicités aiguës, se sont essentiellement les crustacés qui ont été étudiés, certains groupes taxonomiques ne

possédant que très peu de données, comme les cyanobactéries. La deuxième raison concerne la plus grande diversité des effets pouvant être observés dans le cadre des toxicités chroniques référencées dans la BDD (croissance, mortalité, bioluminescence, reproduction, lésions rénales, altérations des branchies, indice gonado-somatique) par rapport aux toxicités aiguës (croissance, mortalité, bioluminescence, mobilité et coloration du tube digestif). Pour une même molécule considérée, cette plus grande diversité des effets observés dans le cadre des tests réalisés sur le long-terme génère une plus grande amplitude des concentrations entre les différents groupes taxonomiques. De plus, l'observation d'effet sur le long-terme accentue les variabilités inter-spécifiques, voire intra-spécifiques dans le cas de l'étude d'une même espèce, puisque les gammes de concentrations pour les effets sur le court-terme varient d'un facteur 10^2 pour les bactéries à 10^4 pour les algues et cyanobactéries, alors que sur le long-terme les concentrations varient d'un facteur 10^6 pour les crustacés, bactéries, crustacés et algues à 10^9 pour les poissons. En effet, la variabilité intra-spécifique de la sensibilité est plus flagrante lors de l'observation d'effets sur le long-terme. Enfin, pour les toxicités aiguës, la majorité des données sont exprimées en CE50 ou CL50 alors que pour les toxicités chroniques, aucun indicateur n'est majoritairement représenté. L'hétérogénéité des indicateurs écotoxicologiques peut peut-être avoir un impact sur la variabilité des concentrations aussi bien intra-moléculaire que intra-spécifique. Dans sa thèse, Besse (2010) expose les résultats des essais de toxicité aiguë et chronique en veillant à utiliser les mêmes indicateurs (CE50 pour la toxicité aiguë et NOEC pour la toxicité chronique) (Besse, 2010). Malgré le fait que cette précaution ait été prise, pour une molécule donnée, une amplitude importante peut être observée au sein d'un même groupe taxonomique. Ainsi, même si ce facteur a certainement sa part de responsabilité dans les variations intra-spécifiques, son impact peut être considéré comme négligeable.

3. PNEC

Les PNEC sont calculées à partir de résultats de tests écotoxicologiques réalisés sur du court-terme ou du long-terme en fonction des données disponibles pour chacune des molécules étudiées. Ainsi, les PNEC ne dérogent pas à la règle et, pour les mêmes raisons que celles évoquées dans le paragraphe ci-dessus, présentent des variabilités inter- et intra-moléculaires. De même, avec les données pour lesquelles des précisions sont apportées sur les organismes utilisés pour dériver la PNEC considérée, des variabilités entre les différents organismes modèles sont mises en évidence. Enfin, les différents facteurs de sécurité (ou extrapolation) (AF) utilisés pour la définition des PNEC ont également un rôle dans la variabilité des valeurs de PNEC. Les PNEC sont dérivées des résultats provenant de bio-

essais ou de modélisations mais pas de tests de biomarqueurs. Pourquoi ces biomarqueurs ne sont-ils pas utilisés pour définir les seuils de toxicité nécessaires à une ERE ? En effet, les biomarqueurs sont des indicateurs sensibles à l'exposition de contaminants, ils pourraient donc être utilisés comme signal précoce de la dégradation écologique. En plus de leur sensibilité, ils se caractérisent par un temps de réponse très court (heures, jours). Cependant, la difficulté avec les biomarqueurs réside justement dans leur sensibilité qui n'entraine pas forcément d'effet négatif sur l'espèce étudiée. Ainsi, l'ensemble de l'environnement biotique et abiotique (habitat, nourriture, prédation, parasitisme), ou même la dynamique de développement d'un organisme peuvent induire des mécanismes d'adaptation temporaire ou permanente au niveau biochimique ou physiologique chez les organismes vivants. La mesure de biomarqueurs est donc considérée comme une méthode très sensible, précoce et prédictive d'effet à long terme mais il faut que des liens entre la modulation d'un biomarqueur et les traits de vie d'un organisme soient clairement établis afin d'augmenter la pertinence des mesures en permettant leur interprétation en terme d'effet au niveau individuel. Par exemple, des résultats présentés entre l'activité AchE et le taux d'alimentation montrent que pour les polluants testés qui sont des composés anti-cholinestérasiques, une corrélation positive est observée entre l'inhibition de l'activité AchE et la réduction du taux d'alimentation. Des résultats similaire ont été obtenus avec la locomotion. Ces travaux montrent qu'il est possible d'interpréter une activité AchE en terme d'impact au niveau individuel (GRAIE, 2009). En conséquence, un point fondamental du développement et de la mise en œuvre de biomarqueurs pour la prédiction d'un risque toxique concerne la connaissance de la plage « normal » d'activité du biomarqueur et la description de la dynamique temporelle de la réponse biologique étudiée (induction, adaptation et récupération) et des conséquences qui en découleront. Dans ce contexte un certain nombre de méthodologies d'évaluation de l'impact écotoxique ont été proposées en Europe et notamment en France dans des réseaux pérennes nationaux (GRAIE, 2009). Parmi ces méthodologies, le suivi de biomarqueurs prenant en compte le mécanisme d'action des polluants et la nature des cibles biologiques atteintes a été réalisé à ce jour dans différents contextes environnementaux afin de permettre l'évaluation de leurs impacts sur les écosystèmes aquatiques (GRAIE, 2009). Le référencement de résultats écotoxicologiques issus de biomarqueurs dans la BDD a été fait dans l'objectif de permettre, dans un avenir plus ou moins proche, la définition de seuil de toxicité environnementale à partir de ces valeurs.

L'étude de l'ensemble des données de la BDD a mis en évidence l'absence de PNEC pour

certains RM étudiés. La collecte de données brutes issues de tests écotoxicologiques (bio-essais et modélisations) peut compenser ce manque. En effet, comme effectué dans le cadre de cette thèse, des valeurs de PNEC peuvent être calculées à partir de ces données brutes. Que ce soit pour compenser un manque, compléter les données ou comparer des valeurs, cette BDD présente l'intérêt de permettre la définition de seuils toxiques à partir de données brutes provenant de biomarqueurs, bio-essais ou modélisations. De plus, la précision des données (effet observé, organisme, espèce, indicateurs (CE50, NOEC, …), durée d'exposition, …) répertoriées dans la BDD favorise une définition transparente et objective des seuils de toxicité environnementale. Les PNEC calculées dans le cadre de cette thèse ont été intégrées à celles de la littérature scientifique pour le calcul des risques écotoxicologiques. Les valeurs des PNEC calculées sont globalement dans la gamme des PNEC récoltées dans la littérature scientifique. Pour 12 RM sur les 16 ayant pu bénéficier d'un calcul de PNEC, les valeurs des PNEC calculées sont inférieures à la médiane des PNEC collectées correspondante.

4. Évaluation de l'effet des mélanges

Il est important de préciser que les résultats des tests écotoxicologiques intégrés dans la BDD ne concernent que des tests effectués sur une seule molécule. Avec les différentes voies d'exposition et les dizaines de milliers de composés chimiques circulant en Europe, les milieux aquatiques naturels sont exposés à une multitude de contaminants. Une expérience menée dans des microcosmes de 11 500L a montré les effets d'un mélange d'Ibuprofène, de Fluoxétine et de Ciprofloxacine sur des macrophytes, du phyto- et du zoo-plancton et des poissons à des concentrations 10 à 200 fois plus faibles que les doses utilisées par l'Homme (Renner, 2002). Il y a aujourd'hui une volonté d'appréhender les pollutions dans leur globalité et de prendre en compte les effets combinés des mélanges de molécules. Ainsi, l'approche « molécules » classique se distingue de l'approche « molécules avec effets combinés » ou « effet cocktail ». En écotoxicologie, l'étude des effets combinés des mélanges a pour objectif la détermination de la nature des interactions se produisant entre des composés chimiques en mélange et un(des) organisme(s) cible(s) (Boillot, 2008). Plusieurs concepts ont été établis pour l'estimation de l'effet des mélanges avec 1/ l'additivité des concentrations ; 2/ les actions indépendantes et 3/ les unités toxiques.

Le concept de l'additivité des concentrations se base sur le fait que lorsque des molécules sont en mélange, les concentrations d'effets s'additionnent. De ce fait, l'écotoxicité du mélange est proportionnelle à l'écotoxicité et à la concentration des molécules en mélange. Ce modèle est le plus utilisé pour la prédiction de l'effet toxique des mélange de molécules (Backhaus, Scholze et Grimme, 2000). La plupart des études l'utilise pour toutes les

molécules qui sont capables de donner la même réponse toxicologique (Boillot, 2008). Or, selon les composés, il n'est pas possible d'anticiper l'effet des mélanges par une simple loi d'additivité des effets individuels (Togola, 2006).

Le concept des action indépendantes, tout comme l'additivité des concentrations, permet de visualiser la réponse globale d'un mélange. Par opposition au précédent concept, cette réponse se fait relativement aux réponses engendrées par les modèles d'additivité des effets (Boillot, 2008). Il repose sur le fait que les molécules en mélange génèrent des effets écotoxicologiques communs via des chaînes de réaction distinctes au sein de l'organisme considéré (Faust *et al.*, 2001). Dans cette hypothèse, l'effet d'une molécule n'est pas modifié par la présence d'une autre (Cleuvers, 2003). L'addition des réponses est donc utilisée lorsque le mode d'action des molécules est indépendant : elles agissent sur différents systèmes et produisent des effets qui ne s'influencent pas (Ribera et Taberly, 2011). Un organisme mourra donc par exemple des effets de la molécule en mélange à laquelle il est le plus sensible en terme de concentration.

Le modèle de l'unité toxique est une approche d'analyse quantitative des effets des mélanges. Il se base sur l'additivité des concentrations et permet d'accéder à une estimation de la déviation des effets combinés relativement à l'additivité des concentrations et en une valeur d'effet donné tel que la CE50. Le modèle TU permet l'accès aux effets combinés de mélanges en différents ratios (Boillot, 2008). La somme des TU de deux molécules permet d'accéder aux effets combinés du mélange de ces deux molécules (Boillot, 2008).

Ces différents concepts utilisés pour évaluer l'écotoxicité des mélanges démontrent à quel point il est difficile d'évaluer la toxicité des mélanges qui reposent sur des hypothèses concernant le site d'action des molécules et la réponse biologique de ces dernières (Boillot, 2008). Des études qui ont comparé les modèles des actions indépendantes et de l'additivité des concentrations rapportent que globalement l'écotoxicité des mélanges serait mieux appréhendée avec l'additivité des concentrations , le modèle des actions indépendantes aurait tendance à sous-estimer les toxicités (Backhaus, Scholze et Grimme, 2000 ; Cleuvers, 2003 ; Fraysse et Garric, 2005). De plus, trois types de comportements peuvent être retrouvés lors de l'étude de la toxicité de mélange : des effets d'additivité, des effets synergiques et des effets antagonistes. Eguchi *et al.* (2004) ont testé la toxicité d'un mélange de Sulfaméthoxazole et de Triméthoprime sur des algues. Il ressort de l'étude que la toxicité du mélange est plus importante que celle des composés séparés : la NOEC pour le Sulfaméthoxazole passe de 0,6 $mg.L^{-1}$ seul à 0,2 $mg.L^{-1}$ lors d'une exposition conjointe avec le Triméthoprime (Eguchi *et al.*, 2004). Cette étude met en évidence l'effet synergique des molécules étudiées. Yang *et al.* (2008) ont rapporté des effets additifs pour des mélanges de sulfamides, des effets potentiellement synergiques pour des mélanges de macrolides ou des

quinolones, et des effets potentiellement antagonistes entre le Triclosan (antiseptique) et des quinolones (Yang *et al.*, 2008). Ainsi, s'il est déjà difficile d'estimer la toxicité chronique de chaque composé (mesure de faibles concentrations, caractérisation des effets, déploiement d'études sur de longues périodes), les effets des mélanges sont encore plus difficiles à appréhender. Pourtant, cette approche de l'effet des mélanges est essentielle quand on considère la complexité de la principale source de composés pharmaceutiques dans l'environnement : les effluents de STEU. En plus d'un nombre important de molécules pharmaceutiques, nombres d'autres produits de synthèse, issus de la consommation humaine et industrielle, sont présents dans ces rejets.

5. Effets écotoxicologiques non quantifiables

À partir de la procédure classique, l'ERE a été faite en utilisant des données de danger issues de tests écotoxicologiques dont les effets sont observables et quantifiables (mortalité, croissance, ...). Cette méthode présente les avantages d'être facilement mise en œuvre et de faible coût. Cependant, selon Roessink et Peeters (2016), les molécules pharmaceutiques ne suivent pas la loi des tests écotoxicologiques classiques où une augmentation des concentrations accroit les effets observés. Selon eux, les RM ont des effets plus subtils (Roessink et Peeters, 2016). À partir de la méthodologie Multispecies Freshwater Biomonitor (MFB) qui permet de quantifier le changement d'activité des organismes, leurs recherches ont montré que les médicaments agissent sur le comportement des organismes à de faibles concentrations et que ces effets disparaissent lorsque les concentrations augmentent (Roessink et Peeters, 2016). De tels effets, bien que plus subtils, peuvent être tout aussi préjudiciables qu'une toxicité classique pour les organismes. Toutefois, ces effets sont difficiles à observer dans les écosystèmes modèles où une partie seulement de la communauté aquatique est présente. Selon Roessink et Peeters (2016), pour avoir une bonne compréhension de l'impact des produits pharmaceutiques sur les écosystèmes, les observations doivent être réalisées sur des modèles mettant en œuvre des facteurs biotiques, comme la compétition et la prédation, afin de pouvoir traduire les effets comportementaux en impacts réels sur les populations. À partir de cette même méthodologie MFB, d'autres auteurs ont étudié l'impact des médicaments sur le comportement des crustacés et ont mis en évidence des effets à des concentrations 10^4 à 10^7 fois plus basses que les concentrations mesurées dans le cadre de tests écotoxicologiques classiques effectués sur les mêmes organismes (observation de la mortalité et la croissance (CE(L)50)) (De Lange *et al.*, 2006). Ainsi, le changement de comportement des organismes serait un critère plus sensible que les critères usuellement

choisis en écotoxicologie. Les concentrations générant ces effets se situent alors dans la gamme des concentrations mesurées dans l'environnement (De Lange *et al.*, 2006). À partir des LOEC obtenues avec l'observation des changements de comportement des crustacés et des concentrations mesurées dans des effluents de STEU et dans les eaux de surface réceptrices de ces eaux usées, des risques écotoxicologiques ont pu être calculés et ont montré des quotients proches de 1 voire supérieurs à 1 (De Lange *et al.*, 2006). Les conséquences que peuvent avoir une diminution d'activité sur la croissance de la population de crustacés et la structure de la communauté benthique ainsi que l'exposition à des mélanges de produits pharmaceutiques mériteraient donc une plus grande attention (De Lange *et al.*, 2006). De plus, cette étude a été réalisée à partir d'une méthodologie permettant la quantification du changement d'activité (MBF), et aucune distinction qualitative entre l'activité dans le contrôle et l'activité aux concentrations plus élevées, telles que la direction des mouvements, n'a pu être faite. D'autres observations visuelles devraient révéler si les modèles d'activité sont effectivement différents (De Lange *et al.*, 2006).

Le chapitre suivant discute des résultats obtenus sur l'exposition des STEU et de la Garonne aux RM étudiés.

Chapitre 2.

Évaluation de l'exposition

Cette partie discute les résultats présentés sur l'exposition des STEU et de la Garonne aux molécules pharmaceutiques étudiées. Elle discute sur les rendements d'élimination de la phase dissoute dans les STEU mais également de l'impact des rejets de l'agglomération sur la présence de RM dans la Garonne et des variabilités spatiale et temporelle dans le fleuve.

1. Comportement des RM dans les STEU

À l'entrée des STEU, les concentrations mesurées pour les 26 RM étudiés sont du même ordre de grandeur que celles retrouvées dans la littérature scientifique (Steger-Hartmann, Kümmerer et Hartmann, 1997 ; Castiglioni *et al.*, 2006 ; Benotti et Brownawell, 2007 ; Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2007 ; Gros *et al.*, 2010 ; Gabet-Giraud, 2011 ; Soulier *et al.*, 2011 ; Aminot, 2013 ; GRAIE, 26 et 27/03/15). Les concentrations moyennes à l'entrée des STEU de Ginestous et de Seilh varient de 0 à plus de 200 $\mu g.L^{-1}$. Ainsi, malgré le fait que ces STEU n'aient pas les mêmes capacités épuratrices (800 000 EH pour Ginestous contre 85 000 EH pour Seilh) ni les mêmes influences, avec le raccordement d'établissements de santé dans le cas de Ginestous contrairement à Seilh, les concentrations mesurées à l'entrée des deux STEU sont globalement similaires. Le raccordement à Ginestous des établissements de santé de l'agglomération n'a donc pas d'impact sur les concentrations des RM recherchés à l'entrée de la STEU. Laure Wiest, de l'Institut des sciences analytiques du CNRS, a présenté les résultats sur 15 médicaments suivis sur des effluents urbains et hospitaliers à Bellecombe (France). Même si les concentrations mesurées dans les effluents hospitaliers sont souvent plus élevées, ce suivi a mis en évidence des flux urbains globalement plus importants que les flux hospitaliers (GRAIE, 26 et 27/03/15). De ce fait, ces derniers se retrouvent dilués dans le flux urbain comme dans notre étude. Ces derniers résultats sont aussi en accord avec ceux de la bibliographie qui montrent que la contribution des hôpitaux aux rejets de médicaments dans l'environnement est, en Europe, au maximum de 10% par rapport aux effluents urbains et que pour la plupart des molécules, cette contribution se situe en-dessous de 3% (Kümmerer, 2009).

Les coefficients de variation (CV) ont permis de mettre en évidence une **variabilité temporelle des concentrations** aussi bien à l'entrée des STEU qu'à la sortie de ces dernières.

- **À l'entrée des STEU** cette variabilité temporelle peut être expliquée par une **fluctuation des consommations de médicaments** en fonction des saisons et des épisodes épidémiques (grippes, gastroentérite, etc.) **et des débits entrant dans les STEU.**
- **À la sortie des STEU** cette variabilité temporelle est inévitablement expliquée par la **variabilité des concentrations à l'entrée des STEU** mais elle peut également être expliquée par la **fluctuation des processus de traitement des eaux** qui peuvent varier selon la température, qui peut faire varier l'efficacité des traitements

biologiques de dégradation ; les débits d'entrée, qui peuvent faire fluctuer le temps de résidence.

Selon le projet KNAPPE, **l'élimination des composés pharmaceutiques de la phase dissoute dépend** d'un certain nombre de facteurs dont **la nature chimique des molécules et le procédé de traitement**. Notamment le projet KNAPPE a montré que les STEU conventionnelles à boues activées éliminent, plus ou moins efficacement, les RM de la phase dissoute. Les STEU étudiées ici présentent des caractéristiques différentes puisque Ginestous a une capacité dix fois plus importante que Seilh, et que la part du traitement biologique à Ginestous est plus importante qu'à Seilh, qui utilise essentiellement un traitement physico-chimique et un traitement biologique à culture fixée. Cependant, les rendements d'élimination des RM sont différents en fonction des molécules mais seuls les antibiotiques sont éliminés différemment en fonction des deux STEU. Ainsi, les rendements d'élimination des RM de la phase dissoute dépendent plutôt ici de la nature des RM. La description des différents rendements rencontrés et le parallèle avec la littérature scientifique est présenté ci-dessous. À partir des rendements médians, il est possible de regrouper les RM selon les trois classes de rendements d'élimination définies dans la partie « Résultats ». Ainsi,

- les très bons rendements d'élimination de la phase dissoute à Ginestous et à Seilh (supérieurs à 70%) concernent les AINS (excepté le Diclofénac) ; l'analgésique Paracétamol ; les anti-ulcéreux ; l'hormone sexuelle Estrone ;
- les rendements moyens d'élimination de la phase dissoute à Ginestous et à Seilh (compris entre 30% et 70%) concernent l'hypolipémiant Bézafibrate ; le cardiovasculaire Aténolol ; et l'AINS Diclofénac ;
- et les mauvais rendements d'élimination de la phase dissoute à Ginestous et à Seilh (inférieurs à 30%) concernent l'Anticancéreux Cyclophosphamide ; l'anti-épileptique Carbamazépine ; les benzodiazépines ; et les cardiovasculaires (excepté l'Aténolol).

Autres facteurs, le temps de séjour hydraulique (HRT) ainsi que l'âge moyen des boues (SRT) sont aussi des paramètres cruciaux pour lesquels des corrélations avec les rendements d'élimination des produits pharmaceutiques ont été observés (Roig *et al.*, 2009). La SRT influence la biodiversité dans les boues, les quantités de bactéries prédominantes dans la biomasse active et leur activité enzymatique. Certains RM peuvent être complètement éliminés de la phase dissoute à cause de leur potentiel d'adsorption sur les boues de STEU comme c'est le cas par exemple pour les antibiotiques appartenant à la famille des quinolones. Les rendements d'élimination de la phase dissoute peuvent donc suggérer, en fonction des propriétés physico-chimiques des molécules, que la dissipation

des RM peut parfois être due à une accumulation dans les boues de STEU plutôt qu'une dégradation effective. Cela n'a pas pu être vérifié dans le cadre de cette thèse car les boues de STEU n'ont pas été analysées. Si c'était le cas, il y aurait un risque de contamination de l'environnement favorisé par l'épandage des boues sur les sols agricoles. Quoi qu'il en soit, l**es principaux paramètres responsables de la fluctuation des processus de traitement des eaux usées en STEU sont l'HRT et le SRT.**

D'autres paramètres peuvent jouer un rôle, comme les **conditions météorologiques**. En effet, **les périodes de pluie** peuvent drastiquement diminuer les rendements d'élimination de certains RM (Ternes, 1998 ; Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007). Ceci serait dû à une réduction du HRT et donc une à diminution du temps de contact entre les molécules et les micro-organismes responsables de leur dégradation ; et/ou à une altération des processus physiques d'adsorption et de floculation, dans les STEU ; et/ou à une diminution des activités microbiennes pendant les périodes de pluies (Ternes, 1998 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007). À Toulouse, les réseaux d'eaux pluviales et d'eaux usées sont séparés ce qui ne devrait pas entrainer ce type de problème. Il arrive cependant que, lors d'évènements pluvieux importants, des eaux pluviales se déversent dans le réseau d'eaux usées, surchargeant ainsi les capacités épuratrices des STEU. Enfin, certains auteurs ont montré que **la présence d'antibiotique** pouvait eux-même perturber des activités microbiennes utilisées dans le traitement des eaux usées dans une STEU biologique (Luis Campos *et al.*, 2001 ; Alighardashi *et al.*, 2009). Des tests écotoxicologiques effectués sur des bactéries d'eaux usées et des boues de STEU viennent confirmer ce potentiel toxique. Ces données ont d'ailleurs été référencées dans la BDD. La présence d'antibiotiques dans les eaux usées et la variabilité temporelle de leurs concentrations joueraient donc un rôle important dans la fluctuation des processus de traitement en STEU. Enfin, des **variabilités saisonnières** ont été observées au niveaux des rendements d'élimination de la phase dissoute, **liées à une corrélation positive entre la température et l'activité microbienne** (Castiglioni *et al.*, 2006).

D'autre part, les résultats de cette thèse ont parfois montré des rendements « négatifs » pour certaines molécules. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces rendements négatifs :

- un effet matrice, qui correspond à un biais analytique lié au fait que les eaux brutes sont très chargées. La matrice de l'échantillon peut alors perturber l'analyse et la quantification des analytes soit lors de l'étape d'extraction, soit lors de la détection. Lors de la détection, dans la source d'ionisation, la matrice peut être responsable d'une extinction plus ou moins intense du signal affectant par conséquent la sensibilité (Aminot, 2013). Cela rendrait l'analyse de certains RM peu fiable. Mais nos analyses n'ont pas permis de tester réellement ce point ;

- ou un effet biologique, après l'ingestion de médicament par l'Homme, l'excrétion de certaines molécules pharmaceutiques dans les urines ou les fèces peut se faire sous forme glucurono-conjuguée ou sulfo-conjuguée. Une déconjugaison de ces molécules par l'action de glucuronidases ou sulfatases microbiennes, produites en particulier par les bactéries fécales (*Escherichia coli*) (D'ascenzo *et al.*, 2003), peut avoir ensuite lieu dans les eaux usées ou les boues activées, libérant ainsi le composé parent (Aminot, 2013).

2. Comportement des RM dans la Garonne

Pour l'ensemble des RM étudiés, les fréquences de détection et les concentrations mesurées dans la Garonne concordent avec les résultats rencontrés dans la littérature (Benotti et Brownawell, 2007 ; Calamari *et al.*, 2003 ; Castiglioni *et al.*, 2006 ; Gros *et al.*, 2010 ; Aminot, 2013 ; Hughes, Kay et Brown, 2013). L'étude des RM dans la Garonne s'est portée sur les variabilités spatiale et temporelle.

Ces travaux ont montré des différences spatiales des flux et/ou des concentrations pour certaines molécules entre la station localisée à l'amont des rejets de Ginestous et les deux autres stations situées à l'aval des rejets. Il s'agit du **Cyclophosphamide, Acide salicylique, Azithromycine, Ofloxacine, Oxazépam, Carbamazépine, Sotalol, Aténolol, Naproxène, Diclofénac, Ibuprofène et Bézafibrate**. Ces molécules constituent donc la **signature toulousaine dans la Garonne**. Deux molécules, la **Pravastatine** et la **Ciprofloxacine**, sont spécifiques de ces rejets toulousains puisqu'uniquement présentes à l'aval de Ginestous.

De même, une **variabilité temporelle des concentrations** dans la Garonne a été montré pour certains RM. C'est le cas pour **l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole, l'Ofloxacine, l'Oxazépam, la Carbamazépine, le Sotalol, l'Aténolol, le Diclofénac, le Kétoprofène, le Naproxène et le Paracétamol**. Toutefois, cette variabilité temporelle n'a pas permis de mettre en évidence une tendance saisonnière reproductible d'une année sur l'autre. Cependant, il est possible de relier cette variabilité temporelle des concentrations à plusieurs facteurs dont l**e débit de la Garonne** et **les quantités déversées par les effluents**. Toutefois, selon les molécules, la part de ces facteurs est plus ou moins importante. L'étude du coefficient de corrélation (R^2) entre les concentrations environnementales et le débit en aval des rejets de Ginestous, ainsi que des CV des concentrations à la sortie de la STEU de Ginestous, permet de renseigner sur la part de responsabilité de ces facteurs sur la variabilité temporelle des concentrations dans la Garonne. Il est également important de préciser que le s **incertitudes analytiques** jouent également un rôle dans cette variabilité

temporelle et ce d'autant plus que les analyses ont été réalisées sur trois périodes différentes.

De 2007 à 2008, Coetsier *et al.* (2009) ont comparé i/ les concentrations prédites (PEC_{STEU}) et mesurées (MEC_{STEU}) dans les effluents d'une STEU localisée en Languedoc-Roussillon ii/ les $PEC_{rivière}$ (= PEC_{STEU} avec un facteur de dilution de 10) et des $MEC_{rivière}$ des eaux de surface réceptrices des eaux usées traitées de la STEU étudiée. Les résultats ont montré des PEC_{STEU} cohérentes avec les MEC_{STEU} et des sur-estimations $PEC_{rivière}$ par rapport aux $MEC_{rivière}$ (Coetsier *et al.*, 2009). Ils montrent qu'il est donc nécessaire de prendre en compte **les processus biotiques et abiotiques responsables de la régulation des concentrations de xénobiotiques dans les environnements aquatiques** pour calculer des PEC les plus réalistes possible. La comparaison des concentrations prédites (PEC), à partir des effluents de Ginestous, et mesurées (MEC) à l'aval des rejets de Ginestous a mis ainsi en évidence trois types de comportements :

- les RM pour lesquels les MEC sont supérieures aux PEC. Dans ce cas, **l'apport des RM par l'amont du bassin versant** peut expliquer ces résultats. La première chose à faire est donc d'évaluer les apports provenant de la station « Amont Ginestous ». Si la soustraction (MEC aval - MEC amont) entraine encore une MEC aval corrigée supérieure à la PEC, alors il est possible de conclure à une persistance des molécules considérées dans le fleuve. En revanche, si la soustraction de MEC aval – MEC amont entraine une MEC aval corrigée inférieure à la PEC, alors les apports de la station amont sont responsables du fait que les MEC aval soient supérieures aux PEC ;
- les RM pour lesquels les MEC sont inférieures aux PEC. Dans ce cas, il est possible de conclure à une dégradation des molécules considérées dans le fleuve, et ce, d'autant plus si elles ont été détectées en amont des rejets de Ginestous ;
- enfin, les RM pour lesquels aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les PEC et les MEC. Dans le cas où les molécules ont été mesurées en amont des rejets de Ginestous, il est possible de conclure à une dégradation des molécules dans le milieu naturel. Sinon, il est possible de dire que les MEC peuvent être prédites par les PEC grâce à une absence d'atténuation des concentrations une fois les RM rejetés dans la Garonne ou une absence de persistance des molécules.

Un mauvais mélange des eaux à la station « Aval Ginestous » peut également influencer les résultats issus de ces comparaisons. En effet la station « Aval Ginestous » étant localisée 4 kilomètres à l'aval des rejets de Ginestous, il est possible que les concentrations n'aient pas été homogènes dans la masse d'eau et donc que les concentrations mesurées à cette

station soient mal estimées. Pour le vérifier, des comparaisons des concentrations mesurées aux stations « Aval Ginestous » et « Gagnac », qui se situent respectivement à 4 et 10 kilomètres des rejets de Ginestous, ont été réalisées. Ces comparaisons ont montré des concentrations relativement similaires entre ces deux stations. Par exemple la concentration médiane de Diclofénac à la station « Gagnac » est égale à 38,7 $ng.L^{-1}$ contre 36,8 $ng.L^{-1}$ à la station « Aval Ginestous » et pour l'Acide salicylique les concentrations médianes sont respectivement égales à 34,1 $ng.L^{-1}$ et 32,2 $ng.L^{-1}$. Ces résultats permettent de rejeter l'hypothèse concernant le mauvais mélange des eaux à la station « Aval Ginestous ».

Le tableau XXXIX présente une synthèse des différentes sources d'incertitudes des concentrations des RM dans les eaux usées et naturelles.

Tableau XXXIX. Synthèse des différentes sources d'incertitudes des concentrations de RM en station de traitement des eaux usées (STEU) et dans le milieu naturel (MN) (BV = bassin versant ; CV = coefficients de variation pour la STEU de Ginestous et la station « Moyenne aval Ginestous » ; HRT = temps de séjour hydraulique ; MES = matières en suspension ; SRT = âge moyen des boues).

	STEU		MN
Sources d'incertitudes	**Entrée**	**Sortie**	
Consommations médicaments	x	x	x
Processus de traitement (HRT, SRT, température, …)		x	x
Débits STEU	x	x	x
Débits MN			x
Apports amont BV			x
Processus biotiques et abiotiques responsables de la régulation des concentrations dans le MN			x
Incertitudes analytiques	x	x	x
CV moyens (%)	38	45	96

Avec ce tableau, il est possible de voir que, plus le nombre de sources d'incertitudes est important, plus le CV est grand. Les principaux paramètres responsables de la variabilité des concentrations dans les STEU et la Garonne ainsi que la fluctuation des processus de traitement des eaux usées dans les STEU ayant été posés, la confrontation des résultats de cette étude avec ceux de la littérature peut être faite. Cependant, que ce soit dans les STEU ou la Garonne, le comportement des RM est différent, ce qui rend complexe l'exercice de synthèse des résultats. Il est ainsi difficile de faire une analyse unique de la situation des RM et il nous a semblé que cette analyse serait plus cohérente si elle était discutée par groupe thérapeutique. Dans ce chapitre, le comportement des RM, en STEU et dans la Garonne, est décrit pour chacun des groupes thérapeutiques présentant des risques écotoxicologiques pour la Garonne (anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), antibiotiques, anti-épileptiques, cardiovasculaires et hormones sexuelles). Pour les autres groupes étudiés (analgésiques,

anti-cancéreux, anti-ulcéreux, benzodiazépines, hypolipémiants), les mêmes descriptions sont présentes en annexe 18.

3. AINS

3.1 Comportement en STEU

Pour l'élimination de ces molécules de la phase dissoute, les résultats du projet KNAPPE ont montré que les AINS, excepté le Diclofénac, étaient presque totalement éliminés des STEU quel que soit le processus de traitement utilisé ainsi que la SRT et la HRT (rendements supérieurs à 80%) (Roig *et al.*, 2009). Dans le cadre de cette thèse, les rendements médians d'élimination pour ces molécules sont au moins égaux à 90% pour Ginestous et Seilh. Ces résultats sont en accord avec ceux présentés dans le cadre du projet AMPERES. Ce projet a mis en évidence des rendements d'élimination moyens en France, dans des STEU conventionnelles à boues activées, supérieurs à 70% pour l'Ibuprofène, le Kétoprofène et le Naproxène (Coquery, Choubert et Miège, 2010). En Espagne, Radjenovic *et al.* (2009) ont également reporté des rendements en STEU conventionnelles pour ces molécules respectivement égaux 99%, 55% et 72% (Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2009). Seul le Diclofénac présente des taux d'élimination de la phase dissoute variables, d'une élimination nulle à totale (Gros *et al.*, 2010). Pour cette même molécule, d'autres études ont montré des rendements moyens de 30% et variables en fonction des STEU étudiées (Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005 ; Collette-Bregand *et al.*, 2009 ; Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2009). Les taux d'élimination majoritairement relevés pour cette molécule varient entre 0 et 60% (Roig *et al.*, 2009). L'analyse de la littérature effectuée dans le cadre du projet KNAPPE a montré une faible élimination du Diclofénac dans les STEU dont la SRT est inférieure à 20 jours. L'augmentation du temps de séjour à plus de 20 jours améliore son élimination qui n'excède jamais 80% (Roig *et al.*, 2009). De plus, le Diclofénac est également plus efficacement éliminé avec des HRT supérieures à 25h (Roig *et al.*, 2009). À Ginestous, le rendement d'élimination médian du Diclofénac est égal à 30%, tandis qu'à Seilh, il est égal à 46%. Mais les résultats de cette thèse ont également mis en évidence des rendements d'élimination négatifs pour le Diclofénac. Dans sa thèse, Aminot (2013) précise que l'excrétion sous forme inchangée du Diclofénac par le corps humain est négligeable mais que cette molécule peut être excrétée sous forme conjuguée. Ces rendements négatifs pourraient ainsi être essentiellement expliqués par le phénomène de déconjugaison. Cependant, Aminot précise également qu'aucune forme conjuguée du Diclofénac n'a été mise en évidence, ni à l'entrée

ni à la sortie d'une des STEU bordelaises étudiées dans le cadre de sa thèse. Ces molécules étant pourtant excrétées lors de l'élimination des médicaments par le corps humain, une déconjugaison spontanée lors du transport des molécules dans les réseaux est suspectée (Aminot, 2013). Les rendements négatifs de cette molécule seraient alors principalement dus à un effet matrice. Pour le vérifier, l'analyse du dérivé conjugué du Diclofénac à l'entrée et la sortie des STEU étudiées dans cette étude devrait être réalisée.

3.2 Comportement dans la Garonne

L'étude de la variabilité temporelle dans la Garonne a montré des différences de concentrations significatives entre les différentes dates de prélèvements pour le Diclofénac, le Kétoprofène et le Naproxène. Pour ces molécules, les coefficients de corrélation (R^2) sont égaux à 14% pour le Kétoprofène, 38% pour le Naproxène et 62% pour le Diclofénac.
Le Kétoprofène présente le plus petit R^2 . La valeur de ce R^2 sous-entend que le débit n'est pas le principal facteur responsable de la variabilité temporelle des concentrations de Kétoprofène dans la Garonne, en aval des rejets de Ginestous, puisque seulement 14% de la distribution des concentrations sont expliqués par le débit. À la sortie de Ginestous, le CV des concentrations de cette molécule est égal à 27%. Ces résultats suggèrent que se sont à la fois les fluctuations du débit et celles des quantités de Kétoprofène déversées dans la Garonne, c'est-à-dire les fluctuations des quantités consommées et des processus de traitement en STEU, qui influent sur les concentrations de cette molécule dans le fleuve.
Le Naproxène présente un R^2 égal 38% et un CV égal à 25%. Là encore, le débit et les quantités déversées dans la Garonne influent sur les concentrations de Naproxène mesurées dans le fleuve, mais dans ce cas, l'influence du débit est plus importante que pour le Kétoprofène.
Dans le cas du Diclofénac, le R^2 est égal à 62%, ce qui est important. Le CV est plus faible avec une valeur égale à 18%. Le débit est le principal facteur responsable de la variabilité des concentrations de Diclofénac dans la Garonne.

Des différences significatives entre les PEC et les MEC de la station « Aval Ginestous » ont été mises en évidence uniquement pour l'Acide salicylique et le Diclofénac. Pour ces deux RM, les MEC sont supérieures aux PEC. Ces molécules ont été mesurées à la station « Amont Ginestous » et la différence des concentrations médianes entre les stations « Aval Ginestous » et « Amont Ginestous » montre des valeurs toujours supérieures aux PEC médianes. Ces différences entre les PEC et les MEC renseignent donc sur la persistance de ces molécules dans le fleuve. Ces résultats sont étonnants au regard de ce que présente la

littérature. En effet, la plupart des auteurs présentent des PEC supérieures aux MEC pour ces molécules (Calamari *et al.*, 2003 ; Coetsier *et al.*, 2009). Cependant dans ces études, les PEC sont calculées à partir des données de consommation sans prendre en compte les rendements d'élimination dans les STEU, ce qui tend vers une sur-estimation des concentrations. En calculant les PEC à partir des concentrations mesurées à la sortie de STEU, comme ce qui a été fait ici, cette sur-estimation est diminuée. D'autres éléments de la littérature vont dans le sens d'une dégradation du Diclofénac dans l'environnement et contredisent ainsi les résultats précédents. En effet, des études sur la photodégradation du Diclofénac ont mis en évidence une photolyse de cette molécule dans les cours d'eau (Andreozzi, Raffaele et Nicklas, 2003 ; Boreen, Arnold et McNeill, 2003 ; Packer *et al.*, 2003). Mais la photodégradation des molécules peut être influencée par les conditions environnementales (Boreen, Arnold et McNeill, 2003). De plus, les mauvais rendements d'élimination de la phase dissoute du Diclofénac observés dans les STEU étudiées, vont dans le sens de sa potentielle persistance dans le milieu.

Dans le cas de l'Acide salicylique, les différentes voies de production de cette molécule (principe actif, métabolite de l'Aspirine et production par certains végétaux) peuvent expliquer sa persistance dans le milieu qui serait donc plutôt liée à une production continue de la molécule plus qu'à une persistance de cette dernière dans le milieu. En effet, en plus d'être un principe actif, cette molécule est également le métabolite principal de l'Aspirine qui est un AINS fortement consommé et facilement dégradé en Acide salicylique par le processus de dé-acétylation (Heberer, 2002a). De plus, il existe d'autres sources d'Acide salicylique que celle liée à la dégradation de l'Aspirine. Cette molécule peut, en effet, être naturellement synthétisée par certains végétaux (Heberer, 2002a).

Pour conclure sur le Diclofénac et l'Acide salicylique, les résultats issus des comparaisons entre les PEC et les MEC montrent que ces molécules persistent dans la Garonne toulousaine. Cette persistance peut être expliquée, soit parce que les facteurs responsables de leur dégradation dans les environnements aquatiques ne sont pas optimisés, cas de la photodégradation pour le Diclofénac, soit parce qu'il existe d'autre source de production, comme c'est le cas pour l'Acide salicylique, qui sont responsables d'une production en continue dans le milieu. Enfin, ce phénomène est accentué par la présence de ces molécules en amont des rejets de Ginestous.

Pour les autres AINS étudiés, le Kétoprofène, l'Ibuprofène et le Naproxène, aucune différence significative entre les PEC et des MEC n'a été mise en évidence. Le Naproxène a été mesurée à la station « Amont Ginestous », il est donc possible de considérer que cette molécule se dégrade dans le milieu naturel. À l'inverse, les concentrations médianes de l'Ibuprofène et du Kétoprofène sont nulles à l'amont de Ginestous. Les concentrations

mesurées à la sortie de Ginestous peuvent donc prédire (PEC) les concentrations environnementales à la station « Aval Ginestous ».

4. Antibiotiques

4.1 Comportement en STEU

Les antibiotiques forment un des plus importants groupes de médicaments à cause de leur niveau de consommation et de leur action spécifique sur les bactéries, notamment sur celles mises en oeuvre dans les systèmes de traitement biologique des eaux résiduaires urbaines (Alighardashi, Pons et Potier, 2008). Pour ces molécules, les différentes familles font apparaître différents comportements. Les résultats du projet KNAPPE ont en effet montré des rendements d'élimination de ces molécules variables en fonction des différentes classes d'antibiotiques (Roig *et al.*, 2009). La présence d'antibiotiques dans les STEU a deux conséquences, soit ils agissent sur les microorganismes, affectent leurs actions et diminuent le rendement d'épuration ; soit ils sont rejetés dans la nature sans dégradation (Alighardashi, 2007).

Dans le cadre de cette étude, les rendements du Sulfaméthoxazole sont globalement supérieurs à 50%. Ce qui est en accord avec les rendements rapportés dans la littérature (Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2009). Le Sulfaméthoxazole peut présenter des rendements inférieurs à 50% lorsque la SRT est inférieure à 20 jours (Roig *et al.*, 2009). De plus, une amélioration des rendements d'élimination du Sulfaméthoxazole, qui restent tout de même en-dessous des 80%, a été mise en évidence avec une HRT de 12-25h (Roig *et al.*, 2009). Les bactéries disposent de différentes voies métaboliques pour leur approvisionnement en nutriments (Louvet, 2010), et la vitesse de dégradation du Sulfaméthoxazole dépend du substrat disponible par les bactéries (Drillia *et al.*, 2005). En absence de source d'azote, la molécule de Sulfaméthoxazole qui contient trois atomes d'azote est dégradée pratiquement aussi rapidement que l'acétate (source de carbone). En revanche, en présence d'une source d'azote (l'ammonium), le Sulfaméthoxazole n'est plus dégradé (Drillia *et al.*, 2005). Enfin, le phénomène de déconjugaison peut également être responsable de la variabilité des concentrations du Sulfaméthoxazole lorsque cette molécule est au contact des boues activées (Petrovic *et al.*, 2009), ce qui peut expliquer la variabilité relativement importante (CV égal à 58%) à la sortie de Ginestous.

Pour les quinolones, Ciprofloxacine, Fluméquine et Ofloxacine, les STEU étudiées dans cette étude présentent des rendements d'élimination différents. À Seilh, les rendements

médians pour la Ciprofloxacine, la Fluméquine et l'Ofloxacine sont respectivement égaux à 84%, 100% et 77%. À Ginestous, ces rendements sont respectivement égaux à 53%, - 8% et 31%. Ces antibiotiques sont connus pour être bien éliminés de la phase dissoute même avec des temps de séjour relativement courts : 80% avec des HRT inférieures à 12h (Roig *et al.*, 2009). Les rendements sont également supérieurs à 75% avec une SRT inférieure à 20 jours et les rendements d'élimination sont similaires entre l'hiver et l'été, suggérant une élimination de la phase dissoute essentiellement due à des processus d'adsorption sur les boues (Castiglioni *et al.*, 2006 ; Roig *et al.*, 2009). Les quinolones sont connues pour être « peu biodégradables » (Alighardashi, Pons et Potier, 2008). Avec ces informations, le rendement d'élimination médian négatif enregistré à Ginestous est étonnant. Cependant, dans le vidal, certaines de ces molécules sont indiquées comme étant excrétées sous forme glucurono-conjuguée (Vidal, 2017). Ainsi les rendements négatifs peuvent être dus à un effet matrice ou un phénomène de déconjugaison dans les STEU.

Pour la Clarithromycine qui appartient à la famille des macrolides, une étude a présenté des rendements proches de 0% durant les saisons hivernales et estivale (Castiglioni *et al.*, 2006). Une autre étude a mis en évidence une variabilité saisonnière des flux de macrolides, dans différents pays européens, dont la France, à l'entrée et la sortie de STEU. Ce qui va en faveur d'une augmentation des consommations et d'une diminution des rendements d'élimination en hiver (McArdell *et al.*, 2003). Pour les macrolides étudiées, l'Azithromycine et la Clarithromycine, les résultats de cette étude présentent des rendements médians pour Ginestous et Seilh respectivement égaux à 76% et 34% pour l'Azithromycine et 55% et 24% pour la Clarithromycine.

4.2 Comportement dans le Garonne

L'étude de la variabilité temporelle a montré des concentrations environnementales significativement différentes en fonction du temps pour l'Azithromycine, l'Ofloxacine et le Sulfaméthoxazole. Pour ces trois RM, les R^2 sont relativement importants avec un minimum égal à 42% pour l'Azithromycine et un maximum égal à 55% pour le Sulfaméthoxazole. Cependant, les CV à la sortie de Ginestous sont également importants avec un minimum égal à 28% pour l'Ofloxacine et un maximum égal à 52% pour le Sulfaméthoxazole. Les concentrations de ces RM dans la Garonne sont régulés à la fois par le débit et les quantités déversées dans la Garonne.

Des différences significatives entre les PEC et les MEC ont été mises en évidence avec :

- des MEC supérieures aux PEC pour la Clarithromycine ;

– et des MEC inférieures aux PEC pour la Fluméquine et la Ciprofloxacine.

Les concentrations médianes de la Fluméquine à l'amont et à l'aval des rejets de Ginestous sont nulles, pour la Ciprofloxacine, ces concentrations sont également nulles. Les résultats concernant les quinolones (Ciprofloxacine et Fluméquine) correspondent à ceux qui est retrouvé dans la littérature. En effet, la plupart des auteurs présentent des PEC supérieures aux MEC (Castiglioni *et al.*, 2006). De plus, Castiglioni *et al.* (2006) ont mis en évidence une atténuation des concentrations de Ciprofloxacine dans les eaux de surface (Castiglioni *et al.*, 2006). Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude réalisée à Toulouse de 2011 à 2013 qui présente également des MEC inférieures aux PEC pour la Ciprofloxacine. Les quinolones sont des molécules peu biodégradables qui ont tendance à s'adsorber sur les phases particulaires (Castiglioni *et al.*, 2006 ; Alighardashi, Pons et Potier, 2008 ; Roig *et al.*, 2009). L'atténuation rapide des concentrations de quinolones dans la phase dissoute a été discutée plus haut. Les concentrations des quinolones sont donc atténuées par la Garonne toulousaine par le phénomène d'adsorption.

En ce qui concerne la Clarithromycine, cette molécule a été mesurée à la station « Amont Ginestous » et la différence des concentrations médianes entre les stations « Aval Ginestous » et « Amont Ginestous » montre une valeur « aval – amont » inférieure à la PEC médiane. Pour la Clarithromycine les quantités provenant de l'amont du bassin versant et la persistance de cette molécule dans le milieu expliquent le fait que les MEC soient supérieures aux PEC. Ces résultats sont étonnants au regard de ce que présente la littérature. En effet, la plupart des auteurs présentent des PEC supérieures aux MEC (Calamari *et al.*, 2003). Mais là encore, les PEC ont été calculées à partir des données de consommation. De plus, Castiglioni *et al.* (2006) ont mis en évidence une atténuation des concentrations de Clarithromycine par les eaux de rivière et une adsorption sur les phases particulaires (Castiglioni *et al.*, 2006). Ces résultats sont en revanche en accord avec ceux de l'étude réalisée à Toulouse de 2011 à 2013 et ayant fait l'objet d'une publication soumise durant la thèse (annexe 17). Dans cette étude, la Clarithromycine présentait également des MEC supérieures aux PEC avec des concentrations mesurées en amont du bassin versant relativement élevées. Enfin, les rendements d'élimination de la phase dissoute peuvent être faibles dans les STEU, ce qui va dans le sens de la potentielle persistance de la Clarithromycine dans le milieu.

Pour les autres antibiotiques étudiés, l'Érythromycine, l'Azithromycine, le Sulfaméthoxazole et l'Ofloxacine, aucune différence significative entre les PEC et les MEC n'a été mise en évidence. Excepté l'Érythromycine, ces molécules ont été détectées à l'amont de Ginestous. Il est possible de dire que les concentrations de ces molécules dans la phase dissoute diminuent le long du tronçon étudié.

5. Anti-épileptiques : Carbamazépine

5.1 Comportement en STEU

La Carbamazépine présente des concentrations à la sortie égales ou supérieures aux concentrations à l'entrée et ce pour les deux STEU étudiées. Ces résultats génèrent des rendements négatifs ou inférieurs à 30% à Ginestous et Seilh. Ce phénomène est bien connu dans la littérature (Benotti et Brownawell, 2007 ; Gros *et al.*, 2010 ; Aminot, 2013). La pharmacocinétique de cette molécule montre une excrétion par le corps humain de seulement 1 à 2% de la Carbamazépine sous forme inchangée mais inactivée par une glucorono-conjugaison (Ternes, 1998). Une fois dans les STEU, la conversion de cette forme conjuguée en composé parent (Carbamazépine) est permise par des processus enzymatiques rencontrés dans les STEU (Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007). Ce qui explique que les rendements d'élimination de cette molécule dans les STEU soient mauvais voire négatifs. De plus, la non biodégradation et la non adsorption de cette molécule sur les boues de STEU a été mise en évidence (Ternes *et al.*, 2004).

5.2 Comportement dans la Garonne

Les concentrations environnementales de Carbamazépine sont significativement différentes en fonction des dates de prélèvements. Cette molécule présente un R^2 et un CV respectivement égaux à 72% et 11%. Ces résultats démontrent que le débit est majoritairement responsable de la variabilité des concentrations de Carbamazépine dans la Garonne.

La comparaison des PEC et des MEC n'a pas montré de différence significative. Castiglioni *et al.* (2006) a pourtant mis en évidence l'atténuation de la Carbamazépine par les eaux de surface, avec une adsorption de cette molécule sur les phases particulaires (Castiglioni *et al.*, 2006). La présence de Carbamazépine en amont des rejets de Ginestous permet de dire que les concentrations de cette molécule dans la phase dissoute diminuent le long du tronçon étudié .

6. Cardiovasculaires

6.1 Comportement en STEU

Dans la littérature scientifique les rendements d'élimination sont très variables entre les différentes molécules de cette classe thérapeutique (Soulier *et al.*, 2011). Selon les résultats du projet AMPERES, le Propranolol et le Sotalol ont des rendements d'élimination inférieurs à 30% alors que l'Aténolol présente des rendements supérieurs à 70% (Coquery, Choubert et Miège, 2010). Selon Gros *et al.* (2010), les rendements en STEU sont considérés comme moyens à bons (Gros *et al.*, 2010). Cependant, pour une même molécule, dans les STEU à boues activées, la littérature scientifique met en évidence des rendements différents. Castiglioni *et al.* (2006) exposent ainsi des rendements médians compris entre 10% en hiver et 55% en été pour l'Aténolol, Maurer *et al.* (2007) présentent des rendements moyens supérieurs à 70% pour l'Aténolol, inférieurs à 30% pour le Sotalol et à peu prés égaux à 30% pour le Propranolol, Radjenovic *et al.* (2009) présentent des rendements moyens à peu près égaux à 60% pour l'Aténolol et le Propranolol et égal à 20% pour le Sotalol, enfin Vieno *et al.* (2007) présentent des rendements moyens de 61% pour l'Aténolol et 65% pour le Sotalol (Castiglioni *et al.*, 2006 ; Maurer *et al.*, 2007 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007 ; Petrovic *et al.*, 2009). Cette fluctuation des rendements a également été mise en évidence dans une étude plus récente (Paxeus, Bester et El-taliawy, 2016) et est due à la HRT (Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007). Plus la HRT est importante et meilleur est le rendement d'élimination (Maurer *et al.*, 2007). Globalement, l'Aténolol est le cardiovasculaire le mieux éliminé par rapport au Propranolol et au Sotalol (Maurer *et al.*, 2007). Dans le cas de Ginestous et de Seilh, les rendements médians sont compris entre 30 et 70% pour l'Aténolol et inférieurs à 30% pour le Sotalol et le Propranolol. Les cardiovasculaires sont principalement éliminés de la phase dissoute par biodégradation sauf le Propranolol qui aurait tendance à s'adsorber sur les boues de STEU (Maurer *et al.*, 2007 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007 ; Petrovic *et al.*, 2009). Les rendements d'élimination du Sotalol et du Propranolol peuvent être négatifs. Selon le vidal, même si ce n'est pas sa principale voie de métabolisation, le Propranolol peut être métabolisé par glucuronoconjugaison (Vidal, 2017). Ces rendements négatifs peuvent être expliquer par un effet matrice pour le Sotalol et le Propranolol mais également par le phénomène de déconjugaison pour le Propranolol.

6.2 Comportement dans la Garonne

Les concentrations environnementales de Sotalol et d'Aténolol sont significativement différentes en fonction des dates de prélèvements. Pour ces molécules le R^2 et le CV sont respectivement égaux à 41% et 17% pour le Sotalol et 36% et 19% pour l'Aténolol. Ces résultats démontrent que les débits de la Garonne sont majoritairement responsables de cette variabilité temporelle.

Aucune différence significative entre les PEC et les MEC n'a été mise en évidence pour ce groupe thérapeutique. Tous les cardiovasculaires étudiés dans le cadre de cette thèse ont été détectés en amont des rejets de Ginestous. Ce qui laisse croire à une diminution des concentrations entre l'amont et l'aval des rejets et donc à une élimination de ces molécules de la phase dissoute. L'atténuation des concentrations d'Aténolol dans des eaux de surface a été mise en évidence par Castiglioni *et al.* (2006). Ces auteurs ont également montré que cette molécule avait tendance à s'adsorber sur les phases particulaires (Castiglioni *et al.*, 2006).

7. Hormones

7.1 Comportement en STEU

Pour l'EE2 et l'E2, aucun rendement d'élimination n'a pu être calculé car ces molécules n'ont pas été détectées dans les eaux usées brutes et traitées. En revanche, les rendements d'élimination de l'Estrone sont ceux retrouvés dans la littérature (Coquery, Choubert et Miège, 2010 ; Soulier *et al.*, 2011) avec des valeurs supérieures à 70% voire 90%. Pour les STEU étudiées, les rendements sont supérieurs à 95%. Les hormones sont des molécules principalement éliminées par biodégradation (Coquery, Choubert et Miège, 2010).

7.2 Comportement dans la Garonne

Dans la Garonne, seul l'Estrone a été détectée. Ces résultats sont relativement cohérents avec ceux retrouvés dans la littérature qui ont montré des concentrations inférieurs à 16 $ng.L^{-1}$ pour l'Estrone, 2 $ng.L^{-1}$ pour l'E2 et nulles pour EE2 dans le bassin versant de la Prédecelle (Miège, Gabet et Coquery, 2011).

Les concentrations d'Estrone mesurées dans la Garonne ne sont pas différentes en fonction des dates de prélèvements.

La comparaison des PEC et des MEC a montré des MEC significativement supérieures aux PEC pour l'Estrone. Pour les oestrogènes, la biodégradation joue un rôle essentiel, notamment en biotransformant 80 % de l'Estradiol en Estrone et ce en moins de 20 min (Togola, 2006). L'atténuation de l'Estrone par les eaux de surface a été mise en évidence avec une élimination dans la phase dissoute pouvant être due à la fois à des processus d'adsorption mais également de dégradation (Castiglioni *et al.*, 2006). Les MEC supérieures aux PEC peuvent s'expliquer par une persistance de la molécule liée à des conditions environnementales non favorables à la biodégradation de cette dernière, amplifiée par sa présence en amont des rejets de l'agglomération.

Le chapitre suivant discute des résultats obtenus pour l'ERE.

Chapitre 3. Caractérisation des risques

Cette partie concerne les résultats présentés pour la caractérisation des risques écotoxicologiques. Elle discute sur les résultats obtenus et la variabilité temporelle des risques.

1. Risques écotoxicologiques à Toulouse

L'évaluation des risques écotoxicologiques est réalisée soit via une approche déterministe, qui caractérise le risque par le rapport PEC (ou MEC)/PNEC, soit via une approche probabiliste où le risque est défini comme une probabilité qu'un événement non souhaité ait lieu (Tissier et Marchand, 2007).

L'approche déterministe est recommandée par les principales agences internationales ou nationales en charge de la sécurité des produits ou de l'environnement et est ainsi la plus souvent employée alors qu'elle n'intègre pas la variabilité des données. Cette approche ne permet de définir la probabilité qu'un événement non souhaité ait lieu car les impacts d'un composé chimique ne sont pas clairement définis et la seule indication d'effet est la détermination d'une valeur seuil, la PNEC. Par ailleurs, les données de base requises pour conduire une évaluation du risque restent très limitées et génèrent un niveau d'incertitude élevé. La réponse apportée dans cette approche déterministe pour pallier ce niveau d'incertitude est de se placer dans le pire cas raisonnable. Mais il est à craindre que la multiplication des pires cas puisse conduire à des évaluations du risque non réalistes.

L'analyse quantitative du niveau d'incertitude dans la procédure d'analyse du risque constitue l'approche probabiliste. La détermination probabiliste de la PEC intègre la variabilité des paramètres environnementaux et prend en compte l'incertitude sur la valeur de certains paramètres et la distribution des mesures existantes (Tissier et Marchand, 2007). En caractérisant les variabilités temporelles des concentrations des RM étudiées dans les STEU et le milieu naturel et en prenant en compte la variabilité des données de toxicités, l'approche utilisée ici pour l'évaluation des risques peut être considérée comme étant probabiliste. En effet, les incertitudes ont été qualifiées aussi bien pour la partie danger que la partie exposition, avec parfois même une quantification de ces dernières avec les CV qui reflètent les variabilités temporelles.

La caractérisation des incertitudes dans le cadre d'une évaluation des risques est une démarche novatrice enclin à se développer. Ainsi, l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a chargé un groupe de travail d'élaborer des orientations sur la manière de caractériser, de documenter et d'expliquer les incertitudes dans l'évaluation des risques (EFSA (European Food Safety Authority), 2016).

Dans cette étude, la variabilité des données a été prise en compte pour l'évaluation des risques en utilisant les valeurs minimales, maximales et médianes pour les données d'exposition disponibles dans la BDD. Les risques ont ainsi été calculés pour la station « Amont Ginestous » et pour la station « Moyenne aval Ginestous ». Le tableau XL présente

les pourcentages des molécules à risques pour la Garonne en amont et en aval des rejets de Ginestous en fonction des MEC minimales, médianes et maximales.

Tableau XL. Pourcentages de molécules à risque à l'amont et à l'aval des rejets de Ginestous en fonction des concentrations environnementales mesurées (MEC) minimales, médianes et maximales.

	MEC minimale	MEC médiane	MEC maximale
Amont Ginestous	4%	15%	27%
Aval Ginestous	15%	23%	27%

Ces résultats rendent compte que des **risques pour la Garonne toulousaine sont avérés quelle que soit la période considérée aussi bien à l'amont qu'à l'aval de Ginestous**. Les sept molécules, soit **27% des RM,** qui sont ressorties comme **à risque pour la Garonne** sont, dans l'ordre décroissant des pourcentages d'occurrence des risques, **l'Estrone (100%), la Clarithromycine (100%), la Carbamazépine (100%), le Diclofénac (100%), l'Ofloxacine (93%), l'Ibuprofène (62%) et le Propranolol (31%)**. Il est à signaler que la Clarithromycine et le Diclofénac sont déjà sur la liste de vigilance de la DCE. L'évaluation des risques avec les concentrations minimales, maximales et médianes mesurées en aval des rejets de Ginestous pour ces sept RM a permis de mettre en évidence l'impact de la variabilité des données d'exposition sur la caractérisation des risques. En effet, même s'il a été montré que des risques sont avérés dans 100% des cas, le nombre de molécules varient en fonction du temps et des stations (tableau XL). D'autre part, en fonction des molécules et des concentrations, plus ou moins d'organismes peuvent être impactés par la présence de ces RM dans le milieu. Dans la gamme de concentrations du Diclofénac mesurée sur le tronçon de Garonne étudié, seul les poissons seraient potentiellement affectés par cette molécule et quelles que soient les concentrations mesurées dans la Garonne, la Carbamazépine affecterait uniquement les mollusques. En revanche, pour l'Ofloxacine, la concentration médiane à partir de laquelle un risque est avéré pour cette molécule aurait un impact sur les bactéries et la concentration maximale sur les bactéries, les algues et les cyanobactéries. Les résultats issus des tests écotoxicologiques ne prennent pas en compte le phénomène de bioaccumulation des RM sur l'ensemble du réseau trophique. Ainsi, même si les propriétés physico-chimiques des molécules peuvent renseigner sur ce point, il est difficilement possible de dire que pour une molécule donnée à une concentration donnée seuls quelques organismes seront affectés. Au contraire, il est probable que la démonstration de l'effet sur un organisme soit révélateur d'un effet sur tout le réseau.

Une fois rejetés dans les eaux de surface, les concentrations des RM diminuent, en partie par le phénomène de dilution des eaux, mais aussi par des processus d'élimination des molécules qui ont lieu au cours du transport des molécules dans le cours d'eau (adsorption,

biodégradation et photodégradation) (Winkler, Lawrence et Neu, 2001 ; Golet, Alder et Giger, 2002 ; Calamari *et al.*, 2003 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2005). La biodégradation est connue pour augmenter avec la température (Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2005) et la photodégradation peut être diminuée dans les mois d'hiver car la pénétration des UV dans la colonne d'eau est diminuée avec la montée des eaux de la Garonne à cette période de l'année. De plus, la température a une influence sur le pH qui est un paramètre important dans les processus d'adsorption (Ternes *et al.*, 2004 ; Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2009). Toutes ces données permettent de suspecter une variabilité saisonnière des processus responsables de la régulation des concentrations de RM dans le cours d'eau. Il n'a cependant pas été possible de mettre en évidence une telle saisonnalité. Probablement que tous les processus n'agissent pas de la même manière sur la dissipation des molécules, parfois en plus de manière opposée, dans le milieu naturel et que cela brouille l'impact de la saisonnalité. Il serait par exemple possible d'envisager une diminution des processus d'élimination de la phase dissoute pendant la période hivernale. L'étude de la variabilité temporelle des concentrations mesurées dans la Garonne a effectivement montré que **l'Ofloxacine, la Carbamazépine, et le Diclofénac présentaient des concentrations variables en fonction du temps**. Pour autant, ces trois molécules présente un **pourcentage d'occurrence du risque égal à 100%**. Pour le Propranolol, au contraire, il a été mis en évidence que malgré le fait que cette molécule ne présente pas de différence de concentrations significative entre les différentes dates de prélèvements, sa gamme de concentrations est telle que des risques peuvent ou non être avérés en fonction du temps ou des périodes de l'année. Les RQ de cette molécule varient en effet 0,4 (pas de risque) à 2 (risque avéré). Les exemples du Propranolol, de l'Ofloxacine, de la Carbamazépine et du Diclofénac indiquent qu'il ne suffit pas de mettre en évidence une variation temporelle significative des concentrations environnementales pour que des risques écotoxicologiques soient considérés comme avérés ou non en fonction du temps.

2. Autres sources d'incertitudes

2.1 Effet cocktail

Dans cette étude, les risques ont été calculés classiquement, c'est-à-dire avec l'approche « molécules » sans prise en compte de l'effet cocktail. Or, une multitude de polluant circulent dans les milieux aquatiques. Dans le cas d'une caractérisation des effets de type « molécules avec effets combinés », les informations recueillies dans la littérature et

présentées dans le chapitre 1 de cette quatrième partie montrent que l'additivité des concentrations peut être utilisée pour le calcul de l'indice de risque. En effet, l'écotoxicité d'un mélange suit généralement un modèle d'additivité des concentrations y compris lorsque les molécules sont présentes à très faibles doses (Ribera et Taberly, 2011). De ce fait, les risques calculés dans le cadre de cette étude sont potentiellement sous-estimés et les molécules ne présentant pas de risques avérés avec la méthode classique utilisée ici, peuvent s'avérer dangereuses pour l'environnement lors d'une ERE avec prise en compte de l'effet des mélanges. Cependant, si scientifiquement, ces méthodes d'additivité des concentrations sont effectivement représentatives de la toxicité d'un mélange, il ne reste pas moins que des cas de synergie ou d'antagonisme existent. Leur application est donc entachée d'un doute. Ainsi, cette non prise en compte de l'effet des mélanges dans l'ERE, génère une autre source d'incertitude.

2.2 Dangers non quantifiables

Dans le chapitre sur les dangers, il a montré que les médicaments pouvait agir sur le comportement des organismes à de faibles concentrations. Ces effets sont difficilement observables dans les écosystèmes modèles où une partie seulement de la communauté aquatique est présente. Cependant, avec un outil qui permet la quantification du changement d'activité (MBF), il a été montré que l'impact des médicaments sur le comportement d'organismes testés pouvait avoir lieu à des concentrations 10^4 à 10^7 fois plus basses que les concentrations mesurées dans le cadre de tests écotoxicologiques classiques effectués sur les mêmes organismes (De Lange *et al.*, 2006). Ces résultats mettent ainsi en évidence l'insuffisance du plus haut facteur de sécurité (1 000), préconisé par l'ECHA pour l'ERE à partir d'une donnée de toxicité aiguë. Pour limiter les sous-estimations des risques, cet aspect ne doit pas être négligé.

L'évaluation des risques écotoxicologiques permet d'évaluer la « santé de l'environnement ». En santé publique, l'environnement est aujourd'hui considéré comme l'ensemble des facteurs pathogènes « externes » ayant un impact sur la santé humaine et dont les composés chimiques font partie. La société actuelle amène donc à une transition de ce concept de « santé de l'environnement » vers la « santé environnementale ». Dans ce contexte, il semblait important de discuter des impacts potentiels sur la santé humaine liés à la présence de RM dans l'environnement.

3. Impacts potentiels sur la santé humaine

La présence de polluants dans l'environnement et son impact sur la santé humaine est de plus en plus pris en considération au travers le concept de « santé environnementale ».
Les produits pharmaceutiques détectés dans différents compartiments environnementaux participent à cette « santé environnementale ». L'analyse du cycle de vie des médicaments est ainsi de plus en plus étudiée (Ortiz de García, García-Encina et Irusta-Mata, 2017). Dans leurs travaux de recherches, Ortiz de Garcia *et al.* (2017) ont estimé des facteurs de caractérisation pour estimer les impacts humains et écotoxicologiques potentiels de ces molécules pharmaceutiques via les différents compartiments environnementaux (air, eau douce, eau de mer, sol naturel, sol agricole, etc.). Les résultats ont montré que les émissions dans les eaux douces continentales présentaient les facteurs de caractérisation les plus importants aussi bien pour les impacts humains que écotoxicologiques. Ces résultats indiquent que les émissions dans les eaux douces continentales sont les plus importantes et que les impacts sur la santé humaine ou écosystémique se font essentiellement via ce compartiment (Ortiz de García, García-Encina et Irusta-Mata, 2017). Dans leur étude, les facteurs de caractérisation écotoxicologique sont beaucoup plus élevés que ceux de la toxicité humaine, car la tolérance humaine aux produits pharmaceutiques est plus élevée que celle des biotes environnementaux (Ortiz de García, García-Encina et Irusta-Mata, 2017). Avec ces résultats et la mise en évidence de risques écotoxicologiques potentiels liés à la présence de RM dans la Garonne toulousaine, la question de l'impact de ces molécules sur la santé humaine se pose.

3.1 Voies de contamination directes - Cas des eaux de consommation

La présence de RM dans les eaux de surface engendre un risque de contamination des eaux potables et donc d'exposition de la population à ces molécules via le prélèvement de l'eau de la Garonne pour alimenter en eau potable les villes proches du bassin. Dans l'étude bibliographique de ce manuscrit, la présence de RM dans les eaux de boissons brutes et traitées en France a été mise en évidence avec des concentrations de l'ordre du $ng.L^{-1}$. Cette contamination est et sera toujours un sujet de préoccupation majeur car il s'agit d'une voie directe de contamination du corps humain (Webb *et al.*, 2003). Des chercheurs ont étudié l'impact de la présence de ces molécules dans les eaux de boisson sur la santé humaine. Les résultats ont montré que les risques sont cependant négligeables (F. M. Christensen, 1998 ; Schulman *et al.*, 2002 ; Webb *et al.*, 2003 ; Cunningham, Binks et Olson, 2009 ; Cunningham *et al.*, 2010). En réalité, la consommation de deux litres d'eau contaminée tous

les jours au cours d'une vie, ne fournirait pas cumulativement l'équivalent d'une seule dose prescrite de n'importe lequel des composés présents (Jones, Lester et Voulvoulis, 2005). Mais ces résultats n'excluent pas des effets à long-terme d'une exposition faible mais chronique qui pourraient passer inaperçus, il est donc bien sûr impossible de prouver que le risque est nul. Néanmoins, indépendamment de l'absence de risque prouvé, l'eau potable sera toujours un sujet de préoccupation majeur pour les consommateurs car elle est une nécessité fondamentale pour la survie humaine et une voie directe de contamination. Il est donc important qu'un certain nombre d'incertitudes soient évaluées. Celles-ci comprennent :

- l'évaluation du risque pour la santé humaine à partir d'expositions chroniques à des mélanges de micropolluants pouvant inclure des traces de produits pharmaceutiques ;
- la susceptibilité relative des individus, y compris des populations affaiblies ou immunodéprimées ;
- et l'efficacité des technologies existantes de traitement de l'eau pour éliminer les résidus pharmaceutiques (Cunningham, Binks et Olson, 2009).

3.2 Voies de contamination indirectes

Il existe d'autres voies indirectes comme l'interaction corporelle (bain ou douche) ou l'ingestion (cultures irriguées avec des effluents ou cultivées sur un sol amendé par des boues de STEU). La population humaine peut ainsi être exposée aux RM via la consommation de poissons qui ont potentiellement accumulés ces molécules (Cunningham, Binks et Olson, 2009) mais également des légumes cultivés sur des sols irrigués par des eaux contaminées ou amendés par des engrais organiques provenant des STEU (Sabourin *et al.*, 2012 ; Fussell *et al.*, 2014 ; Riemenschneider *et al.*, 2016). Les RM présents dans ces eaux ou ces boues peuvent donc potentiellement être absorbés par les légumes cultivés. Une étude a été réalisée sur des champs expérimentaux de cultures maraichères (tomates, pomme de terre, carottes et maïs) fertilisés par de la matière organique issue de STEU (ou biosolides). Dans le cadre de cette étude, des micropolluants aux propriétés chimiques hétérogènes ont été recherchés dans les légumes. Les résultats n'ont révélé aucune absorption significative des micropolluants analysés dans les végétaux (Sabourin *et al.*, 2012). D'après ces résultats, il semble qu'il y ait peu de risque d'absorption de médicaments dans les cultures maraîchères produites conformément à la réglementation actuelle qui spécifie un décalage d'un an entre l'application de biosolides et la récolte (Sabourin *et al.*, 2012). Dans une étude plus récente, des analyses de RM dans des légumes irrigués par des eaux usées traitées et des eaux enrichies en molécules pharmaceutiques ont montré des

fréquences de détection respectivement égales à 64% et de 91% dans tous les légumes étudiés (Wu *et al.*, 2014). Plus récemment encore, Riemenschneider *et al.* (2016) ont étudié l'impact de la réutilisation des eaux usées traitées sur la présence de micropolluants, dont des pharmaceutiques, sur 10 espèces végétales différentes (tomate, aubergine, courgette, poivron, chou, laitue, persil, roquette, pomme de terre et carotte) (Riemenschneider *et al.*, 2016). Globalement, la concentration totale des micropolluants est différente en fonction du légume considéré et, plus précisément, en fonction de l'organe considéré. Les concentrations totales sont ainsi les plus importantes dans les feuilles puis les racines et les fruits (Riemenschneider *et al.*, 2016). L'évaluation de l'exposition humaine à ces molécules via la consommation de ces légumes a ensuite été étudiée. Les résultats indiquent que le niveau d'exposition humaine ainsi que le risque pour la santé dû à une consommation de légumes irrigués avec des eaux usées traitées sont faibles. Cependant, pour la Ciprofloxacine et un métabolite de la Carbamazépine potentiellement génotoxique, la toxicité chez l'humain doit être examinée plus en détail afin de clarifier les résultats (Riemenschneider *et al.*, 2016). Les auteurs suggèrent ainsi, pour les prochaines études, de se concentrer sur l'identification des molécules potentiellement génotoxiques en tenant particulièrement compte des métabolites (Riemenschneider *et al.*, 2016). L'ensemble de ces résultats met en évidence un faible potentiel d'absorption de médicaments dans les légumes cultivés dans des champs fertilisés par des biosolides ou irrigués par des eaux usées traitées. Avec cette voie d'exposition, le risque pour la santé humaine est ainsi limité. En parallèle de ces études effectuées sur les légumes, Fussell *et al.* (2014) ont étudié la présence de RM dans des produits issus de l'aquaculture (poissons et crevettes), dans des champignons et dans des abats de bovins (Fussell *et al.*, 2014). Les poissons ont été récoltés dans une aquaculture située en aval des rejets d'une importante STEU du Royaume-Unis et en Asie du Sud-Est, les crevettes ont été récoltées en Asie du Sud-Est, les champignons proviennent du Royaume-Uni, de l'Irlande et de la Chine, enfin, les abats de bovins proviennent d'animaux britanniques où la contamination par ce genre de molécules est suspectée (zone rurale avec de l'élevage intensif, zone proches de grandes agglomérations). Les résultats de cette étude ont montré que, sur les cinq RM recherchés (quatre antibiotique et un AINS), aucun n'a été détecté dans les échantillons de truites provenant du Royaume-Uni et un antibiotique a été détecté dans les poissons de l'Asie du Sud-Est. Un antibiotique a été détecté dans les champignons et deux antibiotiques et le Diclofénac ont été détectés dans les abats de bovins (Fussell *et al.*, 2014). Les résultats présentés pour les abats de bovins ne permettent pas de savoir si les RM mesurés proviennent d'une exposition directe via une utilisation thérapeutique sur les animaux ou une exposition indirecte par la nourriture ou l'eau de boisson des bêtes (Fussell *et al.*, 2014). Une

autre étude a mis en évidence la présence d'antibiotiques dans les sols et les cultures irrigués par des eaux usées traitées ou des étangs piscicoles (Pan, Wong et Chu, 2014). Cependant, des disparités significatives ont été observées dans l'absorption par les racines et l'accumulation des différents antibiotiques en relation avec leurs propriétés physicochimiques et les conditions environnementales (Pan, Wong et Chu, 2014). Des évaluations de risques liés à la consommation de produits contaminés n'a pas montré de risque pour la santé humaine (F. M. Christensen, 1998 ; Schulman *et al.*, 2002 ; Webb *et al.*, 2003). Malgré la faible exposition humaine annuelle aux antibiotiques par la consommation de cultures comestibles, bien inférieure aux doses thérapeutiques minimales ou aux doses journalières acceptables, les effets indésirables potentiels des antibiotiques tout au long de la chaîne alimentaire ne doivent pas être négligés (Pan, Wong et Chu, 2014). Selon Pan *et al.* (2014), d'autres recherches sur les effets potentiels à long terme sur la santé, liés à l'ingestion de différents antibiotiques par absorption alimentaire, sont nécessaires (Pan, Wong et Chu, 2014). De plus, la variété de l'alimentation humaine, la consommation d'eau de boisson et la mise en évidence de la présence d'un ensemble de molécules dans ces différentes matrices constitue une voie d'exposition continue de la population humaine à un mélange de molécules potentiellement dangereuses. Cette exposition chronique et le risque sur le long terme pour la santé humaine qui lui est associé ne doivent pas être négligés. L'impact des effets cocktails chez l'Homme a récemment été mis en évidence. Des chercheurs ont en effet étudié l'effet cocktail sur la production de testostérone sur des cellules testiculaires de fœtus humains durant 72h d'exposition. Les résultats de leur étude ont montré que les mélanges de molécules répondaient là encore au concept de l'additivité des concentrations et pouvaient accroitre la perturbation endocrinienne d'un facteur 10 à 10 000 en fonction des molécules considérées (Gaudriault *et al.*, 2017). L'effet cocktail des perturbateurs endocriniens étudiés découle de l'addition des effets délétères de plusieurs composés à faibles doses, qui agissent sur les mêmes mécanismes biologiques. Ensemble, ils peuvent perturber l'organisme sans que chacun, pris isolément, n'ait d'effet (Actu-environnement, 2017). L'EFSA est en train d'élaborer des méthodes d'évaluation des risques liés à l'exposition combinée à de multiples produits chimiques (« projet MixTox » (Actu-environnement, 2017). Enfin, certains médicaments peuvent être des inhibiteurs ou inducteurs enzymatiques. L'exposition en continue de la population humaine à ces molécules peut ainsi avoir des effets :

- dans le cas d'inducteurs enzymatiques, sur la dégradation des médicaments par l'organisme qui sera dans ce cas accélérée, limitant ainsi les effets des autres médicaments consommés pour des raisons thérapeutiques ;
- dans le cas d'inhibiteur enzymatiques au contraire, la dégradation des médicaments

est diminuée pouvant entrainer une accumulation des molécules dans l'organisme. Cette accumulation peut être le résultat d'une contamination par les voies « environnementales » (eau de boissons, consommation fruits/légumes, poissons, ...) et/ou médicales.

3.3 Risques liés à la résistance microbienne

Bien que les valeurs estimées pour l'exposition humaine quotidienne aux antibiotiques via la consommation de cultures comestibles soient beaucoup plus faibles que les doses minimales thérapeutiques, les bactéries résistantes aux antibiotiques ou leurs gènes de résistance correspondants peuvent se propager aux humains via la chaîne alimentaire (Boehme *et al.*, 2004). L'augmentation de la consommation d'antibiotiques n'est pas favorable au contexte actuel où une augmentation des résistances bactériennes est observée (APM news, 2017a). Cette résistance microbienne aux antibiotiques a été notée dans les effluents de STEU. Une étude a montré des concentrations d'intégrons porteurs de résistance bactérienne plus importantes dans les effluents hospitaliers que dans les effluents urbains. Elle a également mis en évidence une accumulation de ces intégrons dans les boues de STEU (GRAIE, 26 et 27/03/15). L'induction de cette résistance dans les rejets d'eaux usées a été soulevée comme un problème potentiel. En effet, de nombreux isolats de micro-organismes résistants aux antibiotiques ont été trouvés dans l'environnement. Cependant, la source la plus probable serait l'excrétion d'organismes résistants par les humains et les animaux recevant des antibiotiques (Ayscough *et al.*, 2000). En effet, il n'y a aucune preuve qu'une proportion significative d'organismes résistants dans l'environnement résulte des rejets d'effluents plutôt que de l'excrétion d'organismes résistants par l'homme et les animaux et la propagation de la résistance par transfert de plasmide (Ayscough *et al.*, 2000).

Toutes ces données suggèrent que la prise en compte de l'effet des mélanges lors d'une exposition chronique est indispensable dans les évaluations des risques pour la santé humaine puisque, dans la majorité des cas : 1/ une sous-estimation des risques lors de la prise en compte des molécules seules a été mise en évidence ; 2/ des effets sur le long-terme ont été observés lors des tests écotoxicologiques à de faibles concentrations ; 3/ les études effectuées sur la modification de l'activité des organismes exposés à des RM ont montré des concentrations efficaces équivalentes à celles mesurées dans l'environnement.

Chapitre 4. Discussion générale

Ce chapitre synthétise tous les points développés dans les chapitres précédents afin de mieux percevoir les causes de l'incertitude du risque écotoxicologique et les leviers d'action pour limiter ces incertitudes.

Les résultats des tests de toxicité provenant de bio-essais, biomarqueurs ou modélisations, qui sont référencés dans la BDD mettent clairement en évidence le danger potentiel que représentent les RM circulant dans les milieux aquatiques pour les organismes non cibles. Il reste encore des efforts à faire sur le déploiement de tests écotoxicologiques effectués sur le long-terme puisqu'il a été montré que des organismes qui peuvent ne pas être sensibles aux tests de toxicités aiguës peuvent devenir les organismes les plus sensibles aux tests de toxicités chroniques. Afin de ne pas sous-estimer le danger potentiel des molécules pour l'ensemble des organismes, il conviendrait d'augmenter le nombre d'essais effectués sur le long-terme pour chacun des RM et permettre ainsi la production de PNEC fiables. Ceci permettrait également d'augmenter le nombre de modélisations valides pour les toxicités chroniques. En effet, cette prédiction des effets chroniques s'avère difficile du fait du faible nombre de données pour alimenter les modèles prédictifs. Dans le but de ne pas sous-estimer l'impact des RM dans le milieu, les études sur la toxicité des mélanges doivent également être multipliées. Pour une molécule donnée, la variabilité des concentrations toxiques liée aux effets observés, aux organismes considérés, aux espèces testées et aux indicateurs écotoxicologiques utilisés, apportant chacun leur lot d'incertitudes, rend complexe l'ERE. Le tableau XLI synthétise ces différentes sources d'incertitudes des données d'écotoxicité (aiguës et chroniques) et des valeurs de PNEC qui en sont issues.

Tableau XLI. Synthèse des différentes sources d'incertitude inter- et intra moléculaires des concentrations écotoxicologiques issues des tests réalisés sur le court-terme (aiguës) et le long-terme (chroniques) et des PNEC.

	Toxicités aiguës		Toxicités chroniques		PNEC	
Sources d'incertitudes	Variabilité inter-moléculaire	Variabilité intra-moléculaire	Variabilité inter-moléculaire	Variabilité intra-moléculaire	Variabilité inter-moléculaire	Variabilité intra-moléculaire
Propriétés physico-chimiques des molécules	x		x		x	
Espèces	x	x	x	x	x	x
Groupes taxonomiques (poissons, algues, crustacés, ...)	x	x	x	x	x	x
Critères observés (mortalité, croissance, ...)	x	x	x	x	x	x
Durées d'exposition	x	x	x	x	x	x
Indicateurs écotoxicologiques (CE50, NOEC, ...)	x	x	x	x	x	x
Effet cocktail	x	x	x	x	x	x
Effet non mesurable	x	x	x	x	x	x
Facteur de sécurité ou extrapolation (AF)						x

Ces variabilités ont un impact sur la caractérisation des risques écotoxicologiques associés à la présence de ces molécules dans les environnements aquatiques. En effet, pour caractériser un risque, le choix d'une seule donnée de toxicité doit être fait, la plus faible retrouvée. Cependant, avec une telle dispersion des valeurs, la probabilité de sous-estimer

les risques écotoxicologiques pour l'ensemble de l'écosystème n'est pas négligeable.
D'autre part, les concentrations de RM dans les eaux usées et les milieux naturels sont difficiles à appréhender car plusieurs sources de variations agissent sur les concentrations mesurées.
La présence de RM dans les effluents de STEU des grandes zones urbaines a un rôle non négligeable sur la présence de RM dans les eaux de surface réceptrices de ces eaux usées et ceci a été mis en évidence depuis plusieurs décennies (Heberer, 2002a ; Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013). En effet, certaines molécules ont montré des concentrations et/ou des flux significativement plus importants en aval des rejets des STEU ce qui a permis de mettre en évidence la signature toulousaine constituée de **l'Azithromycine, la Ciprofloxacine, l'Ofloxacine (antibiotiques) ; l'Oxazépam (Benzodiazépine) ; la Carbamazépine (anti-épileptique) ; l'Aténolol, le Sotalol,(cardiovasculaires) ; l'Acide salicylique, le Diclofénac, l'Ibuprofène et le Naproxène (AINS) ; le Cyclophosphamide (anticancéreux) ; le Bézafibrate et la Pravastatine (hypolipémiants)**. La ville de Toulouse a donc un rôle non négligeable dans la présence de ces molécules dans la Garonne et les risques écotoxicologiques associés. Des actions de réduction des apports de RM en STEU peuvent contribuer à la diminution des risques écotoxicologiques de la Garonne. Mais les RM peuvent également provenir d'autres sources, ponctuelles et diffuses, situées plus en amont dans le bassin versant. Ces pollutions peuvent notamment provenir d'affluents comme le Touch, qui draine aussi une zone relativement peuplée et qui présente des concentrations non négligeables pour certains RM.
Dans les STEU, les rendements d'élimination des RM de la phase dissoute diffèrent en fonction des molécules. Ces résultats ne sont pas si surprenants car les médicaments forment un groupe hétérogène de composés aux propriétés physico-chimiques très diverses. Les principaux mécanismes d'élimination des molécules pharmaceutiques de la phase dissoute dans les STEU que sont la biodégradation et l'adsorption (Petrovic *et al.*, 2009) dépendent des **propriétés physico-chimiques intrinsèques aux RM et au milieu considéré** mais également des **propriétés biologiques du milieu considéré** (diversité microbienne qui peut être affectée par la présence d'antibiotiques). La **SRT et la HRT** peuvent également avoir un rôle non négligeable dans la dégradation des molécules pharmaceutiques. Enfin, les **conditions météorologiques** peuvent avoir un impact sur les rendements d'élimination des molécules dans les STEU. Un abaissement des températures peut ainsi générer une diminution des activités microbiennes responsables de la dégradation des molécules organiques et un événement pluvial engendre une diminution de la HRT.
La comparaison des PEC et des MEC a permis de mettre en évidence deux types de comportement des RM une fois rejetés dans les eaux de surface **:**

- **les RM éliminés de la phase dissoute de la Garonne.**

Cela a été vérifié pour **l'Azithromycine, la Ciprofloxacine, la Fluméquine, l'Ofloxacine et le Sulfaméthoxazole (antibiotiques), le Naproxène (AINS), la Carnamazépine (anti-épileptique), l'Aténolol, le Propranolol et le Sotalol (cardiovasculaires), le Bézafibrate (hypolipémiant), et l'Oxazépam (benzodiazepine)**. En revanche, le Lorazépam, la Pravastatine et la Ranitidine ont également montré des MEC inférieures aux PEC, mais les limites de détection étant supérieures aux PEC et ces RM n'ayant pas été détectés dans la Garonne, l'hypothèse d'une égalité des PEC et des MEC ne peut être exclues.

Une fois rejetés dans les eaux de surface, les RM voient leurs concentrations diminuer en partie par le phénomène de **dilution des eaux**, mais aussi par des **processus d'élimination** des molécules qui ont lieu lors du transport des molécules dans le cours d'eau (Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2005). Les principaux processus d'élimination dans les rivières sont les mêmes que ceux observés en STEU, à savoir l'adsorption et la biodégradation, avec la photodégradation comme mécanisme supplémentaire de dégradation (Winkler, Lawrence et Neu, 2001 ; Boreen, Arnold et McNeill, 2003). Le comportement des RM dans les eaux de surface dépend, là encore, de leurs propriétés physico-chimiques mais également des **conditions environnementales et météorologiques** (Apoteket AB, Stockholm County Council et Stockholm University, 2006).

- **les RM persistants dans la Garonne**.

Il s'agit de **l'Acide salicylique, le Diclofénac (AINS), la Clarithromycine (antibiotique), l'Estrone (hormone sexuelle), et le Paracétamol (analgésique).**

Le tableau XLII présente les rendements de la STEU de Ginestous, pour les groupes thérapeutiques dont au moins un RM présente un risque écotoxicologique potentiel pour la Garonne, et les comportements de ces RM une fois rejeté dans le fleuve.

Tableau XLII. Comparaison des rendements d'élimination de la phase dissoute à Ginestous et du comportement des RM dans les eaux de la Garonne toulousaine. Nd : non détectée. Pour les rendements à Ginestous : 0 = rendements médians inférieurs à 30% ; + = rendements médians compris entre 30% et 70% ; ++ = rendements médians supérieurs à 70%. Pour le comportement dans la Garonne, 0 = MEC > PEC ou MEC = PEC ; + = MEC < PEC ou MEC = PEC avec mesure du RM en amont de Ginestous ; ++ = MEC < PEC avec mesure du RM en amont de Ginestous.

		Rendement médian à la STEU de Ginestous	Comportements dans la Garonne toulousaine
AINS	**Acide salicylique**	++	0
	Diclofénac	+	0
	Ibuprofène	++	0
	Kétoprofène	++	0
	Naproxène	++	+
Antibiotiques	**Azithromycine**	++	+
	Ciprofloxacine	+	+
	Clarithromycine	+	0
	Érythromycine	nd	+
	Fluméquine	0	+
	Ofloxacine	+	+
	Sulfaméthoxazole	++	+
Anti-épileptiques	**Carbamazépine**	0	+
Cardiovasculaires	**Aténolol**	+	+
	Propranolol	0	+
	Sotalol	0	+
Hormones sexuelles	**Estrone**	++	0

Ce tableau montre que les rendements d'élimination de la phase dissoute en STEU et dans le milieu naturel peuvent être différents selon les RM considérés. C'est également ce qui a été montré dans l'étude réalisée à Toulouse de 2011 à 2013. Il est donc important de considérer ces deux processus d'élimination afin de caractériser au mieux les variabilités spatio-temporelles des concentrations de RM dans le milieu naturel. Enfin, il ne faut pas négliger les incertitudes analytiques qui peuvent être responsables de la variabilité des concentrations mesurées aussi bien dans les eaux usées que dans les eaux de la Garonne.

Cette étude a aussi mis en évidence une variabilité temporelle des concentrations des RM :

- dans les **eaux usées**, liées aux **quantités de RM consommées, aux débits entrants dans les STEU** (Paxeus, Bester et El-taliawy, 2016) **et à la fluctuation des processus de traitement** avec des **CV moyens à l'entrée et la sortie** de Ginestous respectivement égaux à **38% et 45% ;**
- et dans **la Garonne**, liée aux **débits de la Garonne et/ou aux quantités de RM déversées par les effluents de STEU** avec un **CV moyen à l'aval de Ginestous égal à 96%.** L'effet débit a été mis en évidence par la démonstration d'une corrélation

négative entre le débit de la Garonne et les concentrations de RM dans la Garonne. Ce qui signifie que plus le débit augmente, plus les concentrations de ces molécules diminuent. C'est particulièrement vrai pour trois molécules, l'Ofloxacine, la Carbamazépine et le Diclofénac, qui ont montré des R^2 respectivement égaux à 51%, 72% et 62%. La figure 60 illustre cet effet du débit sur la variabilité des concentrations de ces trois RM.

Les variations inter-annuelle et inter-moléculaire des concentrations environnementales n'ont cependant pas permis d'identifier de tendance saisonnière pour les RM présentant des concentrations significativement différentes en fonction des dates de prélèvements. Cette variabilité des flux de RM d'une année sur l'autre dans les eaux usées d'une agglomération peut-être due à plusieurs facteurs qui expliqueraient 1/ la modification des débits dans les STEU : extension de la ville, météo, … 2/ et/ou la consommation des médicaments : météo, épidémies, réglementation, ...

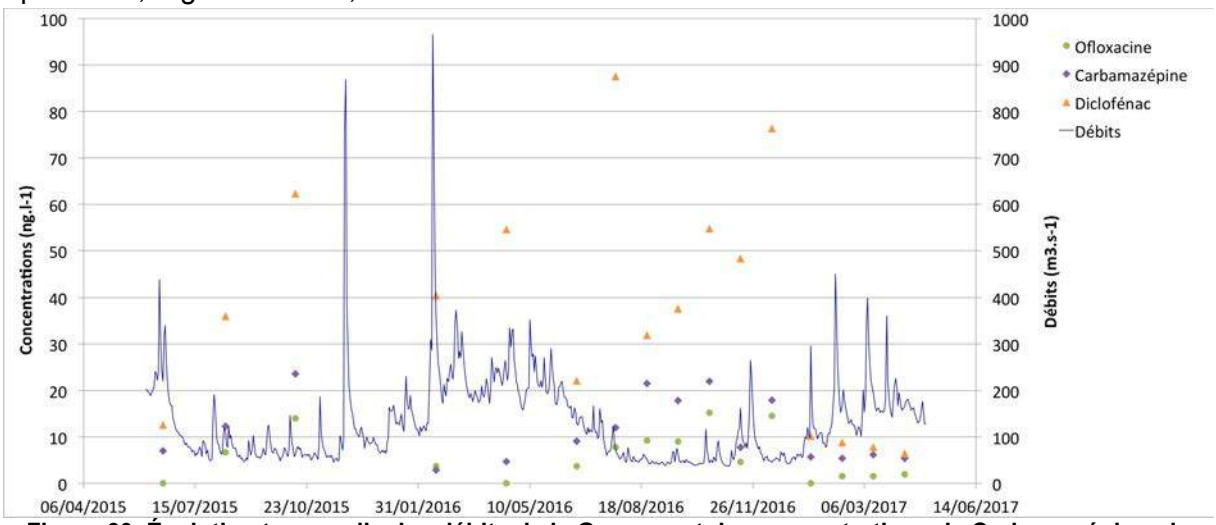


Figure 60. Évolution temporelle des débits de la Garonne et des concentrations de Carbamazépine, de Propranolol et d'Estrone de 2015 à 2017.

Ces variabilités temporelles en STEU et dans la Garonne, combinées à l'amplitude des données de dangers, complexifient l'évaluation des risques écotoxicologiques et fait prendre conscience de la nécessité de prendre en compte tous ces éléments pour une évaluation des risques, la plus juste possible, des risques. Ces variabilités temporelles montrent que les seuils de toxicité au-delà desquels il existe un risque écotoxicologique peuvent être dépassés ponctuellement, comme c'est le cas pour **l'Ofloxacine, l'Ibuprofène et le Propranolol** qui ont présenté des **pourcentage d'occurrence des risques** respectivement égaux à **93%, 62% et 31%.** Cependant, pour certains RM analysés, les **quotients de risques** écotoxicologiques associés à la présence de ces RM dans l'environnement sont **supérieurs à 1 quelle que soit la période de l'année considérée.** C'est le cas du **Diclofénac, de la Clarithromycine, de l'Ofloxacine et de la Carbamazépine**. D'une

manière générale, une augmentation de la fréquence de prélèvement révèlerait, peut-être, un risque ponctuel lié à la présence de certaines molécules dont les risques pour la Garonne n'ont pas été identifiés dans le cadre de cette étude.

À cela s'ajoute, les effets sur le long terme des mélanges de molécules et l'impact des produits pharmaceutiques sur les activités des organismes, quantifiables (MFB) ou non, qui peuvent être préjudiciables aux populations aquatiques en affectant les relations biotiques telles que la compétition et la prédation, et qui n'ont pas été pris en compte dans le cadre de cette thèse.

Au regard des risques avérés pour les écosystèmes aquatiques, dans le cas de l'évaluation « molécule par molécule », de la probable sous-estimation du risque liée à la non prise en compte des effets cocktails, de l'utilisation de données de danger provenant de tests écotoxicologiques classiques sans prise en compte des écosystèmes, et d'une possible exposition chronique de la population humaine via différentes voies (directe (eau de boisson) ou indirectes (consommation de poissons contaminés, fruits/légumes cultivés sur des sols amendés par des boues de STEU ou irrigués par des eaux usées traitées (réutilisation dans l'objectif de préserver la ressource en eau tant en terme de quantité que de qualité), …)), la prise en charge de la problématique liée à la présence de RM dans les milieux aquatiques est essentielle.

Le chapitre suivant présente les conclusions et perspectives de cette étude. Il met en avant les réponses aux questions posées à la fin de la première partie du manuscrit.

Partie 5.

Conclusions et perspectives

Dans le cadre de cette thèse et du projet associé, une BDD a été créée, pour ne pas qu'elle devienne obsolète, les données de danger doivent régulièrement être mises à jour. Les données obtenues à partir de la mesure de l'activité d'organismes doivent également être intégrées à cette BDD. Cette BDD permet ainsi, 1/ de rassembler un maximum de données de danger qui sont actuellement éparpillées dans le vaste champ des connaissances scientifiques et de permettre, grâce à une homogénéisation des unités, une comparaison entre ces dernières ; 2/ et de faire un choix, le plus objectif possible, du seuil de toxicité (PNEC) à utiliser pour une ERE. À terme, la maitrise du langage SQL permettra de faire des calculs directement à partir des données de danger et d'exposition référencés dans la BDD. Enfin, l'ensemble des données récoltées et référencées dans la BDD (toxicité, PNEC, PEC, MEC, débits, …) permettront de modéliser des risques écotoxicologiques sur la Garonne.

Les résultats de cette étude ont permis de répondre aux hypothèses posées en début de thèse et présentées dans la première partie de ce manuscrit. Les réponses apportées pour chacune de ces hypothèses sont présentées ci-dessous.

- Hypothèse 1 : il existe des risques écotoxicologiques liés à la présence de RM dans la Garonne toulousaine.

Ces travaux de recherches ont été réalisés à partir de la démarche PEC (MEC)/PNEC codifiée selon les principes qui s'appliquent aux principaux composés chimiques. Avec cette démarche et l'utilisation des PNEC minimales, qui conduit à une évaluation des risques selon l'hypothèse dite du « worst case » (ou pire cas), des risques écotoxicologiques ont été mis en évidence pour certaines molécules médicamenteuses dans la Garonne toulousaine.

Sept RM sur les 26 recherchés (**27%**) sont **à risque pour la Garonne toulousaine**. Ces molécules sont, dans l'ordre décroissant des pourcentages d'occurrence des risques, la **Clarithromycine (100%), le Diclofénac (100%), l'Estrone (100%), la Carbamazépine (100%), l'Ofloxacine (93%), l'Ibuprofène (62%) et le Propranolol (31%)**. La Clarithromycine et le Diclofénac faisant partie de la liste de vigilance de la DCE.

- Hypothèse 2 : les eaux usées de la ville de Toulouse sont principalement responsables de la présence de RM dans la Garonne.

La comparaison des flux et concentrations des RM entre les stations situées en amont et en aval des rejets de la ville a montré des flux et/ou concentrations significativement plus importants en aval des rejets de l'agglomération. Pour ces molécules, leur présence dans la Garonne est donc principalement liée aux rejets d'eaux usées de la ville de Toulouse.

La signature toulousaine est constituée de l'Azithromycine, la Ciprofloxacine, l'Ofloxacine (antibiotiques), l'Oxazépam (Benzodiazépine), la Carbamazépine (anti-épileptique), l'Aténolol, le Sotalol (cardiovasculaires), l'Acide salicylique, le Diclofénac, l'Ibuprofène et le Naproxène (AINS), le Cyclophosphamide (anticancéreux), le Bézafibrate et la Pravastatine (hypolipémiants).
Pour **l'Ofloxacine et le Diclofénac**, des risques écotoxicologiques ont également été mesurés en amont des rejets de Ginestous et donc les r**ejets de l'agglomération toulousaine** sont **seulement en partie responsables des risques écotoxicologiques** mesurés.

- Hypothèse 3 : il existe une variabilité temporelle des concentrations de RM dans les eaux usées et la Garonne, à l'échelle de l'agglomération toulousaine, engendrant une instabilité des risques écotoxicologiques.

La fréquence des prélèvements de cette étude a permis de rendre compte d'une fluctuation temporelle des concentrations des RM étudiés aussi bien dans les STEU, à l'entrée et la sortie, que dans la Garonne. Cette variabilité laisse croire que les seuils de toxicité au-delà desquels il existe un risque écotoxicologique peuvent être dépassés ponctuellement.

Parmi les RM à risque pour la Garonne, seuls **le Diclofénac, la Carbamazépine, l'Ofloxacine et l'Estrone** ont présenté des **concentrations environnementales significativement différentes en fonction des dates** de prélèvement. Cependant, les **risques écotoxicologiques pour ces molécules** sont **avérés quelle que soit la période de l'année** considérée. Pour le **Propranolo**l, qui ne présente p**as de variation temporelle significative des concentrations environnementales**, la fluctuation des quotients de risque oscille entre 0,4 et 2, soit entre des **périodes à risque et à non risque**. Ces résultats indiquent qu'**il ne suffit pas de mettre en évidence une variation temporelle significative des concentrations environnementales** pour que des **risques écotoxicologiques soient considérés comme avérés ou non en fonction du temps.**

- Hypothèse 4 : il existe une régulation des concentrations de RM dans la Garonne, via des processus biotiques et abiotiques, qui participent au service naturel de régulation de la qualité de l'eau d'une rivière.

La comparaison des flux de RM entre les stations situées en amont et en aval de l'agglomération n'a pas permis de mettre en avant ce phénomène puisqu'il a été montré que les concentrations entre les stations « Aval Ginestous » et « Gagnac » ne sont pas significativement différentes. Cependant, la comparaison des concentrations

environnementales prédites à partir des effluents de Ginestous (PEC) et celles mesurées dans la Garonne (MEC) en aval des rejets, ont montré l'abaissement des concentrations de certains RM rejetés dans le fleuve.

La comparaison des rendements d'élimination de la phase dissoute en STEU et dans la Garonne ont montré des comportements différents pour certaines molécules avec des **molécules bien éliminées en STEU et pas dans la Garonne (e. g. : Acide salicylique, Paracétamol et Estrone)** et des **molécules pas bien éliminées en STEU et éliminées dans la Garonne (e. g. : Carbamazépine, Propranolol et Sotalol)**.
Les **RM éliminés** de la phase dissoute de la Garonne sont **l'Azithromycine, la Ciprofloxacine, la Fluméquine, l'Ofloxacine et le Sulfaméthoxazole (antibiotiques), le Naproxène (AINS), la Carbamazépine (anti-épileptique), l'Aténolol, le Propranolol et le Sotalol (cardiovasculaires), le Bézafibrate (hypolipémiant) et l'Oxazépam (benzodiazepine)**.
Les **RM persistants** dans la Garonne sont **l'Acide salicylique, le Diclofénac (AINS), la Clarithromycine (antibiotique), l'Estrone (Hormone sexuelle) et le Paracétamol (analgésique).** La persistance des RM peut être liée à plusieurs facteurs : non dégradation, autres sources de production/apport, ...

- Hypothèse 5 : la méthodologie classiquement utilisée pour l'ERE peut générer une sous-estimation des risques liés notamment à l'amplitude des données de danger des RM.

Le recensement d'un maximum de données de toxicités dans la BDD a permis de mettre en évidence le manque de données de toxicité chronique et l'amplitude des données de danger.

Le **manque de données de toxicité chronique** et l'**amplitude des données de danger** utilisées dans le calcul des risques écotoxicologiques, génèrent une **incertitude lorsqu'une seule donnée** est utilisée pour **calculer le risque**. La réglementation tente de pallier cela en recommandant l'utilisation de facteur de sécurité lors de la définition des PNEC. Mais dans certains cas, **le plus haut facteur de sécurité** préconisé par l'ECHA (1 000) **ne suffit pas** pour garantir la **protection des écosystème**s. En effet, **la modification de l'activité des organismes aquatique**s par les RM peut être générée à des concentrations 10^4 à 10^7 fois moins importantes que celles obtenues avec des tests écotoxicologiques classiques. De plus, la non prise en compte de l'**effet cocktail** peut également être responsable d'une **sous-estimation des risques environnementaux.**

La présence de RM dans tous les compartiments environnementaux (eau de surface, eaux

souterraines, sol, …) n'est aujourd'hui plus discutable et la Garonne toulousaine n'échappe pas au phénomène. Avec un meilleur accès aux soins de santé dans les pays développés et une population vieillissante dans les pays industrialisés menant à une polymédication, la production, l'utilisation et l'élimination des produits pharmaceutiques devraient augmenter. Les résultats de cette étude ont montré que dans l'hypothèse du « worst case », il existe des risques écotoxicologiques liés à la présence de certains RM mesurés dans la Garonne. Certaines de ces molécules sont inscrites sur la liste de vigilance de la DCE (Clarithromycine, Diclofénac) et leur présence dans la Garonne est essentiellement due aux rejets d'eaux usées traitées de l'agglomération toulousaine. Pour mieux approcher la vraie valeur des effets écotoxicologiques, il conviendrait de multiplier les expériences en laboratoire, afin notamment de rendre compte de l'effet des mélanges, en mésocosmes, ...
Si les médicaments permettent d'améliorer la qualité de vie, l'espérance de vie et la bonne santé des êtres humains ou animaux, il n'en demeure pas moins que leur présence dans l'environnement peut générer des effets sur les écosystèmes et la santé humaine sur du plus ou moins long terme. Dans ce cas, ils auraient un effet pervers par rapport à ce pourquoi ils sont originellement destinés. Le manque de données écotoxicologiques sur le long terme est avéré, mais le manque de données sur les risques pour la santé humaine à partir de faibles doses sur le long terme est encore plus marqué (Haguenoer, 2010). Ces travaux de recherches se sont appuyés sur une ERE classique telle que décrite dans la réglementation, c'est-à-dire que les données de danger utilisées proviennent de tests effectués en laboratoire sur la base de critères quantifiables (mortalité, croissance, mobilité, …). Cette méthodologie est assez controversée dans le monde scientifique puisque, les concentrations mesurées dans l'environnement, qui restent relativement faibles pour ces molécules, de l'ordre du $ng.L^{-1}$, ne peuvent générer de tels effets. Ainsi, l'ERE telle que décrite par la réglementation peut amener à la fausse conclusion que les médicaments ne sont pas dangereux pour l'environnement alors que des travaux ont montré que certains médicaments pouvaient avoir des impacts négatifs sur les organismes à de faibles concentrations. De ce fait, certains scientifiques remettent en question l'évaluation du risque environnemental qui se base sur des tests classiques. La mesure de biomarqueurs est considérée comme une méthode très sensible, précoce et prédictive d'effet à long terme. Il faut donc favoriser l'utilisation des biomarqueurs pour l'ERE. Cela permettra ainsi de pallier le manque de toxicité chronique et de mesure sur l'activité des organismes.
De part le rôle des médicaments dans la santé publique, les différentes voies de contamination de l'environnement et les impacts potentiels sur les écosystèmes et la santé humaine, cette problématique doit être prise en charge par une action concertée pour initier une approche multisectorielle et multipartite afin de prévenir, réduire et gérer l'introduction de

produits pharmaceutiques dans l'environnement. Une telle mesure peut être prise sans compromettre l'efficacité, la disponibilité ou l'accessibilité du traitement médical. La concrétisation d'une telle approche imposerait l'implication des intervenants par une action coordonnée et collaborative (Weber *et al.*, 2014). Cette démarche permettrait de mettre en évidence des solutions préventives (e. g. basées sur le modèle suédois) et/ou curatives (e. g. traitements tertiaires en STEU, augmentation de la SRT et HRT, traitement des boues de STEU, ...) afin de limiter les risques écotoxicologiques et, par effet rebond, les risques toxicologiques. Afin de lutter contre l'antibiorésistance, une expérimentation de dispensation (= délivrance de médicaments à des patients associé à des conseils de bon usage) à l'unité des antibiotiques a été réalisée, de 2014 à 2015, dans 100 officines françaises. C'est aussi ce qui est pratiqué dans plusieurs pays du monde comme les États-Unis par exemple. Cette dispensation à l'unité a permis de réduire de 9,9% le nombre de comprimés délivrés (APM news, 2017b). Selon les chercheurs de l'étude « *Délivrer des antibiotiques à l'unité pourrait avoir des effets positifs à long terme sur l'environnement » .* Cette mesure pourrait être étendue à d'autres classes thérapeutiques, elle est ainsi un exemple concret de mesure préventive qui permettrait de réduire les risques liés à la présence de ces molécules dans l'environnement. Dans leur étude, Soulier *et al.* (2011) ont mis en évidence l'intensification de l'élimination des RM grâce à des procédés tertiaires avancés comme l'osmose inverse, l'ozonation ou encore la filtration sur charbon actif (Soulier *et al.*, 2011). La mise en évidence des services naturels de régulation de la qualité de l'eau apporte une capacité supplémentaire aux processus de dégradation déployés en STEU. En démontrant la complémentarité de ces processus, cette thèse apporte des éléments en faveur d'une préservation de la qualité des milieux naturels aquatiques afin de favoriser la dégradation des RM dans le réceptacle final des eaux usées traitées que sont les écosystèmes aquatiques. Enfin, le déploiement d'une démarche concertée permettrait également de définir les règles pour l'ERE (choix des données de danger, prise en compte de la variabilité des données de danger et d'exposition, …) permis grâce à la collecte et le référencement d'un maximum de données dans la BDD. Cette dynamique qui met en lien les mondes de l'environnement et de la santé est enclin à se développer (congrès ICRAPHE, …).

« Se réunir est un début ;
rester ensemble est un progrès ;
travailler ensemble est la réussite. »
Henry Ford (1863-1947)

« Il n'y a pas de passagers sur le vaisseau Terre.
Nous sommes tous des membres de l'équipage. »
Marshall McLuhan (1911-1980)

Bibliographie

Académie Nationale de Médecine, Académie Nationale de Pharmacie et Académie Vétérinaire de France (**2015**), « Saisine de la DGS sur l'impact des résidus de médicaments dans l'environnement pour les prescripteurs », http://www.acadpharm.org/dos_public/Avis_DGS_rEsidus_mEdicaments_dEfinitif.pdf.

Académie nationale de Pharmacie (**2008**), « Médicaments et environnement », http://www.acadpharm.org/dos_public/1_Rapport_Med_Env_version_JMH_def_JPC.pdf.

Actu-environnement (**2017**), « Perturbateurs endocriniens : l'Inserm quantifie pour la première fois l'effet cocktail » , *Actu-environnement, https://www.actu-environnement.com/ae/news/insrm-perturbateurs-endocriniens-effet-cocktail-29650.php4.*

AEAG (**2014**), « Synthèse de l'actualisation de l'état des lieux du SDAGE 2016-2021 », 2014, www.eau-adour-garonne.fr/_attachments/sdage-2010-2015-article/2030SYNTHGARONNEBD.pdf?download=true.

Ågerstrand M., Wester M. et Rudén C. (**2009**), « The Swedish Environmental Classification and Information System for Pharmaceuticals — An empirical investigation of the motivations, intentions and expectations underlying its development and implementation », *Environment International*, vol. 35, n°5, pp. 778-786.

Alighardashi A., Pandolfi D., Potier O. et Pons M.N. (**2009**), « Acute sensitivity of activated sludge bacteria to erythromycin » , *Journal of Hazardous Materials*, vol. 172, n°2-3, pp. 685-692.

Alighardashi A. (**2007**), « Composés pharmaceutiques et eaux usées urbaines », *Doctorat. Ecole nationale supérieure des industries chimiques. France. P,* docnum.univ-lorraine.fr/public/INPL/2007_ALIGHARDASHI_A.pdf

Alighardashi A., Pons M.-N. et Potier O. (**2008**), « Présence et devenir des médicaments dans les eaux usées urbaines, une analyse bibliographique », *Revue des sciences de l'eau*, vol. 21, n°4, pp. 413.

Almaric L., Togola A. et Lopez B. (**2011**), « Suivi des résidus de substances pharmaceutiques dans les systèmes aquatiques de bassin Loire-Bretagne », Rapport final, n°BRGM/RP-59371-FR, BRGM, http://infoterre.brgm.fr/rapports/RP-59371-FR.pdf.

Aminot Y. (**2013**), « Étude de l'impact des effluents urbains sur la qualité des eaux de la Garonne estuarienne: application aux composés pharmaceutiques et aux filtres UV », Thèse de doctorat, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I, https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01124148/document. .

Ando T., Nagase H., Eguchi K., Hirooka T., Nakamura T., Miyamoto K. et Hirata K. (**2007**), « A novel method using cyanobacteria for ecotoxicity test of veterinary antimicrobial agents », *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 26, n°4, pp. 601–606.

Andreozzi R., Raffaele M. et Nicklas P. (**2003**), « Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment » , *Chemosphere*, vol. 50, n°10, pp. 1319–1330.

ANSES (**2011**), « Campagne nationale d'occurence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine », n°Convention G2799, ANSES, https://www.anses.fr/fr/system/files/LABO-Ra-EtudeMedicamentsEaux.pdf..

ANSES (**2017**), « Index des RCP », http://www.ircp.anmv.anses.fr/.

ANSM (**2014a**), « Analyse des ventes de médicaments en France en 2013 », http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/3df7b99f8f4c9ee634a6a9b094624341.pdf.

ANSM (**2014b**), « L'évolution des consommations d'antibiotiques en France entre 2000 et 2013 », ansm.sante.fr/content/download/69355/884959/version/1/file/ANSM_rapport_consommation_antibio%202013.pdf.

APM news (**2017a**), « Consommation d'antibiotiques : un déclin marqué en santé animale, mais pas d'amélioration en santé humaine », 2017.

APM news (**2017b**), « Antibiotiques : l'expérimentation de dispensation à l'unité livre ses résultats », 2017.

Apoteket AB, Stockholm County Council et Stockholm University (**2006**), « Environment and pharmaceuticals », n°1590-01.

Ayscough N.J., Fawell J., Franklin G. et Environment Agency (**2000**), *Review of human pharmaceuticals in the environment.*, Environment Agency, https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/290277/strp390-e-e.pdf.

Backhaus T., Scholze M. et Grimme L.H. (**2000**), « The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium Vibrio fischeri », *Aquatic Toxicology*, vol. 49, n°1, pp. 49–61.

Baker D.R. et Kasprzyk-Hordern B. (**2013**), « Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: New developments » , *Science of The Total Environment*, vol. 454-455, pp. 442-456.

Beek T. aus der, Weber F.-A., Bergmann A., Hickmann S., Ebert I., Hein A. et Küster A. (**2016**), « Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives: Pharmaceuticals in the global environment » , *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 35, n°4, pp. 823-835.

Benotti M.J. et Brownawell B.J. (**2007**), « Distributions of Pharmaceuticals in an Urban Estuary during both Dry- and Wet-Weather Conditions » , *Environmental Science & Technology*, vol. 41, n°16, pp. 5795-5802.

Benotti M.J. et Brownawell B.J. (**2009**), « Microbial degradation of pharmaceuticals in estuarine and coastal seawater », *Environmental Pollution*, vol. 157, n°3, pp. 994-1002.

Besse J.-P. (**2010**), « Impact environnemental des médicaments à usage humain sur le milieu récepteur : évaluation de l'exposition et des effets biologiques pour les écosystèmes d'eau douce », Thèse de doctorat : Toxicologie de l'Environnement, Université de Metz - UFR SCI. F. A., http://docnum.univ-lorraine.fr/public/UPV-M/Theses/2010/Besse.Jean.Philippe.SMZ1023.pdf..

Besse J.-P. et Garric J. (**2007**), « Médicaments à usage humain: risque d'exposition et effets sur les milieux récepteurs », *Proposition d'une liste de médicaments à usage humain à*

surveiller dans les eaux de surface continentales. Agence de l'Eau RMC, Lyon, https://pdfhall.com/ecemagtaf_598ac2cd1723dd15846f9d93.html..

Białk-Bielińska A., Stolte S., Arning J., Uebers U., Böschen A., Stepnowski P. et Matzke M. (**2011**), « Ecotoxicity evaluation of selected sulfonamides » , *Chemosphere*, vol. 85, n°6, pp. 928-933.

BIO Intelligence Service (**2013**), « Study on the environmental risks of medicinal products » , *Final Report prepared for Executive Agency for Health and Consumers,* https://ec.europa.eu/health//sites/health/files/files/environment/study_environment.pdf..

Boehme S., Werner G., Klare I., Reissbrodt R. et Witte W. (**2004**), « Occurrence of antibiotic-resistant enterobacteria in agricultural foodstuffs » , *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 48, n°7, pp. 522-531.

Boillot C. (**2008**), « Évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques. Contribution à l'amélioration de la phase «caractérisation des effets». », Thèse de doctorat, INSA de Lyon, https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00289514/document.

Boreen A.L., Arnold W.A. et McNeill K. (**2003**), « Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment: A review » , *Aquatic Sciences - Research Across Boundaries*, vol. 65, n°4, pp. 320-341.

Botta, Fabrizio et Dulio V. (**2014**), « Résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DOM », Rapport final, *Etude sur les contaminants émergents dans les eaux françaises*, ONEMA, http://www.eaufrance.fr/IMG/pdf/campex_ESUI_201406.pdf.

Bouissou-Schurtz C., Houeto P., Guerbet M., Bachelot M., Casellas C., Mauclaire A.-C., Panetier P., Delval C. et Masset D. (**2014**), « Ecological risk assessment of the presence of pharmaceutical residues in a French national water survey » , *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 69, n°3, pp. 296-303.

Bound J.P. et Voulvoulis N. (**2005**), « Household Disposal of Pharmaceuticals as a Pathway for Aquatic Contamination in the United Kingdom » , *Environmental Health Perspectives*, vol. 113, n°12, pp. 1705-1711.

Bouvier M., Durand F. et Guillet R. (**2010**), « Médicament et environnement - La régulation du médicament vis-à-vis du risque environnemental », n°007058-01, Conseil Général de l'environnement et du développement durable, cgedd.documentation.developpement-durable.gouv.fr/documents/cgedd/007058-01_rapport.pdf.

Brain R.A., Johnson D.J., Richards S.M., Sanderson H., Sibley P.K. et Solomon K.R. (**2004**), « Effects of 25 pharmaceutical compounds to Lemna gibba using a seven-day static-renewal test », *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 23, n°2, pp. 371–382.

BRGM (**2011**), « Campagne exceptionnelle d'analyse des substances présentes dans les eaux souterraines », n°59135-FR, http://www.onema.fr/sites/default/files/pdf/2011_029.pdf.

Budzinski H. (**2008**), « Etude de la contamination des estuaires de la Seine, de la Gironde et de l'Adour par les substances pharmaceutiques: Présence, Devenir et Impact Toxicologique » , http://temis.documentation.developpement-durable.gouv.fr/docs/Temis/0078/Temis-0078497/19698.pdf.

Calamari D., Zuccato E., Castiglioni S., Bagnati R. et Fanelli R. (**2003**), « Strategic Survey of Therapeutic Drugs in the Rivers Po and Lambro in Northern Italy », *Environmental Science & Technology*, vol. 37, n°7, pp. 1241-1248.

Calisto V., Domingues M.R.M. et Esteves V.I. (**2011**), « Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments – Kinetics and photodegradation products », *Water Research*, vol. 45, n°18, pp. 6097-6106.

Cambou J. et Champredon C. (**2010**), « Plan national sur les résidus de médicaments dans les eaux. Contribution de la fédération France Nature Environnement » , *FNE,* https://www.fne.asso.fr/com/santa/page_eau_a31.pdf.

Caquet T. (**2012**), « Evaluation des risques et écotoxicologie : le cas des pesticides », *Innovations Agronomiques*, vol. 23, pp. 29-54.

Carlsson C., Johansson A.-K., Alvan G., Bergman K. et Kühler T. (**2006**), « Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? » , *Science of The Total Environment*, vol. 364, n°1-3, pp. 67-87.

Castensson S., Eriksson V., Lindborg K. et Wettermark B. (**2009**), « A method to include the environmental hazard in drug prescribing » , *Pharmacy World & Science*, vol. 31, n°1, pp. 24-31.

Castiglioni S., Bagnati R., Fanelli R., Pomati F., Calamari D. et Zuccato E. (**2006**), « Removal of Pharmaceuticals in Sewage Treatment Plants in Italy » , *Environmental Science & Technology*, vol. 40, n°1, pp. 357-363.

Cermola M., DellaGreca M., Iesce M.R., Previtera L., Rubino M., Temussi F. et Brigante M. (**2005**), « Phototransformation of fibrate drugs in aqueous media » , *Environmental Chemistry Letters*, vol. 3, n°1, pp. 43-47.

Clauzet A.A.J.-M. (**2016**), « Analyse comparée des secteurs et marchés de la santé humaine et animale en France et dans le monde en 2015 : modélisation de l'évolution probable de ces marchés à court, moyen et long termes en France », Thèse de doctorat, Créteil, Faculté de Médecine de Créteil, http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=2098..

Cleuvers M. (**2003**), « Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects », *Toxicology Letters*, vol. 142, n°3, pp. 185-194.

Cleuvers M. (**2005**), « Initial risk assessment for three β-blockers found in the aquatic environment », *Chemosphere*, vol. 59, n°2, pp. 199-205.

Coetsier C.M., Spinelli S., Lin L., Roig B. et Touraud E. (**2009**), « Discharge of pharmaceutical products (PPs) through a conventional biological sewage treatment plant: MECs vs PECs? », *Environment International*, vol. 35, n°5, pp. 787-792.

Collette-Bregand M., James A., Munshy C. et Bocquene G. (**2009**), « Contamination des milieux aquatiques par les substances pharmaceutiques et cosmétiques-Etat des lieux et perspectives », http://archimer.ifremer.fr/doc/00066/17773/15295.pdf.

Commission européenne (**2015**), « Décision d'exécution (UE) 2015/495 de la commission du 20 mars 2015 établissant une liste de vigilance relative aux substances soumises à surveillance à l'échelle de l'Union dans le domaine de la politique de l'eau en vertu de la directive 2008/105/CE du Parlement européen et du Conseil », vol. C(2015)1756, eur-

lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32015D0495.

Confédération Suisse (**2017**), « Le Conseil fédéral - Le portail du Gouvernement suisse », https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/20011787/index.html.

Coquery M., Choubert J.-M. et Miège C. (**2010**), « Synthèse des travaux du projet AMPERES », http://static.cemagref.fr/projetamperes/illustrations/AMPERES_synthese_2009.pdf.

CROSIA J.-L. (**2011**), « Marché mondial du médicament vétérinaire: analyse des tendances des dix dernières années et perspectives d'évolution » , *Bull. Acad. Vét. France*, vol. 164, n°1.

Cunningham V.L., Binks S.P. et Olson M.J. (**2009**), « Human health risk assessment from the presence of human pharmaceuticals in the aquatic environment », *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 53, n°1, pp. 39-45.

Cunningham V.L., Perino C., D'Aco V.J., Hartmann A. et Bechter R. (**2010**), « Human health risk assessment of carbamazepine in surface waters of North America and Europe », *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 56, n°3, pp. 343-351.

Cyclamed (**2016**), « Chiffres de collecte des MNU - Médicaments périmés ou non = retour en pharmacie - Cyclamed », *https://www.cyclamed.org/pourquoi/environnement.*

D'ascenzo G., Di Corcia A., Gentili A., Mancini R., Mastropasqua R., Nazzari M. et Samperi R. (**2003**), « Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities », *Science of the Total Environment*, vol. 302, n°1, pp. 199–209.

Daughton C.G. et Ternes T.A. (**1999**), « Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? », *Environmental Health Perspectives*, vol. 107, pp. 907.

De Lange H.J., Noordoven W., Murk A.J., Lürling M. et Peeters E.T.H.M. (**2006**), « Behavioural responses of Gammarus pulex (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals », *Aquatic Toxicology*, vol. 78, n°3, pp. 209-216.

Deblonde T. (**2013**), « Évaluation des risques de la consommation d'eaux potentiellement chargées en résidus de médicaments anticancéreux », Thèse de doctorat, Nancy, Université de Lorraine, http://docnum.univ-lorraine.fr/public/DDOC_T_2013_0295_DEBLONDE.pdf.

Drillia P., Dokianakis S.N., Fountoulakis M.S., Kornaros M., Stamatelatou K. et Lyberatos G. (**2005**), « On the occasional biodegradation of pharmaceuticals in the activated sludge process: The example of the antibiotic sulfamethoxazole » , *Journal of Hazardous Materials*, vol. 122, n°3, pp. 259-265.

Dulio V. (**2011**), « Travaux du réseau européen NORMAN », AQUAREF, http://www.aquaref.fr/system/files/NORMAN2010sansannexes_VF.pdf.

Dulio V., Morin A. et Staub P.F. (**2009**), « Les substances émergentes dans l'environnement », http://www.aquaref.fr/system/files/R_09_06381C_Action29_VF.pdf.

EFSA (European Food Safety Authority) (**2016**), « Outcome of a public consultation on the draft Guidance document of the EFSA Scientific Committee on Uncertainty in EFSA Scientific Assessment », n°EFSA supporting publication 2016:EN-1011,

onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2016.EN-1011/epdf.

Eguchi K., Nagase H., Ozawa M., Endoh Y.S., Goto K., Hirata K., Miyamoto K. et Yoshimura H. (**2004**), « Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae », *Chemosphere*, vol. 57, n°11, pp. 1733-1738.

EMA (**2006**), « Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use », Pre-Authorisation Evaluation of Medicines for Human Use, *Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/4447/00 corr 1*, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500003978.pdf.*

European Chemicals Bureau (**2003**), « Technical Guidance Document on risk Assessment - Part II », n°EUR 20418 EN/2, Institute for Health and Consumer Protection, https://echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart2_2ed_en.pdf.

F. M. Christensen (dir.) (**1998**), « Pharmaceuticals in the environment - A human risk? », *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 28, n°RT981253, pp. 212-221.

Fairbairn D.J., Karpuzcu M.E., Arnold W.A., Barber B.L., Kaufenberg E.F., Koskinen W.C., Novak P.J., Rice P.J. et Swackhamer D.L. (**2016**), « Sources and transport of contaminants of emerging concern: A two-year study of occurrence and spatiotemporal variation in a mixed land use watershed », *Science of The Total Environment*, vol. 551-552, pp. 605-613.

Farré M., Ferrer I., Ginebreda A., Figueras M., Olivella L., Tirapu L., Vilanova M. et Barcelo D. (**2001**), « Determination of drugs in surface water and wastewter samples by liquid chromatography-mass spectrometry : method and preliminary results including toxicity studies with Vibrio fischeri », *Journal of Chromatography A*, n°938, pp. 187-197.

Fatta-Kassinos D., Meric S. et Nikolaou A. (**2011**), « Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research », *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 399, n°1, pp. 251-275.

Faust M., Altenburger R., Backhaus T., Blanck H., Boedeker W., Gramatica P., Hamer V., Scholze M., Vighi M. et Grimme L.H. (**2001**), « Predicting the joint algal toxicity of multi-component s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants », *Aquatic Toxicology*, vol. 56, n°1, pp. 13–32.

Fayet G. (**2010**), « Développement de modèles QSPR pour la prédiction des propriétés d'explosibilité des composés nitroaromatiques », Thèse de doctorat, Paris, Université Pierre et Marie Curie, https://www.actu-environnement.com/media/pdf/news-23766-these-g-fayet-qspr.pdf..

FDA (**1998**), « Guidance for Industry. Environmental Assessment of Human Drug and Biologics Applications » , *FDA Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070561.pdf.*.

Fent K., Weston A. et Caminada D. (**2006**), « Ecotoxicology of human pharmaceuticals », *Aquatic Toxicology*, vol. 76, n°2, pp. 122-159.

Ferrari B., Mons R., Vollat B., Fraysse B., Paxéus N., Lo Guidice R., Pollio A. et Garric J. (**2004**), « Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals : are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic

environment? », *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 23, n°5, pp. 1344-1354.

Fick J., Söderström H., Lindberg R.H., Phan C., Tysklind M. et Larsson D.G. (**2009**), « Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production », *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 28, n°12, pp. 2522–2527.

Fraysse B. et Garric J. (**2005**), « Prediction and experimental validation of acute toxicity of beta-blockers in Ceriodaphnia dubia » , *Environmental Toxicology*, vol. 24, n°10, pp. 2470-2476.

Fussell R.J., Garcia Lopez M., Mortimer D.N., Wright S., Sehnalova M., Sinclair C.J., Fernandes A. et Sharman M. (**2014**), « Investigation into the Occurrence in Food of Veterinary Medicines, Pharmaceuticals, and Chemicals Used in Personal Care Products », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 62, n°17, pp. 3651-3659.

Gabet-Giraud V. (**2011**), « Distribution d'estrogènes et de bêtabloquants dans les stations d'épuration des eaux résiduaires et dans les eaux de surface », Thèse de doctorat, Citeseer, https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00652345/document..

Garric J., Morin S. et Vincent-Hubert F. (**s. d.**), « Les biomarqueurs en écotoxicologie : définition, intérêt, limite, usage » , *Sciences Eaux & Territoires*, pp. 12-17, https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00489979/document.

Gaudriault P., Mazaud-Guittot S., Lavoué V., Coiffec I., Lesné L., Dejucq-Rainsford N., Scholze M., Kortenkamp A. et Jégou B. (**2017**), « Endocrine Disruption in Human Fetal Testis Explants by Individual and Combined Exposures to Selected Pharmaceuticals, Pesticides, and Environmental Pollutants » , *Environmental Health Perspectives*, vol. 125, n°8.

Golet E.M., Alder A.C. et Giger W. (**2002**), « Environmental Exposure and Risk Assessment of Fluoroquinolone Antibacterial Agents in Wastewater and River Water of the Glatt Valley Watershed, Switzerland » , *Environmental Science & Technology*, vol. 36, n°17, pp. 3645-3651.

Gourlay-Francé C., Vincent-Hubert F., Tusseau-Vuillemin M.-H., Sanchez W., Geffard A., Lévi Y., Oziol L., Labadie P., Mouchel J.-M., Raguet M. et Théry S. (**2011**), « Le risque écotoxicologique dans le bassin de la Seine. Comprendre et diagnostiquer l'impact de la contamination sur les organismes. », n°12, https://www.piren-seine.fr/sites/default/files/PIREN_documents/fascicules/Collection_AESN_PIREN-Seine_12_-_Le_risque_ecotoxicologique.pdf.

Gracia-Lor E., Sancho J.V., Serrano R. et Hernández F. (**2012**), « Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia », *Chemosphere*, vol. 87, n°5, pp. 453-462.

GRAIE (**26 et 27/03/15**), « Les médicaments dans le cycle urbain de l'eau - Etat des connaissances et stratégies de réduction » , *Water & Health*, Genève et Annemasse, https://www.graie.org/graie/graiedoc/doc_telech/actesyntheses/sante-conf-actes-graie-medicamentseau-mar15.pdf.

GRAIE (**2009**), « La démarche écotoxicologique pour la protection et l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques », https://www.graie.org/graie/graiedoc/doc_telech/actesyntheses/zabrJT5actes.pdf..

Grand Toulouse (**s. d.**), « Station de dépollution des eaux usées de l'Aussonnelle » , tm-web1.cutm.nfrance.com/documents/10180/18682/document%20a%20telecharger %20plaquette%20aussonnelle..

Gros M., Petrovic M. et Barcelo D. (**2007**), « Wastewater treatment plants as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the ebro river basin (northeast spain) », *ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND CHEMISTRY*, vol. 26, n°8, pp. 1553-1562.

Gros M., Petrovic M., Ginebreda A. et Barcelo D. (**2010**), « Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes », *ENVIRONMENT INTERNATIONAL*, vol. 36, n°1, pp. 15-26.

Grung M., Källqvist T., Sakshaug S., Skurtveit S. et Thomas K.V. (**2008**), « Environmental assessment of Norwegian priority pharmaceuticals based on the EMEA guideline », *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 71, n°2, pp. 328-340.

Haguenoer J.-M. (**2010**), « Les résidus de médicaments présentent-ils un risque pour la santé publique? », *Santé publique*, vol. 22, n°3, pp. 325–342.

Halling-Sørensen B. (**2000**), « Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming », *Chemosphere*, vol. 40, n°7, pp. 731–739.

Halling-Sorensen B., Nors Nielsen S., Lanzky P.F., Ingerslev F., Holten Lützhoft H.-C. et Jorgensen S.E. (**1998**), « Occurence, fate, and effects of pharmaceuticals substances in the environment - A review », *Chemosphere*, vol. 36, n°2, pp. 357-393.

Han S., Choi K., Kim J., Ji K., Kim S., Ahn B., Yun J., Choi K., Khim J.S. et Zhang X. (**2010**), « Endocrine disruption and consequences of chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka (Oryzias latipes) and freshwater cladocerans Daphnia magna and Moina macrocopa », *Aquatic Toxicology*, vol. 98, n°3, pp. 256-264.

Heberer T. (**2002a**), « Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data » , *Toxicology letters*, vol. 131, n°1, pp. 5–17.

Heberer T. (**2002b**), « Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water », *Journal of Hydrology*, vol. 266, n°3, pp. 175–189.

Hignite C. et Azarnoff D.L. (**1977**), « Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent » , *Life Sciences*, vol. 20, n°2, pp. 337–341.

Hiroshi Y., Yudai N., Yuki N., Chise K., Tetsuya I., Jun S., Yuji T., Naoyuki Y., Narisato H., Shigeto O. et Norihisa T. (**2007**), « Initial ecological risk assessment of eight selected human pharmaceuticals in Japan », *Environmental Sciences*, vol. 14, n°4, pp. 177-193.

Hoeger B., Köllner B., Dietrich D.R. et Hitzfeld B. (**2005**), « Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (Salmo trutta f. fario) », *Aquatic Toxicology*, vol. 75, n°1, pp. 53-64.

Huggett D.B., Brooks B.W., Peterson B., Foran C.M. et Schlenk D. (**2002**), « Toxicity of Select Beta Adrenergic Receptor-Blocking Pharmaceuticals (B-Blockers) on Aquatic Organisms » , *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 43, n°2, pp. 229-235.

Hughes S.R., Kay P. et Brown L.E. (**2013**), « Global Synthesis and Critical Evaluation of Pharmaceutical Data Sets Collected from River Systems » , *Environmental Science & Technology*, vol. 47, n°2, pp. 661-677.

Hulzebos E., Sijm D., Traas T., Posthumus R. et Maslankiewicz L. (**2005**), « Validity and validation of expert (Q)SAR systems », *SAR and QSAR in Environmental Research*, vol. 16, n°4, pp. 385-401.

Idder S. (**2012**), « État de la contamination des eaux du département de la Dordogne par les résidus de médicaments », Thèse de doctorat, Bordeaux 1, http://ori-oai.u-bordeaux1.fr/pdf/2012/IDDER_SALIMA_2012.pdf.

Ifremer (**2002**), « L'eau dans la maison et dans la ville » , http://mairieaigny.chez-alice.fr/ecole/projets2010/classeeau11/eaumaisonville.html.

INERIS (**2007**), « Les substances dangereuses. Eco-toxicologie et norme de qualité », 2007, http://archimer.ifremer.fr/doc/2007/publication-6337.pdf.

INERIS (**2010**), « Note de synthèse - Réseau européen de laboratoires de référence, de centres de recherche et d'organismes associés pour la surveillance des substances émergents dans l'environnement », n°DSE-10-102844-05151A, http://www.onema.fr/sites/default/files/pdf/2010_B006.pdf.

IRSTEA (**2014**), « IRSTEA » , http://www.irstea.fr/lespace-jeunesse/approfondir/lepuration-des-eaux-usees-les-avancees/les-stations-depuration-boues.

Isidori M., Lavorgna M., Nardelli A., Parrella A., Previtera L. et Rubino M. (**2005**), « Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products » , *Science of The Total Environment*, vol. 348, n°1-3, pp. 93-101.

Isidori M., Lavorgna M., Nardelli A., Pascarella L. et Parrella A. (**2005**), « Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms » , *Science of The Total Environment*, vol. 346, n°1-3, pp. 87-98.

Janusinfo (**2016**) , « Classification - Janusinfo », http://www.janusinfo.se/Beslutsstod/Environment-and-Pharmaceuticals/Dokument/Classification/.

Jjemba P.K. (**2006**), « Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment » , *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 63, n°1, pp. 113-130.

Jones O.A., Lester J.N. et Voulvoulis N. (**2005**), « Pharmaceuticals: a threat to drinking water? », *Trends in Biotechnology*, vol. 23, n°4, pp. 163-167.

Jorgensen S.E. et Halling-Sorensen B. (**2000**), « Drugs in the environment », *Chemosphere*, vol. 40, pp. 691-699.

Kidd K.A., Blanchfield P.J., Mills K.H., Palace V.P., Evans R.E., Lazorchak J.M. et Flick R.W. (**2007**), « Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen », *PNAS*, vol. 104, n°21, pp. 8897-8901.

Kim P., Park Y., Ji K., Seo J., Lee S., Choi K., Kho Y., Park J. et Choi K. (**2012**), « Effect of chronic exposure to acetaminophen and lincomycin on Japanese medaka (Oryzias latipes)

and freshwater cladocerans Daphnia magna and Moina macrocopa, and potential mechanisms of endocrine disruption », *Chemosphere*, vol. 89, n°1, pp. 10-18.

Kools S.A.E., Moltmann J.F. et Knacker T. (**2008**), « Estimating the use of veterinary medicines in the European union », *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 50, n°1, pp. 59-65.

Kosciusko-Morizet N. et Delaporte S. (**2011**), « Lancement du Plan National sur les Résidus de Médicaments dans l'Eau (PNRM) », Dossier de presse, http://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/Lancement_du_Plan_National_sur_les_Residus_de_Medicaments_dans_l_Eau_PNRM_.pdf.

Kümmerer K. (**2001**), « Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review », *Chemosphere*, vol. 45, pp. 957-969.

Kümmerer, K. (dir.) (**2004**) , *Pharmaceuticals in the Environment*, Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg.

Kümmerer K. (**2009**), « The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges » , *Journal of Environmental Management*, vol. 90, n°8, pp. 2354-2366.

LEEM (**2014**), « Les entreprises du médicaments en France. Bilan économique - édition 2014 » , *Edition 2014*, http://www.leem.org/sites/default/files/LEEM_Elements_chiffres_2014_part01+02_HD.pdf.

LEEM (**2015**), « Les entreprise du médicament en France. Bilan économique - édition 2015 » , *Edition 2015*, https://www.apmnews.com/documents/201507151001110.LEEM_RapEco_2014.pdf.

Lewis M.A. (**1995**), « Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review », *Environmental Pollution*, vol. 87, n°3, pp. 319–336.

LIR-ESSEC (**2012**), « 10 ans de consommation de médicaments en Europe », http://www.lir.asso.fr/images/content/Documents/Etudes/SYNTHESE_ETUDE %20CONSOMMATION_LIR_ESSEC_JUILLET_2012_VF.pdf.

Loos R., Gawlik B.M., Locoro G., Rimaviciute E., Contini S. et Bidoglio G. (**2009**), « EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters », *Environmental Pollution*, vol. 157, n°2, pp. 561-568.

Lopez B. et Laurent A. (**2013**), « Campagne exceptionnelle d'analyse des substances présentes dans les eaux souterraines de métropole. Rapport final. », n°BRGM/RP-61853-FR, http://www.eaufrance.fr/IMG/pdf/campexESO_2011_201306.pdf..

Lopez-Serna R., Jurado A., Vazquez-Sune E., Carrera J., Petrovic M. et Barcelo D. (**2013**), « Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban groundwaters underlying the metropolis of Barcelona, Spain » , *ENVIRONMENTAL POLLUTION*, vol. 174, pp. 305-315.

Louvet J.-N. (**2010**), « Effets des antibiotiques sur le procédé d'épuration par boues activées. Etude du cas de l'érythromycine, du floc bactérien au réacteur biologique », Thèse de doctorat, CNRS-Nancy Université-INPL, Nancy, France, http://www.ptibc-imaging.fr/wp-

content/uploads/THESE-JN-LOUVET.pdf.

Luis Campos J., Garrido J.M., Méndez R. et Lema J.M. (**2001**), « Effect of two broad-spectrum antibiotics on activity and stability of continuous nitrifying system » , *Applied biochemistry and biotechnology*, vol. 95, n°1, pp. 1–10.

Luo Y., Xu L., Rysz M., Wang Y., Zhang H. et Alvarez P.J.J. (**2011**), « Occurrence and Transport of Tetracycline, Sulfonamide, Quinolone, and Macrolide Antibiotics in the Haihe River Basin, China », *Environmental Science & Technology*, vol. 45, n°5, pp. 1827-1833.

Maes J., Liquete C., Teller A., Erhard M., Paracchini M.L., Barredo J.I., Grizzetti B., Cardoso A., Somma F., Petersen J.-E., Meiner A., Gelabert E.R., Zal N., Kristensen P., Bastrup-Birk A., Biala K., Piroddi C., Egoh B., Degeorges P., Fiorina C., Santos-Martín F., Naruševičius V., Verboven J., Pereira H.M., Bengtsson J., Gocheva K., Marta-Pedroso C., Snäll T., Estreguil C., San-Miguel-Ayanz J., Pérez-Soba M., Grêt-Regamey A., Lillebø A.I., Malak D.A., Condé S., Moen J., Czúcz B., Drakou E.G., Zulian G. et Lavalle C. (**2016**), « An indicator framework for assessing ecosystem services in support of the EU Biodiversity Strategy to 2020 », *Ecosystem Services*, vol. 17, pp. 14-23.

Martinović D., Hogarth W.T., Jones R.E. et Sorensen P.W. (**2007**), « Environmental estrogens suppress hormones, behavior, and reproductive fitness in male fathead minnows », *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 26, n°2, pp. 271–278.

Maurer M., Escher B., Richle P., Schaffner C. et Alder A. (**2007**), « Elimination of β-blockers in sewage treatment plants », *Water Research*, vol. 41, n°7, pp. 1614-1622.

McArdell C.S., Molnar E., Suter M.J.-F. et Giger W. (**2003**), « Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland », *Environmental Science & Technology*, vol. 37, n°24, pp. 5479-5486.

Metcalfe C.D., Metcalfe T.L., Kiparissis Y., Koenig B.G., Khan C., Hughes R.J., Croley T.R., March R.E. et Potter T. (**2001**), « Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (Oryzias latipes) », *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 20, n°2, pp. 297–308.

Miège C., Gabet V. et Coquery M. (**2011**), « Analyse de 5 hormones estrogéniques au niveau du bassin versant de l'Orge »,.

Migliore L., Civitareale C., Brambilla G. et Dojmi Di Delupis G. (**1997**), « Toxicity of several important agricultural antibiotics to Artemia », *Wat. Res.*, vol. 31, n°7, pp. 1801-1806.

Ministère des solidarités et de la santé (**2015**), « Santé Environnement, 3ème plan national 2015-2019 », http://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/PNSE3_v_finale.pdf.

Molander L., Ågerstrand M. et Rudén C. (**2009**), « WikiPharma – A freely available, easily accessible, interactive and comprehensive database for environmental effect data for pharmaceuticals », *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 55, n°3, pp. 367-371.

Moulin G. et Chevance A. (**2015**), « Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2014. Rapport annuel », https://www.anses.fr/fr/system/files/ANMV-Ra-Antibiotiques2014.pdf.

NCBI (**2017**), « The PubChem Project », https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/.

Nieto E., Blasco J., González-Ortegón E., Drake P. et Hampel M. (**2013**), « Is Atyaephyra desmarestii a useful candidate for lethal and sub-lethal toxicity tests on pharmaceutical compounds? », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 263, pp. 256-265.

NORMAN (**2016**), « Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances - NORMAN », http://www.norman-network.net/?q=node/19.

Oaks J.L., Gilbert M., Virani M.Z., Watson R.T., Meteyer C.U., Rideout B.A., Shivaprasad H.L., Ahmed S., Chaudhry M.J.I., Arshad M. et others (**2002**), « Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan », *Nature*, vol. 40, pp. 65–81.

OECD (**2016**), « OECD.Stat », *OECD.Stat*., http://stats.oecd.org/Index.aspx?lang=fr.

Ortiz de García S.A., Pinto Pinto G., García-Encina P.A. et Irusta-Mata R. (**2014**), « Ecotoxicity and environmental risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments and wastewater treatment plants », *Ecotoxicology*, vol. 23, n°8, pp. 1517-1533.

Ortiz de García S., García-Encina P.A. et Irusta-Mata R. (**2017**), « The potential ecotoxicological impact of pharmaceutical and personal care products on humans and freshwater, based on USEtox™ characterization factors. A Spanish case study of toxicity impact scores », *Science of The Total Environment*, vol. 609, pp. 429-445.

Ortiz de García S., Pinto Pinto G., García Encina P. et Irusta Mata R. (**2013**), « Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain », *Science of The Total Environment*, vol. 444, pp. 451-465.

Packer J.L., Werner J.J., Latch D.E., McNeill K. et Arnold W.A. (**2003**), « Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, diclofenac, clofibric acid, and ibuprofen », *Aquatic Sciences - Research Across Boundaries*, vol. 65, n°4, pp. 342-351.

Pal A., Gin K.Y.-H., Lin A.Y.-C. et Reinhard M. (**2010**), « Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects », *Science of The Total Environment*, vol. 408, n°24, pp. 6062-6069.

Pan M., Wong C.K.C. et Chu L.M. (**2014**), « Distribution of Antibiotics in Wastewater-Irrigated Soils and Their Accumulation in Vegetable Crops in the Pearl River Delta, Southern China », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 62, n°46, pp. 11062-11069.

Parlement européen, Conseil de l'Union européenne (**2007**), « Rectificatif au règlement (CE) n o 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), instituant une agence européenne des produits chimiques, modifiant la directive 1999/45/CE et abrogeant le règlement (CEE) n o 793/93 du Conseil et le règlement (CE) n o 1488/94 de la Commission ainsi que la directive 76/769/CEE du Conseil et les directives 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE et 2000/21/CE de la Commission (JO L 396 du 30.12.2006) » , *JO L136*, pp. 3-280, eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex:32006R1907R(01).

Parrott J.L. et Blunt B.R. (**2005**), « Life-cycle exposure of fathead minnows (Pimephales promelas) to an ethinylestradiol concentration below 1 ng/L reduces egg fertilization success and demasculinizes males », *Environmental Toxicology*, vol. 20, n°2, pp. 131-141.

Pascoe D., Karntanut W. et Müller C.T. (**2003**), « Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian Hydra vulgaris » , *Chemosphere*, vol. 51, n°6, pp. 521-528.

Paxeus N., Bester K. et El-taliawy H. (**2016**), « Temporal variations and trends in loads of commonly used pharmaceuticals to large wastewater treatment plants in Sweden, a case study (Ryaverket) », *Water Science and Technology*, vol. 73, n°12, pp. 3049-3056.

Payet J. (**2013**), « Aiida. Guide méthodologique », Tools for environment, http://aiida.tools4env.com/public/doc/Guide_methodologique_v1.0.pdf.

Petrovic M., Lopez De Alda M.J., Diaz-Cruz S., Postigo C., Radjenovic J., Gros M. et Barcelo D. (**2009**), « Fate and removal of pharmaceuticals and illicit drugs in conventional and membrane bioreactor wastewater treatment plants and by riverbank filtration », *PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY A-MATHEMATICAL PHYSICAL AND ENGINEERING SCIENCES*, vol. 367, n°1904, pp. 3979-4003.

Pomiès M., Choubert J.-M., Wisniewski C. et Coquery M. (**2013**), « Modelling of micropollutant removal in biological wastewater treatments: A review », *Science of The Total Environment*, vol. 443, pp. 733-748.

Quinn B., Gagné F. et Blaise C. (**2008**), « An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, Hydra attenuata » , *Science of The Total Environment*, vol. 389, n°2-3, pp. 306-314.

Rabiet M., Togola A., Brissaud F., Seidel J.-L., Budzinski H. et Elbaz-Poulichet F. (**2006**), « Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment » , *Environmental Science & Technology*, vol. 40, n°17, pp. 5282-5288.

Radjenovic J., Petrovic M. et Barcelo D. (**2007**), « Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor » , *ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY*, vol. 387, n°4, pp. 1365-1377.

Radjenovic J., Petrovic M. et Barcelo D. (**2009**), « Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment », *WATER RESEARCH*, vol. 43, n°3, pp. 831-841.

REGARD (**2015**), « Description des sites d'études et des protocoles d'expérimentation », n°Livrable 1.1.

Renner R. (**2002**) , *Drug mixtures prove harmful*, ACS Publications, pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es022345i.

Réseau sentinelles, INSERM/UPMC (**2013**), « Réseau Sentinelles », https://websenti.u707.jussieu.fr/sentiweb/.

Reuschenbach P., Silvani M., Dammann M., Warnecke D. et Knacker T. (**2008**), « ECOSAR model performance with a large test set of industrial chemicals », *Chemosphere*, vol. 71, n°10, pp. 1986-1995.

Ribera D. et Taberly J. (**2011**), « Mélanges de polluants, toxicité, écotoxicité et évaluation des risques », *Record*, n°08-0668/1A.

Riemenschneider C., Al-Raggad M., Moeder M., Seiwert B., Salameh E. et Reemtsma T. (**2016**), « Pharmaceuticals, Their Metabolites, and Other Polar Pollutants in Field-Grown Vegetables Irrigated with Treated Municipal Wastewater », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 64, n°29, pp. 5784-5792.

Roepke T.A., Snyder M.J. et Cherr G.N. (**2005**), « Estradiol and endocrine disrupting compounds adversely affect development of sea urchin embryos at environmentally relevant concentrations », *Aquatic Toxicology*, vol. 71, n°2, pp. 155-173.

Roessink I. et Peeters E. (**2016**), « Assessing effects of pharmaceuticals on aquatic ecosystems »,.

Roig B., Touraud É., Ternes T., Loeffler D., Schluesener M., Zabczynski S. et Buntner D. (**2009**), « Élimination des produits pharmaceutiques dans les eaux usées européennes », vol. 715, pp. 57-62.

Sabourin L., Duenk P., Bonte-Gelok S., Payne M., Lapen D.R. et Topp E. (**2012**), « Uptake of pharmaceuticals, hormones and parabens into vegetables grown in soil fertilized with municipal biosolids », *Science of The Total Environment*, vol. 431, pp. 233-236.

Sacher F., Lange F.T., Brauch H.-J. et Blankenhorn I. (**2001**), « Pharmaceuticals in groudwaters. Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany », *Journal of Chromatography A*, vol. 938, n°199-210.

Sanderson H. (**2003**), « Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening » , *Toxicology Letters*, vol. 144, n°3, pp. 383-395.

Sanderson H. et Thomsen M. (**2009**), « Comparative analysis of pharmaceuticals versus industrial chemicals acute aquatic toxicity classification according to the United Nations classification system for chemicals. Assessment of the (Q)SAR predictability of pharmaceuticals acute aquatic toxicity and their predominant acute toxic mode-of-action », *Toxicology Letters*, vol. 187, n°2, pp. 84-93.

SANDRE (**2012**), « Sandre Portail national d'accès aux référentiels sur l'eau | Fiche cours d'eau » , http://services.sandre.eaufrance.fr/Courdo/Fiche/client/fiche_courdo.php?CdSandre=O---0000.

Schulman L.J., Sargent E.V., Naumann B.D., Faria E.C., Dolan D.G. et Wargo J.P. (**2002**), « A Human Health Risk Assessment of Pharmaceuticals in the Aquatic Environment », *Human and Ecological Risk Assessment*, vol. 8, n°4, pp. 657-680.

Schwaiger J., Ferling H., Mallow U., Wintermayr H. et Negele R.D. (**2004**), « Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac » , *Aquatic Toxicology*, vol. 68, n°2, pp. 141-150.

SIEAG (**2006**), « SIEAG - Portail des Données sur l'Eau du Bassin Adour-Garonne », adour-garonne.eaufrance.fr/coursdeau/O---0000.

Silva B.F. da, Jelic A., López-Serna R., Mozeto A.A., Petrovic M. et Barceló D. (**2011**), « Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain », *Chemosphere*, vol. 85, n°8, pp. 1331-1339.

SIMV (**2016**), « Les chiffres-clefs du marché du médicament vétérinaire | SIMV »,

www.simv.org/les-chiffres-clefs-du-march%C3%A9-du-m%C3%A9dicament-v%C3%A9t %C3%A9rinaire .

Soulier C., Gabet V., Lardy S., Lemenach K., Pardon P., Esperanza M., Miège C., Choubert J.M., Martin S. et Bruchet A. (**2011**), « Zoom sur les substances pharmaceutiques: présence, partition, devenir en station d'épuration », *Techniques Sciences Methodes-Genie Urbain Genie Rural*, n°1, pp. 63.

Stanley J.K., Ramirez A.J., Chambliss C.K. et Brooks B.W. (**2007**), « Enantiospecific sublethal effects of the antidepressant fluoxetine to a model aquatic vertebrate and invertebrate », *Chemosphere*, vol. 69, n°1, pp. 9-16.

Steger-Hartmann T., Kümmerer K. et Hartmann A. (**1997**), « Biological degradation of Cyclophosphamide and its occurrence in sewage water », *Ecotoxicology and Environmental Safety*, n°36, pp. 174-179.

Stockholm County Council (**2014**), « Environmentally classified pharmaceuticals 2014-2015 », Stockholms läns landsting, http://www.janusinfo.se/Global/Miljo_och_lakemedel/Miljobroschyr_2014_engelsk_webb.pdf.

Tamtam F., Mercier F., Le Bot B., Eurin J., Tuc Dinh Q., Clément M. et Chevreuil M. (**2008**), « Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions », *Science of The Total Environment*, vol. 393, n°1, pp. 84-95.

Tauxe-Wuersch A., De Alencastro L.F., Grandjean D. et Tarradellas J. (**2005**), « Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment », *Water Research*, vol. 39, n°9, pp. 1761-1772.

Ternes T.A. (**1998**), « Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers », *Water research*, vol. 32, n°11, pp. 3245–3260.

Ternes T.A., Herrmann N., Bonerz M., Knacker T., Siegrist H. et Joss A. (**2004**), « A rapid method to measure the solid–water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge », *Water Research*, vol. 38, n°19, pp. 4075-4084.

Tissier C. et Marchand M. (**2007**), « L'analyse du risque chimique en milieu marin: l'approche méthodologique », *Environnement, Risques & Santé*, vol. 6, n°2, pp. 127.

Togola A. (**2006**) , *Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les ecosystèmes aquatiques*, Thèse de doctorat, Université de Bordeaux 1, 332 p.

Togola A. et Budzinski H. (**2008**), « Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples », *JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A*, vol. 1177, n°1, pp. 150-158.

Toulouse Métropole (**s. d.**), « Ginestous-Garonne, à la pointe du traitement des eaux usées - Toulouse Métropole » , http://www.toulouse-metropole.fr/-/ginestous-garonne-a-la-pointe-du-traitement-des-eaux-usees.

Touraud É. (**2012**), « Conclusions du projet KNAPPE. Le concept d'écopharmacovigilance », Atelier sur les Micropolluants, Université de Lausanne, juin 2012.

Touraud É. et Roig B. (**2008**), « Knowledge and Need Assessment on Pharmaceutical Products in Environmental Waters ».

Triebskorn R., Casper H., Scheil V. et Schwaiger J. (**2007**), « Ultrastructural effects of

pharmaceuticals (carbamazepine, clofibric acid, metoprolol, diclofenac) in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and common carp (Cyprinus carpio) », *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 387, n°4, pp. 1405-1416.

US EPA (**2014**), « ECOTOX - MED - US EPA » , https://cfpub.epa.gov/ecotox/help.cfm?sub=about.

Vazquez-Roig P., Andreu V., Blasco C. et Picó Y. (**2012**), « Risk assessment on the presence of pharmaceuticals in sediments, soils and waters of the Pego–Oliva Marshlands (Valencia, eastern Spain) », *Science of The Total Environment*, vol. 440, pp. 24-32.

Véolia Eau (**2010**), « Usine de dépollution des eaux usées Ginestous-Garonne à Toulouse », leclerc.ecollege.haute-garonne.fr/lectureFichiergw.do?ID_FICHIER=350.

Vidal (**2017**), « VIDAL - La base de données en ligne des prescripteurs libéraux », https://www.vidal.fr/.

Vieno N., Tuhkanen T. et Kronberg L. (**2007**), « Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland », *Water Research*, vol. 41, n°5, pp. 1001-1012.

Vieno N.M., Tuhkanen T. et Kronberg L. (**2005**), « Seasonal Variation in the Occurrence of Pharmaceuticals in Effluents from a Sewage Treatment Plant and in the Recipient Water », *Environmental Science & Technology*, vol. 39, n°21, pp. 8220-8226.

Vieno N.M., Tuhkanen T. et Kronberg L. (**2006**), « Analysis of neutral and basic pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry detection » , *Journal of Chromatography A*, vol. 1134, n°1-2, pp. 101-111.

Vulliet E. et Cren-Olivé C. (**2011**), « Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption », *Environmental Pollution*, vol. 159, n°10, pp. 2929-2934.

Vystavna Y., Huneau F., Grynenko V., Vergeles Y., Celle-Jeanton H., Tapie N., Budzinski H. et Le Coustumer P. (**2012**), « Pharmaceuticals in Rivers of Two Regions with Contrasted Socio-Economic Conditions: Occurrence, Accumulation, and Comparison for Ukraine and France », *WATER AIR AND SOIL POLLUTION*, vol. 223, n°5, pp. 2111-2124.

Wang W. (**1990**), « Literature review on duckweed toxicity testing » , *Environmental Research*, vol. 52, n°1, pp. 7–22.

Webb S., Ternes T., Gibert M. et Olejniczak K. (**2003**), « Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water », *Toxicology Letters*, vol. 142, n°3, pp. 157-167.

Weber F.-A., Beek T. aus der, Bergmann A., Carius A., Grüttner G., Hickman S., Ebert I., Hein A., Küster A., Rose J., Koch-Jugl J. et Stolzenberg H.-C. (**2014**), « Les produits pharmaceutiques dans l'environnement - perspective à l'échelle mondiale. Présence, effets, et action concertée potentielle au titre de la SAICM », Umwelt Bundesamt, https://www.adelphi.de/en/system/files/mediathek/bilder/pharmaceuticals_fr_141210_screen.pdf.

WHOCC (**2016**), « WHOCC - ATC/DDD Index » , *WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology,* https://www.whocc.no/atc_ddd_index/.

Winkler M., Lawrence J.R. et Neu T.R. (**2001**), « Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm systems », *Water Research*, vol. 35, n°13, pp. 3197–3205.

Winter M.J., Lillicrap A.D., Caunter J.E., Schaffner C., Alder A.C., Ramil M., Ternes T.A., Giltrow E., Sumpter J.P. et Hutchinson T.H. (**2008**), « Defining the chronic impacts of atenolol on embryo-larval development and reproduction in the fathead minnow (Pimephales promelas) », *Aquatic Toxicology*, vol. 86, n°3, pp. 361-369.

Wu X., Conkle J.L., Ernst F. et Gan J. (**2014**), « Treated Wastewater Irrigation: Uptake of Pharmaceutical and Personal Care Products by Common Vegetables under Field Conditions », *Environmental Science & Technology*, vol. 48, n°19, pp. 11286-11293.

Yang L.-H., Ying G.-G., Su H.-C., Stauber J.L., Adams M.S. et Binet M.T. (**2008**), « Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga pseudokirchneriella subcapitata » , *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 27, n°5, pp. 1201–1208.

Zuccato E., Calamari D., Natangelo M. et Fanelli R. (**2000**), « Presence of therapeutic drugs in the environment », *The Lancet*, vol. 355, n°9217, pp. 1789–1790.

Annexes

Liste des annexes

Annexe 1. Caractéristiques des molécules pharmaceutiques (principes actifs, métabolites et précurseurs) cités dans le manuscrit. ….....329
Annexe 2. Publication STOTEN sur la BDD….....338
Annexe 3. Filières de traitement eau et boue de la STEU de Ginestous….....353
Annexe 4. Description des traitements de la filière eau de la STEU de Ginestous.....354
Annexe 5. Calendriers détaillés des prélèvements réalisés en STEU et dans le milieu naturel en 2015, 2016 et 2017….....356
Annexe 6. Période d'analyse des échantillons….....359
Annexe 7. Références bibliographiques des données de dangers intégrées dans la BDD. « idreference » est une colonne de la table « references » de la BDD et constitue une clé primaire. Cette valeur est ensuite reportée dans les tables « toxicites » et « pn ecvalue » afin de pouvoir retrouver les références associées à chacune des valeurs de ces deux tables….....362
Annexe 8. Nombre de données écotoxicologiques référencées dans la BDD utilisant les poissons, algues, crustacés, bactéries et autres organismes pour chaque molécule ayant fait l'objet des recherches analytiques. Ces données concernent les bio-essais et les modélisations QSAR pour les toxicités aiguës et chroniques. N. d. (= no data) signifie qu'il n'y a pas encore de donnée dans la BDD pour le couple molécule/organisme correspondant….....377
Annexe 9. Résultats bruts de la période 1….....378
Annexe 10. Résultats bruts période 2….....380
Annexe 11. Résultats bruts de la période 3. ….....383
Annexe 12. Occurrence (%), concentrations moyennes (ng.L-1) et coefficient de variation (CV) (%) des échantillons d'eaux usées brutes et traitées de la STEU de Seilh (n = nombre d'échantillon)….....385
Annexe 13. Rendements d'élimination des RM à la STEU de Seilh.....386
Annexe 14. Diagrammes en boîte des flux des RM en fonction des stations. Les RM représentés ici ne présentent pas de différences de flux significatives entre les différentes stations de prélèvements. ….....387
Annexe 15. Diagrammes en boîte des concentrations des RM en fonction des stations. Les RM représentés ici ne présentent pas de différences de concentrations significatives entre les différentes stations de prélèvements. ….....388
Annexe 16. Diagrammes en boîte des MEC et des PEC. Les RM représentés ici ne présentent pas de différences significatives entre les MEC et les PEC….....389

Annexe 17. Publication STOTEN soumise….....390
Annexe 18. Discussion sur l'exposition des eaux usées et de la Garonne pour les classes thérapeutiques dont les risques pour la Garonne toulousaine n'ont pas été démontrés….....408

Annexe 1. Caractéristiques des molécules pharmaceutiques (principes actifs, métabolites et précurseurs) cités dans le manuscrit.

Ce tableau sectionné en huit parties pour favoriser la lisibilité des données, présente un récapitulatif des principes actifs, métabolites et précurseurs cités au moins une fois dans ce manuscrit de thèse. Dans ce tableau, les molécules sont classées par ordre alphabétique, et non par ordre d'apparition dans le mémoire. Pour une molécule donnée, les informations disponibles dans ce tableau renseignent sur :

- la nature de la molécule (principe actif, métabolite, précurseur ou excipient de médicaments) ;
- la famille thérapeutique ;
- la classe ATC niveau 1 ;
- les utilisations (vétérinaires, humaines, hospitalières, ville) ;
- et, pour les molécules dispensées à l'hôpital, si les éliminations par l'organisme se font principalement en ville.

Pour les métabolites ou précurseurs non principes actifs de médicaments, les familles thérapeutiques font référence à la molécule principe actif respectivement mère ou fille. La classe ATC est mentionnée pour les principes actifs ayant une indication en médecine humaine (+/- animale) dans le monde, qu'ils soient ou non commercialisés en France. En revanche, si un principe actif est commercialisé dans le monde dans des spécialités de différentes classes ATC, celles-ci n'ont été mentionnées que pour les spécialités commercialisées en France. Si les principes actifs ont une utilisation seulement en médecine vétérinaire, ils n'ont pas de classe ATC, mais une classe ATCvet, qui n'a pas été renseignée. Pour les principes actifs utilisés en médecine humaine et animale, la classe ATCvet n'a pas été renseignée non plus pour ne pas provoquer de confusion avec la classe ATC. Les données présentées dans ce tableau montrent que certains principes actifs utilisés dans des médicaments à usage humain et/ou vétérinaire peuvent être aussi des métabolites ou précurseurs. Certaines molécules peuvent également être retrouvées en tant qu'excipients dans des médicaments et ceci est précisé dans le tableau. La partie humaine/ville/hôpital n'est renseignée que pour les médicaments commercialisés en France. Pour les principes actifs utilisés en médecine humaine, sauf dans de rares exceptions, tous les médicaments disponibles en ville (fournis par les pharmacies d'officine ou les pharmacies hospitalières aux patients non hospitalisés) sont disponibles également pour les patients hospitalisés. Certains médicaments sont toutefois principalement utilisés et éliminés à l'hôpital (X+). Lorsqu'un médicament est administré aussi bien en ville qu'à l'hôpital, si l'élimination par l'organisme se fait principalement en ville, alors « Ville » est indiqué dans la colonne « Elimination ». Dans ce cas, les patients ne se rendent à l'hôpital que pour réaliser une cure sur la journée ou la demi-journée, et rentrant au domicile le jour-même.

Sources :

- métabolite, précurseur, excipient, famille thérapeutique, utilisation en médecine humaine, à l'hôpital et/ou en ville, élimination du médicament en ville si administré à l'hôpital (Vidal, 2017) ;
- classe ATC niveau 1 : index 2017 des classes ATC (WHOCC, 2016) ;
- utilisation en médecine vétérinaire : index des Médicaments vétérinaires autorisés en France (ANSES, 2017).

Molécule	Métabolite de	Précurseur de	Excipient de médicaments	Famille thérapeutique	Classe ATC niveau 1	Vétérinaire	Humain	Hôpital	Ville	Elimination
17 alpha-estradiol				Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles		Non commercialisé en France			
17 beta-estradiol				Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles		X	X	X	
18F-fludéoxyglucose				Agent radiopharmaceutique à usage diagnostique	Divers		X	X		
Abacavir				Antirétroviral	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Abiratérone				Antihormone	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Acébutolol				Bétabloquant	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Acide acetylsalicylique (Aspirine)				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Système nerveux	X	X	X	X	
Acide acetylsalicylique (Aspirine)				Antiagrégant plaquettaire	Sang et organes hématopoiétiques		X	X	X	
Acide amidotrizoique (ou amidotrizoate ou acide diatrizoïque)				Produit de contraste	Divers		X	X	X	
Acide clofibrique	Clofibrate			Hypolipémiant, fibrate						
Acide fénofibrique	Fenofibrate			Hypolipémiant, fibrate						
Acide gentisique	Acide acetylsalicylique (Aspirine)		X	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)						
Acide salicylique	Acide acetylsalicylique (Aspirine)	Acide acetylsalicylique (Aspirine)		Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Organes sensoriels		X	X	X	
Acide salicylique	Acide acetylsalicylique (Aspirine)	Acide acetylsalicylique (Aspirine)		Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Médicaments utilisés en dermatologie	X	X	X	X	
Adalimumab				Anticorps monoclonal	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Alfa I antitrypsine				Antifibrinolytique	Sang et organes hématopoiétiques		X	X	X	Ville
Alglucosidase alfa				Enzyme	Tractus digestif et métabolisme		X	X		Ville
Alprazolam				Benzodiazépine	Système nerveux		X	X	X	Ville
Amiodarone				Antiarythmique	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Amitriptyline				Antidépresseur	Système nerveux		X	X	X	
Amlodipine				Dihydropyridine	Système cardio-vasculaire	X	X	X	X	
Amoxicilline +/- inhibiteur d'enzyme				Antibiotique, Bêta-lactamine, pénicilline	Anti-infectieux (usage systémique)	X	X	X	X	
Ampicilline				Antibiotique, Bêta-lactamine, pénicilline	Anti-infectieux (usage systémique)	X	X	X	X	
Androstènedione		Testostérone (naturel)		Hormone sexuelle						
Androstérone	Testostérone (naturel)			Hormone sexuelle						
Anhydro-erythromycine	Erythromycine			Antibiotique, Macrolide						

Molécule	Métabolite de	Précurseur de	Excipient de médicaments	Famille thérapeutique	Classe ATC niveau 1	Vétérinaire	Humain	Hôpital	Ville	Elimination
Aripiprazole				Antipsychotique	Système nerveux		X	X	X	
Associations (solutions pour nutrition parentérale)				Solution pour nutrition parentérale	Sang et organes hématopoiétiques	X	X	X	X	
Atenolol				Bétabloquant	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Atorvastatine				Hypolipémiant, inhibiteur de l'HMG-CoA réductase (statine)	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Azacitidine				Antinéoplasique	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Azithromycine				Antibiotique, Macrolide	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Bétaxolol				Bétabloquant	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Bétaxolol				Bétabloquant	Organes sensoriels		X	X	X	
Bevacizumab				Anticorps monoclonal	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X		
Bézafibrate				Hypolipémiant, fibrate	Système cardio-vasculaire		X	X	X	Ville
Bisoprolol				Bétabloquant	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Bortezomib				Antinéoplasique	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Bosentan				Antihypertenseur pour l'Hypertension Artérielle Pulmonaire	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Bromure de tiotropium				Anticholinergique	Système respiratoire		X	X	X	Ville
Buflomedil				Vasodilatateur périphérique	Système cardio-vasculaire		Non commercialisé en France			
Carazolol				Bétabloquant		X				
Carbamazépine				Antiépileptique	Système nerveux		X	X	X	
Caspofungine				Antimycosique, echinocandine	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X+	X	
Cefotaxime				Antibiotique, Bêta-lactamine, céphalosporine	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Ceftriaxone				Antibiotique, Bêta-lactamine, céphalosporine	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Cefuroxime				Antibiotique, Bêta-lactamine, céphalosporine	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Cétuximab				Anticorps monoclonal	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X		
Chlorhexidine				Antiseptique	Tractus digestif et métabolisme		X	X	X	Ville
Chlorhexidine				Antiseptique	Médicaments utilisés en dermatologie	X	X	X	X	
Chlorhexidine				Antiseptique	Système respiratoire		X	X	X	
Chlortétracycline				Antibiotique, Tétracycline	Médicaments utilisés en dermatologie	X	X	X	X	
Chlortétracycline				Antibiotique, Tétracycline		X				
Chlorure de sodium			X	Electrolyte	Sang et organes hématopoiétiques	X	X	X	X	

Molécule	Métabolite de	Précurseur de	Excipient de médicaments	Famille thérapeutique	Classe ATC niveau 1	Vétérinaire	Humain	Hôpital	Ville	Elimination
Ciprofloxacine				Antibiotique, Quinolone, Fluoroquinolone	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Clarithromycine				Antibiotique, Macrolide	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Clenbutérol				Bronchodilatateur agoniste béta adrénergique		X				
Clofibrate		Acide clofibrique		Hypolipémiant, fibrate	Système cardio-vasculaire		Non commercialisé en France			
Clopidogrel				Antiagrégant plaquettaire	Sang et organes hématopoiétiques		X	X	X	
Codéine				Analgésique opioïde	Système respiratoire	X	X	X	X	
Codéine en association				Analgésique opioïde	Système nerveux		X	X	X	
Colécalciférol				Vitamine D	Système musculo-squelettique		X	X	X	
Colécalciférol				Vitamine D	Tractus digestif et métabolisme	X	X	X	X	
Cyclophosphamide				Antinéoplasique	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Cytarabine				Antinéoplasique	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	Ville
Danofloxacine				Antibiotique, Quinolone, Fluoroquinolone		X				Ville
Darbépoétine alfa				Antianémique	Sang et organes hématopoiétiques		X	X	X	
Darunavir				Antirétroviral	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	Ville
Diazépam		Nordiazépam (ou Nordazépam)		Benzodiazépine	Système nerveux	X	X	X	X	
Diclofénac				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Système musculo-squelettique		X	X	X	Ville
Diclofénac				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Organes sensoriels		X	X	X	
Diclofénac				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Médicaments utilisés en dermatologie		X	X	X	
Diméthylaminophenazone (ou Aminophenazone ou Aminopyrine)				Analgésique non opioïde	Système nerveux		Non commercialisé en France			
Doxépine				Antidépresseur	Système nerveux		X	X	X	
Doxorubicine				Antinéoplasique	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Econazole				Anti-infectieux et antiseptique à usage gynécologique	Système génito-urinaire et hormones sexuelles		X	X	X	
Econazole				Antimycosique, imidazolé	Médicaments utilisés en dermatologie		X	X	X	
Eculizumab				Anticorps monoclonal	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X		Ville
Enoxaparine				Héparine	Sang et organes hématopoiétiques		X	X	X	Ville
Enrofloxacine				Antibiotique, Quinolone, Fluoroquinolone		X				
Époxycarbamazépine	Carbamazépine			Antiépileptique						

Molécule	Métabolite de	Précurseur de	Excipient de médicaments	Famille thérapeutique	Classe ATC niveau 1	Vétérinaire	Humain	Hôpital	Ville	Elimination
Eptacog alfa (activé)				Facteur de la coagulation sanguine	Sang et organes hématopoiétiques		X	X	X	
Erythromycine				Antibiotique, Macrolide	Anti-infectieux (usage systémique)	X	X	X	X	
Erythropoïétine				Antianémique	Sang et organes hématopoiétiques		X	X	X	
Escitalopram				Antidépresseur	Système nerveux		X	X	X	Ville
Esoméprazole				Anti-ulcéreux, Inhibiteur de la Pompe à Protons	Tractus digestif et métabolisme		X	X	X	
Estriol				Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles	X	X	X	X	
Estrone	Estradiol			Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles		Non commercialisé en France			
Etanercept				Immunosuppresseur	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Ethinylestradiol (ou 17 alpha-éthinylestradiol)				Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles	X	X	X	X	Ville
Etofibrate				Hypolipémiant, fibrate	Système cardio-vasculaire		Non commercialisé en France			
Ezétimibe				Hypolipémiant, autre	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Facteur VIII de coagulation				Facteur de la coagulation sanguine	Sang et organes hématopoiétiques		X	X	X	Ville
Fenofibrate		Acide fénofibrique		Hypolipémiant, fibrate	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Fénotérol				Bronchodilatateur agoniste béta adrénergique	Système respiratoire		X	X	X	
Florfenicol				Antibiotique, Phenicol		X				
Fluméquine				Antibiotique, Quinolone	Anti-infectieux (usage systémique)	X	X	X	X	
Fluoxetine				Antidépresseur	Système nerveux	X	X	X	X	
Fluvoxamine				Antidépresseur	Système nerveux		X	X	X	
Formotérol				Bronchodilatateur agoniste béta adrénergique	Système respiratoire		X	X	X	
Furosémide				Diurétique	Système cardio-vasculaire	X	X	X	X	
Gadolinium				Produit de contraste	Divers		X	X	X	
Gemfibrozil				Hypolipémiant, fibrate	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Gestodene				Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles		X	X	X	
Hydrochlorothiazide				Diurétique	Système cardio-vasculaire	X	X	X	X	
Hydroxyibuprofène	Ibuprofène			Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)						
Ibuprofène				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Système cardio-vasculaire		X	X		
Ibuprofène				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Système musculo-squelettique		X	X	X	
Ifosfamide				Antinéoplasique	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X		Ville

Molécule	Métabolite de	Précurseur de	Excipient de médicaments	Famille thérapeutique	Classe ATC niveau 1	Vétérinaire	Humain	Hôpital	Ville	Elimination
Imatinib				Antinéoplasique	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Imiglucérase				Enzyme	Tractus digestif et métabolisme		X	X	X	Ville
Imipramine				Antidépresseur	Système nerveux		X	X	X	
Immunoglobulines humaines polyvalentes				Immunoglobulines	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	Ville
Indinavir				Antirétroviral	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Indométacine				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Système musculo-squelettique		X	X	X	
Indométacine				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Organes sensoriels		X	X	X	
Infliximab				Anticorps monoclonal	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X		Ville
Insuline glargine				Antidiabétique, Insuline	Tractus digestif et métabolisme	X	X	X	X	
Interferon beta-la				Interferon	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Iopamidol				Produit de contraste	Divers		X	X	X	
Ivermectine				Antihelminthique	Antiparasitaires, insecticides et répulsifs	X	X	X	X	
Ivermectine				Antihelminthique	Médicaments utilisés en dermatologie	X	X	X	X	
Josamycine				Antibiotique, Macrolide	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Kétoprofène				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Système musculo-squelettique	X	X	X	X	
Lamivudine				Antirétroviral	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Larmes artificielles				Larmes artificielles	Organes sensoriels	X	X	X	X	
Lénalidomide				Immunosuppresseur	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	Ville
Levonorgestrel				Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles		X	X	X	
Lévothyroxine sodique				Hormone thyroïdienne	Hormones systémiques, à l'exclusion des hormones sexuelles et des insulines	X	X	X	X	
Lidocaïne/Prilocaïne				Anesthésique	Système nerveux	Lidocaïne seule	X	X	X	
Lincomycine				Antibiotique, Lincosamide	Anti-infectieux (usage systémique)	X	Non commercialisé en France			
Liraglutide				Antidiabétique, Non insuline	Tractus digestif et métabolisme		X	X	X	
Lorazépam				Benzodiazépine	Système nerveux		X	X	X	
Losartan				Antagoniste de l'Angiotensine II	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Macrogol				Laxatif osmotique	Tractus digestif et métabolisme	X	X	X	X	
Metformine				Antidiabétique, Non insuline	Tractus digestif et métabolisme		X	X	X	

Molécule	Métabolite de	Précurseur de	Excipient de médicaments	Famille thérapeutique	Classe ATC niveau 1	Vétérinaire	Humain	Hôpital	Ville	Elimination
Méthadone				Agoniste opioïde	Système nerveux	X	X	X	X	
Métoprolol				Bétabloquant	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Métronidazole				Antibiotique, Imidazolé	Tractus digestif et métabolisme		X	X	X	
Métronidazole				Antibiotique, Imidazolé	Médicaments utilisés en dermatologie		X	X	X	
Métronidazole				Antibiotique, Imidazolé	Anti-infectieux (usage systémique)	X	X	X	X	
Nadolol				Bétabloquant	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Naftidrofuryl				Vasodilatateur périphérique	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Naproxène				Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS)	Système musculo-squelettique		X	X	X	
Natalizumab				Anticorps monoclonal	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X		Ville
Névirapine				Antirétroviral	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Nordiazépam (ou Nordazépam)	Diazépam	Oxazepam		Benzodiazépine	Système nerveux		X	X	X	
Noréthindrone (ou Noréthistérone)				Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles		X	X	X	
Norfloxacine				Antibiotique, Quinolone, Fluoroquinolone	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Norfloxacine				Antibiotique, Quinolone, Fluoroquinolone	Organes sensoriels		X	X	X	
Ofloxacine				Antibiotique, Quinolone, Fluoroquinolone	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Ofloxacine				Antibiotique, Quinolone, Fluoroquinolone	Organes sensoriels		X	X	X	
Oléandomycine				Antibiotique, Macrolide	Anti-infectieux (usage systémique)		Non commercialisé en France			
Oméprazole				Anti-ulcéreux, Inhibiteur de la Pompe à Protons	Tractus digestif et métabolisme	X	X	X	X	
Oxazépam	Nordiazépam			Benzodiazépine	Système nerveux		X	X	X	
Oxprenolol				Bétabloquant	Système cardio-vasculaire		Non commercialisé en France			
Oxygène				Gaz médical	Divers	X	X	X	X	
Pantoprazole				Anti-ulcéreux, Inhibiteur de la Pompe à Protons	Tractus digestif et métabolisme		X	X	X	
Paracétamol +/- en association				Analgésique non opioïde	Système nerveux	X	X	X	X	
Parconazole				Antimycosique, imidazolé		X				
Paroxétine				Antidépresseur	Système nerveux		X	X	X	
Pegfilgrastim				Immunostimulant	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	
Pémétrexed				Antinéoplasique	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	Ville

Molécule	Métabolite de	Précurseur de	Excipient de médicaments	Famille thérapeutique	Classe ATC niveau 1	Vétérinaire	Humain	Hôpital	Ville	Elimination
Phénazone				Analgésique non opioïde	Médicaments utilisés en dermatologie		X	X	X	
Phénazone				Analgésique non opioïde	Organes sensoriels		X	X	X	
Phénazone				Analgésique non opioïde	Système respiratoire		X	X	X	
Phloroglucinol				Antispasmodique	Tractus digestif et métabolisme	X	X	X	X	
Pravastatine				Hypolipémiant, inhibiteur de l'HMG-CoA réductase (statine)	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Prednisolone				Anti-Inflammatoire Stéroïdien	Hormones systémiques, à l'exclusion des hormones sexuelles et des insulines	X	X	X	X	
Prednisolone				Anti-Inflammatoire Stéroïdien	Système respiratoire		X	X	X	
Prednisolone				Anti-Inflammatoire Stéroïdien	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Prednisolone				Anti-Inflammatoire Stéroïdien	Système musculo-squelettique		X	X	X	
Prégabaline				Antiépileptique	Système nerveux		X	X	X	
Primidone				Antiépileptique	Système nerveux	X	X	X	X	
Progestérone				Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles	X	X	X	X	
Propranolol				Bétabloquant	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Propyphenazone				Analgésique non opioïde	Système nerveux		Non commercialisé en France			
Ramipril		Ramiprilate		Inhibiteur de l'Enzyme de conversion	Système cardio-vasculaire	X	X	X	X	
Ramiprilate	Ramipril			Inhibiteur de l'Enzyme de conversion						
Ranibizumab				Anticorps monoclonal	Organes sensoriels		X	X	X	Ville
Ranitidine				Anti-ulcéreux, Antagoniste H2	Tractus digestif et métabolisme		X	X	X	
Rispéridone				Antipsychotique	Système nerveux		X	X	X	
Ritonavir				Antirétroviral	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Rituximab				Anticorps monoclonal	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	Ville
Rosuvastatine				Hypolipémiant, inhibiteur de l'HMG-CoA réductase (statine)	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Roxithromycine				Antibiotique, Macrolide	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Salbutamol				Bronchodilatateur agoniste béta adrénergique	Système respiratoire		X	X	X	
Salmétérol				Bronchodilatateur agoniste béta adrénergique	Système respiratoire		X	X	X	
Saquinavir				Antirétroviral	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Simvastatine				Hypolipémiant, inhibiteur de l'HMG-CoA réductase (statine)	Système cardio-vasculaire		X	X	X	

Molécule	Métabolite de	Précurseur de	Excipient de médicaments	Famille thérapeutique	Classe ATC niveau 1	Vétérinaire	Humain	Hôpital	Ville	Elimination
Sitagliptine				Antidiabétique, Non insuline	Tractus digestif et métabolisme		X	X	X	
Sotalol				Bétabloquant	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Somatropine				Hormone anté-hypophisaire	Hormones systémiques, à l'exclusion des hormones sexuelles et des insulines		X	X	X	
Spiramycine				Antibiotique, Macrolide	Anti-infectieux (usage systémique)	X	X	X	X	
Sulfadiazine				Antibiotique, Sulfamide	Anti-infectieux (usage systémique)	X	X	X	X	
Sulfadiazine				Antibiotique, Sulfamide	Médicaments utilisés en dermatologie		X	X	X	
Sulfadimérazine (ou sulfadimidine)				Antibiotique, Sulfamide	Anti-infectieux (usage systémique)	X	Non commercialisé en France			
Sulfadiméthoxine				Antibiotique, Sulfamide	Anti-infectieux (usage systémique)	X	Non commercialisé en France			
Sulfamérazine				Antibiotique, Sulfamide	Anti-infectieux (usage systémique)		Non commercialisé en France			
Sulfaméthizole				Antibiotique, Sulfamide	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Sulfaméthoxazole				Antibiotique, Sulfamide	Anti-infectieux (usage systémique)	X	X	X	X	
Sulfapyridine				Antibiotique, Sulfamide	Anti-infectieux (usage systémique)	X	Non commercialisé en France			
Ténofovir disoproxil fumarate et emtricitabine en association				Antirétroviral	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	Ville
Terbutaline				Bronchodilatateur agoniste béta adrénergique	Système respiratoire					
Testostérone				Hormone sexuelle	Système génito-urinaire et hormones sexuelles		X	X	X	
Tétracycline				Antibiotique, Tetracycline	Anti-infectieux (usage systémique)	X	Non commercialisé en France			
Timolol				Bétabloquant	Organes sensoriels		X	X	X	
Tocilizumab				Anticorps monoclonal	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	Ville
Tramadol				Analgésique opioïde	Système nerveux		X	X	X	
Trastuzumab				Anticorps monoclonal	Antinéoplasiques et immunomodulateurs		X	X	X	Ville
Trimetazidine				Antiangineux	Système cardio-vasculaire		X	X	X	
Triméthoprime				Antibiotique, Diaminopyrimidine	Anti-infectieux (usage systémique)	X	X	X	X	
Tylosine				Antibiotique, Macrolide		X				
Voriconazole				Antimycosique, triazolé	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X+	X	
Zidovudine				Antirétroviral	Anti-infectieux (usage systémique)		X	X	X	
Zolpidem				Hypnotique	Système nerveux		X	X	X	
Zopiclone				Hypnotique	Système nerveux		X	X	X	

Annexe 2. Publication STOTEN sur la BDD.

Science of the Total Environment 609 (2017) 927–941

Contents lists available at ScienceDirect

Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

Drug residues in urban water: A database for ecotoxicological risk management

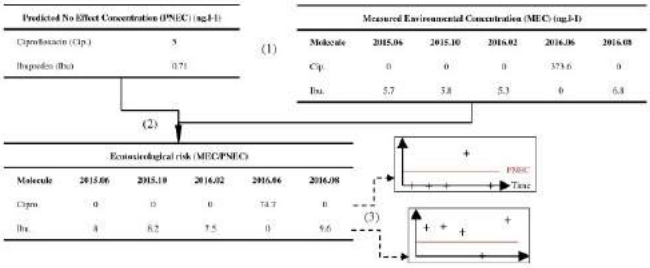
Doriane Destrieux [a,*], François Laurent [b], Hélène Budzinski [c], Julie Pedelucq [c], Philippe Vervier [a], Magali Gerino [d]

[a] Acceptables Avenirs, 20 rue Hermès, 31520 Ramonville Saint-Agne, France
[b] National Institute of the Agronomic Research (INRA), Toulouse, France
[c] Oceanic and Continental Environment and Paleoenvironment Laboratory (EPOC), Bordeaux, France
[d] Functional Ecology and Environment Laboratory (EcoLab), Toulouse, France

HIGHLIGHTS

- Medicines rise adverse effects on various trophic levels of aquatic organisms.
- Data grouping and homogenisation will facilitate ecotoxicological risks management.
- The occurrence of some medicines in the river generated environmental risks.
- 70% of drugs with environmental risks in the river were found downstream WWTP.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:
Received 28 April 2017
Received in revised form 17 June 2017
Accepted 4 July 2017
Available online xxxx

Editor: D. Barcelo

Keywords:
Pharmaceuticals
Ecotoxicological risk
Predicted no effect concentration
Adverse effects
Predicted environmental concentration
Database

ABSTRACT

Human-use drug residues (DR) are only partially eliminated by waste water treatment plants (WWTPs), so that residual amounts can reach natural waters and cause environmental hazards. In order to properly manage these hazards in the aquatic environment, a database is made available that integrates the concentration ranges for DR, which cause adverse effects for aquatic organisms, and the temporal variations of the ecotoxicological risks.
To implement this database for the ecotoxicological risk assessment (ERA database), the required information for each DR is the predicted no effect concentrations (PNECs), along with the predicted environmental concentrations (PECs). The risk assessment is based on the ratio between the PNECs and the PECs. Adverse effect data or PNECs have been found in the publicly available literature for 45 substances. These ecotoxicity test data have been extracted from 125 different sources. This ERA database contains 1157 adverse effect data and 287 PNECs. The efficiency of this ERA database was tested with a data set coming from a simultaneous survey of WWTPs and the natural environment. In this data set, 26 DR were searched for in two WWTPs and in the river. On five sampling dates, concentrations measured in the river for 10 DR could pose environmental problems of which 7 were measured only downstream of WWTP outlets. From scientific literature and measurements, data implementation with unit homogenisation in a single database facilitates the actual ecotoxicological risk assessment, and may be useful for further risk coming from data arising from the future field survey. Moreover, the accumulation of a large ecotoxicity data set in a single database should not only improve knowledge of higher risk molecules but also supply an objective tool to help the rapid and efficient evaluation of the risk.
© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

* Corresponding author.
E-mail address: dorianedestrieux@acceptablesavenirs.eu (D. Destrieux).

http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.043
0048-9697/© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

DR occurrence in WWTP effluents has been highlighted since the 70s (Hignite and Azarnoff, 1977). The improvement of analytical techniques now allows the quantification of DR in the natural environment with concentrations ranging from $ng \cdot l^{-1}$ to $\mu g \cdot l^{-1}$ (Daughton and Ternes, 1999; Jorgensen and Halling-Sorensen, 2000; Kümmerer, 2001). More than 600 active substances have been detected in natural waters on a global scale (Weber et al., 2014) and the measured concentrations vary according to molecules and countries (Hughes et al., 2013). Surface water is probably the natural environment most impacted by these residues, but the presence of medicines is also cited in groundwater (Lopez-Serna et al., 2013), in drinking water (Fick et al., 2009; ANSES, 2011) and in soils (Kümmerer, 2004; Vazquez-Roig et al., 2012).

Nowadays, the DR occurrence in aquatic environments and the related hazards are better assessed due to wide improvement of the technology. These DR are found in almost all continental water bodies with environmental concentrations, and WWTPs have been identified as the main route of DR arrival in natural waters. These molecules can come from:

- human medicines, with domestic and hospital use;
- veterinary medicines, with domestic and agricultural use;
- DR production by the chemical-pharmaceutical industries.

DR are new emerging molecules that occur in natural water with potential effects on natural biodiversity. Most ecotoxicological studies showed *in vitro* or *in vivo* impact on several aquatic organisms (Pascoe et al., 2003; Parrott and Blunt, 2005; Martinović et al., 2007; Stanley et al., 2007; Quinn et al., 2008). Environmental effects of the focusing substances should be characterised by PNECs which are calculated by applying an assessment factor (AF) to the standard ecotoxicity test results (Medical Products Agency, 2004). The AF is an expression of the degree of uncertainty in the extrapolation from the test data on a limited number of species to the actual environment (EMA, 2006, p. 200). Organisms recommended by regulation for the ecotoxicological tests are algae, crustaceans and fish (European Chemicals Bureau, 2003). These tests allow the estimation of the PNECs that represent the threshold not to be exceeded to get no effect on the living biota in the natural environment. The PNECs should preferably be obtained from long-term ecotoxicity tests. If long-term data are lacking, short-term ecotoxicity data may be used. AF value depends on the confidence with which PNECs can be derived from the available data. This confidence increases if the concentrations are obtained from ecotoxicity tests, named ecotoxicity data, available for organisms with trophic levels, taxonomic groups and lifestyles representing various feeding strategies. Thus, lower AF values can be used with larger and more relevant datasets than the base-set data. To illustrate, when only short-term toxicity data are available, an AF of 1,000 will be applied to the lowest concentration available irrespective of whether or not the species tested is a standard test organism (EMEA, 2006). A lower assessment factor, from 10 to 100, will be applied to the lowest concentration derived in long-term tests (EMEA, 2006).

This potential ecotoxicological risk related to the presence of DR in aquatic environments is estimated by comparison with the river exposure to DR, and this risk is characterised by the ratio between the predicted environmental concentrations (PECs) or the measured environmental concentrations (MECs), and the environmental hazard estimated by PNECs (Straub, 2002; EMA, 2006; FASS and LIF, 2012).

Despite a considerable number of studies on environmental exposure and tools on varied chemical substance ecotoxicity, such as AIIDA (Payet, 2013), ECOTOX-US EPA ("EPA: Welcome to ECOTOX", n.d.) and the Sweden environmental classification for pharmaceuticals (Environmentally Classified Pharmaceuticals 2014–2015, 2014), there is no tool to monitor environmental risk by linking exposure, as indicated by MECs or PECs, and hazard, as indicated by PNECs. Furthermore, the additional information about temporal variation of DR natural risk appears significant due to previous demonstration of a higher risk period during the year. A better understanding of the distinct behaviour of these emerging molecules during the last part of their life cycle in both sewage and the natural environment should lead to improvement of their management strategy. In particular, the observation of the DR concentration variations and the related environmental risk according to time should allow the identification of the period of higher risk when vigilance should be increased. The aim of this study is to gather exposure and hazard information together in a single database with a number of DR high enough to identify different types of behaviour. The gathering of a large number of ecotoxicity data in a single database, with ecotoxicity information fed by scientific literature, should promote objective decision making on this sensitive topic of DR management. With an application of this database in case studies that take into account the temporal dynamic of these DR. It is assumed that the merging database could be used as the support for management decisions, through the identification of time period and molecule, allowing the establishment of management priorities.

2. Materials and methods

2.1. ERA database description

The ERA database was created with the relational database management system available in open source, Postgresql, and the programming interface, Datagrip, which is a multi-engine database environment developed by the Jetbrains company.

Nowadays, this ERA database contains thirteen tables. Some of them are devoted to hazard assessment with the help of PNECs or toxicity data and others to exposure assessment by using PECs or MECs. Crossing these tables allows the estimation of the ecotoxicological risks. Table 1 presents the different tables contained in this ERA database. Structured query language (SQL) is used to manage the ERA database. Toxicity data are presented in the same unit allowing homogeneity and comparison between them.

The ERA database is structured according to Datagrip principles using tables and establishing relations between them. These tables are interconnected through primary and foreign keys, which correspond to similar columns between two tables. The overall organisation of the ERA database is shown in Fig. 1 the arrow direction indicates the link between a foreign key (column where the arrow starts), and a primary key (the same column in another table, where the arrow ends). For example, concerning the tables "sites" and "analyses", the link is allowed by the "idsite" column, which exists in these two tables. The "idsite" is the primary key for the first one and the foreign key for the second one.

In this ERA database, the tables which inform about DR hazard are: "moleculesproperties", "pnec" and "toxicity". For the exposure there are: "river", "wwtp" and "middleproperties". Thus, the specific tables that are linked to the estimation of risks are the tables "pnec", "toxicity", "river", and "wwtp", "moleculesproperties" and "middleproperties". This last table allows understanding of DR behaviour in the aquatic environment.

The following tables present general information: "sites", "samples", "analyses", "molecules", "references", "sampling" and "analyticalmethodology". It means they will not be used directly for risk assessment.

2.2. PNECs and ecotoxicity data recovery from literature

Ecotoxicity data, which usually estimate xenobiotic toxicity on living organisms, could be expressed with different indicators such as effective concentration on 10%, 25% and 50% of the population (EC_{10}, EC_{25} and EC_{50}), the inhibitory concentration on 50% of the population (IC_{50}), the lethal concentration on 50% of the population (LC_{50}), the no

observed effect concentration (NOEC), the lowest observed effect concentration (LOEC), the minimal inhibitory concentration (MIC), the no observed adverse effect level (NOAEL), the lowest observed adverse effect level (LOAEL) or PNECs. In terms of regulation, the indicator that is selected for the risk assessment is the PNECs (Medical Products Agency, 2004). These PNECs and ecotoxicity data were collected in the scientific literature using the Web of Science literature review.

Among the data recovered in scientific literature, some authors used mathematical models for the prediction of adverse effects according to the steric structures of the molecules, it is the quantitative structure activity relationship (QSAR). 13% of the available adverse effect data in the ERA database come from mathematical models. These methods help the estimation of the adverse effect or the understanding of the behaviour of pollutants in the environment, but they cannot replace *in vitro* and *in vivo* tests.

Fig. 2 shows the decision tree, which allowed the inclusion of data in the ERA database. To summarize, the following criteria were investigated to select hazard data to be included in the ERA database:

- The original source of the hazard data should be accessible.
- Data from both *in vivo* and *in vitro* tests achieved on non-target species.
- Data from mathematical models, QSAR.
- The source should have one of the following indicators: EC_{10}, EC_{25}, EC_{50}, IC_{50}, LC_{50}, NOEC, LOEC, MIC, NOAEL, LOAEL or PNEC corresponding to acute or chronic ecotoxicity tests.
- Data should be exact values and not approximations.

For this paper, in order to proceed to an experimental assessment of ecotoxicological risks from this ERA database, the lowest PNECs available for each searched molecule were used and called the "lowest PNEC" in Table 2. Since the ERA database could be continuously fed with new information from the literature, some DR have not yet received PNECs, referenced by "n. d." in the table below. This is the case for Lorazepam, Oxazepam, Sotalol, Ranitidine, Bezafibrate and Pravastatin. It will not be possible at this time to assess ecotoxicological risk for these specific DR.

3. Hazard assessment: analyse of the diversity of organisms involved for the ecotoxicological tests

In the current version, the ERA database contains basic information, *i.e.* substance name, chemical abstract service (CAS) code and pharmaceutical group for 64 DR belonging to 12 different therapeutic groups. Adverse effect data and PNEC have been found in the publicly available literature (125 literature references) for 45 substances among the total of 64.

Different living organisms may be used to assess the whole range of toxicity due to one molecule. There are 49 different species listed in the data set for toxicity values. The top 10 most frequently used species are listed in the Table 3. Duckweed plant and crustacean species are the most commonly used species when looking at the whole data set. This is not surprising since daphnid and duckweed are extensively used for freshwater toxicity testing because they are abundant, widely distributed and easy to maintain in laboratory (Wang, 1990; Lewis, 1995; Molander et al., 2009). Four different fish species are among the top ten and the majority of the tests with *Oncorhynchus* sp., *Danio rerio* and *Oryzias latipes* were conducted *in vitro*.

More than half of the compiled data correspond to short-term exposure and acute responses. In addition, the number of the adverse effect measured by using the EC50 indicator is exceeds the sum of the references made with NOEC and LOEC indicators which could be seen as an indicator of a higher frequency of acute tests.

The Table 4 shows the number of chronic and acute ecotoxicity measures that were entered in the ERA database according to the different organisms: fish, algae, crustaceans and bacteria and others. This table highlights the lack of data for some molecules. This lack of information for some specific molecules could be explained by gaps in the public edition of the systematic testing by pharmaceutical or public researches laboratories. Based on a systematic survey of the literature references, this ERA database is expected to continuously increase the number of references that will be made available.

The Tables 5 and 6 report respectively the lowest acute and chronic ecotoxicological concentrations with their corresponding species for each molecule. Only the DR having at least one toxicity data in Table 4 are presented in the tables below. Data without precision about the type of organism that was used for the tests and data coming from mathematical models are not included in these tables.

Data from acute ecotoxicity tests that were compiled in the ERA database show that the natural estrogen 17β-estradiol and the synthetic estrogen 17α-ethinylestradiol are the substances with the lowest effect concentrations reported, so the most hazardous DR. Concerning acute toxicity

tests (Table 5), these data demonstrate that algae (including blue-green algae) are, for more than half of studied antibiotics, the most sensitive organisms. The same sensitivity is shown for beta-blockers with algae being the most sensitive organisms. However, in the ERA database there are no ecotoxicity tests accomplished on bacteria with Atenolol as shown in Table 4. With the collected data, fish seem to be the most sensitive organisms to hormones. However, at least 54% of hormone tests are carried out with fish. For example, in the case of Estrone, there are no data concerning algae, bacteria, and crustaceans. Indeed, ecotoxicity testing with fish are often used to assess adverse effects of the estrogens, where vitellogenin (VTG) induction is considered a valuable biomarker for assessing exposure to environmental estrogens of fish (Molander et al., 2009). With regard to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) and analgesics, it does not seem that one organism is more sensitive than others in these therapeutic groups. Finally, the organisms in decreasing order of sensitivity from acute ecotoxicity tests are algae (38% of data), fish (22% of data) and bacteria (16% of data).

With regard to chronic toxicity tests (Table 6) there is a lack of data for Erythromycin, Salicylic acid and Ketoprofen. With chronic toxicity data available from our literature survey, it is possible to see that bacteria are more sensitive to antibiotics than algae (60% of studied antibiotics). Fish are the most sensitive organisms for hormones. For Atenolol and Propranolol, fish become the most sensitive organisms with a long-term exposure to beta-blockers, such as NSAID. Indeed 66% of NSAID have a lowest chronic toxicity concentration with fishes, so they are the most sensitive organisms to a long-term NSAID exposure. Finally, the organisms in decreasing order of sensitivity from chronic ecotoxicity tests are fish (44% of data), bacteria (19% of data) and algae (12,5% of data).

These results also show differences between acute and chronic toxicity concerning the concentration ranges of some DR. For NSAID acute toxicity is in the order of $mg \cdot l^{-1}$ while, for the chronic data, NSAID is bioactive at concentrations in the order of $\mu g \cdot l^{-1}$ even $ng \cdot l^{-1}$. For Propranolol, acute toxicity is in the order of $\mu g \cdot l^{-1}$ and chronic data is in the order of $ng \cdot l^{-1}$. Finally, acute concentrations for Carbamazepine are around $mg \cdot l^{-1}$ and chronic concentrations around $ng \cdot l^{-1}$.

4. A study case for the use of the ERA database

4.1. Sampling area and sample collection

The study sites are located in the south of France downstream of a large city with two distinct WWTPs, a large one, WWTP 1 (1,000,000 Population Equivalent (PE)) and a small one, WWTP 2 (100,000 PE). The sampling stations are located at the inlet and outlet of these two WWTPs, and in the natural environment with one station on a tributary with connexion upstream of the WWTP 1 and three stations on the main river (Fig. 3). On the river, from upstream to downstream, station

Table 1
Description of tables contained in the ERA database.

Table name	Column name	Kind of data	Comments	Description
1. sites	idsite	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Sites ID
	sitename	Varchar(500)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Sites usernamne
2. samples	samplecode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Given code to final sample
	samplingstrategy	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Sampling strategy (continuous or not)
	samplingmethod	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Sampling method (automatic sampler or punctual sampling)
	samplingvolume	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Quantity of final sample
	volumefilter	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Quantity of final filtered sample
	filtrationdate	Date	Year/month/day	Filtration date
	$\sum$ 3daysflow	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Total flow during the sampling campaigns
3. analyses	analysecode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Given code to sample after filtration for analyses
	idsite	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Sites ID
	sendingdate	Date	Year/month/day	Sending date
	analysedate	Date	Year/month/day	Analyses date
	samplecode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Given code to final sample
	storagedate	Date	Year/month/day	Storage date
4. molecules	moleculename	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Name of molecule
	family	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Antibiotic family
	group	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Antibiotic sub-group
	biologicalactivity	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Therapeutic action (antibiotics, betablockers, ...)
	use	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Use in hospital and/or in household
	cascode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Chemical abstract service code (CAS)
	sandrecode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	National administration service of water data and reference
5. references	idreference	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Reference ID
	authorsnames	Varchar(500)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Authors names of publication
	title	Varchar(500)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Title of the publication
	journal	Varchar(500)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Journal of the publication
	year	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Year of the publication
6. sampling	samplingcode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Given code to sample for collection
	samplecode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Given code to final sample
	idsite	Integer	Integer is a non-decimal numeric data	Sites ID
	precisionsite	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Details about the WWTP which has two inlets (inlet south or inlet north)
	flow	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	WWTP flow in inlet and outlet
	floworigin	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	References of data flow
	samplingundervolume	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Daily taken volume to make only one sample during three days sampling
	samplingvolume	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Daily sampled volume during one sampling campaigns
	samplingdate	Date	Year/month/day	Sampling date
7. river	idriver	Integer	Integer is a no decimal numeric data	River exposition ID
	idsite	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Site ID
	moleculename	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Name of molecule
	concentration	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Measured concentrations in aquatic environment ($ng \cdot l^{-1}$)
	analysecode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Given code to analysed sample
8. wwtp	idwwtp	Integer	Integer is a no decimal numeric data	WWTP exposition ID
	idsite	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Site ID
	moleculename	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Name of molecule
	hospital	Boolean	"True" or "False"	To know if WWTP is connected to health facility or not
	concentration	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Measured concentrations in WWTP ($ng \cdot l^{-1}$)
	analysecode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Given code to analysed sample
9. analyticalmethodology	idanalyticalmethodology	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Analytical methodology ID
	laboratoryname	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Name of the laboratory which carry out the analyses
	moleculename	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Name of molecule
	analyticalmethodology	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Laboratory used method to carry out analyses

	lod	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Limit of detection ($ng \cdot l^{-1}$)
	loq	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Limit of quantification ($ng \cdot l^{-1}$)
	analysecode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Given code to analysed sample
10. moleculesproperties	idmoleculeproperties	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Molecule properties ID
	moleculename	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Name of molecule
	logkow	Numeric(3,2)	Numeric (p,e) is a decimal numeric data with a defined precision number (p) and the number of figure after coma (e)	Octanol:water partition coefficient
	pka	Numeric(3,2)	Numeric (p,e) is a decimal numeric data with a defined precision number (p) and the number of figure after coma (e)	Acidity constant
	kd	Numeric(3,2)	Numeric (p,e) is a decimal numeric data with a defined precision number (p) and the number of figure after coma (e)	Solid:liquid partition distribution
	koc	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Organic carbon:water partition distribution
	idreference	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Reference ID
11. pnec	idpnec	Integer	Integer is a no decimal numeric data	PNEC ID
	moleculename	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Name of molecule
	pnec	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Predicted no effect concentration ($ng \cdot l^{-1}$)
	calculationmethod	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	PNEC calculation method (QSAR, TGD, ...)
	af	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Assessment factor used to calculate PNEC
	idtoxicity	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Toxicity ID
	idreference	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Reference ID
	calculationprecision	Varchar(100)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Details about the toxicity data used to calculate PNEC
12. toxicity	idtoxicity	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Toxicity ID
	moleculename	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Name of molecule
	observedeffect	Varchar(100)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Observed effect during toxicity test (mortality, growth, feeding, ...)
	organism	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Organism tested (algae, fish, crustacean, ...)
	specie	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Specie tested
	observedconcentration	Varchar(10)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Final concentration (EC_x[a], NOEC[b], ...)
	value	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Toxical concentration ($ng \cdot l^{-1}$)
	kindtoxicity	Varchar(10)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Acute or chronic
	idreference	Integer	Integer is a no decimal numeric data	Reference ID
	experimentalprocedure	Varchar(2044)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Description of the experimental procedure
13. middleproperties	idmiddleproperties	Integer	Integer is a no decimal numeric data	River properties ID
	samplingcode	Varchar(50)	Varchar (x) is a characters string with "x" the number of character	Given code to sample for collection
	ph	Numeric(3,2)	Numeric (p,e) is a decimal numeric data with a defined precision number (p) and the number of figure after coma (e)	Potential hydrogen of the river, influents and effluents
	bod	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Biochemical oxygen demand of influents and effluents
	o2	Numeric(4,2)	Numeric (p,e) is a decimal numeric data with a defined precision number (p) and the number of figure after coma (e)	Dissolved oxygen ($mg \cdot l^{-1}$) in the river, influents and effluents
	%o2saturation	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Oxygen saturation (%) in the river, influents and effluents
	cod	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Chemical oxygen demand in influents and effluents
	tkn	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Total Kjeldahl Nitrogen ($mg \cdot l^{-1}$) in influents and effluents
	nh4	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Ammonium ($mg \cdot l^{-1}$) in influents and effluents
	no3	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Nitrate ($mg \cdot l^{-1}$) in influents and effluents
	no2	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Nitrite ($mg \cdot l^{-1}$) in influents and effluents
	ptotal	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Total phosphorous ($mg \cdot l^{-1}$) in influents and effluents
	cat	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Complete alkalimetric title ($mg \cdot l^{-1}$)
	conductivity	Numeric(4,1)	Numeric (p,e) is a decimal numeric data with a defined precision number (p) and the number of figure after coma (e)	Conductivity (µS/cm) of the river, influents and effluents
	sm	Double precision	Integer is a decimal numeric data with a variable coma	Suspended matter ($mg \cdot l^{-1}$)
	temperature	Numeric(3,1)	Numeric (p,e) is a decimal numeric data with a defined precision number (p) and the number of figure after coma (e)	Temperature (°C) of the river, influents and effluents

[a] Effective concentration where x% of the population exhibit a response.
[b] No observed effect concentration.

2 is located 0,5 km upstream of the WWTP 1 outlet, and stations 3 and 4 are respectively located 4 km and 10 km downstream of the WWTP 1 outlets.

Samples were taken with automatic samplers in the WWTPs and manually in the aquatic environment that allows continuous sampling from 8:30 a.m. on day X to 8:30 a.m. on day X + 1, during a three day period. Wastewater samples were collected with a flow-dependent strategy that meant 50 mL of wastewater were pumped for every 500–600 m^3 of sewage. In the aquatic environment, collections were achieved with one sampling per day during a three day period. For the WWTPs and natural water, samples obtained during the three days were mixed in order to have a single sample per campaign per sampling station. The sampling campaigns were run simultaneously in WWTP, river and tributary. The plant staffs gave discharges of the WWTPs. Water discharges of the river and tributary are collected in the hydro data bank website (Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie, 2015).

Water samples were collected in high-density polyethylene bottles. After collection, samples were stored at 3–4 °C until the third day of collection. The third day samples were filtered through a GF/F fiberglass filter with 47 mm of diameter and 0.75 μm of porosity. Filtered samples were stored at −18 °C before the solid-phase extraction and the analyses on liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Analyses were performed by the Environnement et Paléo-environnement Océanique et Continentaux (EPOC, UMR 5805 CNRS), Laboratoire de Physico- et Toxico-Chimie de l'environnement (LPTC) at Bordeaux University, France.

4.2. Analysis of pharmaceuticals

Sampling campaigns took place in June and October 2015 in the two WWTPs, inlet and outlet. In surface water, sampling campaigns took place in 2015 in June and October, and in 2016 in February, June and August. Twenty-six DR were searched in these samples (Table 7) and these 26 DR were selected because of:

- their occurrence in the vigilance list of the Water Framework Directive;
- their occurrence in some of WWTP outlets in France;
- their occurrence in some surface water in France.

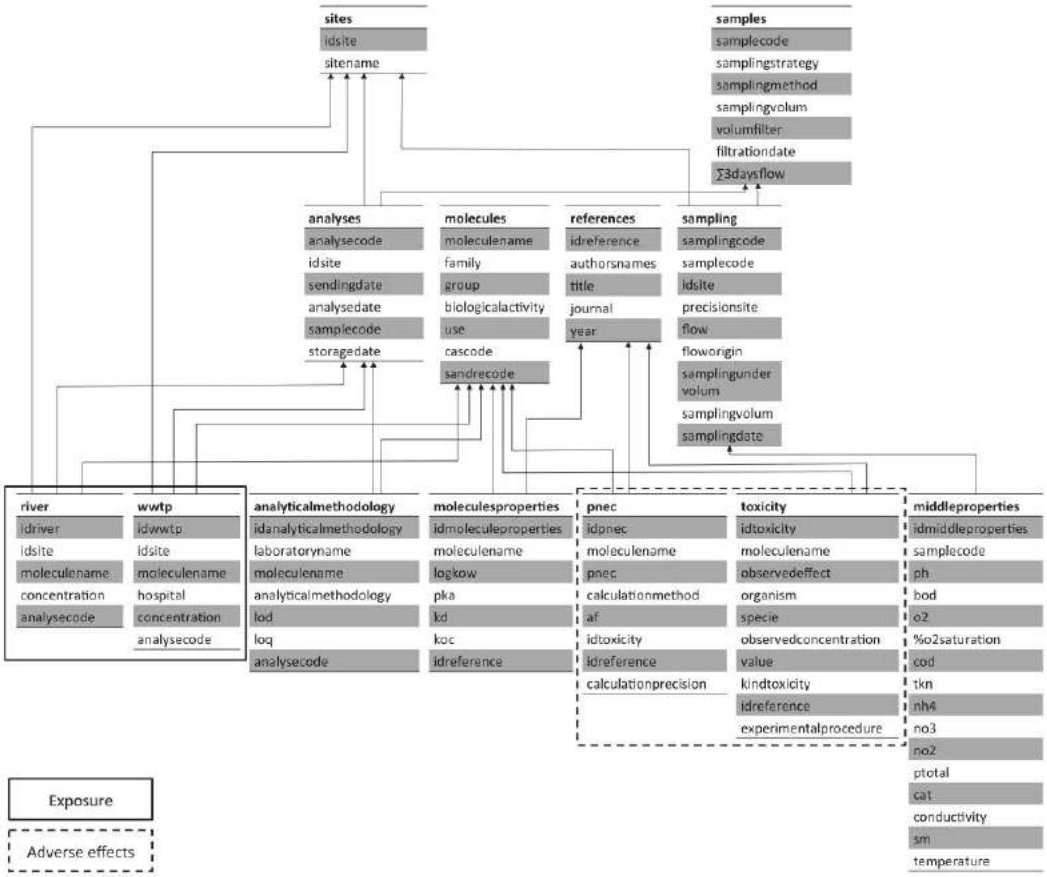


Fig. 1. The ERA database structure.

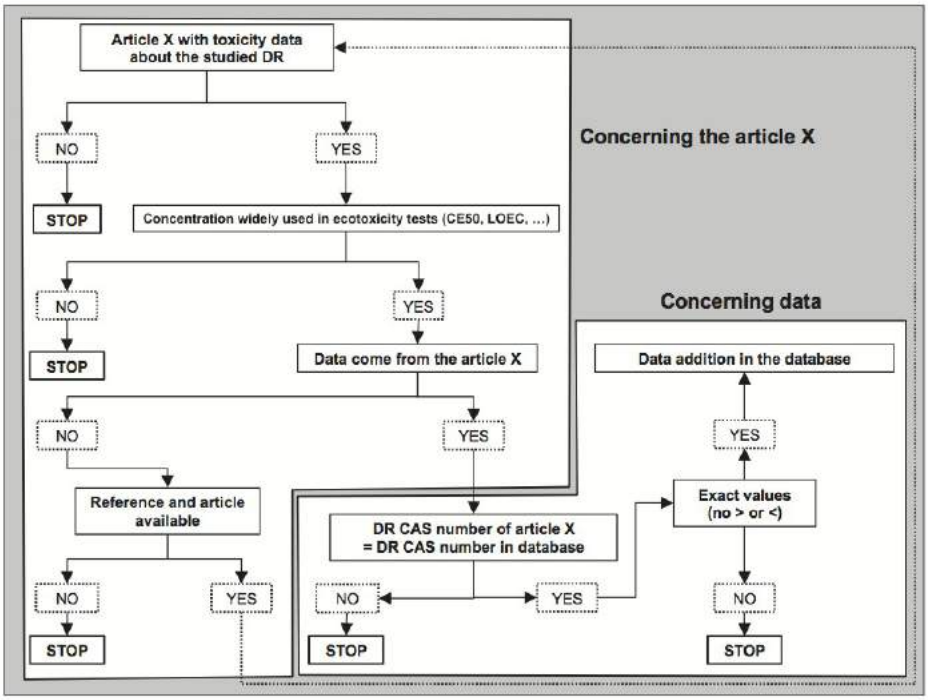


Fig. 2. Decision tree used for the addition of toxicity data in the ERA database.

Table 2
The lowest PNECs used to assess ecotoxicological risks for each studied substance. N. d.: no data.

Family	Molecule	Lowest PNEC (ng·l^{-1})	Toxicity data used by authors to derived PNEC	Reference
Antibiotics	Azithromycin	150	MIC_{50}/100 (bacteria)	Kümmerer and Henninger (2003)
	Ciprofloxacin	5	EC_{50}/1000 (cyanobacteria)	EMEA (2006), Grung et al. (2008), López-Roldán et al. (2013), Jiang et al. (2014)
	Clarithromycin	2	EC_{50}/1000 (alga)	Zheng et al. (2012), López-Roldán et al. (2013)
	Erythromycin	40	MIC_{50}/100 (bacteria)	Kümmerer and Henninger (2003)
	Flumequine	1.96	EC_{50}/1000 (cyanobacteria)	López-Roldán et al. (2013)
	Ofloxacin	11.3	NOEC/100 (alga)	Jiang et al. (2014)
	Sulfamethoxazole	26.8	n. d.	Ågerstrand and Rudén (2010)
Analgesics	Acetaminophen	1,000	n. d.	Dulio and Andres (2013)
	Salicylic acid	37,000	EC_{50}/1000 (fish)	Bouissou-Schurtz et al. (2014)
Antiepileptic	Carbamazepine	0.32	EC_{50}/1000 (mollusc bivalve)	Aguirre-Martínez et al. (2013)
Antineoplasic agent	Cyclophosphamide	740	n. d.	Botta and Dulio (2014)
Anxiolytics	Lorazepam	n. d.	n. d	n. d.
	Oxazepam	n. d.	n. d	n. d.
Beta-blockers	Atenolol	77,700	ECOSAR (alga)	Jones et al. (2002)
	Propranolol	5	n. d.	Ågerstrand and Rudén (2010)
	Sotalol	n. d.	n. d	n. d.
Drug for acid related disorders	Ranitidine	n. d.	n. d	n. d.
Lipid modifying agents	Bezafibrate	n. d.	n. d	n. d.
	Pravastatin	n. d.	n. d	n. d.
Natural or synthetic hormones	17-Alpha-ethinylestradiol	0.01	n. d.	Dulio and Andres (2013)
	17-Beta-estradiol	0.02	LOEC/50 (fish)	Carlsson et al. (2006) Dulio and Andres (2013)
	Estrone	0.8	n. d.	Botta and Dulio (2014)
NSAID	Diclofenac	5	NOEC/10 (fish)	Hoeger et al. (2005)
	Ibuprofen	0.71	EC_{50}/1000 (mollusc bivalve)	Aguirre-Martínez et al. (2013)
	Ketoprofen	100	n. d.	Botta and Dulio (2014)
	Naproxen	640	n. d.	Ågerstrand and Rudén (2010)

Table 3
Top 10 species that are regularly tested for ecotoxicity assessment of pharmaceutical substances.

Species	Number of tests (%)
Lemna sp. (duckweed)	153 (13%)
Daphnia sp. (crustacean)	146 (13%)
Pseudokirchneriella subcapitata (alga)	59 (5%)
Vibrio fischeri (bacterium)	54 (5%)
Oncorhynchus sp. (fish)	43 (4%)
Pimephales promelas (fish)	42 (4%)
Hydra sp. (hydra)	37 (3%)
Danio rerio (fish)	35 (3%)
Oryzias latipes (fish)	31 (3%)
Brachionus sp. (rotifer)	31 (3%)

4.3. Exposure assessment

Today, the measured concentrations that are made available in the ERA database correspond to two sampling campaigns in WWTPs and five in the river that remain to be completed.

With these first data, it was possible to make some data analyses such as elimination rate in WWTPs (Table 8). Average elimination rate was calculated from the difference between DR quantities of the WWTP inlet and outlet flows. Elimination rates had been estimated for 23 DR and this previous analysis already showed different rates depending on the molecules in focus. Thus, thirteen DR, coming from the following therapeutic groups (antibiotics, antineoplasic agent, antiepileptic, NSAID, anxiolytic, beta-blockers and lipid modifying agents), showed a low elimination rate by the WWTPs with a maximal average of 80% (except for Azithromycin). Seven molecules, from NSAID, analgesics, anxiolytics and lipid modifying agents, showed high elimination rates with a minimal average of 85.5%. Finally, three DR got concentrations lower than the detection limit: Erythromycin, Flumequine and Ranitidine. Other molecules with negative removal rate had outlet concentrations greater than inlet ones.

Figs. 4 to 9 show DR concentrations measured in the aquatic environment as integrated in the data set as exposure data. These results highlight that among the twenty molecules detected in WWTPs, eight were still quantified in natural water, downstream of the WWTP outlet. This finding permitted better identification of the DR flowing in the natural environment with the WWTPs as a source. It concerned, Clarithromycin, Ofloxacin, Azithromycin, Ciprofloxacin, Ibuprofen, Lorazepam, Atenolol and Propranolol. Seven other molecules were measured in the natural environment upstream and downstream of WWTP outlets. Furthermore, their downstream concentrations were not significantly greater than upstream ones, meaning negligible contribution from the WWTPs, with the upstream watershed as the main source. This concerned Acetaminophen, Sotalol, Naproxen, Diclofenac, Ketoprofen, Carbamazepine and Oxazepam. Finally, five DR presented concentrations lower than detection or quantification limit: Cyclophosphamide, Bezafibrate, Pravastatine, Sulfamethoxazole and Salicylic acid.

4.4. Ecotoxicological risk assessment

The environmental risk due to the presence of pharmaceuticals in the river, is estimated with the ratio between the PECs (estimated from measured concentrations at the WWTPs outlet) or the MECs and the PNECs (from literature). A value greater than 1 highlights an environmental risk for natural biodiversity (Tissier and Marchand, 2007; Besse and Garric, 2007). In this study, only MECs/PNECs ratios are given.

The PECs are obtained by first estimating the DR fluxes that circulate in the WWTP effluents, ϕ ($ng \cdot s^{-1}$) as:

$$\phi_{WWTP} = C_{WWTP} \times Q_{WWTP}$$

where C ($ng \cdot l^{-1}$) is the DR concentration in the WWTP effluents and Q_{WWTP} ($l \cdot s^{-1}$) is the discharge of the WWTP effluents.

Table 4
Number of ecotoxicity measures in the ERA database using fish, algae, crustaceans, bacteria and other organisms for each drug residue. N. d.is means that there is no data yet in the ERA database.

Family	Molecule	Number of studies using fish (%)	Number of studies using algae (with blue-green algae) (%)	Number of studies using crustaceans (%)	Number of studies using bacteria (%)	Others[a] (%)
Antibiotics	Azithromycin	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Ciprofloxacin	3 (7%)	6 (14%)	10 (23%)	3 (7%)	22 (50%)
	Clarithromycin	2 (12%)	4 (23%)	5 (29%)	3 (18%)	3 (18%)
	Erythromycin	2 (4%)	31 (67%)	8 (17%)	n. d.	5 (11%)
	Flumequine	n. d.	5 (33%)	3 (20%)	6 (40%)	1 (7%)
	Ofloxacin	1 (2%)	7 (17%)	7 (17%)	2 (5%)	25 (59%)
	Sulfamethoxazole	5 (7%)	14 (20%)	12 (18%)	7 (10%)	30 (44%)
Analgesics	Acetaminophen	9 (13%)	7 (10%)	40 (58%)	7 (10%)	6 (9%)
	Salicylic acid	6 (37%)	2 (12%)	4 (25%)	3 (19%)	1 (6%)
Antiepileptic	Carbamazepine	26 (30%)	13 (15%)	15 (17%)	5 (6%)	28 (32%)
Antineoplasic agent	Cyclophosphamide	1 (25%)	1 (25%)	2 (50%)	n. d.	n. d.
Anxiolytics	Lorazepam	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Oxazepam	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Beta-blockers	Atenolol	8 (40%)	6 (30%)	6 (30%)	n. d.	n. d.
	Propranolol	15 (36%)	6 (14%)	18 (43%)	1 (2%)	2 (5%)
	Sotalol	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Drug for acid related disorders	Ranitidine	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Lipid modifying agents	Bezafibrate	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Pravastatin	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Natural or synthetic hormones	17-Alpha-ethinylestradiol	55 (65%)	1 (1%)	9 (10%)	n. d.	20 (23%)
	17-Beta-estradiol	39 (83%)	n. d.	1 (2%)	n. d.	7 (15%)
	Estrone	6 (54%)	n. d.	n. d.	n. d.	5 (45%)
NSAID	Diclofenac	15 (62%)	1 (4%)	7 (29%)	n. d.	1 (4%)
	Ibuprofen	12 (17%)	9 (13%)	21 (30%)	7 (10%)	21 (30%)
	Ketoprofen	2 (33%)	1 (17%)	1 (17%)	2 (33%)	n. d.
	Naproxen	7 (22%)	4 (12%)	5 (16%)	4 (12%)	12 (37%)

[a] No identified organisms, rotifers, yeasts, plants, diatoms, hydras, ciliated protozoa, echinoderms, molluscs, mushrooms, monkeys.

Table 5
The lowest acute ecotoxicity concentration with their corresponding species for the DR in the current ERA database.

Family	Molecule	Organism	Specie	Value ($ng \cdot l^{-1}$)	Parameter	Reference
Antibiotics	Ciprofloxacin	Alga	*Pseudokirchneriella subcapitata* or *Mycrocystis aeruginosa*	5000	Growth inhibition n. d.	Yang et al. (2008) Halling-Sørensen et al. (2000)
	Clarithromycin	Alga	*Pseudokirchneriella subcapitata*	40,000	Growth inhibition	Yang et al. (2008)
	Erythromycin	Blue-green alga	*Synechococcus leopoliensis*	2000	n. d.	Ando et al. (2007)
	Flumequine	Bacterium	*Vibrio fischeri*	19,020	Bioluminescence inhibition	Backhaus et al. (2000)
	Ofloxacin	Bacterium	*Vibrio fischeri*	13,590	Bioluminescence inhibition	Backhaus et al. (2000)
	Sulfamethoxazole	Alga	*Pseudokirchneriella subcapitata*	800	Growth inhibition	Yang et al. (2008)
Analgesics	Acetaminophen	Crustacean	*Daphnia magna*	6,440,000	Mortality	Kim et al. (2012)
	Salicylic acid	Fish	*Brachydanio rerio*	37,000,000	Embryos mortality	Henschel et al. (1997)
Antiepileptic	Carbamazepine	Alga	*Pseudokirchneriella subcapitata*	6,400,000	Growth inhibition	Hiroshi et al. (2007)
Antineoplasic agent	Cyclophosphamide	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Beta-blockers	Atenolol	Alga	*Pseudokirchneriella subcapitata*	10,000,000	Growth inhibition	Hiroshi et al. (2007)
	Propranolol	Alga	*Pseudokirchneriella subcapitata*	100,000	Growth inhibition	Hiroshi et al. (2007)
Natural or synthetic hormones	17-Alpha-ethinylestradiol	Fish	*Pimephales promelas*	0.9	Vitellogenin induction	Van den Belt et al. (2004)
	17-Beta-estradiol	Fish	n. d.	1	Vitellogenin induction	Hansen et al. (1998)
	Estrone	Yeast	n. d.	16.8	Growth inhibition	Van den Belt et al. (2004)
NSAID	Diclofenac	Fish	*Poeciliopsis lucida*	5,600,000	Cytotoxicity	Laville et al. (2004)
	Ibuprofen	Hydra	*Hydra attenuata*	1,650,000	Morphological change	Quinn et al. (2008)
	Ketoprofen	Bacterium	*Vibrio fischeri*	15,600,000	Bioluminescence inhibition	Farré et al. (2001)
	Naproxen	Crustacean	*Ceriodaphnia dubia*	163,400,000	Mobility inhibition	Fraysse and Garric (2005)

Then PECs are estimated by using the following formula, where Q_{river} ($l \cdot s^{-1}$) is the discharge of the river:

$$PEC = \frac{\phi_{WWTP}}{Q_{river}}$$

The users input all necessary data in the ERA database (concentrations, discharges) and make the calculations described above.

With the MECs of the study case and the available PNECs in the ERA database (Table 2), potential ecotoxicological risks were highlighted. These risk assessments highlighted nine molecules with MECs above ecotoxicity threshold on at least one date of sampling over the period of survey. These ten DR were: Clarithromycin, Diclofenac, Ibuprofen, Carbamazepine, Propranolol, Ofloxacin, Ciprofloxacin, Azithromycin and Acetaminophen. From this DR list, six molecules were only measured downstream of WWTP outlets (Table 9).

Table 6
The lowest chronic ecotoxicity concentration with their corresponding species for the DR including these data in the current ERA database.

Family	Molecule	Organism	Specie	Value ($ng \cdot l^{-1}$)	Parameter	Reference
Antibiotics	Ciprofloxacin	Bacterium	n. d.	5200	DNA alteration	Hartmann et al. (1999)
	Clarithromycin	Alga	*Pseudokirchneriella subcapitata*	2000	Growth inhibition	Isidori et al. (2005b)
	Erythromycin	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Flumequine	Bacterium	*Vibrio fischeri*	2640	Bioluminescence inhibition	Backhaus et al. (2000)
	Ofloxacin	Bacterium	*Vibrio fischeri*	1130	Bioluminescence inhibition	Backhaus et al. (2000)
	Sulfamethoxazole	Blue-green alga	*Synechococcus leopoliensis*	5900	Growth inhibition	Ferrari et al. (2004)
Analgesics	Acetaminophen	Crustacean	*Daphnia magna*	5,720,000	Mortality	Kim et al. (2012)
	Salicylic acid	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Antiepileptic	Carbamazepine	Mollusc	*Ruditapes philippinarum*	320	Lysosomal membrane stability	Aguirre-Martinez et al. (2013)
Antineoplasic agent	Cyclophosphamide	Crustacean	*Daphnia sp.*	56,000,000	Reproduction inhibition	EMEA (2006)
Beta-blockers	Atenolol	Fish	*Pimephales promelas*	1,000,000	Reproduction inhibition	Winter et al. (2008)
	Propranolol	Fish	*Oryzias latipes*	500	Reproduction inhibition	Huggett et al. (2002)
Natural or synthetic hormones	17-Alpha-ethinylestradiol	Fish	*Pimephales promelas* or *Oryzias latipes*	0.1	Egg number Intersexuality	Pawlowski et al. (2004) Metcalfe et al. (2001)
	17-Beta-estradiol	Fish	*Oryzias latipes*	1	Intersexuality	Metcalfe et al. (2001)
	Estrone	Fish	*Oryzias latipes*	10	Intersexuality	Metcalfe et al. (2001)
NSAID	Diclofenac	Fish	*Salmo trutta f. fario*	500	Infiltration/accumulation of monocytes in the liver	Hoeger et al. (2005)
	Ibuprofen	Fish	*Oryzias latipes*	100	Embryos mortality	Sanderson (2003)
	Ketoprofen	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Naproxen	Crustacean	*Ceriodaphnia dubia*	330,000	Reproduction inhibition	Isidori et al. (2005a)

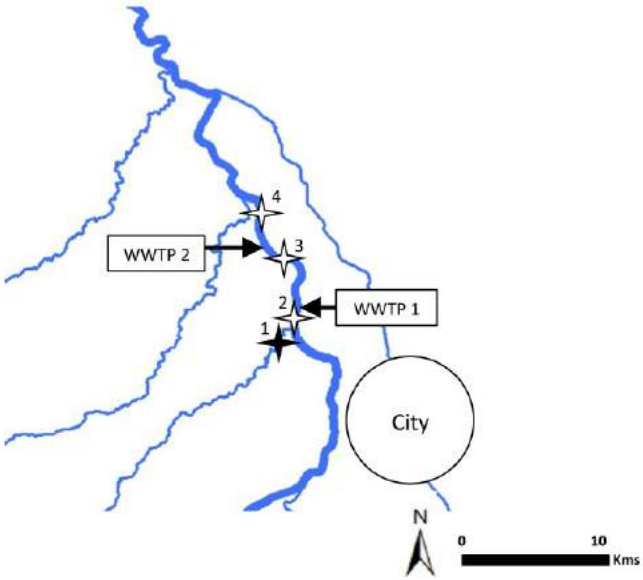


Fig. 3. Map of the sampling sites. Black star (1): tributary site; white stars (2, 3 and 4): river sites.

5. Discussions

Despite the fact that the issue of DR occurrence has been known for decades, there is still evidence of a lack of ecotoxicity data, especially coming from chronic ecotoxicity tests. To overcome this lack of information, the Technical Guidance Document (TGD) recommends the application of an assessment factor in order to give evidence of the level of confidence of the available data (European Chemicals Bureau, 2003). Indeed, it is possible to see that the most sensitive organisms can be different if the exposure is short or long. For example, algae are the most sensitive organisms with a short-term of 100 $\mu g \cdot l^{-1}$ of Propranolol that induces *Pseudokirchneriella subcapitata* growth inhibition. However, fish become the most sensitive organisms with a long-term of 500 $ng \cdot l^{-1}$ of Propranolol that induces *Oryzias latipes* reproduction inhibition. With regard to antibiotics, some studies talk about the higher sensitivity of algae, particularly of microalgae (Isidori et al., 2005a; EMEA, 2006; Collette-Bregand et al., 2009). Thus blue-green algae are recommended for effects testing of antimicrobials (EMEA, 2006). The ecotoxicity data gathered in the present ERA database are in agreement with the high sensitivity of algae exposed to four out of six antibiotics but only for short-term ecotoxicity tests. For long-term tests, bacteria are more sensitive than algae for the majority of the antibiotics (three out of five having chronic data). In light of the measured concentration of these antibiotics in the studied WWTP inflows and their constant occurrence, antibiotic adverse effects on bacteria probably also decrease the WWTP treatment efficiency, even when the sewage treatment is

Table 7
Pharmaceuticals compounds sought during this study.

Therapeutic class (number of molecules searched)	Compounds
Antibiotics (7)	Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Ciprofloxacin, Ofloxacin, Flumequine, Sulfamethoxazole
Analgesics (2)	Acetaminophen, Salicylic acid
Antiepileptic (1)	Carbamazepine
Antineoplasic agent (1)	Cyclophosphamide
Anxiolytics (2)	Lorazepam, Oxazepam
Beta-blockers (3)	Atenolol, Propranolol, Sotalol
Drug for acid related disorders (1)	Ranitidine
Lipid modifying agents (2)	Bezafibrate, Pravastatin
Natural or synthetic hormones (3)	17-Beta-estradiol, 17-alpha-ethinylestradiol, Estrone
Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) (4)	Diclofenac, Ibuprofen, Ketoprofen, Naproxen

Table 8
Elimination rate averages for each concerned drug residue in the two WWTP studied.

Family	Molecules	Average elimination rate in WWTP 1 (%)	Average elimination rate in WWTP 2 (%)
Low elimination rate			
Antibiotics	Clarithromycin	64.5	32.9
	Azithromycin	Negative value	100
	Ofloxacin	47.6	80.1
	Ciprofloxacin	25.5	Negative value
	Sulfamethoxazole	57.6	52
Antineoplasic agent	Cyclophosphamide	Negative value	Negative value
Antiepileptic	Carbamazepine	30	Negative value
Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID)	Diclofenac	21,4	Negative value
Anxiolytic	Oxazepam	21.4	Negative value
Beta-blockers	Atenolol	55	43.8
	Sotalol	25.8	2
	Propranolol	11.3	14.9
Lipid modifying agents	Bezafibrate	72	71.3
Good elimination rate			
NSAID	Naproxen	93.2	85.5
	Ketoprofen	94.1	94.6
	Ibuprofen	98.9	99.7
Analgesics	Acetaminophen	99.9	100
	Salicylic acid	>99	>99
Anxiolytic	Lorazepam	86.8	89.3
Lipid modifying agents	Pravastatin	94.8	>95

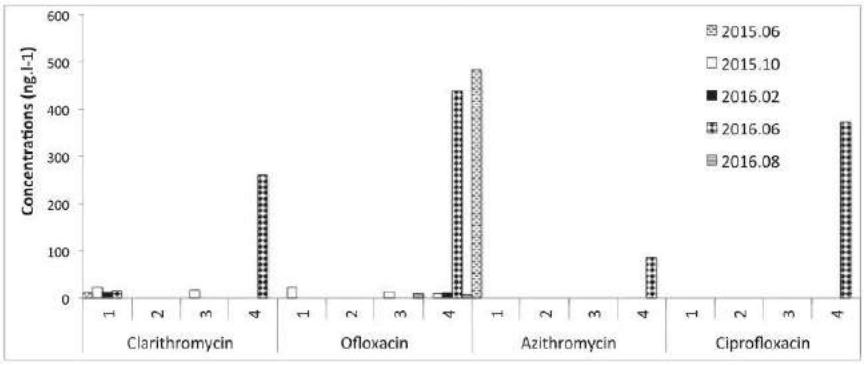


Fig. 4. Measured concentrations of antibiotics in the tributary (1) located upstream of the WWTP 1 releases and the river (2 upstream of the WWTP 1 release, 3 and 4 downstream of the WWTP 1 releases).

biological. Indeed, some authors demonstrated that the presence of antibiotics in effluents can disrupt microbial activity which is necessary to the sewage treatment (Luis Campos et al., 2001; Alighardashi et al., 2009). In France, 60% of WWTPs use biological treatment ("IRSTEA", 2014). Chronic data indicate that, in future studies, the number of tested species and considered endpoints should be increased to detect further effects of drugs. These results show that there is a potential risk for non-target organisms associated with the presence at low level of pharmaceuticals in surface waters. After a literature survey to run the risk assessments as objectively as possible, this ERA database gives evidence of the knowledge gaps and provides a demonstration of the need to increase the number of ecotoxicology tests. More specifically, long-term ecotoxicity tests should prevent against long-term effects and facilitate a better assessment of the risk that these compounds could pose to the aquatic environment.

With regard to the exposure results, it was highlighted that elimination rate varied according to molecules and the WWTPs concerned. The KNAPPE project (Knowledge and Need Assessment on Pharmaceuticals Products in Environmental waters), from 2006 to 2008, aimed to collect knowledge about the issue concerning the presence of DR in the environment. This project highlighted the elimination rate variation for pharmaceuticals depending on the DR concerned, and on the treatment process used in conventional WWTPs and their inherent characteristics (temperature, sludge age, hydraulic retention time, ...) (Roig et al., 2009). These previous findings were in agreement with the results of the present study. Indeed, the two focusing WWTPs are different in terms of capacity, 1,000,000 PE for the first one and 100,000 PE for the second one, and treatment processes are not identical, with a biological treatment for WWTP 1 and a biological treatment coupled with physico-chemical treatment for WWTP 2. Actually, for some antibiotics, the average elimination rates differed between these two WWTPs. As an example, Ofloxacin and Clarithromycin were eliminated with average rates respectively equal to 47.6%, 64.5% in WWTP 1 and 80.1%, 32.9% in WWTP 2. Thus, the treatment process of the WWTPs plays an important role in the elimination of pharmaceuticals of the dissolved phase, particularly antibiotics. Results had also shown negative values concerning average elimination rate. This concerned: Azithromycin, Ciprofloxacin, Cyclophosphamide, Carbamazepine, Diclofenac, Oxazepam. These negative values represented molecules which had outlet concentrations greater than inlet ones. Different hypotheses may be given to elucidate this phenomenon, which is also reported in scientific literature (Gros et al., 2010; Vieno et al., 2007; Tauxe-Wuersch et al., 2005; Gracia-Lor et al., 2012) as the matrix effect, that may happen to interfere with the results. In general, as demonstrated by KNAPPE results, NSAID and analgesics are even totally eliminated in WWTPs whatever the treatment process (Roig et al., 2009). Indeed, Naproxen, Ketoprofen, Ibuprofen, Acetaminophen and Salicylic acid had a good average elimination rate with a minimum of 85.5%, 94.1%, 98.9%, 99.9%

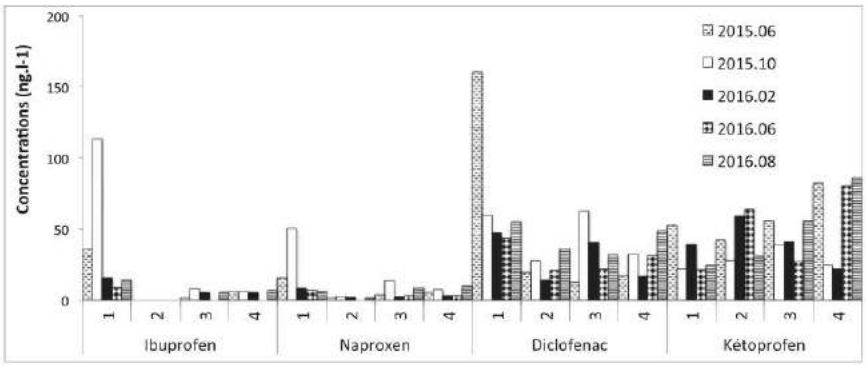


Fig. 5. Measured concentrations of NSAID in the tributary (1) located upstream of the WWTP 1 releases and the river (2 upstream of the WWTP 1 release, 3 and 4 downstream of the WWTP 1 releases).

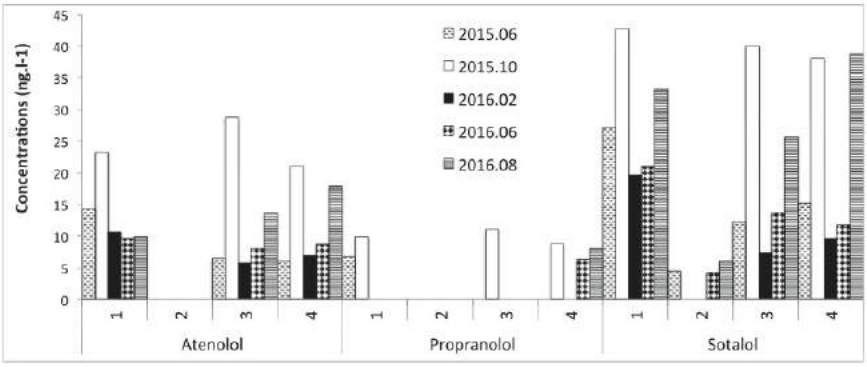


Fig. 6. Measured concentrations of beta-blockers in the tributary (1) located upstream of the WWTP 1 releases and the river (2 upstream of the WWTP 1 release, 3 and 4 downstream of the WWTP 1 releases).

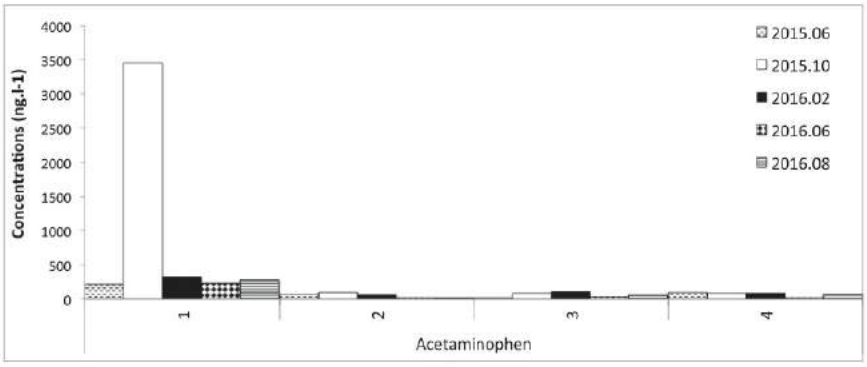


Fig. 7. Measured concentrations of Acetaminophen (analgesic) in the tributary (1) located upstream of the WWTP 1 releases and the river (2 upstream of the WWTP 1 release, 3 and 4 downstream of the WWTP 1 releases).

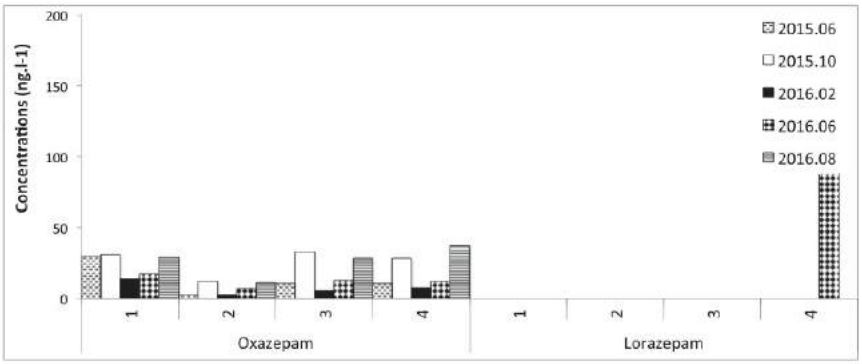


Fig. 8. Measured concentrations of anxiolytics in the tributary (1) located upstream of the WWTP 1 releases and the river (2 upstream of the WWTP 1 release, 3 and 4 downstream of the WWTP 1 releases).

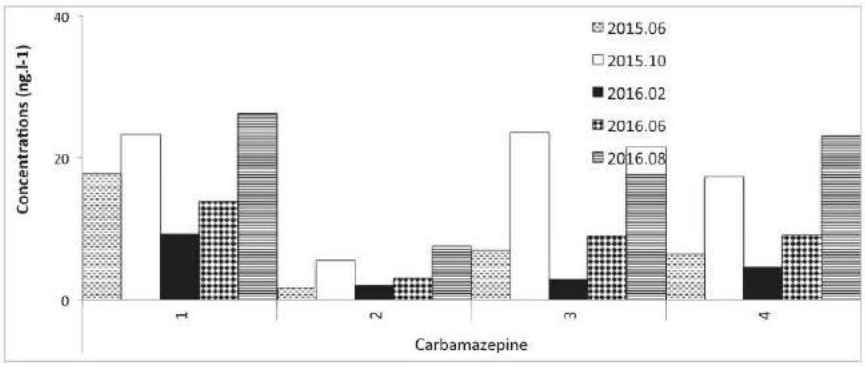


Fig. 9. Measured concentrations of Carbamazepine (antiepileptic) in the tributary (1) located upstream of the WWTP 1 releases and the river (2 upstream of the WWTP 1 release, 3 and 4 downstream of the WWTP 1 releases).

and 100%, respectively. These results are in agreement with the AMPERES project results, which have shown a mean removal in France for an activated sludge process greater than 70% for Ibuprofen, Acetaminophen, Ketoprofen and Naproxen (Coquery et al., 2010). Radjenovic et al. have also reported Naproxen, Ketoprofen, Ibuprofen and Acetaminophen elimination rates in Spain with respectively 72%, 55%, 99% and 100% (Radjenovic et al., 2009). The only exception in NSAID therapeutic group is Diclofenac, whose removal rate varied from no elimination up to 100% (Gros et al., 2010). In this study Diclofenac presented outlet concentrations greater than inlet ones. In scientific literature, the average elimination rate of Diclofenac varies between 20 and 80% (Radjenovic et al., 2009) but the mean is around 30% (Collette-Bregand et al., 2009; Radjenovic et al., 2009). Thereby, the removal of this substance was very variable between different WWTPs studied by various authors (Tauxe-Wuersch et al., 2005). More precisely, the removal of Diclofenac depends on sludge retention time (Collette-Bregand et al., 2009). Indeed, according to the KNAPPE project, Diclofenac is dimly removed in a WWTPs with sludge age lower than twenty days (Roig et al., 2009). That confirms the elimination rate variation depends on WWTP inherent characteristics for these DR (Roig et al., 2009; Collette-Bregand et al., 2009). With regard to Carbamazepine (antiepileptic), Oxazepam (anxiolytic), Sotalol and Propranolol (beta-blockers), the outlet concentrations were greater than inlet ones. In their study, Gros et al. explain that Hydraulic Retention Time (HRT) does not influence the removal of these kinds of DR (Gros et al., 2010). Scientific literature reports that Carbamazepine presents either poor (lower than 30%) or no elimination in conventional WWTPs (Collette-Bregand et al., 2009; Coquery et al., 2010; Radjenovic et al., 2009; Gros et al., 2010). For Oxazepam, the low elimination rate can be explained because this substance is a metabolite of anxiolytic degradation such as Diazepam, Prazepam and Temazepam (Bouissou-Schurtz et al., 2014). The AMPERES project reported that Propranolol and Sotalol present mean removals lower than 30% in France (Coquery et al., 2010). Beta-blockers are considered to have none to medium significant removal in WWTPs (Gros et al., 2010).

Pharmaceuticals present in sewage were more or less removed by WWTPs especially according to molecules. It is not surprising because DR is a mixed group of chemical substances, which present various physico-chemical properties (Collette-Bregand et al., 2009). DR occurrence in WWTP effluents plays a non-negligible role in river contamination by human drugs and this has been reported for several decades in scientific literature (Heberer, 2002; Tamtam et al., n.d.; Baker and Kasprzyk-Hordern, 2013). But these compounds may enter the environment in other ways such as effluents of sewage coming from farms. In this case, the fluxes flowing from upstream of the WWTP outlets should be considered as non-negligible sources of DR in the river. According to their chemical and physical properties, DR behaviour in the environment will be different (Apoteket AB et al., 2006).

These first results highlight potential ecotoxicological risks from measured environmental concentrations. Nine molecules were above the ecotoxicity threshold available in the ERA database. For six molecules, Pravastatine, Ranitidine, Lorazepam, Sotalol, Oxazepam and Bezafibrate, no PNEC data was yet available in the ERA database. So, no environmental risk assessment could be obtained for these molecules. Among these, Ranitidine was not detected in WWTPs and Bezafibrate and Pravastatine were not detected in the environment. On the other hand, Lorazepam was measured downstream of the WWTP outlets and Oxazepam and Sotalol were measured upstream and downstream of the WWTPs. With regard to the Sweden classification of pharmaceuticals, these three molecules could present risks for the environment (Environmentally Classified Pharmaceuticals 2014–2015, 2014). Clarithromycin, Ibuprofen, Propranolol, Ofloxacin, Ciprofloxacin, Azithromycin, have been measured only downstream of the WWTP releases, and could increase environmental risks for river

Table 9
Ecotoxicological risk summary for each DR measured downstream of the WWTP outlets or all along the river.

	DR measured only at downstream the WWTPs outlets	DR measured at upstream and downstream of WWTPs outlets
DR showed ecotoxicological risks (number of dates with ecotoxicological risks over all dates)	• Clarithromycin (5 dates/5) • Ibuprofen (5 dates/5) • Propranolol (4 dates/5) • Ofloxacin (1 date/5) • Azithromycin (1 date/5) • Ciprofloxacin (1 date/5)	• Diclofenac (5 dates over 5) • Carbamazepine (5 dates over 5) • Acetaminophen (1 date over 5)
DR did not show ecotoxicological risks	• Atenolol	• Naproxen • Ketoprofen

biodiversity. The potential ecotoxicological risks for macrolides, Azithromycin and Clarithromycin in this study, have already been reported and these results are in agreement with scientific literature (Isidori et al., 2005b; Hernando et al., 2006; Khetan and Collins, 2007; Grung et al., 2008). The improvement of the treatments occurring in WWTPs and the changes in behaviour and habits (prescribing, delivery, getting rid of unused drugs in an appropriate way, …) would allow the limiting of the risks for these molecules. Carbamazepine, Acetaminophen and Diclofenac could also pose environmental risks but the origin was more difficult to identify because they were measured upstream and downstream of the WWTP releases.

However, some DR presented environmental concentrations that could pose problems for ecosystems. These results suggest that DR environmental concentrations, even if low, could have biological activity against non-targeted organisms continuously exposed to these molecules such as other pollutants present in the environment. Here, ecotoxicological risks focused on the toxicity that individual compounds could cause to aquatic organisms, but in the aquatic environment, pharmaceuticals are present as mixtures of a great variety of therapeutic classes and chemical substances, which should be taken into account when evaluating ecotoxicological effects. Some studies, like those performed by Cleuvers, revealed that a mixture of pharmaceuticals induced toxicity at concentrations at which a single compound showed either no or only little effect (Cleuvers, 2003; Cleuvers, 2004). With data homogenisation gathered in this ERA database, the ecotoxicological risks assessment will be facilitated because data can easily be compared between them and a mixture approach can be tested with an addition of ecotoxicity concentration.

6. Conclusions

This ERA database is still in progress with capacity building that should be extended. From scientific literature and measurements, data implementation with unit homogenisation in a single database facilitates the present ecotoxicological risk assessment, and may be useful for further risk coming from data from the future field survey. Moreover, the ERA database takes into consideration the temporal variation of ecotoxicological risk, that allows the identification of the periods of highest risk. Indeed, from 2015 to 2017, twenty-four campaigns in WWTPs and seventeen in the aquatic environment will be integrated in the ERA database at the end of this study. The evidence of the periods with highest probabilities of having DR that exceed the acceptable concentrations in the natural environment may facilitate decision-making in order to reduce these effects in the environment.

On the other hand, these first results showed a data diversity concerning hazard assessment with data coming from *in vitro* and *in vivo* ecotoxicity tests with different type of indicators and tested species. This data set underlined the range sensitivity of the different organisms according to the molecules or therapeutic groups. The availability of these ranges of toxicity data may lead to some ranges in the risk assessment depending on the selected data for the toxicity threshold. In the long-term, the accumulation of a large ecotoxicity data set in a single database should not only improve knowledge of higher risk molecules and periods of time but also supply an objective tool to help to rapidly and efficiently evaluate the risk. It is assumed that this enhanced objectivity in the risk assessment should help in making regulatory decisions.

Acknowledgements

The authors are grateful to the technical staff of the WWTPs for the samplings. This research project was undertaken under a research program of the water management company (Veolia Eau) and funded by this latter, the Adour-Garonne water agency grant number (310 31 0140) and the Acceptables Avenirs company grant number (2014/0512).

References

Ågerstrand, M., Rudén, C., 2010. Evaluation of the accuracy and consistency of the Swedish Environmental Classification and Information System for pharmaceuticals. Sci. Total Environ. 408:2327–2339. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.02.020.

Aguirre-Martínez, G.V., Buratti, S., Fabbri, E., DelValls, A.T., Martín-Díaz, M.L., 2013. Using lysosomal membrane stability of haemocytes in *Ruditapes philippinarum* as a biomarker of cellular stress to assess contamination by caffeine, ibuprofen, carbamazepine and novobiocin. J. Environ. Sci. 25:1408–1418. http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60207-1.

Alighardashi, A., Pandolfi, D., Potier, O., Pons, M.N., 2009. Acute sensitivity of activated sludge bacteria to erythromycin. J. Hazard. Mater. 172:685–692. http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.07.051.

Ando, T., Nagase, H., Eguchi, K., Hirooka, T., Nakamura, T., Miyamoto, K., Hirata, K., 2007. A novel method using cyanobacteria for ecotoxicity test of veterinary antimicrobial agents. Environ. Toxicol. Chem. 26, 601–606.

ANSES, 2011. Campagne nationale d'occurence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine (No. Convention G2799). ANSES.

Apoteket AB, Stockholm County Council, Stockholm University, 2006. Environment and Pharmaceuticals (No. 1590–1).

Backhaus, T., Scholze, M., Grimme, L.H., 2000. The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium *Vibrio fischeri*. Aquat. Toxicol. 49, 49–61.

Baker, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., 2013. Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: new developments. Sci. Total Environ. 454–455:442–456. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.043.

Besse, J.-P., Garric, J., 2007. Médicaments à usage humain: risque d'exposition et effets sur les milieux récepteurs. Propos. Une Liste Médicam. À Usage Hum. À Surveill. Dans Eaux Surf. Cont. Agence Eau RMC, Lyon.

Bouissou-Schurtz, C., Houeto, P., Guerbet, M., Bachelot, M., Casellas, C., Mauclaire, A.-C., Panetier, P., Delval, C., Masset, D., 2014. Ecological risk assessment of the presence of pharmaceutical residues in a French national water survey. Regul. Toxicol. Pharmacol. 69:296–303. http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.04.006.

Carlsson, C., Johansson, A.-K., Alvan, G., Bergman, K., Kühler, T., 2006. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Sci. Total Environ. 364:67–87. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.06.035.

Cleuvers, M., 2004. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. Ecotoxicol. Environ. Saf. 59, 309–315.

Cleuvers, M., 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. Toxicol. Lett. 142, 185–194.

Collette-Bregand, M., James, A., Munshy, C., Bocquene, G., 2009. Contamination des milieux aquatiques par les substances pharmaceutiques et cosmétiques-Etat des lieux et perspectives.

Coquery, M., Choubert, J.-M., Miège, C., 2010. Synthèse des travaux du projet AMPERES.

Daughton, C.G., Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? Environ. Health Perspect. 107:907. http://dx.doi.org/10.2307/3434573.

Dulio, V., Andres, S., 2013. Recommandations du Comité Experts Priorisation auprès du MEDDE pour la sélection des Subtances Pertinentes à Surveiller dans les Milieux Aquatiques pour le Second Cycle de la DCE (2016-2021) (Rapport AQUAREF 2013).

EMA, 2005. Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use (Pre-Authorisation Evaluation of Medicines for Human Use), Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/4447/00 corr 1*.

EMEA. 2006. Initial Assessment Of Eleven Pharmaceuticals Using the EMEA Guideline in Norway.

Environmentally Classified Pharmaceuticals 2014–2015, 2014. Stockholms läns landsting.

EPA: Welcome to ECOTOX [WWW Document], n.d. URL https://cfpub.epa.gov/ecotox/.

European Chemicals Bureau, 2003. Technical Guidance Document on risk Assessment - Part II (No. EUR 20418 EN/2). Institute for Health and Consumer Protection.

Botta, Fabrizio, Dulio, V., 2014. Résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DOM (Rapport final). Etude sur les contaminants émergents dans les eaux françaises, ONEMA.

Farré, M., Ferrer, I., Ginebreda, A., Figueras, M., Olivella, L., Tirapu, L., Vilanova, M., Barcelo, D., 2001. Determination of drugs in surface water and wastewter samples by liquid chromatography-mass spectrometry: method and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. J. Chromatogr. A 187–197.

FASS, O., LIF, O., 2012. Environmental classification of pharmaceuticals at www.fass.se. Guidance for Pharmaceuticals at www.fass.se.

Ferrari, B., Mons, R., Vollat, B., Fraysse, B., Paxéus, N., Lo Guidice, R., Pollio, A., Garric, J., 2004. Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? Environ. Toxicol. Chem. 23, 1344–1354.

Fick, J., Söderström, H., Lindberg, R.H., Phan, C., Tysklind, M., Larsson, D.G., 2009. Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production. Environ. Toxicol. Chem. 28, 2522–2527.

Fraysse, B., Garric, J., 2005. Prediction and experimental validation of acute toxicity of beta-blockers in *Ceriodaphnia dubia*. Environ. Toxicol. 24, 2470–2476.

Gracia-Lor, E., Sancho, J.V., Serrano, R., Hernández, F., 2012. Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia. Chemosphere 87:453–462. http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.025.

Gros, M., Petrovic, M., Ginebreda, A., Barcelo, D., 2010. Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. Environ. Int. 36:15–26. http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2009.09.002.

Grung, M., Källqvist, T., Sakshaug, S., Skurtveit, S., Thomas, K.V., 2008. Environmental assessment of Norwegian priority pharmaceuticals based on the EMEA guideline. Ecotoxicol. Environ. Saf. 71:328–340. http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.10.015.

Halling-Sørensen, B., Holten Lützhoft, H.-C., Andersen, H., Ingerslev, F., 2000. Environmental risk assessment of antibiotics: comparison of mecillinam, trimethoprim and ciprofloxacin. J. Antimicrob. Chemother. 46, 53–58.

Hansen, P.D., Dizer, H., Hock, B., Marx, A., Sherry, J., McMaster, M., Blaise, C., 1998. Vitellogenin - a biomarker for endocrine disruptors. Trends Anal. Chem. 17.

Hartmann, A., Golet, E.M., Gartiser, S., Alder, A.C., Koller, T., Widmer, R.M., 1999. Primary DNA damage but not mutagenicity correlates with ciprofloxacin concentrations in German hospital wastewaters. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 36, 115–119.

Heberer, T., 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. Toxicol. Lett. 131, 5–17.

Henschel, K.-P., Wenzel, A., Diedrich, M., Fliedner, A., 1997. Environmental hazard assessment of pharmaceuticals. Regul. Toxicol. Pharmacol. 25, 220–225.

Hernando, M., Mezcua, M., Fernandez-Alba, A., Barcelo, D., 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. Talanta 69:334–342. http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.037.

Hignite, C., Azarnoff, D.L., 1977. Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. Life Sci. 20, 337–341.

Hiroshi, Y., Yudai, N., Yuki, N., Chise, K., Tetsuya, I., Jun, S., Yuji, T., Naoyuki, Y., Narisato, H., Shigeto, O., Norihisa, T., 2007. Initial ecological risk assessment of eight selected human pharmaceuticals in Japan. Environ. Sci. 14, 177–193.

Hoeger, B., Köllner, B., Dietrich, D.R., Hitzfeld, B., 2005. Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta* f. *fario*). Aquat. Toxicol. 75, 53–64.

Huggett, D.B., Brooks, B.W., Peterson, B., Foran, C.M., Schlenk, D., 2002. Toxicity of select beta adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (B-blockers) on aquatic organisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 43, 229–235.

Hughes, S.R., Kay, P., Brown, L.E., 2013. Global synthesis and critical evaluation of pharmaceutical data sets collected from river systems. Environ. Sci. Technol. 47:661–677. http://dx.doi.org/10.1021/es3030148.

IRSTEA [WWW Document], 2014. URL. http://www.irstea.fr/lespace-jeunesse/approfondir/lepuration-des-eaux-usees-les-avancees/les-stations-depuration-boues.

Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Parrella, A., Previtera, L., Rubino, M., 2005a. Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. Sci. Total Environ. 348, 93–101.

Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., Parrella, A., 2005b. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. Sci. Total Environ. 346, 87–98.

Jiang, Y., Li, M., Guo, C., An, D., Xu, J., Zhang, Y., Xi, B., 2014. Distribution and ecological risk of antibiotics in a typical effluent-receiving river (Wangyang River) in north China. Chemosphere 112:267–274. http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.075.

Jones, O.A.H., Voulvoulis, N., Lester, J.N., 2002. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. Water Res. 36, 5013–5022.

Jorgensen, S.E., Halling-Sorensen, B., 2000. Drugs in the environment. Chemosphere 40, 691–699.

Khetan, S.K., Collins, T.J., 2007. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a challenge to green chemistry. Chem. Rev. 107:2319–2364. http://dx.doi.org/10.1021/cr020441w.

Kim, P., Park, Y., Ji, K., Seo, J., Lee, S., Choi, K., Kho, Y., Park, J., Choi, K., 2012. Effect of chronic exposure to acetaminophen and lincomycin on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*, and potential mechanisms of endocrine disruption. Chemosphere 89, 10–18.

Kümmerer, K. (Ed.), 2004. Pharmaceuticals in the Environment. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-09259-0.

Kümmerer, K., 2001. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. Chemosphere 45, 957–969.

Kümmerer, K., Henninger, A., 2003. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. Clin. Microbiol. Infect. 9, 1203–1214.

Laville, N., Aït-Aïssa, S., Gomez, E., Casellas, C., Porcher, J., 2004. Effects of human pharmaceuticals on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in fish hepatocytes. Toxicology 196, 41–55.

Lewis, M.A., 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. Environ. Pollut. 87, 319–336.

López-Roldán, R., Jubany, I., Martí, V., González, S., Cortina, J.L., 2013. Ecological screening indicators of stress and risk for the Llobregat river water. J. Hazard. Mater. 263: 239–247. http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.07.008.

Lopez-Serna, R., Jurado, A., Vazquez-Sune, E., Carrera, J., Petrovic, M., Barcelo, D., 2013. Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban groundwaters underlying the metropolis of Barcelona, Spain. Environ. Pollut. 174:305–315. http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.11.022.

Luis Campos, J., Garrido, J.M., Méndez, R., Lema, J.M., 2001. Effect of two broad-spectrum antibiotics on activity and stability of continuous nitrifying system. Appl. Biochem. Biotechnol. 95, 1–10.

Martinović, D., Hogarth, W.T., Jones, R.E., Sorensen, P.W., 2007. Environmental estrogens suppress hormones, behavior, and reproductive fitness in male fathead minnows. Environ. Toxicol. Chem. 26, 271–278.

Medical Products Agency, 2004. L'impact environmental des produits pharmaceutiques et cosmétiques. Rapport de l'agence des produits médicaux. Medical products agency.

Metcalfe, C.D., Metcalfe, T.L., Kiparissis, Y., Koenig, B.G., Khan, C., Hughes, R.J., Croley, T.R., March, R.E., Potter, T., 2001. Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Environ. Toxicol. Chem. 20, 297–308.

Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie, 2015. Banque Hydro - Eau France [WWW Document]. Hydroweb. URL. http://www.hydro.eaufrance.fr/.

Molander, L., Ågerstrand, M., Rudén, C., 2009. WikiPharma – a freely available, easily accessible, interactive and comprehensive database for environmental effect data for pharmaceuticals. Regul. Toxicol. Pharmacol. 55:367–371. http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.08.009.

Parrott, J.L., Blunt, B.R., 2005. Life-cycle exposure of fathead minnows (*Pimephales promelas*) to an ethinylestradiol concentration below 1 ng/L reduces egg fertilization success and demasculinizes males. Environ. Toxicol. 20, 131–141.

Pascoe, D., Karntanut, W., Müller, C.T., 2003. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. Chemosphere 51:521–528. http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00860-3.

Pawlowski, S., van Aerle, R., Tyler, C., Braunbeck, T., 2004. Effects of 17α-ethinylestradiol in a fathead minnow (*Pimephales promelas*) gonadal recrudescence assay. Ecotoxicol. Environ. Saf. 57, 330–345.

Payet, J., 2013. Alida. Guide méthodologique. Tools for Environment.

Quinn, B., Gagné, F., Blaise, C., 2008. An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. Sci. Total Environ. 389:306–314. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.08.038.

Radjenovic, J., Petrovic, M., Barcelo, D., 2009. Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. Water Res. 43:831–841. http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.11.043.

Roig, B., Touraud, É., Ternes, T., Loeffler, D., Schluesener, M., Zabczynski, S., Buntner, D., 2009. Élimination des produits pharmaceutiques dans les eaux usées européennes. 715 pp. 57–62.

Sanderson, H., 2003. Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening. Toxicol. Lett. 144, 383–395.

Stanley, J.K., Ramirez, A.J., Chambliss, C.K., Brooks, B.W., 2007. Enantiospecific sublethal effects of the antidepressant fluoxetine to a model aquatic vertebrate and invertebrate. Chemosphere 69:9–16. http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.04.080.

Straub, J.O., 2002. Environmental risk assessment for new human pharmaceuticals in the European Union according to the draft guideline/discussion paper of January 2001. Toxicol. Lett. 135, 231–237.

Tamtam, F., Almayrac, J.-L., Le Bot, B., Mercier, F., Bredeloux, M., Desportes, A., Eurin, J., Chevreuil, M., n.d. Les antibiotiques dans les eaux de surface: première évaluation de la contamination de la Seine et de rejets de stations d'épuration. Programme PIREN-Seine.

Tauxe-Wuersch, A., De Alencastro, L.F., Grandjean, D., Tarradellas, J., 2005. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. Water Res. 39:1761–1772. http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2005.03.003.

Tissier, C., Marchand, M., 2007. L'analyse du risque chimique en milieu marin: l'approche méthodologique. Environ. Risques Santé 6, 127.

Van den Belt, K., Berckmans, P., Vangenechten, C., Verheyen, R., Witters, H., 2004. Comparative study on the in vitro/in vivo estrogenic potencies of 17β-estradiol, estrone, 17α-ethynylestradiol and nonylphenol. Aquat. Toxicol. 66:183–195. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.09.004.

Vazquez-Roig, P., Andreu, V., Blasco, C., Picó, Y., 2012. Risk assessment on the presence of pharmaceuticals in sediments, soils and waters of the Pego–Oliva Marshlands (Valencia, eastern Spain). Sci. Total Environ. 440:24–32. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.08.036.

Vieno, N., Tuhkanen, T., Kronberg, L., 2007. Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland. Water Res. 41:1001–1012. http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2006.12.017.

Wang, W., 1990. Literature review on duckweed toxicity testing. Environ. Res. 52, 7–22.

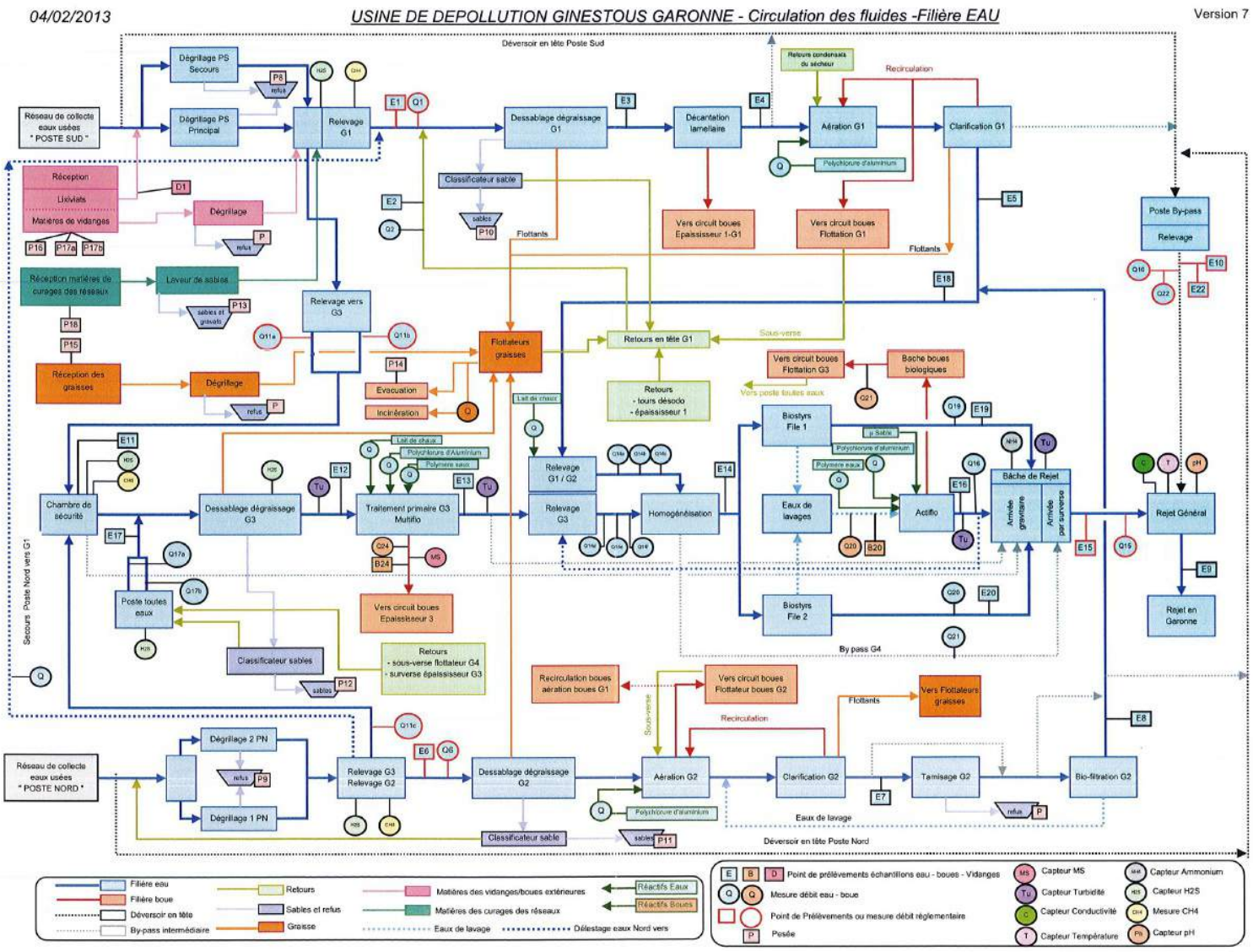
Weber, F.-A., aus der Beek, T., Bergmann, A., Carius, A., Grüttner, G., Hickman, S., Ebert, I., Hein, A., Küster, A., Rose, J., Koch-Jugl, J., Stolzenberg, H.-C., 2014. Les produits pharmaceutiques dans l'environnement - perspective à l'échelle mondiale. Présence, effets, et action concertée potentielle au titre de la SAICM. Umwelt Bundesamt.

Winter, M.J., Lillicrap, A.D., Caunter, J.E., Schaffner, C., Alder, A.C., Ramil, M., Ternes, T.A., Giltrow, E., Sumpter, J.P., Hutchinson, T.H., 2008. Defining the chronic impacts of atenolol on embryo-larval development and reproduction in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Aquat. Toxicol. 86, 361–369.

Yang, L.-H., Ying, G.-G., Su, H.-C., Stauber, J.L., Adams, M.S., Binet, M.T., 2008. Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. Environ. Toxicol. Chem. 27, 1201–1208.

Zheng, Q., Zhang, R., Wang, Y., Pan, X., Tang, J., Zhang, G., 2012. Occurrence and distribution of antibiotics in the Beibu Gulf, China: impacts of river discharge and aquaculture activities. Mar. Environ. Res. 78:26–33. http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.03.007.

Annexe 3. Filières de traitement eau et boue de la STEU de Ginestous.



Annexe 4. Description des traitements de la filière eau de la STEU de Ginestous.

Les informations fournies dans cette annexe proviennent de la plaquette d'information rédigée par Véolia en 2010.

1. Le traitement primaire à Ginestous

Le traitement primaire de l'usine de Ginestous est assuré de l'étape 1 à l'étape 4.

1.1. Étape 1 : dégrillage, relevage

À leur entrée dans la STEU, les eaux usées brutes traversent une grille tournante à maille de 6 millimètres. Les déchets sont récupérés et évacués et les eaux sont relevées de quelques mètres pour accéder aux diverses filières de traitement, G1, G2 et G3. La STEU possède deux postes de relèvement, le poste nord et le poste sud (Figure 1).

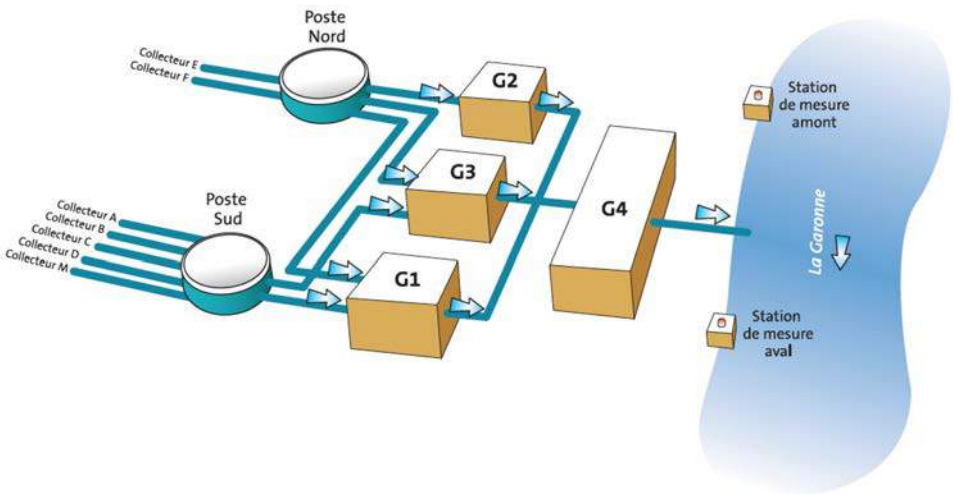


Figure 1. Schéma des filières de traitement de l'usine de Ginestous (source :Véolia Eau, 2010).

1.2. Étape 2 : dessablage, déshuilage

Sous l'effet de leur poids, les sables tombent au fond des ouvrages où ils sont récupérés par raclage de fond. Les huiles et les graisses sont remontées en surface de l'eau par des fines bulles d'air, récupérées par des goulottes réceptrices, avant d'être envoyées sur la filière de valorisation thermique. Cette étape est présente au niveau des unités G1, G2 et G3.

1.3. Étape 3 : coagulation, floculation

L'adjonction d'un coagulant à base de fer ou d'aluminium et d'un floculant (polymère) permet l'agglomération des particules. Elles sont ensuite séparées de l'eau dans les étapes de

décantation. Ce traitement permet aussi d'éliminer certaines matières dissoutes (phosphore, sulfure, …). Seule l'unité G3 bénéficie de ce traitement physico-chimique.

1.4. Étape 4 : décantation lamellaire

L'eau traverse du bas vers le haut les ouvrages de décantation. Des lamelles inclinées facilitent la séparation des fines particules de boues en suspension et de l'eau clarifiée. Les boues primaires extraites des décanteurs sont concentrées dans un ouvrage appelé « épaississeur ». La décantation lamellaire a lieu dans les unités G1 et G3.

Dans le cas des unités G1 et G2, l'aération et la clarification des eaux ont lieu après la décantation lamellaire pour l'unité G1 et le dessablage/déshuilage pour l'unité G2. Ces étapes constituent les premières phases du traitement secondaire biologique à culture libre, les boues activées. Cela se poursuit ensuite par un traitement biologique à culture fixée, la biofiltration, qui débute dès la fin de la filière G2.

2. Le traitement secondaire à Ginestous

Lorsque les étapes de chacune des unités de traitement sont terminées, le eaux sont acheminées vers l'unité G4 qui assure le traitement de l'ensemble des eaux usées prétraitées pour abattre la pollution azotée par nitrification, et clarifier les eaux par filtration. Ce traitement secondaire correspond aux étapes de traitement 5 et 6.

2.1. Étape 5 : biofiltration

L'eau traverse de bas en haut un lit de billes de polystyrène, appelées biofiltres, d'une épaisseur de 3 mètres, sur lesquelles se développent des bactéries qui dégradent les éléments azotés (nitrification). Périodiquement, il faut laver ces biofiltres pour évacuer les boues retenues. Les eaux sales issues des lavages sont traitées sur un décanteur. Cette étape débute à la fin de l'unité G2 et se poursuit en G4 après une étape d'homogénéisation des eaux des trois filières.

2.2. Étape 6 : décantation à flocs lestés

Les particules de boues contenues dans les eaux de lavage des biofiltres de l'unité G4 sont agglomérées à l'aide d'un coagulant et de polymère, et lestées par un ajout de microsable. Des hydrocyclones séparent ensuite les microsables et les boues biologiques qui sont envoyées dans un ouvrage appelé « flottateur » pour y être concentrées. À la fin de cette étape, les eaux traitées sont rejetées dans la Garonne.

Annexe 5. Calendriers détaillés des prélèvements réalisés en STEU et dans le milieu naturel en 2015, 2016 et 2017.

2015

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
1	J	D	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
2	V	L	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
3	S	M	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
4	D	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
5	L	J	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
6	M	V	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
7	M	S	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
8	J	D	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
9	V	L	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
10	S	M	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
11	D	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
12	L	J	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
13	M	V	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
14	M	S	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
15	J	D	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
16	V	L	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
17	S	M	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
18	D	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
19	L	J	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
20	M	V	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
21	M	S	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
22	J	D	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
23	V	L	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
24	S	M	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
25	D	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
26	L	J	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
27	M	V	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
28	M	S	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
29	J		D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
30	V		L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
31	S		M		D		V	L		S		J

STEP Ginestous + STEP Seilh
STEP Ginestous + STEP Seilh + amont/aval Ginestous
Amont/aval Ginestous

2016

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
1	V	L	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
2	S	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
3	D	M	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
4	L	J	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
5	M	V	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
6	M	S	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
7	J	D	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
8	V	L	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
9	S	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
10	D	M	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
11	L	J	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
12	M	V	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
13	M	S	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
14	J	D	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
15	V	L	M		D	M	V	L	J	S	M	J
16	S	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
17	D	M	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
18	L	J	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
19	M	V	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
20	M	S	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
21	J	D	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
22	V	L	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
23	S	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
24	D	M	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
25	L	J	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
26	M	V	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
27	M	S	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
28	J	D	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
29	V	L	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
30	S		M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
31	D		J		M		D	M		L		S

STEP Ginestous + STEP Seilh
STEP Ginestous + STEP Seilh + amont/aval Ginestous
Amont/aval Ginestous
Sortie Ginestous
Sortie Ginestous + amont/aval Ginestous

2017

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
1	D	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
2	L	J	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
3	M	V	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
4	M	S	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
5	J	D	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
6	V	L	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
7	S	M	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
8	D	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
9	L	J	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
10	M	V	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
11	M	S	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
12	J	D	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
13	V	L	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
14	S	M	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
15	D	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
16	L	J	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
17	M	V	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
18	M	S	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
19	J	D	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
20	V	L	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
21	S	M	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
22	D	M	M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
23	L	J	J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
24	M	V	V	L	M	S	L	J	D	M	V	D
25	M	S	S	M	J	D	M	V	L	M	S	L
26	J	D	D	M	V	L	M	S	M	J	D	M
27	V	L	L	J	S	M	J	D	M	V	L	M
28	S	M	M	V	D	M	V	L	J	S	M	J
29	D		M	S	L	J	S	M	V	D	M	V
30	L		J	D	M	V	D	M	S	L	J	S
31	M		V		M		L	J		M		D

Amont/aval Ginestous
Sortie Ginestous
Sortie Ginestous + amont/aval Ginestous

Annexe 6. Période d'analyse des échantillons.

Nom échantillon	Station	Date prélèvement	Période d'analyse
ESG2-ENG2	Entrée Ginestous	Juin 2015	Période 1
SG2	Sortie Ginestous	Juin 2015	Période 1
ES2	Entrée Seilh	Juin 2015	Période 1
SS2	Sortie Seilh	Juin 2015	Période 1
T1	Touch	Juin 2015	Période 1
AtG1	Amont Ginestous	Juin 2015	Période 1
AlG1	Aval Ginestous	Juin 2015	Période 1
G1	Gagnac	Juin 2015	Période 1
ESG6-ENG6	Entrée Ginestous	Octobre 2015	Période 1
SG6	Sortie Ginestous	Octobre 2015	Période 1
ES6	Entrée Seilh	Octobre 2015	Période 1
SS6	Sortie Seilh	Octobre 2015	Période 1
T3	Touch	Octobre 2015	Période 1
AtG3	Amont Ginestous	Octobre 2015	Période 1
AlG3	Aval Ginestous	Octobre 2015	Période 1
G3	Gagnac	Octobre 2015	Période 1
T5	Touch	Février 2016	Période 1
AtG5	Amont Ginestous	Février 2016	Période 1
AlG5	Aval Ginestous	Février 2016	Période 1
G5	Gagnac	Février 2016	Période 1
SG14	Sortie Ginestous	Juin 2016	Période 1
T7	Touch	Juin 2016	Période 1
AtG7	Amont Ginestous	Juin 2016	Période 1
AlG7	Aval Ginestous	Juin 2016	Période 1
G7	Gagnac	Juin 2016	Période 1
SG16	Sortie Ginestous	Août 2016	Période 1
T9	Touch	Août 2016	Période 1
AtG9	Amont Ginestous	Août 2016	Période 1
AlG9	Aval Ginestous	Août 2016	Période 1
G9	Gagnac	Août 2016	Période 1
ESG4-ENG4	Entrée Ginestous	Août 2015	Période 2
SG4	Sortie Ginestous	Août 2015	Période 2
ES4	Entrée Seilh	Août 2015	Période 2
SS4	Sortie Seilh	Août 2015	Période 2
T2	Touch	Août 2015	Période 2
AtG2	Amont Ginestous	Août 2015	Période 2
AlG2	Aval Ginestous	Août 2015	Période 2
G2	Gagnac	Août 2015	Période 2
ESG10-ENG10	Entrée Ginestous	Février 2016	Période 2
SG10	Sortie Ginestous	Février 2016	Période 2

ES10	Entrée Seilh	Février 2016	Période 2
SS10	Sortie Seilh	Février 2016	Période 2
ESG12-ENG12	Entrée Ginestous	Avril 2016	Période 2
SG12	Sortie Ginestous	Avril 2016	Période 2
ES12	Entrée Seilh	Avril 2016	Période 2
SS12	Sortie Seilh	Avril 2016	Période 2
T6	Touch	Avril 2016	Période 2
AtG6	Amont Ginestous	Avril 2016	Période 2
AlG6	Aval Ginestous	Avril 2016	Période 2
G6	Gagnac	Avril 2016	Période 2
SG15	Sortie Ginestous	Juillet 2016	Période 2
T8	Touch	Juillet 2016	Période 2
AtG8	Amont Ginestous	Juillet 2016	Période 2
AlG8	Aval Ginestous	Juillet 2016	Période 2
G8	Gagnac	Juillet 2016	Période 2
SG17	Sortie Ginestous	Septembre 2016	Période 2
T10	Touch	Septembre 2016	Période 2
AtG10	Amont Ginestous	Septembre 2016	Période 2
AlG10	Aval Ginestous	Septembre 2016	Période 2
G10	Gagnac	Septembre 2016	Période 2
SG18	Sortie Ginestous	Octobre 2016	Période 2
T11	Touch	Octobre 2016	Période 2
AtG11	Amont Ginestous	Octobre 2016	Période 2
AlG11	Aval Ginestous	Octobre 2016	Période 2
G11	Gagnac	Octobre 2016	Période 2
SG19	Sortie Ginestous	Novembre 2016	Période 2
T12	Touch	Novembre 2016	Période 2
AtG12	Amont Ginestous	Novembre 2016	Période 2
AlG12	Aval Ginestous	Novembre 2016	Période 2
G12	Gagnac	Novembre 2016	Période 2
SG20	Sortie Ginestous	Décembre 2016	Période 2
T13	Touch	Décembre 2016	Période 2
AtG13	Amont Ginestous	Décembre 2016	Période 2
AlG13	Aval Ginestous	Décembre 2016	Période 2
G13	Gagnac	Décembre 2016	Période 2
ESG5-ENG9	Entrée Ginestous	Janvier 2016	Période 3
SG9	Sortie Ginestous	Janvier 2016	Période 3
ES9	Entrée Seilh	Janvier 2016	Période 3
SS9	Sortie Seilh	Janvier 2016	Période 3
T4	Touch	Janvier 2016	Période 3
AtG4	Amont Ginestous	Janvier 2016	Période 3
G4	Gagnac	Janvier 2016	Période 3
SG21	Sortie Ginestous	Janvier 2017	Période 3

T14	Touch	Janvier 2017	Période 3
AtG14	Amont Ginestous	Janvier 2017	Période 3
AlG14	Aval Ginestous	Janvier 2017	Période 3
G14	Gagnac	Janvier 2017	Période 3
SG22	Sortie Ginestous	Février 2017	Période 3
T15	Touch	Février 2017	Période 3
AtG15	Amont Ginestous	Février 2017	Période 3
AlG15	Aval Ginestous	Février 2017	Période 3
G15	Gagnac	Février 2017	Période 3
T16	Touch	Mars 2017	Période 3
AtG16	Amont Ginestous	Mars 2017	Période 3
AlG16	Aval Ginestous	Mars 2017	Période 3
G16	Gagnac	Mars 2017	Période 3
T17	Touch	Avril 2017	Période 3
AtG17	Amont Ginestous	Avril 2017	Période 3
AlG17	Aval Ginestous	Avril 2017	Période 3
G17	Gagnac	Avril 2017	Période 3

Annexe 7. Références bibliographiques des données de dangers intégrées dans la BDD. « idreference » est une colonne de la table « references » de la BDD et constitue une clé primaire. Cette valeur est ensuite reportée dans les tables « toxicites » et « pnecvalue » afin de pouvoir retrouver les références associées à chacune des valeurs de ces deux tables.

Danger	IdReference
(Lützhøft, Halling-Sørensen, et Jørgensen 1999)	6
(Brain et al. 2004)	11
(Laville et al. 2004)	17
(Benoît Ferrari et al. 2003)	22
(Elvers et Wright 1995)	38
(Lanzky et Halling-Sørensen 1997)	43
(Halling-Sørensen 2000)	48
(Migliore et al. 1997)	53
(Pursell, Bent Samuelsen, et Smith 1995)	58
(Sanyal et al. 1993)	63
(Schwaiger et al. 2004)	68
(L. Heckmann et al. 2007)	73
(Pomati et al. 2004)	79
(Isidori, Lavorgna, Nardelli, Pascarella, et al. 2005)	89
(Robinson, Belden, et Lydy 2005)	94
(Benoît Ferrari et al. 2004)	99
(Huggett et al. 2002)	104
(Lilius, Hästbacka, et Isomaa 1995)	109
(Calleja, Persoone, et Geladi 1994b)	114
(Backhaus, Scholze, et Grimme 2000)	119
(Henschel et al. 1997)	124

(Farré et al. 2001) 130

(Villegas-Navarro, Rosas-L, et Reyes 2003) 135

(Schwaiger et al. 2004) 140

(Sanderson 2003) 145

(Pawlowski et al. 2004) 150

(Lilius, Isomaa, et Holmström 1994) 155

(Länge et al. 2001) 160

(Jones, Voulvoulis, et Lester 2002) 165

(Hartmann et al. 1999) 170

(Stuer-Lauridsen et al. 2000) 175

(Ra et al. 2008) 181

(G. H. Han, Hur, et Kim 2006) 186

(Brun et al. 2006) 191

(Huschek et al. 2004) 196

(J. Kim et al. 2010) 201

(Isidori, Lavorgna, Nardelli, Parrella, et al. 2005) 207

(Hernando et al. 2004) 213

(M Cleuvers 2003) 218

(Michael Cleuvers 2004) 223

(Quinn et al. 2011) 228

(Jos et al. 2003) 233

(Nalecz-Jawecki et Persoone 2006) 244

(Winter et al. 2008) 249

(Thibaut, Schnell, et Porte 2006) 254

(Michael Cleuvers 2005) 259

(Pascoe et al. 2002) 260

(Watts, Pascoe, et Carroll 2001) 261

(Wollenberger, Halling-Sorensen, et Kusk 2000) 262

(Dojmi Di Delupis et al. 1992) 263

(Brian et al. 2005) 264

(Van den Belt, Verheyen, et Witters 2003) 266

(Kramer et al. 1998) 267

(K. L. Thorpe et al. 2001) 268

(Routledge et al. 1998) 269

(Rose et al. 2002) 271

(Thompson et al. 2000) 273

(Folmar et al. 2002) 275

(Fraysse et Garric 2005) 276

(Caldwell et al. 2008) 277

(Segner et al. 2003) 278

(Roepke, Snyder, et Cherr 2005) 279

(Islinger et al. 2003) 280

(Breitholtz et Bengtsson 2001) 281

(Jaser et al. 2003) 282

(Van den Belt et al. 2004) 283

(K. I. Thorpe et al. 2000) 284

(Y. Kim et al. 2007) 285

(P. Kim et al. 2012) 286

(S. Han et al. 2010) 287

(Pounds et al. 2008) 288

(L.-H. Heckmann et al. 2005) 289

(Hoeger et al. 2005) 290

(Zillioux et al. 2001) 291

(Metcalfe et al. 2001) 292

(Seki et al. 2002) 293

(Schulte-Oehlmann et al. 2004) 294

(Radix et al. 2002) 296

(Hansen et al. 1998) 297

(Dulio et Andres 2013) 298

(Young et al. 2004) 300

(Fabrizio Botta et Dulio 2014) 301

(Ågerstrand et Rudén 2010) 303

(Aguirre-Martínez et al. 2013) 304

(Bouissou-Schurtz et al. 2014) 305

(Escher et al. 2011) 306

(Grung et al. 2008) 307

(Jiang et al. 2014)	308
(Komori et al. 2013)	309
(Lee et al. 2008)	310
(López-Roldán et al. 2013)	311
(Nieto et al. 2013)	312
(Ortiz de García et al. 2014)	313
(Quinn, Gagné, et Blaise 2008b)	314
(Turkdogan et Yetilmezsoy 2009)	315
(Valcárcel et al. 2011)	316
(Zaleka-Radziwill et al. 2011)	317
(Zheng et al. 2012)	318
(Golet, Alder, et Giger 2002)	319
(Park et Choi 2008)	320
(Choi et al. 2008)	321
(Halling-Sørensen et al. 2000)	322
(Ando et al. 2007)	323
(Białk-Bielińska et al. 2011)	324
(EMEA 2006)	325
(van den Brandhof et Montforts 2010)	326
(Carlsson et al. 2006)	327
(Rhee et al. 2012)	328
(Blaise et al. 2006)	329

(Zurita et al. 2007) 330

(Caminada, Escher, et Fent 2006) 331

(Baran, Sochacka, et Wardas 2006) 332

(Al-Ahmad, Daschner, et Kümmerer 1999) 333

(Hiroshi et al. 2007) 334

(Yang et al. 2008) 335

(Eguchi et al. 2004) 336

(Peterson, Batley, et Scammell 1993) 337

(Schowanek et Webb 2002) 339

(Kaza, Nalecz-Jawecki, et Sawicki 2007) 340

(Triebskorn et al. 2007) 342

(Quinn, Gagné, et Blaise 2008a) 343

(K. Kümmerer et Henninger 2003) 344

(Calleja, Persoone, et Geladi 1994a) 345

(Verlicchi, Al Aukidy, et Zambello 2012) 346

(Klaus Kümmerer 2004) 347

(Marques, Abrantes, et Gonçalves 2004) 348

(Garric et al. 2006) 349

Ågerstrand, Marlene, et Christina Rudén. 2010. « Evaluation of the Accuracy and Consistency of the Swedish Environmental Classification and Information System for Pharmaceuticals ». *Science of The Total Environment* 408 (11): 2327 39. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.02.020.

Aguirre-Martínez, Gabriela V., Sara Buratti, Elena Fabbri, Angel T. DelValls, et M. Laura Martín-Díaz. 2013. « Using Lysosomal Membrane Stability of Haemocytes in Ruditapes Philippinarum as a Biomarker of Cellular Stress to Assess Contamination by Caffeine, Ibuprofen, Carbamazepine and Novobiocin ». *Journal of Environmental Sciences* 25 (7): 1408 18. doi:10.1016/S1001-0742(12)60207-1.

Al-Ahmad, A., F. D. Daschner, et K. Kümmerer. 1999. « Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfamethoxazole and inhibition of waste water bacteria ». *Archives of environmental contamination and toxicology* 37 (2): 158–163.

Ando, Tomonori, Hiroyasu Nagase, Kaoru Eguchi, Takashi Hirooka, Takanori Nakamura, Kazuhisa Miyamoto, et Kazumasa Hirata. 2007. « A novel method using cyanobacteria for ecotoxicity test of veterinary antimicrobial agents ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 26 (4): 601–606.

Backhaus, T., M. Scholze, et L. H. Grimme. 2000. « The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium Vibrio fischeri ». *Aquatic Toxicology* 49 (1): 49–61.

Baran, Wojciech, Jolanta Sochacka, et Władysław Wardas. 2006. « Toxicity and Biodegradability of Sulfonamides and Products of Their Photocatalytic Degradation in Aqueous Solutions ». *Chemosphere* 65 (8): 1295 99. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.04.040.

Białk-Bielińska, Anna, Stefan Stolte, Jürgen Arning, Ute Uebers, Andrea Böschen, Piotr Stepnowski, et Marianne Matzke. 2011. « Ecotoxicity Evaluation of Selected Sulfonamides ». *Chemosphere* 85 (6): 928 33. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.06.058.

Blaise, C., F. Gagné, P. Eullaffroy, et J.-F. Férard. 2006. « Ecotoxicity of selected pharmaceuticals of urban origin discharged to the Saint-Lawrence river (Québec, Canada): a review ». *Braz J Aquat Sci Technol* 10 (2): 29 51.

Bouissou-Schurtz, Camille, Paul Houeto, Michel Guerbet, Morgane Bachelot, Claude Casellas, Anne-Cécile Mauclaire, Pascale Panetier, Cécile Delval, et Dominique Masset. 2014. « Ecological Risk Assessment of the Presence of Pharmaceutical Residues in a French National Water Survey ». *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 69 (3): 296 303. doi:10.1016/j.yrtph.2014.04.006.

Brain, Richard A., David J. Johnson, Sean M. Richards, Hans Sanderson, Paul K. Sibley, et Keith R. Solomon. 2004. « Effects of 25 pharmaceutical compounds to Lemna gibba using a seven-day static-renewal test ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (2): 371–382.

Brandhof, Evert-Jan van den, et Mark Montforts. 2010. « Fish Embryo Toxicity of Carbamazepine, Diclofenac and Metoprolol ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73 (8): 1862 66. doi:10.1016/j.ecoenv.2010.08.031.

Breitholtz, M., et B.-E. Bengtsson. 2001. « Oestrogens have no Hormonal Effect on the Development and Reproduction of the Harpacticoid Copepod Nitocra spinipes ». *Marine Pollution Bulletin* 42 (10): 879 86.

Brian, Jayne V., Catherine A. Harris, Martin Scholze, Thomas Backhaus, Petra Booy, Marja Lamoree, Giulio Pojana, et al. 2005. « Accurate Prediction of the Response of Freshwater Fish to a Mixture of Estrogenic Chemicals ». *Environmental Health Perspectives* 113 (6): 721 28. doi:10.1289/ehp.7598.

Brun, Guy L., Marc Bernier, René Losier, Ken Doe, Paula Jackman, et Hing-Biu Lee. 2006. « Pharmaceutically active compounds in Atlantic canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters, and

potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (8): 2163 76.

Caldwell, Daniel J., Frank Mastrocco, Thomas H. Hutchinson, Reinhard Länge, Dagobert Heijerick, Colin Janssen, Paul D. Anderson, et John P. Sumpter. 2008. « Derivation of an Aquatic Predicted No-Effect Concentration for the Synthetic Hormone, 17α-Ethinyl Estradiol ». *Environmental Science & Technology* 42 (19): 7046 54. doi:10.1021/es800633q.

Calleja, M. C., G. Persoone, et P. Geladi. 1994a. « Human acute toxicity prediction of the first 50 MEIC chemicals by a battery of ecotoxicological tests and physicochemical properties ». *Fd Chem. Toxic*. 32 (2): 173 87.

Calleja, M. C., Guido Persoone, et P. Geladi. 1994b. « Comparative acute toxicity of the first 50 multicentre evaluation of in vitro cytotoxicity chemicals to aquatic non-vertebrates ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 26 (1): 69–78.

Caminada, Daniel, Claudia Escher, et Karl Fent. 2006. « Cytotoxicity of Pharmaceuticals Found in Aquatic Systems: Comparison of PLHC-1 and RTG-2 Fish Cell Lines ». *Aquatic Toxicology* 79 (2): 114 23. doi:10.1016/j.aquatox.2006.05.010.

Carlsson, Carina, Anna-Karin Johansson, Gunnar Alvan, Kerstin Bergman, et Thomas Kühler. 2006. « Are Pharmaceuticals Potent Environmental Pollutants? » *Science of The Total Environment* 364 (1 3): 67 87. doi:10.1016/j.scitotenv.2005.06.035.

Choi, Kyungho, Younghee Kim, Jinyong Jung, Myung-Hyun Kim, Chang-Soo Kim, Nam-Hee Kim, et Jeongim Park. 2008. « Occurrences and ecological risks of roxithromycin, trimethoprim, and chloramphenicol in the Han River, Korea ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (3): 711–719.

Cleuvers, M. 2003. « Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects ». *Toxicology Letters* 142 (3): 185 94.

Cleuvers, Michael. 2004. « Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59 (3): 309 15.

———. 2005. « Initial Risk Assessment for Three β-Blockers Found in the Aquatic Environment ». *Chemosphere* 59 (2): 199 205.

Dojmi Di Delupis, Gianluigi, Agostino Macri, Cinzia Civitareale, et Luciana` Migliore. 1992. « Antibiotics of zootechnical use : effects og acute high and low dose contamination on Daphnia magna Straus ». *Aquatic Toxicology* 22: 53 60.

Dulio, Valeria, et Sandrine Andres. 2013. « Recommandations du Comité Experts Priorisation auprès du MEDDE pour la sélection des Subtances Pertinentes à Surveiller dans les Milieux Aquatiques pour le Second Cycle de la DCE (2016-2021) ». Rapport AQUAREF 2013.

Eguchi, Kaoru, Hiroyasu Nagase, Manao Ozawa, Yuuko S. Endoh, Kisako Goto, Kazumasa Hirata, Kazuhisa Miyamoto, et Haruo Yoshimura. 2004. « Evaluation of Antimicrobial Agents for Veterinary Use in the Ecotoxicity Test Using Microalgae ». *Chemosphere* 57 (11): 1733 38. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.07.017.

Elvers, K. T., et S. J. L. Wright. 1995. « Antibacterial activity of the anti-inflammatory compound ibuprofen ». *Letters in applied microbiology* 20 (2): 82–84.

EMEA. 2006. « Initial assessment of eleven pharmaceuticals using the EMEA guideline in Norway ».

Escher, Beate I., Rebekka Baumgartner, Mirjam Koller, Karin Treyer, Judit Lienert, et Christa S. McArdell. 2011. « Environmental Toxicology and Risk Assessment of Pharmaceuticals from Hospital Wastewater ». *Water Research* 45 (1): 75 92. doi:10.1016/j.watres.2010.08.019.

Fabrizio Botta, et Valeria Dulio. 2014. « Résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DOM ». Rapport final. Etude sur les contaminants émergents dans les eaux françaises. ONEMA.

Farré, Marinella, Imma Ferrer, Antoni Ginebreda, Mercè Figueras, Lourdes Olivella, Lluis Tirapu, Manel Vilanova, et Damia Barcelo. 2001. « Determination of drugs in surface water and wastewter samples by liquid chromatography-mass spectrometry : method and preliminary results including toxicity studies with Vibrio fischeri ». *Journal of Chromatography A*, n° 938: 187 97.

Ferrari, Benoît, Raphael Mons, Bernard Vollat, Benoît Fraysse, Nicklas Paxéus, Roberto Lo Guidice, Antonio Pollio, et Jeanne Garric. 2004. « Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals : are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? » *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (5): 1344 54.

Ferrari, Benoît, Nicklas Paxeus, Roberto Lo Giudice, Antonino Pollio, et Jeanne Garric. 2003. « Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55 (3): 359–370.

Folmar, Leroy C., Michael J. Hemmer, Nancy D. Denslow, Kevin Kroll, Jian Chen, Ann Cheek, Harold Richman, Hillary Meredith, et E. Gordon Grau. 2002. « A comparison of the estrogenic potencies of estradiol, ethynylestradiol, diethylstilbestrol, nonylphenol and methoxychlor in vivo and in vitro ». *Aquatic Toxicology* 60 (1): 101–110.

Fraysse, Benoit, et Jeanne Garric. 2005. « Prediction and experimental validation of acute toxicity of beta-blockers in Ceriodaphnia dubia ». *Environmental Toxicology* 24 (10): 2470 76.

Garric, Jeanne, Benoît Ferrari, Benoît Fraysse, Raphael Mons, et Bernard Vollat. 2006. « Impact des médicaments à usage humain sur les organismes aquatiques d'eau douce ». *Environnement, Risques & Santé* 5 (4).

Golet, Eva M., Alfredo C. Alder, et Walter Giger. 2002. « Environmental Exposure and Risk Assessment of Fluoroquinolone Antibacterial Agents in Wastewater and River Water of the Glatt Valley Watershed, Switzerland ». *Environmental Science & Technology* 36 (17): 3645 51. doi:10.1021/es0256212.

Grung, Merete, Torsten Källqvist, Solveig Sakshaug, Svetlana Skurtveit, et Kevin V. Thomas. 2008. « Environmental Assessment of Norwegian Priority Pharmaceuticals Based on the EMEA Guideline ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71 (2): 328 40. doi:10.1016/j.ecoenv.2007.10.015.

Halling-Sørensen, B. 2000. « Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming ». *Chemosphere* 40 (7): 731–739.

Halling-Sørensen, B., H.-C. Holten Lützhoft, H. Andersen, et F. Ingerslev. 2000. « Environmental risk assessment of antibiotics: comparison of mecillinam, trimethoprim and ciprofloxacin ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46 (Suppl. S1): 53 58.

Han, Guk H., Hor G. Hur, et Sang D. Kim. 2006. « Ecotoxicological risk of pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: occurrence and toxicity to Daphnia magna ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (1): 265–271.

Han, Sunyoung, Kyungho Choi, Jungkon Kim, Kyunghee Ji, Sunmi Kim, Byeongwoo Ahn, Junheon Yun, Kyunghee Choi, Jong Seong Khim, et Xiaowei Zhang. 2010. « Endocrine disruption and consequences

of chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka (Oryzias latipes) and freshwater cladocerans Daphnia magna and Moina macrocopa ». *Aquatic Toxicology* 98 (3): 256 64.

Hansen, Peter D., H. Dizer, B. Hock, A. Marx, J. Sherry, M. McMaster, et Ch. Blaise. 1998. « Vitellogenin - a biomarker for endocrine disruptors ». *Trends in analytical chemistry* 17 (7).

Hartmann, A., E. M. Golet, S. Gartiser, A. C. Alder, T. Koller, et R. M. Widmer. 1999. « Primary DNA damage but not mutagenicity correlates with ciprofloxacin concentrations in German hospital wastewaters ». *Archives of environmental contamination and toxicology* 36 (2): 115–119.

Heckmann, L, A Callaghan, H Hooper, R Connon, T Hutchinson, S Maund, et R Sibly. 2007. « Chronic toxicity of ibuprofen to Daphnia magna: Effects on life history traits and population dynamics ». *Toxicology Letters* 172 (3): 137 45.

Heckmann, Lars-H, Richard Connon, Helen L. Hooper, Steve Maund, Thomas H. Hutchinson, Richard M. Sibly, et Amanda Callaghan. 2005. « Molecular and population stress responses of daphnia magna exposed to ibuprofen ». présenté à Fifteen Annual Meeting of SETAC-Europe, 22-26 May 2005, Lille, France.

Henschel, K.-P., As Wenzel, M. Diedrich, et A. Fliedner. 1997. « Environmental hazard assessment of pharmaceuticals ». *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 25 (3): 220–225.

Hernando, M.D., M. Petrovic, A.R. Fernández-Alba, et D. Barceló. 2004. « Analysis by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for β-blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples ». *Journal of Chromatography A* 1046 (1 2): 133 40.

Hiroshi, Yamamoto, Nakamura Yudai, Nakamura Yuki, Kitani Chise, Imari Tetsuya, Sekizawa Jun, Takao Yuji, et al. 2007. « Initial ecological risk assessment of eight selected human pharmaceuticals in Japan ». *Environmental Sciences* 14 (4): 177 93.

Hoeger, Birgit, Bernd Köllner, Daniel R. Dietrich, et Bettina Hitzfeld. 2005. « Water-Borne Diclofenac Affects Kidney and Gill Integrity and Selected Immune Parameters in Brown Trout (Salmo Trutta F. Fario) ». *Aquatic Toxicology* 75 (1): 53 64.

Huggett, D. B., B. W. Brooks, B. Peterson, C. M. Foran, et D. Schlenk. 2002. « Toxicity of Select Beta Adrenergic Receptor-Blocking Pharmaceuticals (B-Blockers) on Aquatic Organisms ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 43 (2): 229 35.

Huschek, Gerd, Peter D. Hansen, Hans H. Maurer, Dietmar Krengel, et Anja Kayser. 2004. « Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use according to European Commission Recommendations ». *Environmental Toxicology* 19 (3): 226 40.

Isidori, Marina, Margherita Lavorgna, Angela Nardelli, Alfredo Parrella, Lucio Previtera, et Maria Rubino. 2005. « Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products ». *Science of The Total Environment* 348 (1 3): 93 101.

Isidori, Marina, Margherita Lavorgna, Angela Nardelli, Luigia Pascarella, et Alfredo Parrella. 2005. « Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms ». *Science of The Total Environment* 346 (1 3): 87 98.

Islinger, Markus, Daniel Willimski, Alfred Völkl, et Thomas Braunbeck. 2003. « Effects of 17a-ethinylestradiol on the expression of three estrogen-responsive genes and cellular ultrastructure of liver and testes in male zebrafish ». *Aquatic Toxicology* 62: 85 103.

Jaser, Wolfgang, Gabriele F. Severin, Uta Jütting, Ingrid Jüttner, Karl-Werner Schramm, et Antonius Kettrup. 2003. « Effects of 17α-ethinylestradiol on the reproduction of the cladoceran species Ceriodaphnia reticulata and Sida crystallina ». *Environment international* 28 (7): 633–638.

Jiang, Yonghai, Mingxiao Li, Changsheng Guo, Da An, Jian Xu, Yuan Zhang, et Beidou Xi. 2014. « Distribution and Ecological Risk of Antibiotics in a Typical Effluent–receiving River (Wangyang River) in North China ». *Chemosphere* 112 (octobre): 267 74. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.04.075.

Jones, O. A. H., N. Voulvoulis, et J. N. Lester. 2002. « Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals ». *Water research* 36 (20): 5013–5022.

Jos, A, G Repetto, J.C Rios, M.J Hazen, M.L Molero, A del Peso, M Salguero, P Fernández-Freire, J.M Pérez-Martín, et A Cameán. 2003. « Ecotoxicological evaluation of carbamazepine using six different model systems with eighteen endpoints ». *Toxicology in Vitro* 17 (5 6): 525 32.

Kaza, Michal, Grzegorz Nalecz-Jawecki, et Józef Sawicki. 2007. « The toxicity of selected pharmaceuticals to the aquatic plant Lemna minor ». *Fresenius Environmental Bulletin* 16 (5): 524–531.

Kim, Jungkon, Jeongim Park, Pan-Gyi Kim, Chulwoo Lee, Kyunghee Choi, et Kyungho Choi. 2010. « Implication of global environmental changes on chemical toxicity-effect of water temperature, pH, and ultraviolet B irradiation on acute toxicity of several pharmaceuticals in Daphnia magna ». *Ecotoxicology* 19 (4): 662 69.

Kim, PanGyi, Yena Park, Kyunghee Ji, Jihyun Seo, Sangwoo Lee, Kyunghee Choi, Younglim Kho, Jeongim Park, et Kyungho Choi. 2012. « Effect of chronic exposure to acetaminophen and lincomycin on Japanese medaka (Oryzias latipes) and freshwater cladocerans Daphnia magna and Moina macrocopa, and potential mechanisms of endocrine disruption ». *Chemosphere* 89 (1): 10 18.

Kim, Younghee, Kyungho Choi, Jinyong Jung, Sujung Park, Pan-Gyi Kim, et Jeongim Park. 2007. « Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea ». *Environment International* 33 (3): 370 75.

Komori, K., Y. Suzuki, M. Minamiyama, et A. Harada. 2013. « Occurrence of Selected Pharmaceuticals in River Water in Japan and Assessment of Their Environmental Risk ». *Environmental Monitoring and Assessment* 185 (6): 4529 36. doi:10.1007/s10661-012-2886-4.

Kramer, V. J., S. Miles-Richardson, S. L. Pierens, et J. P. Giesy. 1998. « Reproductive impairment and induction of alkaline-labile phosphate, a biomarker of estrogen exposure, in fathead minnows (Pimephales promelas) exposed to waterborne 17β-estradiol ». *Aquatic Toxicology* 40 (4): 335–360.

Kümmerer, K., et A. Henninger. 2003. « Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent ». *Clinical Microbiology and Infection* 9 (12): 1203–1214.

Kümmerer, Klaus, éd. 2004. *Pharmaceuticals in the Environment*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-662-09259-0.

Länge, Reinhard, Thomas H. Hutchinson, Charlotte P. Croudace, Fred Siegmund, Hermann Schweinfurth, Peter Hampe, Grace H. Panter, et John P. Sumpter. 2001. « Effects of the synthetic estrogen 17α-ethinylestradiol on the life-cycle of the fathead minnow (Pimephales promelas) ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (6): 1216–1227.

Lanzky, P.F., et B. Halling-Sørensen. 1997. « The toxic effect of the antibiotic metronidazole on aquatic organisms ». *Chemosphere* 35 (11): 2553 61.

Laville, N, S Aït-Aïssa, E Gomez, C Casellas, et J.M Porcher. 2004. « Effects of human pharmaceuticals on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in fish hepatocytes ». *Toxicology* 196 (1 2): 41 55.

Lee, Yong-Ju, Sung-Eun Lee, Dong Soo Lee, et Yong-Hwa Kim. 2008. « Risk Assessment of Human Antibiotics in Korean Aquatic Environment ». *Environmental Toxicology and Pharmacology* 26 (2): 216 21. doi:10.1016/j.etap.2008.03.014.

Lilius, Henrik, Tom Hästbacka, et Boris Isomaa. 1995. « Short communication: a comparison of the toxicity of 30 reference chemicals to Daphnia magna and Daphnia pulex ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 14 (12): 2085–2088.

Lilius, Henrik, Boris Isomaa, et Tim Holmström. 1994. « A comparison of the toxicity of 50 reference chemicals to freshly isolated rainbow trout hepatocytes and Daphnia magna ». *Aquatic Toxicology* 30: 47 60.

López-Roldán, Ramon, Irene Jubany, Vicenç Martí, Susana González, et Jose Luis Cortina. 2013. « Ecological Screening Indicators of Stress and Risk for the Llobregat River Water ». *Journal of Hazardous Materials* 263 (décembre): 239 47. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.07.008.

Lützhøft, H.-C. Holten, B. Halling-Sørensen, et S. E. Jørgensen. 1999. « Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 36 (1): 1–6.

Marques, Catarina R., Nelson Abrantes, et Fernando Gonçalves. 2004. « Life-History Traits of Standard and Autochthonous Cladocerans: I. Acute and Chronic Effects of Acetylsalicylic Acid: Acute and Chronic Effects of Acetylsalicylic Acid on Cladocerans ». *Environmental Toxicology* 19 (5): 518 26. doi:10.1002/tox.20059.

Metcalfe, Chris D., Tracy L. Metcalfe, Yiannis Kiparissis, Brenda G. Koenig, Colin Khan, Richard J. Hughes, Timothy R. Croley, Raymond E. March, et Thomas Potter. 2001. « Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (Oryzias latipes) ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (2): 297–308.

Migliore, Luciana, Cinzia Civitareale, Gianfranco Brambilla, et Gianluigi Dojmi Di Delupis. 1997. « Toxicity of several important agricultural antibiotics to Artemia ». *Wat. Res.* 31 (7): 1801 6.

Nalecz-Jawecki, Grzegorz, et Guido Persoone. 2006. « Toxicity of Selected Pharmaceuticals to the Anostracan Crustacean Thamnocephalus Platyurus - Comparison of Sublethal and Lethal Effect Levels with the 1h Rapidtoxkit and the 24h Thamnotoxkit Microbiotests ». *Environmental Science and Pollution Research - International* 13 (1): 22 27.

Nieto, Elena, Julián Blasco, Enrique González-Ortegón, Pilar Drake, et Miriam Hampel. 2013. « Is Atyaephyra Desmarestii a Useful Candidate for Lethal and Sub-Lethal Toxicity Tests on Pharmaceutical Compounds? » *Journal of Hazardous Materials* 263 (décembre): 256 65. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.08.035.

Ortiz de García, Sheyla Andrea, Gilberto Pinto Pinto, Pedro A. García-Encina, et Rubén Irusta-Mata. 2014. « Ecotoxicity and Environmental Risk Assessment of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Aquatic Environments and Wastewater Treatment Plants ». *Ecotoxicology* 23 (8): 1517 33. doi:10.1007/s10646-014-1293-8.

Park, Sujung, et Kyungho Choi. 2008. « Hazard Assessment of Commonly Used Agricultural Antibiotics on Aquatic Ecosystems ». *Ecotoxicology* 17 (6): 526 38. doi:10.1007/s10646-008-0209-x.

Pascoe, D., K. Carroll, W. Karntanut, et M. M. Watts. 2002. « Toxicity of 17alpha-Ethinylestradiol and Bisphenol A to the Freshwater Cnidarian Hydra vulgaris ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 43 (1): 56 63.

Pawlowski, S, R van Aerle, C.R Tyler, et T Braunbeck. 2004. « Effects of 17α-ethinylestradiol in a fathead minnow (Pimephales promelas) gonadal recrudescence assay ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57 (3): 330 45.

Peterson, S. M., G. E. Batley, et M. S. Scammell. 1993. « Tetracycline in Antifouling Paints ». *Marine Pollution Bulletin* 26 (2): 96 100.

Pomati, Francesco, Andrew G. Netting, Davide Calamari, et Brett A. Neilan. 2004. « Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of Synechocystis sp. and Lemna minor ». *Aquatic Toxicology* 67 (4): 387 96.

Pounds, Nadine, Sarah Maclean, Mike Webley, David Pascoe, et Thomas Hutchinson. 2008. « Acute and Chronic Effects of Ibuprofen in the Mollusc Planorbis Carinatus (Gastropoda: Planorbidae) ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70 (1): 47 52. doi:10.1016/j.ecoenv.2007.07.003.

Pursell, Lisa, Ole Bent Samuelsen, et Peter Smith. 1995. « Reduction in the in-vitro activity of flumequine against Aeromonas salmonicida in the presence of the concentration of Mg2+ and Ca2+ ions found in sea water ». *Aquaculture* 135: 245 55.

Quinn, Brian, François Gagné, et Christian Blaise. 2008a. « An Investigation into the Acute and Chronic Toxicity of Eleven Pharmaceuticals (and Their Solvents) Found in Wastewater Effluent on the Cnidarian, Hydra Attenuata ». *Science of The Total Environment* 389 (2 3): 306 14. doi:10.1016/j.scitotenv.2007.08.038.

———. 2008b. « The Effects of Pharmaceuticals on the Regeneration of the Cnidarian, Hydra Attenuata ». *Science of The Total Environment* 402 (1): 62 69. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.04.039.

Quinn, Brian, Wiebke Schmidt, Kathleen O'Rourke, et Robert Hernan. 2011. « Effects of the pharmaceuticals gemfibrozil and diclofenac on biomarker expression in the zebra mussel (Dreissena polymorpha) and their comparison with standardised toxicity tests ». *Chemosphere* 84 (5): 657 63.

Ra, Jin Sung, Seok-Young Oh, Byung Cheun Lee, et Sang Don Kim. 2008. « The effect of suspended particles coated by humic acid on the toxicity of pharmaceuticals, estrogens, and phenolic compounds ». *Environment International* 34 (2): 184 92.

Radix, P., G. Severin, K.-W. Schramm, et A. Kettrup. 2002. « Reproduction disturbances of Brachionus calyciflorus (rotifer) for the screening of environmental endocrine disrupters ». *Chemosphere* 47 (10): 1097–1101.

Rhee, Jae-Sung, Chang-Bum Jeong, Bo-Mi Kim, et Jae-Seong Lee. 2012. « P-Glycoprotein (P-Gp) in the Monogonont Rotifer, Brachionus Koreanus: Molecular Characterization and Expression in Response to Pharmaceuticals ». *Aquatic Toxicology* 114 115 (juin): 104 18. doi:10.1016/j.aquatox.2012.02.009.

Robinson, April A., Jason B. Belden, et Michael J. Lydy. 2005. « Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms ». *Environmental toxicology and Chemistry* 24 (2): 423–430.

Roepke, Troy A., Mark J. Snyder, et Gary N. Cherr. 2005. « Estradiol and Endocrine Disrupting Compounds Adversely Affect Development of Sea Urchin Embryos at Environmentally Relevant Concentrations ». *Aquatic Toxicology* 71 (2): 155 73. doi:10.1016/j.aquatox.2004.11.003.

Rose, Jon, Henrik Holbech, Christian Lindholst, Ulrik Nørum, Allan Povlsen, Bodil Korsgaard, et Poul Bjerregaard. 2002. « Vitellogenin induction by 17β-estradiol and 17α-ethinylestradiol in male zebrafish (Danio rerio) ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 131 (4): 531–539.

Routledge, E. J., Desbrow Sheahan, C. Desbrow, G. C. Brighty, M. Waldock, et J. P. Sumpter. 1998. « Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach ». *Environmental Science & Technology* 32 (11): 1559–1565.

Sanderson, H. 2003. « Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening ». *Toxicology Letters* 144 (3): 383 95.

Sanyal, A. K., D. Roy, B. Chowdhury, et A. B. Banerjee. 1993. « Ibuprofen, a unique anti-inflammatory compound with antifungal activity against dermatophytes ». *Letters in applied microbiology* 17 (3): 109–111.

Schowanek, Diederik, et Simon Webb. 2002. « Exposure simulation for pharmaceuticals in European surface waters with GREAT-ER ». *Toxicology Letters* 131 (1): 39–50.

Schulte-Oehlmann, U., M. Oetken, J. Bachmann, et J. Oehlmann. 2004. « Effects of ethinyloestradiol and methyltestosterone in prosobranch snails ». In *Pharmaceuticals in the Environment. Sources, Fate, Effects and Risks*., 2nd éd., 233–247. Springer-Verlag. http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-662-09259-0_19.

Schwaiger, J., H. Ferling, U. Mallow, H. Wintermayr, et R.D. Negele. 2004. « Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac ». *Aquatic Toxicology* 68 (2): 141 50.

Segner, H., K. Caroll, M. Fenske, C. R. Janssen, G. Maack, D. Pascoe, C. Schäfers, G. F. Vandenbergh, M. Watts, et A. Wenzel. 2003. « Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates and invertebrates: report from the European IDEA project ». *Ecotoxicology and environmental safety* 54 (3): 302–314.

Seki, Masanori, Hirofumi Yokota, Haruki Matsubara, Yukinari Tsuruda, Masanobu Maeda, Hiroshi Tadokoro, et Kunio Kobayashi. 2002. « Effect of ethinylestradiol on the reproduction and induction of vitellogenin and testis-ova in medaka (Oryzias latipes) ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 21 (8): 1692–1698.

Stuer-Lauridsen, F., M. Birkved, L. P. Hansen, H.-C. Holten Lützhoft, et B. Halling-Sørensen. 2000. « Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use ». *Chemosphere*, n° 40: 783 93.

Thibaut, Rémi, Sabine Schnell, et Cinta Porte. 2006. « The Interference of Pharmaceuticals with Endogenous and Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Carp Liver: An In-Vitro Study ». *Environmental Science & Technology* 40 (16): 5154 60.

Thompson, S., F. Tilton, D. Schlenk, et W. H. Benson. 2000. « Comparative vitellogenic responses in three teleost species: extrapolation to in situ field studies ». *Marine Environmental Research* 50 (1): 185–189.

Thorpe, Kare I., Thomas H. Hutchinson, Malcolm J. Hetheridge, John P. Sumpter, et Charles R. Tyler. 2000. « Development of an in vivo screening assay for estrogenic chemicals using juvenile rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 19 (11): 2812–2820.

Thorpe, Karen L., Thomas H. Hutchinson, Malcolm J. Hetheridge, Martin Scholze, John P. Sumpter, et Charles R. Tyler. 2001. « Assessing the Biological Potency of Binary Mixtures of Environmental Estrogens Using Vitellogenin Induction in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) ». *Environmental Science & Technology* 35 (12): 2476 81. doi:10.1021/es001767u.

Triebskorn, R., H. Casper, V. Scheil, et J. Schwaiger. 2007. « Ultrastructural Effects of Pharmaceuticals (Carbamazepine, Clofibric Acid, Metoprolol, Diclofenac) in Rainbow Trout (Oncorhynchus Mykiss) and Common Carp (Cyprinus Carpio) ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (4): 1405 16. doi:10.1007/s00216-006-1033-x.

Turkdogan, F. Ilter, et Kaan Yetilmezsoy. 2009. « Appraisal of Potential Environmental Risks Associated with Human Antibiotic Consumption in Turkey ». *Journal of Hazardous Materials* 166 (1): 297 308. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.11.012.

Valcárcel, Y., S. González Alonso, J.L. Rodríguez-Gil, A. Gil, et M. Catalá. 2011. « Detection of Pharmaceutically Active Compounds in the Rivers and Tap Water of the Madrid Region (Spain) and

Potential Ecotoxicological Risk ». *Chemosphere* 84 (10): 1336 48. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.05.014.

Van den Belt, K, P Berckmans, C Vangenechten, R Verheyen, et H Witters. 2004. « Comparative Study on the in Vitro/In Vivo Estrogenic Potencies of 17β-Estradiol, Estrone, 17α-Ethynylestradiol and Nonylphenol ». *Aquatic Toxicology* 66 (2): 183 95. doi:10.1016/j.aquatox.2003.09.004.

Van den Belt, K, R Verheyen, et H Witters. 2003. « Comparison of Vitellogenin Responses in Zebrafish and Rainbow Trout Following Exposure to Environmental Estrogens ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56 (2): 271 81. doi:10.1016/S0147-6513(03)00004-6.

Verlicchi, P., M. Al Aukidy, et E. Zambello. 2012. « Occurrence of Pharmaceutical Compounds in Urban Wastewater: Removal, Mass Load and Environmental Risk after a Secondary treatment—A Review ». *Science of The Total Environment* 429 (juillet): 123 55. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.04.028.

Villegas-Navarro, Arturo, Esperanza Rosas-L, et José L. Reyes. 2003. « The Heart of Daphnia Magna: Effects of Four Cardioactive Drugs ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 136 (2): 127 34.

Watts, Matthew M., David Pascoe, et Kathleen Carroll. 2001. « Survival and precopulatory behaviour of Gammarus pulex (L.) exposed to two xenoestrogens ». *Water Research* 35 (10): 2347–2352.

Winter, Matthew J., Adam D. Lillicrap, John E. Caunter, Christian Schaffner, Alfredo C. Alder, Maria Ramil, Thomas A. Ternes, Emma Giltrow, John P. Sumpter, et Thomas H. Hutchinson. 2008. « Defining the Chronic Impacts of Atenolol on Embryo-Larval Development and Reproduction in the Fathead Minnow (Pimephales Promelas) ». *Aquatic Toxicology* 86 (3): 361 69.

Wollenberger, L., B Halling-Sorensen, et K. O. Kusk. 2000. « Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to Daphnia magna ». *Chemosphere* 40: 723 30.

Yang, Li-Hua, Guang-Guo Ying, Hao-Chang Su, Jennifer L. Stauber, Merrin S. Adams, et Monique T. Binet. 2008. « Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga pseudokirchneriella subcapitata ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (5): 1201–1208.

Young, W. F., P. Whitehouse, I. Johnson, et N. Sorokin. 2004. « Proposed predicted-no-effect-concentrations (PNECs) for natural and synthetic steroid oestrogens in surface waters. » R&D Technical Report P2-T04/1 EA5098. Environment Agency.

Zaleka-Radziwill, Monika, Maria Lebkowska, Katarzyna Affek, et Agnieszka Zarzeczna. 2011. « Environmental risk assessment of selected pharmaceuticals present in surface waters in relation to animals ». *Archives of environmental protection* 37 (3): 31 42.

Zheng, Qian, Ruijie Zhang, Yinghui Wang, Xiaohui Pan, Jianhui Tang, et Gan Zhang. 2012. « Occurrence and Distribution of Antibiotics in the Beibu Gulf, China: Impacts of River Discharge and Aquaculture Activities ». *Marine Environmental Research* 78 (juillet): 26 33. doi:10.1016/j.marenvres.2012.03.007.

Zillioux, Edward J., Isabel C. Johnson, Yiannis Kiparissis, Chris D. Metcalfe, Jeff V. Wheat, Scott G. Ward, et Hui Liu. 2001. « The sheepshead minnow as an in vivo model for endocrine disruption in marine teleosts: A partial life-cycle test with 17α-ethynylestradiol ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (9): 1968–1978.

Zurita, Jorge L., Guillermo Repetto, Ángeles Jos, Manuel Salguero, Miguel López-Artíguez, et Ana M. Cameán. 2007. « Toxicological Effects of the Lipid Regulator Gemfibrozil in Four Aquatic Systems ». *Aquatic Toxicology* 81 (1): 106 15. doi:10.1016/j.aquatox.2006.11.007.

Annexe 8. Nombre de données écotoxicologiques référencées dans la BDD utilisant les poissons, algues, crustacés, bactéries et autres organismes pour chaque molécule ayant fait l'objet des recherches analytiques. Ces données concernent les bio-essais et les modélisations QSAR pour les toxicités aiguës et chroniques. N. d. (= no data) signifie qu'il n'y a pas encore de donnée dans la BDD pour le couple molécule/organisme correspondant.

Famille thérapeutique	Molécule	Nombre d'essais avec des poissons (%)	Nombre d'essais avec des algues (cyanobactéries incluses) (%)	Nombre d'essais avec des crustacés (%)	Nombre d'essais avec des bactéries (%)	Autres[a] (%)
Antibiotiques	Azithromycine	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Ciprofloxacine	4 (9%)	6 (13%)	8 (17,5%)	3 (6,5%)	25 (54%)
	Clarithromycine	2 (12%)	4 (23%)	5 (29%)	3 (18%)	3 (18%)
	Érythromycine	2 (4%)	31 (67,5%)	8 (17,5%)	n. d.	5 (11%)
	Fluméquine	n. d.	5 (26%)	3 (16%)	10 (53%)	1 (5%)
	Ofloxacine	n. d.	7 (16,5%)	7 (16,5%)	2 (5%)	26 (62%)
	Sulfaméthoxazole	3 (4%)	14 (19%)	15 (20%)	7 (10%)	34 (47%)
Analgésique	Paracétamol	8 (12%)	7 (11%)	36 (55%)	7 (11%)	7 (11%)
Antiépileptiques	Carbamazépine	13 (19%)	12 (17%)	18 (26%)	5 (7%)	22 (31%)
Anticancéreux	Cyclophosphamide	1 (20%)	1 (20%)	3 (60%)	n. d.	n. d.
Anxiolytiques	Lorazépam	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Oxazépam	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Anti-ulcéreux	Ranitidine	1 (33%)	1 (33%)	1 (33%)	n. d.	n. d.
Cardiovasculaires	Aténolol	9 (39%)	7 (30,5%)	7 (30,5%)	n. d.	n. d.
	Propranolol	6 (16%)	6 (16%)	21 (55%)	1 (3%)	4 (10%)
	Sotalol	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Hormones sexuelles	EE2	51 (63%)	1 (1%)	10 (12,5%)	n. d.	19 (23,5%)
	E2	12 (80%)	n. d.	1 (6,5%)	n. d.	2 (13,5%)
	Estrone	3 (75%)	n. d.	n. d.	n. d.	1 (25%)
Hypolipémiants	Bézafibrate	1 (7%)	1 (7%)	2 (14,5%)	n. d.	10 (71,5%)
AINS	Acide salicylique	4 (27%)	2 (13%)	4 (27%)	4 (27%)	1 (6%)
	Diclofénac	9 (39%)	1 (4,5%)	10 (43,5%)	n. d.	3 (13%)
	Ibuprofène	7 (11%)	9 (14%)	21 (32%)	7 (11%)	21 (32%)
	Kétoprofène	1 (20%)	1 (20%)	1 (20%)	2 (40%)	n. d.
	Naproxène	3 (11%)	4 (14%)	5 (18%)	4 (14%)	12 (43%)

a : organismes non identifiés, rotifères, macrophytes, diatomées, hydres, protozoaires ciliés, échinodermes, mollusque, champignon, singes.

Annexe 9. Résultats bruts de la période 1.

				Concentrations ng/L							
Composés	LQ (ng/L)	LD (ng/L)	RSD (%)	juin-15 Entrée Ginestous	juin-15 Sortie Ginestous	juin-15 Entrée Seilh	juin-15 Sortie Seilh	juin-15 Touch	juin-15 Amont Ginestous	juin-15 Aval Ginestous	juin-15 Gagnac
17 beta-estradiol	0,2	0,1	2,2	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Estrone	0,4	0,1	3,1	107,7	5,8	256,1	1,4	0,5	0,7	1,3	1,2
17 alpha-éthinylestradiol	0,7	0,2	5,7	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
acide salicylique	11,8	3,5	0,9	32236,0	93,9	8574,4	182,3	32,1	15,8	22,3	32,9
Aténolol	5,3	1,6	3,6	1407,5	958,0	1266,6	665,6	14,3	< LD	6,5	6,0
Azithromycine	35,7	10,7	3,2	502,6	92,5	161,2	245,5	< LD	< LD	< LD	< LD
Bézafibrate	7,8	2,3	1,2	436,2	194,4	303,6	79,5	< LQ	< LD	< LQ	< LQ
Carbamazépine	1,1	0,3	7,3	386,3	448,1	478,1	520,7	17,8	1,7	7,0	6,4
Ciprofloxacine	69,4	20,8	2,1	1097,5	356,4	1531,7	186,9	< LD	< LD	< LD	< LD
Clarithromycine	12,9	3,9	2,2	771,2	350,7	648,3	467,2	13,0	< LQ	< LQ	< LQ
Cyclophosphamide	1,6	0,5	0,3	19,8	25,7	8,9	8,3	< LD	< LD	< LQ	< LQ
Diclofénac	3,8	1,1	0,7	219,9	515,8	621,3	564,3	160,3	19,2	12,6	17,5
Erythromycine	19,6	5,9	1,5	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Fluméquine	28,2	8,5	4,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Ibuprofène	1,1	0,3	4,2	6109,8	120,9	7264,6	779,3	35,6	< LD	1,5	5,7
Kétoprofène	0,7	0,2	1,3	2350,8	236,9	3260,8	204,6	52,5	42,5	55,3	82,4
Lorazepam	6,0	1,8	7,7	227,4	54,4	173,9	27,3	< LD	< LD	< LD	< LD
Naproxène	1,5	0,5	4,8	3008,1	314,1	3514,3	150,6	15,8	1,5	3,8	5,0
Ofloxacine	7,3	2,2	1,7	679,4	500,3	1361,3	251,3	< LD	< LD	< LD	< LD
Oxazépam	2,1	0,6	5,3	754,0	798,0	455,5	477,7	29,9	2,8	10,3	10,5
Paracétamol	7,0	2,1	3,1	138690,5	247,8	108505,4	< LD	220,8	64,7	23,8	94,3
Pravastatine	0,2	0,0	6,9	139,6	215,0	151,8	107,8	< LD	< LD	< LD	< LD
Propranolol	6,2	1,9	1,6	283,7	349,8	309,1	258,7	6,7	< LQ	< LQ	< LQ
Ranitidine	6,7	2,0	3,8	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Sotalol	2,8	0,8	2,2	815,7	961,1	1289,7	1350,7	27,1	4,5	12,3	15,2
Sulfaméthoxazole	26,5	8,0	0,5	530,7	178,8	339,9	135,8	< LD	< LD	< LD	< LD
				oct-15 Entrée Ginestous	oct-15 Sortie Ginestous	oct-15 Entrée Seilh	oct-15 Sortie Seilh	oct-15 Touch	oct-15 Amont Ginestous	oct-15 Aval Ginestous	oct-15 Gagnac
17 beta-estradiol	0,2	0,1	2,2	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Estrone	0,4	0,1	3,1	396,5	3,1	123,0	6,1	3,0	0,4	3,0	1,5
17 alpha-éthinylestradiol	0,7	0,2	5,7	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
acide salicylique	11,8	3,5	0,9	43907,5	83,1	25744,2	145,5	483,9	21,0	32,2	47,0
Aténolol	5,3	1,6	3,6	2221,1	1200,7	2096,8	1305,4	23,2	< LD	28,8	21,1
Azithromycine	35,7	10,7	3,2	604,0	196,0	281,3	235,5	< LD	< LD	< LD	< LD
Bézafibrate	7,8	2,3	1,2	638,6	202,2	569,3	185,6	9,5	< LD	< LQ	< LQ
Carbamazépine	1,1	0,3	7,3	703,0	528,2	845,0	955,8	23,3	5,6	23,6	17,3
Ciprofloxacine	69,4	20,8	2,1	1067,1	678,6	739,8	133,9	< LD	< LD	< LD	< LD
Clarithromycine	12,9	3,9	2,2	672,8	336,2	1117,5	722,8	24,0	< LQ	17,6	< LQ
Cyclophosphamide	1,6	0,5	0,3	27,0	27,5	13,4	23,7	< LQ	< LD	< LQ	< LQ
Diclofénac	3,8	1,1	0,7	677,5	606,2	382,7	518,3	59,7	27,9	62,3	32,6
Erythromycine	19,6	5,9	1,5	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Fluméquine	28,2	8,5	4,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Ibuprofène	1,1	0,3	4,2	12222,2	124,4	30830,3	308,1	113,2	< LD	8,0	5,8
Kétoprofène	0,7	0,2	1,3	3544,5	210,9	4789,0	221,3	22,1	28,0	38,9	24,4
Lorazepam	6,0	1,8	7,7	318,9	39,8	78,4	28,0	< LD	< LD	< LD	< LD
Naproxène	1,5	0,5	4,8	4744,7	381,5	5935,2	1521,9	50,5	2,8	13,6	7,3
Ofloxacine	7,3	2,2	1,7	977,6	664,4	944,1	209,4	23,6	< LD	14,0	9,3
Oxazépam	2,1	0,6	5,3	908,7	963,4	908,9	902,7	30,9	11,9	32,9	28,5
Paracétamol	7,0	2,1	3,1	259896,6	278,1	173203,2	84,1	3461,5	99,9	89,9	84,4
Pravastatine	0,2	0,0	6,9	247,3	391,3	265,8	466,0	< LQ	< LD	< LD	< LD
Propranolol	6,2	1,9	1,6	350,0	406,8	523,8	472,0	9,9	< LD	11,1	8,8
Ranitidine	6,7	2,0	3,8	59,1	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Sotalol	2,8	0,8	2,2	1162,3	1221,6	2323,1	1947,5	42,7	< LD	40,1	38,1
Sulfaméthoxazole	26,5	8,0	0,5	440,1	224,8	816,1	171,2	< LD	< LD	< LD	< LD

Composés	LQ (ng/L)	LD (ng/L)	RSD (%)	Concentrations ng/L				
				févr-16	févr-16	févr-16	févr-16	
				Touch	Amont Ginestous	Aval Ginestous	Gagnac	
acide salicylique	11,8	3,5	0,9	13,0	26,7	< LQ	18,5	
Aténolol	5,3	1,6	3,6	10,6	< LD	5,7	7,0	
Azithromycine	35,7	10,7	3,2	< LD	< LD	< LD	< LD	
Bézafibrate	7,8	2,3	1,2	< LD	< LD	< LQ	< LQ	
Carbamazépine	1,1	0,3	7,3	9,2	2,0	2,8	4,6	
Ciprofloxacine	69,4	20,8	2,1	< LD	< LD	< LD	< LD	
Clarithromycine	12,9	3,9	2,2	12,9	< LQ	< LQ	< LQ	
Cyclophosphamide	1,6	0,5	0,3	< LQ	< LD	< LD	< LQ	
Diclofénac	3,8	1,1	0,7	47,1	14,2	40,5	17,0	
Erythromycine	19,6	5,9	1,5	< LD	< LD	< LD	< LD	
Fluméquine	28,2	8,5	4,6	< LD	< LD	< LD	< LD	
Ibuprofène	1,1	0,3	4,2	15,9	< LD	5,1	5,3	
Kétoprofène	0,7	0,2	1,3	39,3	59,5	40,9	21,9	
Lorazepam	6,0	1,8	7,7	< LD	< LD	< LD	< LD	
Naproxène	1,5	0,5	4,8	8,5	2,2	2,6	3,2	
Ofloxacine	7,3	2,2	1,7	< LD	< LD	< LQ	10,3	
Oxazépam	2,1	0,6	5,3	13,7	2,8	5,3	7,1	
Paracétamol	7,0	2,1	3,1	326,1	69,0	103,9	89,1	
Pravastatine	0,2	0,0	6,9	< LD	< LD	< LD	< LD	
Propranolol	6,2	1,9	1,6	< LQ	< LD	< LQ	< LQ	
Ranitidine	6,7	2,0	3,8	< LD	< LD	< LD	< LD	
Sotalol	2,8	0,8	2,2	19,6	< LQ	7,4	9,6	
Sulfaméthoxazole	26,5	8,0	0,5	< LD	< LD	< LD	< LD	
				juin-16	juin-16	juin-16	juin-16	juin-16
				Sortie Ginestous	Touch	Amont Ginestous	Aval Ginestous	Gagnac
17 beta-estradiol	0,2	0,1	2,2	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Estrone	0,4	0,1	3,1	2,4	0,9	0,9	1,0	2,6
17 alpha-éthinylestradiol	0,7	0,2	5,7	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
acide salicylique	11,8	3,5	0,9	68,3	< LQ	< LQ	13,9	39,2
Aténolol	5,3	1,6	3,6	970,7	9,6	< LD	8,1	8,7
Azithromycine	35,7	10,7	3,2	42,4	< LD	< LD	< LD	< LD
Bézafibrate	7,8	2,3	1,2	152,6	< LQ	< LD	< LQ	< LD
Carbamazépine	1,1	0,3	7,3	547,0	13,9	3,1	9,1	9,2
Ciprofloxacine	69,4	20,8	2,1	373,6	< LD	< LD	< LD	< LD
Clarithromycine	12,9	3,9	2,2	112,7	15,0	< LQ	< LQ	< LQ
Cyclophosphamide	1,6	0,5	0,3	27,6	< LD	< LD	< LQ	< LQ
Diclofénac	3,8	1,1	0,7	685,7	43,5	21,1	22,1	31,5
Erythromycine	19,6	5,9	1,5	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Fluméquine	28,2	8,5	4,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Ibuprofène	1,1	0,3	4,2	59,1	8,9	< LD	< LD	< LD
Kétoprofène	0,7	0,2	1,3	203,0	21,7	64,2	38,2	80,0
Lorazepam	6,0	1,8	7,7	32,0	< LD	< LD	< LD	< LD
Naproxène	1,5	0,5	4,8	273,2	6,7	< LQ	3,1	3,2
Ofloxacine	7,3	2,2	1,7	438,3	< LD	< LD	< LQ	< LD
Oxazépam	2,1	0,6	5,3	884,0	17,3	6,8	12,8	12,1
Paracétamol	7,0	2,1	3,1	98,9	233,4	22,2	32,0	23,2
Pravastatine	0,2	0,0	6,9	342,9	< LD	< LD	< LD	< LD
Propranolol	6,2	1,9	1,6	405,7	< LQ	< LD	< LQ	6,3
Ranitidine	6,7	2,0	3,8	< LQ	< LD	< LD	< LD	< LD
Sotalol	2,8	0,8	2,2	1265,0	21,0	4,2	13,7	11,8
Sulfaméthoxazole	26,5	8,0	0,5	169,2	< LD	< LD	< LD	< LD
				août-16	août-16	août-16	août-16	août-16
				Sortie Ginestous	Touch	Amont Ginestous	Aval Ginestous	Gagnac
17 beta-estradiol	0,2	0,1	2,2	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Estrone	0,4	0,1	3,1	8,5	1,8	0,7	3,4	3,0
17 alpha-éthinylestradiol	0,7	0,2	5,7	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
acide salicylique	11,8	3,5	0,9	364,3	15,2	37,5	< LQ	34,1
Aténolol	5,3	1,6	3,6	814,1	9,9	< LD	13,7	17,9
Azithromycine	35,7	10,7	3,2	91,7	< LD	< LD	< LD	< LD
Bézafibrate	7,8	2,3	1,2	128,2	< LD	< LD	< LQ	< LQ
Carbamazépine	1,1	0,3	7,3	645,3	26,2	7,6	21,5	23,1
Ciprofloxacine	69,4	20,8	2,1	475,6	< LD	< LD	< LD	< LD
Clarithromycine	12,9	3,9	2,2	176,7	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Cyclophosphamide	1,6	0,5	0,3	22,5	< LD	< LD	< LQ	< LQ
Diclofénac	3,8	1,1	0,7	756,8	54,8	36,1	31,9	48,5
Erythromycine	19,6	5,9	1,5	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Fluméquine	28,2	8,5	4,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Ibuprofène	1,1	0,3	4,2	241,9	14,4	< LD	5,0	6,8
Kétoprofène	0,7	0,2	1,3	346,3	24,8	30,9	55,6	85,9
Lorazepam	6,0	1,8	7,7	34,0	< LD	< LD	< LD	< LD
Naproxène	1,5	0,5	4,8	474,3	6,2	1,5	8,5	9,8
Ofloxacine	7,3	2,2	1,7	491,0	< LD	< LD	9,2	7,3
Oxazépam	2,1	0,6	5,3	1183,9	28,7	11,0	28,6	37,2
Paracétamol	7,0	2,1	3,1	2271,2	288,3	22,7	58,8	75,9
Pravastatine	0,2	0,0	6,9	410,7	< LD	< LD	< LD	< LD
Propranolol	6,2	1,9	1,6	418,5	< LQ	< LD	< LQ	8,1
Ranitidine	6,7	2,0	3,8	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Sotalol	2,8	0,8	2,2	1187,6	33,3	6,0	25,6	38,8
Sulfaméthoxazole	26,5	8,0	0,5	385,5	< LD	< LD	< LD	< LD

Annexe 10. Résultats bruts période 2.

				ECOLAB : Concentrations ng/L							
Natifs	LQ (ng/L)	LD (ng/L)	RSD (%)	août-15 Entrée Ginestous	août-15 Sortie Ginestous	août-15 Entrée Seilh	août-15 Sortie Seilh	août-15 Touch	août-15 Amont Ginestous	août-15 Avalt Ginestous	août-15 Gagnac
acide salicylique	11,7	3,5	0,7	38095,1	204,1	40693,9	49,4	38,9	18,1	23,0	31,6
atenolol	3,5	1,1	3,6	1417,2	633,5	1361,9	748,8	4,1	< LD	6,1	7,1
azithromycine	1,2	0,4	7,1	556,8	71,6	449,5	145,5	4,8	5,0	3,7	3,2
Bezafibrate	3,5	1,1	0,6	438,2	101,7	372,2	140,9	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
carbamazepine	1,1	0,3	5,4	526,2	570,6	547,2	572,7	15,0	4,8	12,3	12,1
ciprofloxacine	2,1	0,6	1,4	697,0	419,4	748,1	114,9	3,4	< LD	< LD	< LQ
clarithromycine	0,9	0,3	0,6	235,1	69,6	152,1	125,0	6,5	5,9	6,0	5,9
cyclophosphamide	0,3	0,1	0,3	12,3	13,0	6,9	9,1	< LD	< LD	< LQ	< LQ
diclofenac	6,1	1,8	0,7	1468,6	847,7	1182,7	589,1	73,5	26,8	36,0	44,8
érythromycine	11,8	3,5	3,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
fluméquine	9,8	2,9	1,8	6,4	< LQ	9,2	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
ibuprofene	0,5	0,2	4,2	9518,5	719,2	13264,4	449,5	< LD	< LD	< LD	< LD
ketoprofene	8,3	2,5	7,5	3396,8	372,8	5775,9	194,8	< LD	< LD	< LD	< LD
Lorazepam	9,0	2,7	7,7	< LQ	28,8	21,9	35,5	< LD	< LD	< LD	< LD
naproxene	1,8	0,5	4,8	3667,9	449,1	4242,5	639,8	5,4	2,0	5,9	4,8
ofloxacine	0,4	0,1	1,7	855,0	690,3	582,4	276,0	3,9	1,5	6,6	5,8
Oxazepam	3,7	1,1	2,0	1333,0	1493,3	968,1	985,1	31,4	11,3	27,4	26,3
paracétamol	0,8	0,2	3,1	160073,3	1354,4	84416,9	< LD	29,6	49,3	56,4	78,3
pravastatin	0,2	0,0	6,9	1501,7	96,1	2141,3	93,1	< LQ	< LD	< LD	< LD
propranolol	1,2	0,4	1,6	274,0	276,7	382,1	312,1	3,6	< LQ	3,6	4,1
ranitidine	4,4	1,3	1,6	88,4	13,1	77,4	33,1	< LD	< LD	< LD	< LD
sotalol	9,9	3,0	2,2	1136,7	937,1	1721,4	1604,5	18,2	< LQ	13,3	18,0
sulfaméthoxazole	2,0	0,6	2,0	339,1	146,2	377,5	220,9	2,7	< LQ	< LQ	2,7
				févr-16 Entrée Ginestous	févr-16 Sortie Ginestous	févr-16 Entrée Seilh	févr-16 Sortie Seilh				
acide salicylique	11,7	3,5	0,7	39268,3	134,2	20865,4	40,3				
atenolol	3,5	1,1	3,6	1132,7	774,9	1076,3	625,7				
azithromycine	1,2	0,4	7,1	628,0	160,4	790,8	403,6				
Bezafibrate	3,5	1,1	0,6	396,8	201,3	292,6	125,4				
carbamazepine	1,1	0,3	5,4	529,9	448,5	427,5	496,3				
ciprofloxacine	2,1	0,6	1,4	1685,7	532,3	790,3	231,9				
clarithromycine	0,9	0,3	0,6	529,5	258,2	793,4	640,8				
cyclophosphamide	0,3	0,1	0,3	24,4	21,9	11,9	16,4				
diclofenac	6,1	1,8	0,7	1258,4	843,4	1036,0	635,1				
érythromycine	11,8	3,5	3,6	< LD	< LD	< LD	< LD				
fluméquine	9,8	2,9	1,8	4,5	< LQ	19,9	< LD				
ibuprofene	0,5	0,2	4,2	12781,4	628,5	12641,7	516,5				
ketoprofene	8,3	2,5	7,5	3233,3	392,8	3019,9	64,2				
Lorazepam	9,0	2,7	7,7	< LQ	27,2	< LQ	< LQ				
naproxene	1,8	0,5	4,8	4151,7	258,4	4275,2	411,0				
ofloxacine	0,4	0,1	1,7	1885,8	959,1	1633,3	410,9				
Oxazepam	3,7	1,1	2,0	1211,4	1307,7	755,8	755,1				
paracétamol	0,8	0,2	3,1	220226,4	< LD	191460,7	< LD				
pravastatin	0,2	0,0	6,9	1608,4	325,7	1399,2	125,0				
propranolol	1,2	0,4	1,6	244,2	290,6	266,5	239,8				
ranitidine	4,4	1,3	1,6	72,5	< LQ	86,4	21,6				
sotalol	9,9	3,0	2,2	900,7	977,1	1317,7	1157,4				
sulfaméthoxazole	2,0	0,6	2,0	218,4	57,4	279,4	178,0				

				Concentrations ng/L							
Natifs	**LQ (ng/L)**	**LD (ng/L)**	**RSD (%)**	**avr-16**	**avr-16**	**avr-16**	**avr-16**	**avr.-16**	**avr.-16**	**avr.-16**	**avr.-16**
				Entrée Ginestous	**Sortie Ginestous**	**Entrée Seilh**	**Sortie Seilh**	**Touch**	**Amont Ginestous**	**Avalt Ginestous**	**Gagnac**
acide salicylique	11,7	3,5	0,7	43718,1	114,7	50604,4	89,0	27,4	21,7	31,6	23,6
atenolol	3,5	1,1	3,6	1273,1	688,1	1361,8	837,7	9,3	< LD	3,0	5,3
azithromycine	1,2	0,4	7,1	278,5	113,9	167,2	350,4	4,1	5,0	2,1	4,4
Bezafibrate	3,5	1,1	0,6	491,4	214,3	313,6	152,8	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
carbamazepine	1,1	0,3	5,4	515,6	538,9	829,1	755,1	17,9	2,3	4,7	6,7
ciprofloxacine	2,1	0,6	1,4	1120,7	592,8	1251,4	161,3	< LQ	< LD	< LD	< LD
clarithromycine	0,9	0,3	0,6	191,5	165,4	433,4	390,9	10,8	5,6	5,8	6,2
cyclophosphamide	0,3	0,1	0,3	21,0	18,5	9,6	8,9	< LQ	< LD	< LQ	< LQ
diclofenac	6,1	1,8	0,7	1464,1	1027,2	1396,6	710,4	66,2	30,1	54,6	47,6
érythromycine	11,8	3,5	3,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
fluméquine	9,8	2,9	1,8	9,1	< LQ	8,1	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
ibuprofene	0,5	0,2	4,2	10914,5	192,6	20786,1	609,7	29,1	< LD	< LD	< LD
ketoprofene	8,3	2,5	7,5	3016,2	360,8	4737,8	167,8	< LD	< LD	< LD	< LD
Lorazepam	9,0	2,7	7,7	23,6	43,1	< LQ	22,6	< LD	< LD	< LD	< LD
naproxene	1,8	0,5	4,8	4598,9	346,5	5882,1	340,3	9,6	< LQ	6,4	4,0
ofloxacine	0,4	0,1	1,7	1273,2	963,8	1976,2	364,7	8,6	1,1	< LD	4,0
Oxazepam	3,7	1,1	2,0	1274,0	1456,1	1049,9	1044,0	40,0	5,0	11,8	15,4
paracétamol	0,8	0,2	3,1	186980,9	523,9	161146,5	< LD	605,3	32,8	61,3	48,2
pravastatin	0,2	0,0	6,9	1667,7	110,4	2265,3	116,0	< LQ	< LD	< LQ	< LD
propranolol	1,2	0,4	1,6	326,4	326,3	345,0	345,2	4,6	< LQ	1,4	2,3
ranitidine	4,4	1,3	1,6	89,8	< LQ	73,5	27,6	< LD	< LD	< LD	< LD
sotalol	9,9	3,0	2,2	947,3	1058,2	1535,8	1581,3	21,1	< LQ	< LQ	< LQ
sulfaméthoxazole	2,0	0,6	2,0	456,8	121,1	299,8	147,6	2,4	< LQ	< LD	< LQ
				juil-16	**juil-16**	**juil-16**	**juil-16**	**juil-16**			
				Sortie Ginestous	**Touch**	**Amont Ginestous**	**Avalt Ginestous**	**Gagnac**			
acide salicylique	11,7	3,5	0,7	630,5	41,7	22,3	36,0	46,4			
atenolol	3,5	1,1	3,6	697,9	5,1	< LD	8,4	7,7			
azithromycine	1,2	0,4	7,1	53,2	4,4	5,7	2,8	4,2			
Bezafibrate	3,5	1,1	0,6	107,7	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ			
carbamazepine	1,1	0,3	5,4	578,7	20,9	5,6	12,0	13,4			
ciprofloxacine	2,1	0,6	1,4	497,6	< LQ	< LD	< LD	< LQ			
clarithromycine	0,9	0,3	0,6	54,4	6,5	6,9	5,1	5,2			
cyclophosphamide	0,3	0,1	0,3	19,5	< LD	< LD	0,3	0,3			
diclofenac	6,1	1,8	0,7	942,3	135,8	35,3	87,6	66,1			
érythromycine	11,8	3,5	3,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD			
fluméquine	9,8	2,9	1,8	6,2	< LD	< LD	< LD	< LD			
ibuprofene	0,5	0,2	4,2	313,8	< LQ	< LD	< LD	< LD			
ketoprofene	8,3	2,5	7,5	364,4	< LD	< LD	< LD	< LD			
Lorazepam	9,0	2,7	7,7	50,2	< LD	< LD	< LD	< LD			
naproxene	1,8	0,5	4,8	407,2	9,9	1,9	5,9	5,4			
ofloxacine	0,4	0,1	1,7	832,9	6,8	1,9	7,7	6,9			
Oxazepam	3,7	1,1	2,0	1484,0	34,2	15,3	31,4	35,4			
paracétamol	0,8	0,2	3,1	2297,4	257,7	50,1	46,1	55,8			
pravastatin	0,2	0,0	6,9	129,1	< LD	< LD	< LQ	< LD			
propranolol	1,2	0,4	1,6	326,8	3,2	< LQ	3,5	3,7			
ranitidine	4,4	1,3	1,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD			
sotalol	9,9	3,0	2,2	962,3	22,5	< LQ	15,8	< LQ			
sulfaméthoxazole	2,0	0,6	2,0	54,6	3,1	< LQ	3,3	2,9			
				sept-16	**sept-16**	**sept-16**	**sept-16**	**sept-16**			
				Sortie Ginestous	**Touch**	**Amont Ginestous**	**Avalt Ginestous**	**Gagnac**			
acide salicylique	11,7	3,5	0,7	440,1	46,7	34,5	40,2	47,7			
atenolol	3,5	1,1	3,6	816,0	9,1	< LQ	10,3	13,3			
azithromycine	1,2	0,4	7,1	93,3	4,1	5,7	2,0	4,0			
Bezafibrate	3,5	1,1	0,6	110,3	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ			
carbamazepine	1,1	0,3	5,4	528,9	22,3	7,5	17,8	18,5			
ciprofloxacine	2,1	0,6	1,4	589,6	4,0	< LD	< LQ	2,6			
clarithromycine	0,9	0,3	0,6	126,1	6,3	5,0	5,8	5,6			
cyclophosphamide	0,3	0,1	0,3	15,2	< LQ	< LD	0,4	0,3			
diclofenac	6,1	1,8	0,7	751,1	56,9	41,5	37,7	49,8			
érythromycine	11,8	3,5	3,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD			
fluméquine	9,8	2,9	1,8	< LQ	< LD	< LD	< LD	< LD			
ibuprofene	0,5	0,2	4,2	214,3	86,6	< LD	< LD	< LD			
ketoprofene	8,3	2,5	7,5	333,4	< LD	< LD	< LD	< LD			
Lorazepam	9,0	2,7	7,7	40,3	< LD	< LD	< LD	< LD			
naproxene	1,8	0,5	4,8	572,4	18,2	< LQ	9,4	9,2			
ofloxacine	0,4	0,1	1,7	926,4	9,9	2,0	8,9	10,8			
Oxazepam	3,7	1,1	2,0	1455,0	46,2	16,9	43,6	42,7			
paracétamol	0,8	0,2	3,1	1983,8	305,9	17,5	33,4	32,2			
pravastatin	0,2	0,0	6,9	243,8	< LD	< LD	< LD	< LD			
propranolol	1,2	0,4	1,6	325,1	5,6	< LQ	5,2	6,3			
ranitidine	4,4	1,3	1,6	18,6	< LD	< LD	< LD	< LD			
sotalol	9,9	3,0	2,2	1184,3	33,9	< LQ	25,5	27,6			
sulfaméthoxazole	2,0	0,6	2,0	118,9	3,9	< LQ	3,5	4,4			

Natifs	LQ (ng/L)	LD (ng/L)	RSD (%)	Concentrations ng/L				
				oct-16	oct-16	oct-16	oct-16	oct-16
				Sortie Ginestous	Touch	Amont Ginestous	Avalt Ginestous	Gagnac
acide salicylique	11,7	3,5	0,7	120,9	55,2	30,8	32,3	26,9
atenolol	3,5	1,1	3,6	767,9	5,3	< LQ	14,5	15,9
azithromycine	1,2	0,4	7,1	114,6	3,2	6,7	2,7	3,2
Bezafibrate	3,5	1,1	0,6	109,4	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
carbamazepine	1,1	0,3	5,4	665,9	22,0	8,7	21,9	22,7
ciprofloxacine	2,1	0,6	1,4	523,6	< LQ	< LD	2,6	< LQ
clarithromycine	0,9	0,3	0,6	169,4	7,7	5,3	7,7	7,6
cyclophosphamide	0,3	0,1	0,3	21,2	< LD	< LD	0,7	0,4
diclofenac	6,1	1,8	0,7	925,8	77,3	47,9	54,8	64,8
érythromycine	11,8	3,5	3,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
fluméquine	9,8	2,9	1,8	< LQ	< LD	< LD	< LD	< LD
ibuprofene	0,5	0,2	4,2	276,4	15,8	< LD	< LD	57,0
ketoprofene	8,3	2,5	7,5	324,6	< LD	< LD	< LD	< LD
Lorazepam	9,0	2,7	7,7	39,0	< LD	< LD	< LD	< LD
naproxene	1,8	0,5	4,8	491,8	11,8	4,4	13,7	14,3
ofloxacine	0,4	0,1	1,7	890,1	4,4	2,2	15,2	10,2
Oxazepam	3,7	1,1	2,0	1802,0	43,6	21,7	55,0	58,1
paracétamol	0,8	0,2	3,1	487,3	41,8	28,4	195,2	110,4
pravastatin	0,2	0,0	6,9	157,8	< LQ	< LD	< LD	< LD
propranolol	1,2	0,4	1,6	345,9	4,7	1,7	6,7	7,8
ranitidine	4,4	1,3	1,6	9,6	< LD	< LD	< LD	< LD
sotalol	9,9	3,0	2,2	1193,7	29,2	9,2	31,0	37,2
sulfaméthoxazole	2,0	0,6	2,0	132,8	3,2	< LQ	5,8	6,2
				nov-16	nov-16	nov-16	nov-16	nov-16
				Sortie Ginestous	Touch	Amont Ginestous	Avalt Ginestous	Gagnac
acide salicylique	11,7	3,5	0,7	70,6	30,3	23,3	38,9	30,7
atenolol	3,5	1,1	3,6	715,5	5,3	< LQ	< LQ	7,0
azithromycine	1,2	0,4	7,1	120,8	3,9	5,2	4,0	4,8
Bezafibrate	3,5	1,1	0,6	208,6	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
carbamazepine	1,1	0,3	5,4	582,2	15,9	3,7	7,7	9,2
ciprofloxacine	2,1	0,6	1,4	553,9	< LQ	< LD	< LD	< LQ
clarithromycine	0,9	0,3	0,6	225,2	6,3	5,1	5,8	5,7
cyclophosphamide	0,3	0,1	0,3	20,9	< LD	< LD	2,6	< LQ
diclofenac	6,1	1,8	0,7	850,6	53,3	29,0	48,3	54,8
érythromycine	11,8	3,5	3,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
fluméquine	9,8	2,9	1,8	< LQ	< LD	< LD	< LD	< LD
ibuprofene	0,5	0,2	4,2	204,4	< LQ	< LD	< LD	< LD
ketoprofene	8,3	2,5	7,5	332,3	< LD	< LD	< LD	< LD
Lorazepam	9,0	2,7	7,7	28,6	< LD	< LD	< LD	< LD
naproxene	1,8	0,5	4,8	416,5	7,3	2,6	9,6	6,1
ofloxacine	0,4	0,1	1,7	827,5	2,1	2,1	4,6	4,1
Oxazepam	3,7	1,1	2,0	1633,4	35,8	10,3	21,9	25,7
paracétamol	0,8	0,2	3,1	127,0	21,4	31,7	32,3	46,1
pravastatin	0,2	0,0	6,9	263,8	< LD	< LD	< LD	< LD
propranolol	1,2	0,4	1,6	315,0	4,9	< LQ	2,5	3,2
ranitidine	4,4	1,3	1,6	< LQ	< LD	< LD	< LD	< LD
sotalol	9,9	3,0	2,2	1432,2	25,9	< LQ	12,2	17,7
sulfaméthoxazole	2,0	0,6	2,0	105,6	2,3	< LQ	2,0	2,2
				déc-16	déc-16	déc-16	déc-16	déc-16
				Sortie Ginestous	Touch	Amont Ginestous	Avalt Ginestous	Gagnac
acide salicylique	11,7	3,5	0,7	75,6	46,6	20,6	39,8	39,7
atenolol	3,5	1,1	3,6	806,4	5,4	< LQ	14,3	14,6
azithromycine	1,2	0,4	7,1	141,4	4,1	5,2	1,7	4,4
Bezafibrate	3,5	1,1	0,6	159,9	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
carbamazepine	1,1	0,3	5,4	556,4	19,9	7,6	17,9	19,6
ciprofloxacine	2,1	0,6	1,4	594,4	2,8	< LD	3,9	7,0
clarithromycine	0,9	0,3	0,6	301,7	7,9	6,0	9,0	8,0
cyclophosphamide	0,3	0,1	0,3	18,2	< LD	< LD	0,3	0,5
diclofenac	6,1	1,8	0,7	924,1	71,5	49,7	76,3	88,0
érythromycine	11,8	3,5	3,6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
fluméquine	9,8	2,9	1,8	< LQ	< LD	< LD	< LD	< LD
ibuprofene	0,5	0,2	4,2	128,4	12,6	< LD	< LD	19,2
ketoprofene	8,3	2,5	7,5	393,6	< LD	< LD	< LD	< LD
Lorazepam	9,0	2,7	7,7	32,4	< LD	< LD	< LD	< LD
naproxene	1,8	0,5	4,8	347,5	7,2	4,6	11,5	11,0
ofloxacine	0,4	0,1	1,7	965,3	6,9	3,0	14,5	5,3
Oxazepam	3,7	1,1	2,0	1508,0	34,8	22,5	49,9	51,9
paracétamol	0,8	0,2	3,1	364,9	102,9	108,9	112,8	129,0
pravastatin	0,2	0,0	6,9	196,8	< LD	< LD	< LQ	< LD
propranolol	1,2	0,4	1,6	360,6	4,3	1,9	7,2	8,4
ranitidine	4,4	1,3	1,6	20,7	< LD	< LD	< LD	< LD
sotalol	9,9	3,0	2,2	1278,6	28,2	12,4	37,0	38,2
sulfaméthoxazole	2,0	0,6	2,0	151,4	4,0	< LQ	4,8	5,8

Annexe 11. Résultats bruts de la période 3.

				Concentrations ng/L						
Composés	LQ (ng/L)	LD (ng/L)	RSD (%)	janv-16	janv-16	janv-16	janv-16	janv-16	janv-16	janv-16
				Entrée Ginestous	Sortie Ginestous	Entrée Seilh	Sortie Seilh	Touch	Amont Ginestous	Avalt Ginestous
acide salicylique	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Aténolol	4,1	1,2	2,3	1245,6	804,1	1162,7	639,6	5,0	< LQ	4,8
Azithromycine	9,6	2,9	0,3	573,3	131,1	586,9	325,9	< LD	< LD	< LD
Bézafibrate	2,5	0,7	1,3	626,3	210,9	341,3	166,3	2,7	< LQ	< LQ
Carbamazépine	0,4	0,1	1,0	483,9	539,8	916,1	756,8	15,0	3,9	7,7
Ciprofloxacine	5,9	1,8	4,8	903,9	381,1	752,5	145,3	< LQ	< LD	< LQ
Clarithromycine	4,1	1,2	1,4	816,4	250,5	834,8	688,0	9,3	< LD	6,2
Cyclophosphamide	4,3	1,3	2,6	14,1	12,7	6,0	5,1	< LQ	< LD	< LD
Diclofénac	0,4	0,1	1,6	1087,1	737,3	1054,8	577,3	22,3	4,8	10,4
Erythromycine	11,8	3,5	3,5	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Fluméquine	6,2	1,9	2,4	7,6	8,3	10,2	< LD	< LD	< LD	< LD
Ibuprofène	1,6	0,5	1,6	17072,4	327,3	17275,8	424,2	12,8	< LD	9,8
Kétoprofène	1,0	0,3	1,4	3985,6	397,4	27071,1	1099,3	< LD	< LD	< LD
Lorazepam	9,0	2,7	4,3	445,0	44,5	36,7	22,6	< LD	< LD	< LD
Naproxène	1,1	0,3	1,4	5108,1	453,7	5478,6	679,7	7,5	< LD	7,4
Ofloxacine	0,6	0,2	0,7	1120,7	643,6	1135,8	351,0	6,2	1,5	4,3
Oxazépam	3,0	0,9	4,9	1583,5	1591,4	1070,2	907,4	29,9	8,3	19,9
Paracétamol	1,1	0,3	0,8	251079,0	377,0	203996,5	399,1	36,0	57,5	56,3
Pravastatine	2,3	0,7	2,6	1948,8	91,3	1932,5	98,4	2,5	< LD	< LD
Propranolol	1,2	0,4	1,6	352,9	468,8	333,4	306,1	5,7	12,2	3,4
Ranitidine	4,8	1,4	3,5	96,8	6,9	20,0	14,4	< LD	< LD	< LD
Sotalol	2,1	0,6	3,9	1209,0	1413,6	2017,2	1815,7	23,3	9,7	15,2
Sulfaméthoxazole	9,4	2,8	0,6	562,6	117,1	368,8	150,6	< LD	< LD	< LD

				janv-17	janv-17	janv-17	janv-17	janv-17
				Gagnac	Touch	Amont Ginestous	valt Ginestou	Gagnac
acide salicylique	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Aténolol	4,1	1,2	2,3	674,3	6,6	8,4	< LQ	< LQ
Azithromycine	9,6	2,9	0,3	183,2	< LD	< LD	< LD	< LD
Bézafibrate	2,5	0,7	1,3	177,7	5,7	< LQ	< LQ	< LQ
Carbamazépine	0,4	0,1	1,0	579,6	15,6	3,1	5,7	6,5
Ciprofloxacine	5,9	1,8	4,8	461,0	< LQ	< LD	< LD	< LQ
Clarithromycine	4,1	1,2	1,4	495,8	11,8	5,5	7,8	8,4
Cyclophosphamide	4,3	1,3	2,6	11,5	< LQ	< LD	< LD	< LD
Diclofénac	0,4	0,1	1,6	924,6	24,6	4,9	10,2	10,3
Erythromycine	11,8	3,5	3,5	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Fluméquine	6,2	1,9	2,4	< LQ	< LD	< LD	< LD	< LD
Ibuprofène	1,6	0,5	1,6	66,8	27,6	9,2	13,7	11,6
Kétoprofène	1,0	0,3	1,4	384,6	< LD	< LD	< LD	< LD
Lorazepam	9,0	2,7	4,3	44,0	< LD	< LD	< LD	< LD
Naproxène	1,1	0,3	1,4	255,9	12,5	< LD	6,8	5,7
Ofloxacine	0,6	0,2	0,7	589,2	7,4	2,7	< LD	2,4
Oxazépam	3,0	0,9	4,9	1758,0	37,9	8,9	17,7	17,5
Paracétamol	1,1	0,3	0,8	109,1	311,0	76,2	129,8	86,2
Pravastatine	2,3	0,7	2,6	139,4	5,2	< LD	< LD	< LD
Propranolol	1,2	0,4	1,6	343,0	8,0	35,0	3,2	2,8
Ranitidine	4,8	1,4	3,5	8,0	< LD	< LD	< LD	< LD
Sotalol	2,1	0,6	3,9	1434,4	32,2	18,8	16,0	13,1
Sulfaméthoxazole	9,4	2,8	0,6	178,0	< LD	< LD	< LD	< LD

Composés	LQ (ng/L)	LD (ng/L)	RSD (%)	Concentrations ng/L				
				févr-17	févr-17	févr-17	févr-17	févr-17
				Sortie Ginestous	Touch	Amont Ginestous	valt Ginestou	Gagnac
acide salicylique	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Aténolol	4,1	1,2	2,3	682,6	5,7	< LD	< LQ	5,9
Azithromycine	9,6	2,9	0,3	157,8	< LD	< LD	< LD	< LD
Bézafibrate	2,5	0,7	1,3	163,2	< LQ	< LD	< LQ	< LQ
Carbamazépine	0,4	0,1	1,0	552,8	13,0	2,9	5,4	6,6
Ciprofloxacine	5,9	1,8	4,8	380,3	< LQ	< LD	< LQ	< LD
Clarithromycine	4,1	1,2	1,4	321,6	9,4	5,5	5,4	6,9
Cyclophosphamide	4,3	1,3	2,6	7,5	< LD	< LD	< LD	< LD
Diclofénac	0,4	0,1	1,6	937,9	22,8	3,4	8,8	9,0
Erythromycine	11,8	3,5	3,5	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Fluméquine	6,2	1,9	2,4	< LQ	< LD	< LD	< LD	< LD
Ibuprofène	1,6	0,5	1,6	96,9	19,4	9,3	12,1	11,0
Kétoprofène	1,0	0,3	1,4	572,0	< LD	< LD	< LD	< LD
Lorazepam	9,0	2,7	4,3	42,4	< LD	< LD	< LD	< LD
Naproxène	1,1	0,3	1,4	371,6	12,2	< LD	5,8	4,7
Ofloxacine	0,6	0,2	0,7	476,6	2,8	0,9	1,5	2,9
Oxazépam	3,0	0,9	4,9	1702,3	32,6	8,9	14,0	17,8
Paracétamol	1,1	0,3	0,8	366,7	167,6	54,9	76,8	64,8
Pravastatine	2,3	0,7	2,6	108,6	4,7	< LD	< LD	< LD
Propranolol	1,2	0,4	1,6	378,8	5,3	< LQ	2,2	2,9
Ranitidine	4,8	1,4	3,5	4,4	< LD	< LD	< LD	< LD
Sotalol	2,1	0,6	3,9	1473,9	30,8	4,8	14,9	11,2
Sulfaméthoxazole	9,4	2,8	0,6	173,8	< LD	< LD	< LD	< LD
				mars-17	mars-17	mars-17	mars-17	
				Touch	Amont Ginestous	Avalt Ginestous	Gagnac	
acide salicylique	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
Aténolol	4,1	1,2	2,3	14,3	< LD	< LQ	6,5	
Azithromycine	9,6	2,9	0,3	< LD	< LD	< LD	< LD	
Bézafibrate	2,5	0,7	1,3	< LQ	< LD	< LQ	< LQ	
Carbamazépine	0,4	0,1	1,0	40,1	2,1	6,1	5,6	
Ciprofloxacine	5,9	1,8	4,8	< LQ	< LD	< LD	< LD	
Clarithromycine	4,1	1,2	1,4	20,0	5,8	5,3	5,7	
Cyclophosphamide	4,3	1,3	2,6	< LD	< LD	< LD	< LD	
Diclofénac	0,4	0,1	1,6	52,6	2,6	7,8	9,1	
Erythromycine	11,8	3,5	3,5	< LD	< LD	< LD	< LD	
Fluméquine	6,2	1,9	2,4	< LD	< LD	< LD	< LD	
Ibuprofène	1,6	0,5	1,6	34,1	7,7	13,5	25,3	
Kétoprofène	1,0	0,3	1,4	< LD	< LD	< LD	< LD	
Lorazepam	9,0	2,7	4,3	< LD	< LD	< LD	< LD	
Naproxène	1,1	0,3	1,4	23,6	< LD	6,7	13,8	
Ofloxacine	0,6	0,2	0,7	3,5	0,7	1,5	2,0	
Oxazépam	3,0	0,9	4,9	100,7	6,6	15,2	14,8	
Paracétamol	1,1	0,3	0,8	130,4	31,4	130,8	320,9	
Pravastatine	2,3	0,7	2,6	< LD	< LD	< LD	< LD	
Propranolol	1,2	0,4	1,6	12,6	< LQ	2,2	2,3	
Ranitidine	4,8	1,4	3,5	< LD	< LD	< LD	< LD	
Sotalol	2,1	0,6	3,9	67,8	5,8	14,1	14,6	
Sulfaméthoxazole	9,4	2,8	0,6	< LQ	< LD	< LD	< LD	
				avr-17	avr-17	avr-17	avr-17	
				Touch	Amont Ginestous	Avalt Ginestous	Gagnac	
acide salicylique	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
Aténolol	4,1	1,2	2,3	< LQ	< LD	< LQ	7,1	
Azithromycine	9,6	2,9	0,3	< LD	< LD	< LD	< LD	
Bézafibrate	2,5	0,7	1,3	< LD	< LD	< LD	< LD	
Carbamazépine	0,4	0,1	1,0	14,9	2,8	5,3	6,6	
Ciprofloxacine	5,9	1,8	4,8	< LD	< LD	< LD	< LD	
Clarithromycine	4,1	1,2	1,4	7,7	5,4	3,7	5,4	
Cyclophosphamide	4,3	1,3	2,6	< LD	< LD	< LD	< LD	
Diclofénac	0,4	0,1	1,6	20,9	2,1	6,4	6,1	
Erythromycine	11,8	3,5	3,5	< LD	< LD	< LD	< LD	
Fluméquine	6,2	1,9	2,4	< LD	< LD	< LD	< LD	
Ibuprofène	1,6	0,5	1,6	11,6	6,6	7,4	8,8	
Kétoprofène	1,0	0,3	1,4	< LD	< LD	< LD	< LD	
Lorazepam	9,0	2,7	4,3	< LD	< LD	< LD	< LD	
Naproxène	1,1	0,3	1,4	7,7	< LD	5,4	3,2	
Ofloxacine	0,6	0,2	0,7	< LD	< LD	1,9	2,4	
Oxazépam	3,0	0,9	4,9	36,5	7,9	14,8	16,9	
Paracétamol	1,1	0,3	0,8	82,2	13,8	21,0	27,8	
Pravastatine	2,3	0,7	2,6	4,6	< LD	< LD	<LD	
Propranolol	1,2	0,4	1,6	3,6	< LQ	2,1	1,8	
Ranitidine	4,8	1,4	3,5	< LD	< LD	< LD	< LD	
Sotalol	2,1	0,6	3,9	26,5	3,4	12,5	12,2	
Sulfaméthoxazole	9,4	2,8	0,6	< LD	< LD	< LD	< LD	

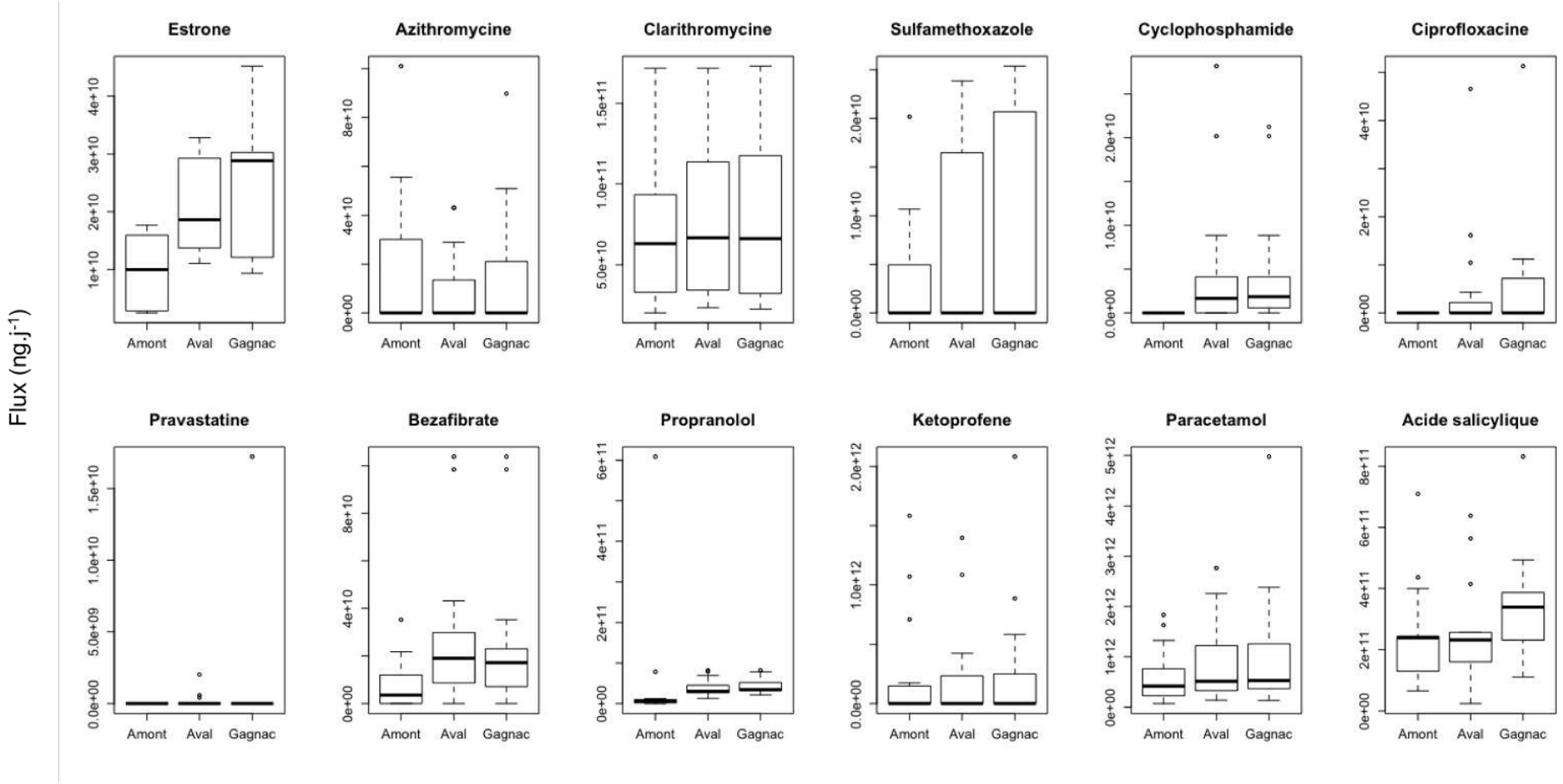
Annexe 12. Occurrence (%), concentrations moyennes (ng.L^{-1}) et coefficient de variation (CV) (%) des échantillons d'eaux usées brutes et traitées de la STEU de Seilh (n = nombre d'échantillon).

		Taux de détection (%)		Concentration moyenne (ng.L^{-1})		CV (%)	
		Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie
AINS	**Acide salicylique (n=6)**	100	100	29 296	101	57	61
	Diclofénac (n=6)	100	100	786	599	77	11
	Ibuprofène (n=6)	100	100	23 968	515	101	32
	Kétoprofène (n=6)	100	100	8 109	325	115	118
	Naproxène (n=6)	100	100	4 888	624	21	77
	Acide salicylique (n=6)	100	100	29 296	101	57	61
Analgésiques	**Paracétamol (n=6)**	100	33	153 788	81	31	198
Antibiotiques	**Azithromycine (n=6)**	100	100	406	284	62	33
	Ciprofloxacine (n=6)	100	100	969	162	35	26
	Clarithromycine (n=6)	100	100	663	506	51	45
	Érythromycine (n=6)	0	0	0	0	/	/
	Fluméquine (n=6)	67	0	8	0	94	/
	Ofloxacine (n=6)	100	100	1 272	311	39	25
	Sulfaméthoxazole (n=6)	100	100	414	167	49	18
Anticancéreux	**Cyclophosphamide (n=6)**	100	100	9	12	30	58
Anti-épileptiques	**Carbamazépine (n=6)**	100	100	674	676	32	26
Anti-ulcéreux	**Ranitidine (n=6)**	67	67	43	16	95	87
Benzodiazépines	**Lorazépam (n=6)**	67	100	118	20	159	64
	Oxazépam (n=6)	100	100	868	845	27	24
Cardiovasculaires	**Aténolol (n=6)**	100	100	1 388	804	26	32
	Propranolol (n=6)	100	100	360	322	25	26
	Sotalol (n=6)	100	100	1 701	1 576	24	18
Hormones sexuelles	**E2 (n=6)**	0	0	0	0	/	/
	EE2 (n=6)	0	0	0	0	/	/
	Estrone (n=6)	100	100	189	4	50	89
Hypolipémiants	**Bézafibrate (n=6)**	100	100	365	142	28	26
	Pravastatine (n=6)	100	100	1 354	168	70	87

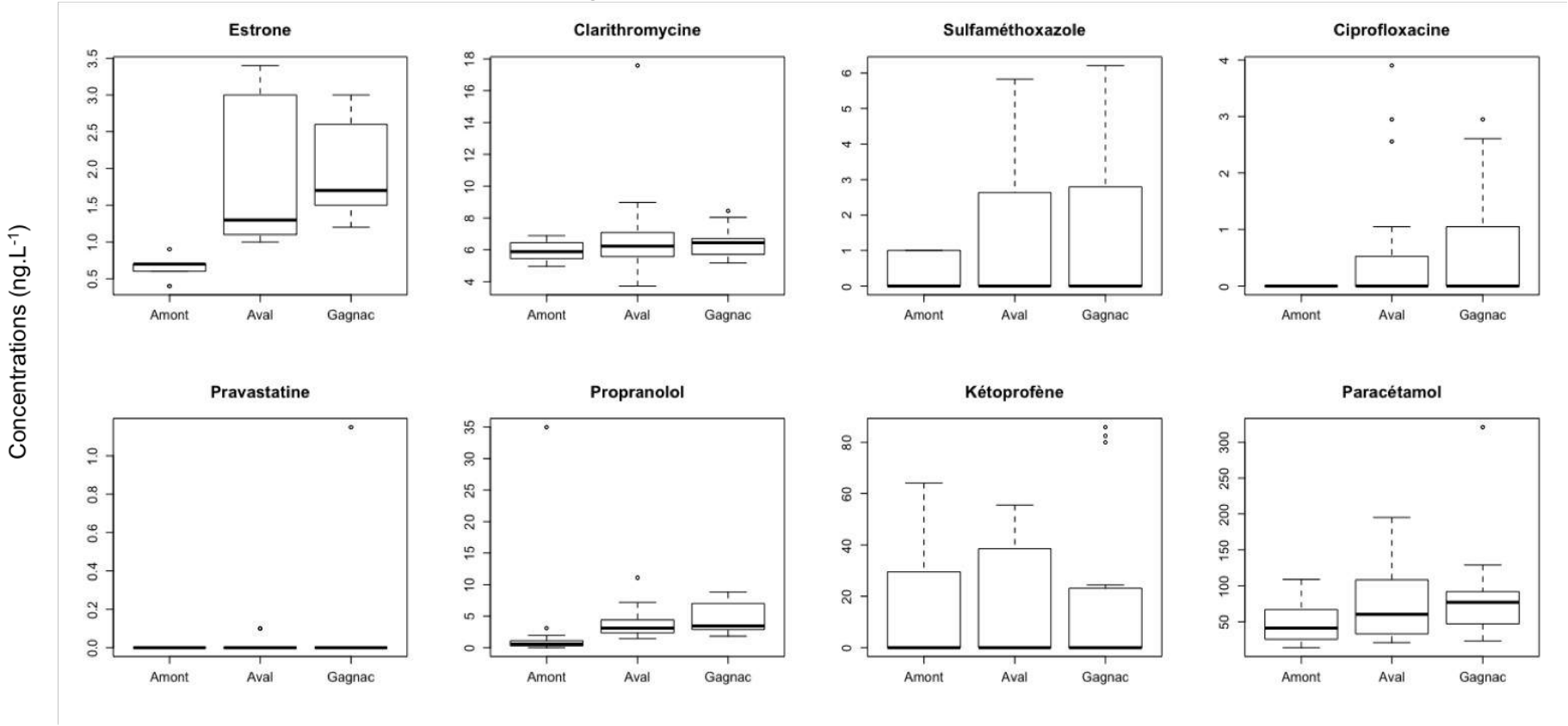
Annexe 13. Rendements d'élimination des RM à la STEU de Seilh.

Seilh	%	juin-15	août-15	oct-15	janv-16	févr-16	avr-16	Min	Max	Médiane
AINS	Acide salicylique	97,9	99,9	99,5		99,8	99,8	97,9	99,9	99,8
	Diclofénac	-9303,6	53,8	-1074,4	48,9	42,3	53,2	-9303,6	53,8	45,6
	Ibuprofène	89,3	96,9	99,6	97,7	96,2	97,3	89,3	99,6	97,1
	Kétoprofène	93,7	96,9	95,6	96,2	98,0	96,7	93,7	98,0	96,5
	Naproxène	95,7	86,0	75,4	88,4	91,0	94,7	75,4	95,7	89,7
Analgésiques	Paracétamol	100,0	100,0	100,0	99,8	100,0	100,0	99,8	100,0	100,0
Antibiotiques	Azithromycine	-52,3	70,0	19,6	48,2	52,0	-93,0	-93,0	70,0	33,9
	Ciprofloxacine	87,8	85,8	82,6	82,0	72,4	88,1	72,4	88,1	84,2
	Clarithromycine	27,9	23,7	37,9	23,1	24,0	16,9	16,9	37,9	23,9
	Fluméquine		100,0		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Ofloxacine	81,5	56,0	78,7	71,2	76,3	83,0	56,0	83,0	77,5
	Sulfaméthoxazole	60,0	45,7	79,9	61,9	40,0	54,7	40,0	79,9	57,4
Anticancéreux	Cyclophosphamide	6,9	-23,6	-69,1	21,2	-29,2	14,7	-69,1	21,2	-8,3
Anti-épileptiques	Carbamazépine	-8,9	2,9	-8,6	22,9	-9,3	16,1	-9,3	22,9	-2,9
Anti-ulcéreux	Ranitidine		60,3		32,6	76,5	65,3	32,6	76,5	62,8
Benzodiazépines	Lorazépam	84,3	-50,3	94,4	42,5			-50,3	94,4	63,4
	Oxazépam	-4,9	5,6	4,7	20,8	6,0	8,4	-4,9	20,8	5,8
Cardiovasculaires	Aténolol	47,4	49,0	40,2	48,7	45,3	43,4	40,2	49,0	46,4
	Propranolol	16,3	24,2	13,5	14,3	15,3	7,9	7,9	24,2	14,8
	Sotalol	-4,7	13,5	19,5	16,0	17,3	5,2	-4,7	19,5	14,7
Hormones	Estrone	99,5		95,2				95,2	99,5	97,3
Hypolipémiants	Bézafibrate	73,8	64,9	68,7	54,5	59,7	55,1	54,5	73,8	62,3
	Pravastatine	8,2	96,0	-68,3	95,2	91,6	95,3	-68,3	96,0	93,4

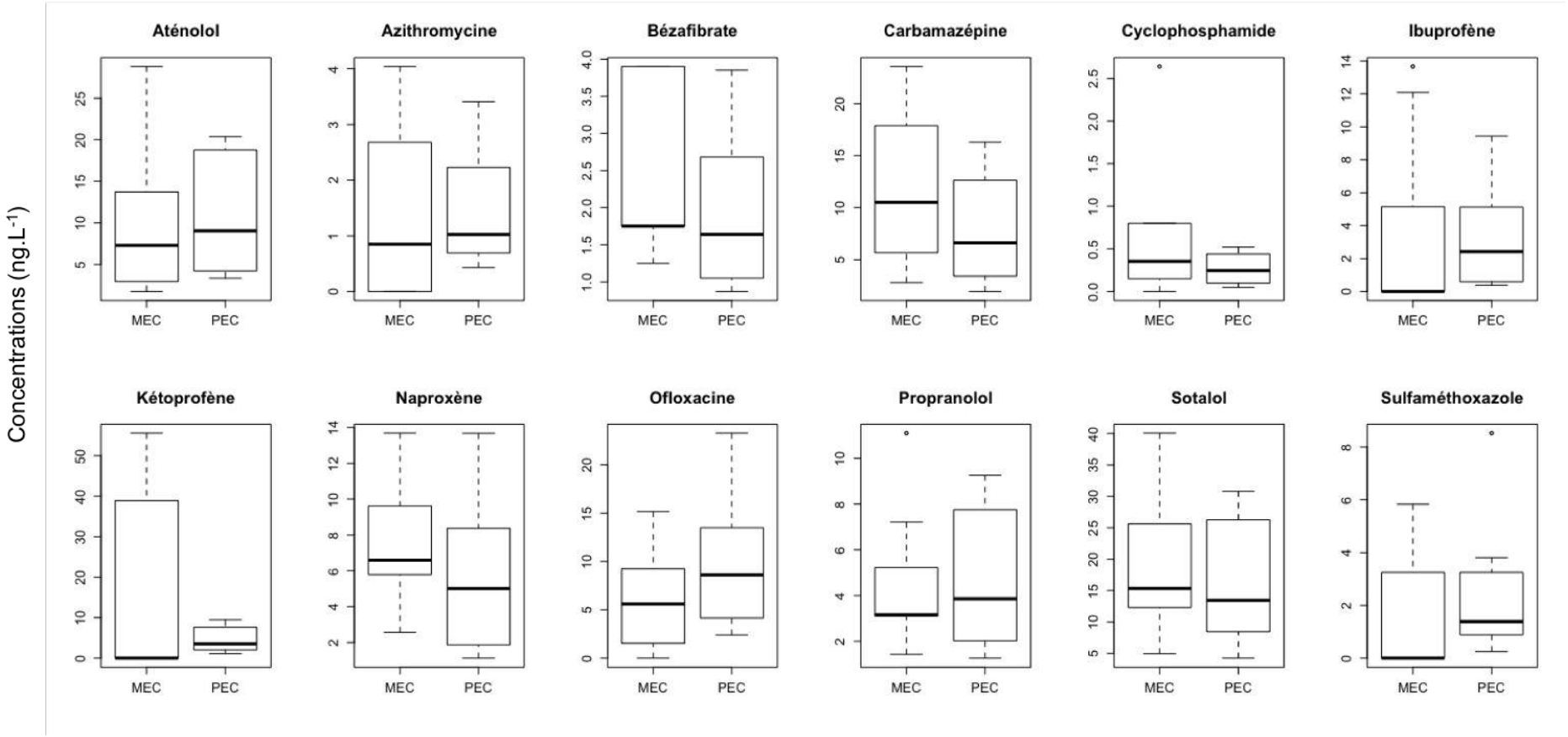
Annexe 14. Diagrammes en boîte des flux des RM en fonction des stations. Les RM représentés ici ne présentent pas de différences de flux significatives entre les différentes stations de prélèvements.



Annexe 15. Diagrammes en boîte des concentrations des RM en fonction des stations. Les RM représentés ici ne présentent pas de différences de concentrations significatives entre les différentes stations de prélèvements.



Annexe 16. Diagrammes en boîte des MEC et des PEC. Les RM représentés ici ne présentent pas de différences significatives entre les MEC et les PEC.



Annexe 17. Publication STOTEN soumise.

*Manuscript
Click here to download Manuscript: Manuscript.pdf
Click here to view linked References

Ecotoxicological risk related to Drug Residues in surface water after flowing through a WasteWater Treatment Plant.

Doriane Destrieux[1], Magali Gerino[2], Hélène Budzinski[3], Philippe Vervier[1] and François Laurent[4].

1: dorianedestrieux@acceptablesavenirs.eu . Acceptables Avenirs: Prologue, 815 la Pyrénéenne, 31670 Labège (France)
2: Functional ecology and environment laboratory (EcoLab), Toulouse (France)
3: Oceanic and continental environment and paleoenvironment laboratory (EPOC), Bordeaux (France)
4: Toxalim - Research centre in food toxicology, Toulouse (France)

1 INTRODUCTION **2**
2 MATERIALS AND METHODS **3**
2.1 SAMPLING AREA AND SAMPLE COLLECTION 3
2.2 ANALYSIS OF PHARMACEUTICALS 4
2.3 ECOTOXICOLOGICAL RISK ASSESSMENT 4
2.4 DATA ANALYSIS 4
3 RESULTS **5**
3.1 DR IN WWTP 5
3.1 DISCHARGES OF DR IN THE RIVER 6
3.2 ECOTOXICOLOGICAL RISKS ASSESSMENT 7
4 DISCUSSION **7**
4.1 TEMPORAL VARIATION INLET AND OUTLET OF WWTP 7
4.2 WWTP EFFECTS 8
4.3 EXPOSURE ASSESSMENT 9
4.4 RISK OCCURRENCE 10
5 FINAL CONSIDERATIONS AND FURTHER NEED **10**

Abstract

This study investigated 77 human-use Drug Residues (DR) in a WasteWater Treatment Plant (WWTP) during 2012 and 2013. Three kinds of DR behaviours were highlighted when flowing through the WWTP with complete removals of 9% of the searched molecules. All the others investigated DR, such as Ciprofloxacin, Clarithromycin and Spiramycin, were only partially eliminated when flowing through WWTP and rise environmental hazards when reaching the river. These three antibiotics had the highest measured concentrations in the WWTP outlet. The total fluxes of these three antibiotics was equal to 2725 $\mu g.s^{-1}$ at 10 kilometres in the river downstream the WWTP. Measured environmental concentrations (MECs) were compared with Predicted Environmental Concentrations (PECs), calculated from measurements in the effluent. MECs were lower than PECs in 80% of the cases. The ecotoxicological risks were assessed with the ratio of PNECs, obtained from scientific literature, and MECs or PECs. With MECs, the environmental risks occurred with 25%, 25% and 100% of dates over the four sampling campaigns for Ciprofloxacin, Spiramycin and Clarithromycin, respectively. When PECs were used, the risk occurrences for Ciprofloxacin, Spiramycin and Clarithromycin were respectively equal to 75%, 50% and 75% of dates. In this study, the use of PECs in the environmental risk assessment produced an overestimation of the risks for Ciprofloxacin and Spiramycin and an underestimation for Clarithromycin. The three studied antibiotics showed distinct behaviours when flowing through WWTP and river. The water quality regulation service of the river ecosystem acts at reducing some of the DR along the river and may explain this difference between PECs and MECs. The DR removal in WWTP and in natural environment showed various efficiencies depending on the types of drugs. These two sites of removal may act with complementarity for depuration of the whole DR spectrum that was emphasised in this study.

MECs were more or less important depending on the DR of interest. From 2007 to 2008, Coetsier and al., compared i/ predicted concentrations in WWTP ($PECs_{WWTP}$) with measured concentrations in the effluents ($MECs_{WWTP}$) ii/ predicted concentrations in the surface water receiving the treated sewages ($PECs_{Surface\ water} = PECs_{WWTP}$ with a default value of dilution factor of 10) with measured concentrations in the same surface water ($MECs_{Surface\ water}$). These comparisons highlighted coherence between $PECs_{WWTP}$ and $MECs_{WWTP}$ and an overestimation of $PECs_{Surface\ water}$ compared to the $MECs_{Surface\ water}$ [26]. These results showed that it is necessary to take into account chemical and biological processes that happen in the environment to calculate PECs for the aquatic environment. These processes are responsible for the DR concentrations decreasing after these molecules are discharged into the surface water through WWTP [32][33][34][35]. Other study compared predicted ecotoxicological risks calculated from PECs, with ecotoxicological risks calculated from MECs [36]. With any underestimation of predicted ecotoxicological risks (PECs/PNECs) and 40% of PECs/PNECs ratios overestimated, the results confirm the observed trends.

The aim of this study is to assess the contribution of WWTP releases to DR occurrence in the aquatic environment and to observe their attenuation behaviour during flow thought WWTP and in the environment. Thus, 77 DR were studied in WWTP inlet and outlet of 1,000,000 Population Equivalent (PE) WWTP using a secondary biological treatment. The three most concentrated molecules in the outlet were then studied in the receiving river. The MECs in the river in the upstream and downstream water from WWTP releasing point allowed to distinguish of DR coming from WWTP and from upper watershed. The ecotoxicological risks estimated from MECs were compared with the risk estimated from PECs that is more specifically related to WWTP emissions. The difference between these measured and predicted risk were analysed to better assess the variation of this risk estimation and the sources of uncertaincy.

2 Materials and methods

2.1 Sampling area and sample collection

The sampling sites are located in the south of France, inlet and outlet of one WWTP, three sites on the main river (1 to 3 on Figure 1) and four on tributaries (4 to 7 on Figure 1). On the river, from upstream to downstream, the first site is located at 16 kilometres upstream the WWTP effluent releases, the second and third respectively at 10 kilometres and 36 kilometres downstream these WWTP discharges.

Sampling campaigns were performed on WWTP influent and effluent during flu epidemic peaks, according to Sentinelles Network (France) [37]. Sampling campaigns were achieved from January 2012 to April 2013 (Table 1).

Samples in WWTP were performed with automatic samplers, that allowed the continuous sampling from 8:30 a.m. for the day X to 8:30 a.m. for the day X+1, during three days excepted in 2012.01.18 because it was the test-campaign. Wastewater samples were collected with a flow-dependent strategy that means 50 mL of wastewater were pumped every 500-600 m^3 of sewage. In the aquatic environment, samplings were achieved with one sampling per day during three days. For samples from the WWTP and natural water, samples obtained during the three days were mixed in order to have a single sample per campaign and per sampling station. The sampling campaigns were run simultaneously in WWTP, river and tributaries. The effluent fluxes were calculated from discharges of the WWTP given by the plant staff. Water flows of the river and tributaries were collected in the hydro data bank website [38].

Water samples were collected in amber glass bottles to prevent from photo-degradation of the DR. Then, samples were stored at 3-4°C until the third day of collection. The three days samples were filtered on GF/F fiberglass filter (0.75 µm of porosity). Filtered samples were frozen at -18°C before the solid-phase extraction and analysis on liquid chromatography-tandem mas spectrometry. Analyses were performed by the Environnement et Paléo-environnement Océanique et Continentaux (EPOC, UMR 5805 CNRS), Laboratoire de Physico- et Toxico-Chimie de l'environnement (LPTC) at Bordeaux University, France.

2.2 Analysis of pharmaceuticals

From January 2012 to March 2012, 77 DR were sought in the inlet and outlet of WWTP (Table 2). Then, only the three most concentrated molecules found in the outlet of WWTP were sought from March 2012 to April 2013 in the natural water: Ciprofloxacin, Clarithromycin and Spiramycin. These three DR were sought in all stations in the river and the tributaries and in the outlet of WWTP in order to be able to differentiate the fluxes coming from various upstream.

2.3 Ecotoxicological risk assessment

In order to assess the environmental risk linked to the occurrence of pharmaceuticals in the river, PECs were calculated from measured concentrations at the WWTP outlet and the Predicted No Effect Concentrations (PNECs) were estimated from literature sources.

The PECs are obtained by first estimating the flux of DR quantity that circulates in the WWTP effluent, ϕ ($ng.s^{-1}$) as:

$$\phi_{WWTP} = C_{WWTP} \times Q_{WWTP}$$

Where C ($ng.l^{-1}$) is the DR concentrations in the WWTP effluent and Q_{WWTP} ($l.s^{-1}$) is the discharges of the WWTP effluent.

The PECs are estimated by using the following formula:

$$PEC = \frac{\phi_{WWTP}}{Q_{river}}$$

Where Q_{river} ($l.s^{-1}$) is the discharges of the river.

The selected PNECs coming from scientific literature are:

- Clarithromycin 2 $ng.l^{-1}$ [39]. Authors used an AF factor of 1,000 to calculated this PNEC ;
- PNEC Spiramycin was calculated from a concentration of 5,000 $ng.l^{-1}$ at which 50% of an algal population (*Selenastrum capricornutum)* presented a growth inhibition [40]. With an AF of 1,000, the PNEC calculated was 5 $ng.l^{-1}$ [3] ;
- and Ciprofloxacin 5 $ng.l^{-1}$ [10][20][21]. Authors used an AF factor of 1,000 to calculate this PNEC.

The environmental risks are estimated by calculating the PECs/PNECs, meaning predicted environmental risks, and MECs/PNECs ratios, meaning measured environmental risks. A value greater than 1 is underlining an environmental risk [41][42].

2.4 Data analysis

For each considered substance, the following information were studied:

- DR concentrations ($ng.l^{-1}$) measured in inlet and outlet of WWTP;

- MECs (ng.l^{-1}) in the river;
- Occurrences (%) which is the number of dates where DR were detected over the total sampling dates;
- Removal efficiency (%) in WWTP which is the comparison between inlet and outlet concentrations: $\frac{inlet\ concentration - oulet\ concentration}{inlet\ concentration} \times 100$;
- Fluxes of DR (µg.s^{-1});
- PECs (ng.l^{-1});
- PNECs (ng.l^{-1});
- PECs/PNECs and MECs/PNECs ratios, underlining an environmental risk when they are greater than 1.

3 Results

3.1 DR in WWTP

The Figure 2 shows the range of variability of DR concentrations in the inlet and outlet of WWTP by using the minimal and maximal measured concentrations as the lower and upper milestones of the bars, respectively. Thus, that shows the WWTP treatment efficiency for each of these molecules.
The DR were presented in decrease order of maximal concentrations measured in the WWTP inlet. This figure also shows the occurrence of each DR at the inlet and outlet of the WWTP. When this occurrence was higher or equal than 25% the molecule was considered as found. This allows to observe that among the 77 searched DR:

- 39 presented at least one concentration greater than the detection limit in the influent or effluent and are represented in the Figure 2;
- 7 were detected at the inlet and not detected at the outlet;
- 38 were detected neither at the inlet nor at the outlet.

Figure 2 was divided in three part representative of three classes of DR concentration ranges. The first one presents a maximal concentration of 15,000 ng.l^{-1}, it corresponds to the DR with greatest concentrations measured in the WWTP influent. The second graph presents an average range of concentrations with a maximum of 1,300 ng.l^{-1}. This last gets the highest number of DR with 15 molecules over 39 measured in total. On the third part, the maximal concentration was lower than 70 ng.l^{-1}. In that case, DR had the lowest concentration in the WWTP. The DR were belonging from different therapeutic classes. With decreasing inlet average concentrations these classes were antibiotics, beta-blockers, antivirals and antineoplasic agents. The Figure 2 shows three trends of DR removal efficiency of WWTP. The first one, WWTP showed a good efficiency to removal DR since outlet concentrations were lower than inlet ones. In opposite, DR concentrations were sometimes higher in outlet than inlet with some cases where DR were measured at the outlet whereas they did not detect at the WWTP inlet. Between these both trends, some DR concentrations were partially affected by plant treatments. To summarize, there are three groups of DR depending on their removal in WWTP:

- the first group corresponds to the DR totally removed. For example, Tetracycline (antibiotics), Doxorubicin (antineoplasic agent), Abacavir (antiviral), ... ;
- the second group contains DR partially removed by the WWTP. There are some antibiotics, beta-blockers, ... ;
- finally, the third group have the DR with outlet concentrations greater than inlet ones. This is the case for some antibiotics.

For each campaign, a removal efficient was calculated in percentage and then, the average of these were obtained. This removal was more or less important depending on DR. For example, in the quinolones antibiotic family, which had an average removal of 32%, Ciprofloxacin, Norfloxacin, Ofloxacin and Flumequine showed average removals of 53, 66, 37 and 97%

respectively. In an opposite direction, some macrolides, an other antibiotic family, which had an average removal of -25%, Clarithromycin, Roxithromycin and Josamycin, showed percentage average removals of - 68, - -73 and -33% respectively. However, the quinolones concentrations in the inlet of WWTP were greater than macrolides concentrations, with a maximum average concentration of 8,302 $ng.l^{-1}$ for quinolones (Ciprofloxacin) and 1,203 $ng.l^{-1}$ for macrolides (Clarithromycin). Some of macrolides such as Erythromycin, Spiramycin and Azithromycin were measured at WWTP outlet but not in inlet. In this case, it was impossible to conclude if the molecule is removed or not.

The three most concentrated DR in the outlet of WWTP were for Ciprofloxacin, Spiramycin and Clarithromycin. The occurrences for these molecules were also the maximal values (100%). Therefore, these molecules were selected for the natural environment survey since they get the highest probabilities to be found in the river water.

3.1 Discharges of DR in the river

The Figure 3 presents the fluxes calculated from four sampling campaigns ran in 2012 and 2013 for the three DR previously selected. These fluxes were flowing in the river were estimated at the 0 kilometre site from the WWTP effluent concentrations, and from MECs for the other sites. The upstream contribution of the drainage basin was not negligible with average fluxes, with decreasing ranks, of 1,535 $\mu g.s^{-1}$(Clarithromycin), 1,209 $\mu g.s^{-1}$ (Ciprofloxacin) and 130 $\mu g.s^{-1}$ (Spiramycin). Concerning the WWTP contribution, the Ciprofloxacin presented the highest fluxes with an average flux equal to 2,823 $\mu g.s^{-1}$. Then, Spiramycin and Clarithromycin fluxes were respectively 1,793 $\mu g.s^{-1}$ and 1,117 $\mu g.s^{-1}$. This figure highlights decrease of Spiramycin and Ciprofloxacin fluxes between WWTP outlet and aquatic environment. The DR fluxes coming from tributaries were low and mostly made of Clarithromycin. Concerning the last one, at the upstream of the watershed, the concentrations were high but they were increased in the river at the downstream of the city through WWTP effluents. The sum of these three antibiotics fluxes coming from WWTP outlet (5,736 $\mu g.s^{-1}$) were approximately twice more higher than the sum of these antibiotics fluxes calculated from the environmental concentrations (MECs) of the sites located upstream (2,925 $\mu g.s^{-1}$) as well as downstream (2,725 $\mu g.s^{-1}$ for the station located at 10 kilometres downstream and 3,073 $\mu g.s^{-1}$ for this located at 36 km downstream) the WWTP releases.

The effect of the natural environment on the DR reduction may be estimated by the comparison of the theoretical and observed fluxes at 10 kilometres downstream the WWTP. Theoretical fluxes are what should be found in the river at 0 kilometre without any natural removal, knowing the WWTP effluent and the upstream contribution. When comparing these theoretical and observed fluxes at 10 kilometres, the removed quantities provide a preliminary view of what could be retained by the natural media over the 10 kilometres. The different removal rates, estimated in that way, were probably overestimated since the degradation of the upstream in the 16 kilometres before the WWTP were not taken into account. The maximal (and mean) removal rates were estimated to 292 $\mu g.km^{-1}$ (248 $\mu g.km^{-1}$) for the Ciprofloxacin, 53 $\mu g.km^{-1}$ (- 66 $\mu g.km^{-1}$) for the Clarithromycin and 292 $\mu g.km^{-1}$ (119 $\mu g.km^{-1}$) for the Spiramycin. Molecules exhibited distinct behaviours after releasing in natural aquatic environment. Downstream the WWTP, Ciprofloxacin and Spiramycin fluxes decreased rapidly in the first 10 km but then kept constant over the next 26 km. Clarithromycin was more persistent in the river.

3.2 Ecotoxicological risks assessment

In this paragraph, PECs/PNECs were compared with MECs/PNECs for the three DR selected.

The Table 3 shows the predicted environmental risk (PECs/PNECs) at 0 kilometre in the river which allows to highlight a risk when this ratio is greater than 1. Spiramycin, Ciprofloxacin and Clarithromycin had PECs/PNECs ratios significantly higher in 2012 than 2013. In 2013, PECs/PNECs values were, greater than 1 in 33% of cases for Spiramycin and 66% of cases for the two other. The Table 4 shows the occurrence percentage of predicted ecotoxicological risks of the three selected antibiotics during the seven sampling campaigns occurred in WWTP. These results underline that estimated environmental risk was considered to exist in 85% of cases studies for Ciprofloxacin, 71% for Spiramycin and 85% for Clarithromycin over all sampling dates.

The Table 4 also compares the occurrence percentage of predicted and measured ecotoxicological risks during the four sampling campaigns occurred simultaneously in WWTP and the river. These results underline that the estimated environmental risk occurrences decreased for each antibiotic with 75% for Ciprofloxacin, 50% for Spiramycin and 75% for Clarithromycin over the four sampling dates. The measured ecotoxicological risk was considered to exist in 25% of the dates for Ciprofloxacin, 25% for Spiramycin and 100% for Clarithromycin over the four sampling dates.

The Figure 4 presents the antibiotics MECs and PECs at 0 kilometre station for the four dates when it was measured simultaneously in the WWTP outlet and the natural water. Over these four dates Ciprofloxacin was not found in the river excepted on March 2012 when its concentration largely exceeded the PNECs. On the contrary, the quinolones Spiramycin and Clarithromycin were found in the river at all dates. MECs/PNECs values, were greater than 1 for all molecules in 2012 and only for Clarithromycin in 2013. Generally, when pooling these three molecules, PECs were more important than MECs in 80% of cases (9 case over a total of 12 (= 3 antibiotics x 4 samplings dates)). For Ciprofloxacin and Spiramycin, PECs were always higher than MECs ones. By contrast, MECs for Clarithromycin could be higher than PECs. The comparison of the occurrence of risk percentages obtained from PECs and MECs highlights overestimations of these kinds of risks for Ciprofloxacin and Spiramycin and underestimations for Clarithromycin. This difference was probably due to Clarithromycin fluxes flowing from upstream the WWTP releases.

4 Discussion

4.1 Temporal variation inlet and outlet of WWTP

For the three studied antibiotics, Ciprofloxacin, Clarithromycin and Spiramycin, concentrations at the WWTP inlet varied depending on sampling campaigns. These temporal variations mostly depend on DR consumption for human health care [43][44][45][46]. Previous studies highlighted that antibiotic consumption increased during winter in France [47][48]. This season is characterised by epidemics respiratory diseases, most of time due to virus that may secondary lead to bacterial infections [49][50]. In that case antibiotics are prescribed as macrolides and quinolones. In this study there was not enough available data to conclude to a relationship between antibiotic concentration evolution in the WWTP inlet and the number of flu cases. However, a comparison between antibiotic concentrations in the WWTP inlet and the local number of influenza cases (region scale) was ran thanks to the Sentinelles website data [37] (Figure 5). Within the present study area, it was possible to conclude that inlet Ciprofloxacin concentrations varied according to the number of influenza cases. Ciprofloxacin concentration

moved from 5,922 ng.l-1 to 14,184 ng.l-1 in 14 days, while the number of flu cases was also increasing until to reach its simultaneous pick with the number of flu case raised from 3,715 to 9,014. Both increasing was similar with more 140% and 143%, respectively for Ciprofloxacin concentrations and flu cases. For both macrolides on February 2012, we could not conclude on any relationship with this source of variation. Spiramycin was not detected in inlet flux and Clarithromycin concentrations were lower than the quantification limit.

Temporal variations of antibiotic concentrations were observed also in the WWTP outlet. These ones may be associated with temporal fluxes of antibiotics at WWTP inlet, distinct depuration capacity depending on the considered DR, and additional instability of WWTP efficiency due to the seasonal variations. Indeed, some authors demonstrated that elimination rates of WWTP for some DR were weaker in winter than in summer. On the one hand, temperatures have an impact on microbial activity [51][35][52], and drug consumption may be twice important in winter [51][44]. Furthermore, rainy periods cause a microbial activity decrease, a distortion of sorption and flocculation processes and a decrease of residence time in WWTP, which affect DR degradation [53][54][55]. In the present study, that was minimized because the effluent management is characterised by a separate networks of sewage flows drove to WWTP and rainwater networks released directly into the natural aquatic environment. DR quantities in the WWTP inlet and outlet presented a temporal variation depending on consumption and season, with possible influence of weather events through temperature or water discharge [43][35][56][44][45][46].

All these sources of variation can explain the temporal differences between PECs in this study. PECs temporal variation not only depends on the instability of WWTP performance. An other parameter affecting PECs is the dilution rate (or river flow) [56][45][46]. Thus, the river flow, which varied according to the weather, plays a key role in the environmental concentration regulation. The lower is the river flow, the higher PECs are. Clarithromycin illustrates the impact of the dilution factor on the decrease of the PECs of exogenous molecules circulating in the environment. Indeed, in the WWTP outlet, Clarithromycin concentrations were relatively similar in March 2012 and January 2013 (Table 5) However, PECs at these dates were different, 11 and 2 ng.l-1 respectively. At these dates river flow was at least three times higher in 2013 than in 2012 that can explain PECs higher in 2012 than in 2013.

4.2 WWTP effects

Among 77 DR searched, 39 molecules were detected in WWTP with concentration greater than the quantification limit. Different DR occurrences in the inlet and outlet of WWTP highlighted how the removal rates vary depending on the type of molecule. A study carried out in England in 2013 underlined similar observation about removal efficiency [45]. According to literature [44], three groups of molecules were highlighted depending on their removal in WWTP about this efficiency:

- the first group concerns DR totally removed;
- the second concerns pharmaceuticals partially removed, e. g. Ciprofloxacin;
- finally, the third group concerns molecules with outlet concentrations greater than inlet concentrations, e. g. Spiramycin and Clarithromycin.

Different hypotheses may be given to elucidate the molecule behaviour in this last group. The huge organic matter contents of the influent interfere with the results by a "quenching phenomenon". Molecules affected by this phenomenon could also be present in the inlet, but could not be detected due to the lower sensibility of the method in this type of waters. Moreover, the high complexity of the influents leads to strong matrix effects on analytical processes (commonly ionization suppression), which can hamper the detection of some molecules with very low concentrations [57][56][44]. Finally, a possibility relies on the release of the parent

compound from conjugated metabolites; often the main form of drug excretion in human, during the treatment process [44].

The three most concentrated DR in the WWTP effluent were: Ciprofloxacin (quinolone), Clarithromycin and Spiramycin (macrolides). Data found in scientific literature also show high concentrations in outlet WWTP for these three antibiotics [43][56][44]. Ciprofloxacin belong to the second group previously cited, Spiramycin and Clarithromycin belong to the third group. The specific behaviour of the three focused molecules was representative of their antibiotic family average removal in the WWTP. Indeed, all antibiotics belonging to quinolone family, such as Ciprofloxacin, Norfloxacin, Ofloxacin, and Flumequin, were quantified in WWTP and presented a partial removal rate. Concerning antibiotics belonging to macrolide family, such as Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Josamycin, Roxithromycin, Spiramycin, Lincomycin and Clindamycin, they were quantified in WWTP and presented outlet concentrations greater than inlet concentrations. There, Ciprofloxacin, Clarithromycin and Spiramycin had an average removal rate respectively equal to 53%, -68% and 0%. Ciprofloxacin was removed from aqueous phase more easily than macrolides, which were dimly removed. Physico-chemical properties of quinolones, as Ciprofloxacin, explain that sorption process is mainly responsible to their removal from the aqueous phase of WWTP [33][48] thus sewage sludges are known to be a reservoir of quinolone residues [10]. Sludges spreaded in agricultural soils can enrich it with quinolones, which can persist during several month [10]. Thus, the decrease of Ciprofloxacin concentrations in aqueous phase in WWTP is probably associated with the enrichment of sewage sludge. The incomplete degradation of macrolides was highlighted in scientific literature.

4.3 Exposure assessment

As PECs was calculated at inlet junction with river and MECs measured 10 km away, differences between PECs and MECs are probably due to river inherent biotic and abiotic processes that have an important place in the regulation of exogenous molecules incoming in the middle [34]. For example, this study showed high Ciprofloxacin concentrations in the WWTP effluent, producing relatively high PECs, and then strong decrease in the environment. Different removal capacities were observed depending on the molecule and place where this process was observed. Ciprofloxacin was more inclined to be removed in the natural environment than the two other macrolides. These different behaviours in nature and WWTP explain the variation between the risk occurrence frequency estimated from PECs (75-85%) and MECs (25%) and illustrate this phenomenon. This quinolones environmental dissipation was highlighted in a study occurred on the Seine river [48]. Quinolone concentrations decrease in surface water by processes of photo-transformation and sorption but like in WWTP the properties of this antibiotic family suggest that sorption process on the circulating particles is mainly responsible of the decrease concentration in the natural water [33]. These molecules are able to accumulate in the river sediment [33]. Thus, for quinolones, biodegradation processes are not significant [33]. However, they may have a key role in the degradation of other substances. Indeed, it was demonstrated that biodegradation process, particularly the one linked to the microbial activity in the natural biofilm of rivers, could degrade organic substances whose DR take part [32][33][34][35].

Concerning Clarithromycin, the discrepancy data with MECs values greater than PECs values could explained by Clarithromycin use in veterinary medicine and its diffusion through watersheds to the river. Antibiotics are used in livestock farming [43] and it is known that concentrations in agricultural wastewater are high [58]. This present study showed particularly high upstream concentrations. A zoom out of the study case allowed to understand that many livestock farming of the region, 23.7% of bovine breeding, 12.3% of ovine breeding and 9.5% of goat breeding, are located in this watershed at the upstream of the studied WWTP [59].

To conclude, two groups of molecules were underlined. The first had MECs lower than PECs as Spiramycin and Ciprofloxacin. These molecules are controlled by natural biotic and abiotic processes that regulate the environmental water quality (photo-transformation, biodegradation,

sorption, ...) [34]. The second group had MECs greater than PECs that can be explained by their use in veterinary medicine and particularly in livestock farming [34]. This later group illustrates the type of molecule with a risk occurrence that will be better assessed by a river drug monitoring (MECs) than WWTP predictive values (PECs). In a general view, considering the two types of group, for limit over- or underestimation of ecotoxicological risks, the use of MECs are more suitable.

It was shown that WWTP allowed to remove DR but some of them presented either poor or no elimination in dissolved phase. The removal rate in aquatic environment was also demonstrated here. The addition of these two ways allowed to increase the DR removal and, consequently, to decrease the available quantities that could pose an environmental problem. For example, Ciprofloxacin had an average removal rate of 53% in WWTP and an average concentration in effluent close to 3000 $ng.l^{-1}$. In the river, Ciprofloxacin average concentration was lower than 500 $ng.l^{-1}$ at 10 kilometres downstream the WWTP releases. The additional of these two kinds of middle, especially increasing the microbial diversity, produced different DR behaviour and could stimulate DR transformation which could not be totally removed by WWTP. In fact, the physico-chemical parameters and the microbial communities are different between WWTP and the river. These two ways can be complementary for DR treatment in dissolved phase. The impact of WWTP releases on the aquatic environment and the significance of their removal rate to limit the contamination of the receiving medium is now known in the literature [45][48]. This study demonstrates that DR concentrations decrease after they enter in the natural receiving environment through processes of dilution, photo-degradation, hydrolyse and microbial degradation [10][35][60][61]. This natural water quality regulation is a natural service produced by rivers with good bio-physical status of conservation [62] and this ecosystem service reduce the environmental risks.

4.4 Risk occurrence

For each molecule a confidence interval of the risk may be evaluated. This confidence interval corresponds to the overlap of the measured concentration range (minimum and maximum MECs) and the predicted concentration range (minimum and maximum PECs). In the Figure 6, "Actual predicted value" is the match between the concentrations range of PECs and MECs. Actually, "Actual predicted value" corresponds to the real concentrations range. When concentration ranges of PECs were greater than MECs ones, it was considered as "Overestimated predicted value" and the contrary to "Under-estimated predicted value". For these three studied DR, the PECs range was more important than MECs one. Despite the fact that underestimations of risks from PECs were possible, the mistake due to an overestimation was higher than ones. Ecotoxicological risks assessment from predicted concentrations could create mistakes that should be limited. The calculation of the contrast between these two values must be considered in order to define a corrective factor and to calculate environmental risks as close as reality.

5 Final considerations and further need

This study allowed to identify temporal variation of DR concentrations in WWTP and natural water located away, and consequently also a temporal variation of the environmental risks linked to the occurrence of these molecules in the river. The PNEC use should allow the identification of environmental concentration thresholds, beyond which there was a potential ecotoxicological risk for the aquatic ecosystems. The temporal variation observed in the present case study suggests that some DR were overstepping this threshold on periods of time long enough to be detected with a punctual sampling strategy.
A higher number of sampling periods would allow to confirm this observation and identify the factors (number of influenza case, pharmaceuticals consumption, physic-chemical properties, ...) that may explain this risk occurrence. On the other hand, the risk occurrence probabilities was

increasing when the number of date to be considered was also increasing that underlines the sampling limit to depict the real duration of the time period when the risk was existing. Being aware of the weakness of the present data set, this present paper better gave evidence of the temporal and spatial variation of the DR during they life cycles. This assessment allows to analyse the impact of this DR variation on the risk occurrence due to arrival of DR in the natural aquatic environment.

Globally, PECs were greater than MECs in mean 75% of the dates, consequently there was 75% of overestimation of environmental risks (Figure 6) from WWTP effluents quality assessment only. This mismatch is explained by the natural service of the water quality regulation that is known to reduce nutrients in the natural water. Based on the present study, this service probably also able to perform water quality improvement by the reduction of DR. In this study, an underestimation of risks from PECs was found only for Clarithromycin. For this kind of molecule, it would be essential to know all the water contamination sources in order to estimate PECs as close as possible to MECs.

6. Acknowledgements

The authors are grateful to the technical staff of the WWTP for the samplings. This research project was undertaken under a research program of the water management company (Veolia Eau) and funded by this later and Acceptables Avenirs company.

7. References

[1] C. Hignite and D. L. Azarnoff, 'Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent', *Life Sci.*, vol. 20, no. 2, pp. 337–341, 1977.

[2] C. G. Daughton and T. A. Ternes, 'Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change?', *Environ. Health Perspect.*, vol. 107, p. 907, Dec. 1999.

[3] S. E. Jorgensen and B. Halling-Sorensen, 'Drugs in the environment', *Chemosphere*, vol. 40, pp. 691–699, 2000.

[4] K. Kümmerer, 'Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review', *Chemosphere*, vol. 45, pp. 957–969, 2001.

[5] F.-A. Weber *et al.*, 'Les produits pharmaceutiques dans l'environnement - perspective à l'échelle mondiale. Présence, effets, et action concertée potentielle au titre de la SAICM', Umwelt Bundesamt, Décembre 2014.

[6] S. R. Hughes, P. Kay, and L. E. Brown, 'Global Synthesis and Critical Evaluation of Pharmaceutical Data Sets Collected from River Systems', *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, no. 2, pp. 661–677, Jan. 2013.

[7] R. Lopez-Serna, A. Jurado, E. Vazquez-Sune, J. Carrera, M. Petrovic, and D. Barcelo, 'Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban groundwaters underlying the metropolis of Barcelona, Spain', *Environ. Pollut.*, vol. 174, pp. 305–315, Mar. 2013.

[8] J. Fick, H. Söderström, R. H. Lindberg, C. Phan, M. Tysklind, and D. G. Larsson, 'Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production', *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 28, no. 12, pp. 2522–2527, 2009.

[9] ANSES, 'Campagne nationale d'occurence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine', ANSES, Convention G2799, Mar. 2011.

[10] K. Kümmerer, Ed., *Pharmaceuticals in the Environment*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2004.

[11] P. Vazquez-Roig, V. Andreu, C. Blasco, and Y. Picó, 'Risk assessment on the presence of pharmaceuticals in sediments, soils and waters of the Pego–Oliva Marshlands (Valencia, eastern Spain)', *Sci. Total Environ.*, vol. 440, pp. 24–32, Dec. 2012.
[12] S. Idder, 'État de la contamination des eaux du département de la Dordogne par les résidus de médicaments', Bordeaux 1, 2012.
[13] D. Pascoe, W. Karntanut, and C. T. Müller, 'Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian Hydra vulgaris', *Chemosphere*, vol. 51, no. 6, pp. 521–528, May 2003.
[14] J. L. Parrott and B. R. Blunt, 'Life-cycle exposure of fathead minnows (Pimephales promelas) to an ethinylestradiol concentration below 1 ng/L reduces egg fertilization success and demasculinizes males', *Environ. Toxicol.*, vol. 20, no. 2, pp. 131–141, Apr. 2005.
[15] D. Martinović, W. T. Hogarth, R. E. Jones, and P. W. Sorensen, 'Environmental estrogens suppress hormones, behavior, and reproductive fitness in male fathead minnows', *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 26, no. 2, pp. 271–278, 2007.
[16] J. K. Stanley, A. J. Ramirez, C. K. Chambliss, and B. W. Brooks, 'Enantiospecific sublethal effects of the antidepressant fluoxetine to a model aquatic vertebrate and invertebrate', *Chemosphere*, vol. 69, no. 1, pp. 9–16, Aug. 2007.
[17] B. Quinn, F. Gagné, and C. Blaise, 'An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, Hydra attenuata', *Sci. Total Environ.*, vol. 389, no. 2–3, pp. 306–314, Jan. 2008.
[18] Medical Products Agency, 'L'impact environmental des produits pharmaceutiques et cosmétiques. Rapport de l'agence des produits médicaux', Medical products agency, Aug. 2004.
[19] EMA, 'Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use', Pre-Authorisation Evaluation of Medicines for Human Use, 2006.
[20] European Chemicals Bureau, 'Technical Guidance Document on risk Assessment - Part II', Institute for Health and Consumer Protection, EUR 20418 EN/2, 2003.
[21] EMEA, 'Initial assessment of eleven pharmaceuticals using the EMEA guideline in Norway', 2006.
[22] J. O. Straub, 'Environmental risk assessment for new human pharmaceuticals in the European Union according to the draft guideline/discussion paper of January 2001', *Toxicol. Lett.*, vol. 135, no. 3, pp. 231–237, 2002.
[23] O. FASS and O. LIF, 'Environmental classification of pharmaceuticals at www.fass.se. Guidance for pharmaceuticals at www.fass.se', 2012.
[24] S. Castiglioni, R. Fanelli, D. Calamari, R. Bagnati, and E. Zuccato, 'Methodological approaches for studying pharmaceuticals in the environment by comparing predicted and measured concentrations in River Po, Italy', *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 39, no. 1, pp. 25–32, Feb. 2004.
[25] J. P. Bound and N. Voulvoulis, 'Predicted and measured concentrations for selected pharmaceuticals in UK rivers: Implications for risk assessment', *Water Res.*, vol. 40, no. 15, pp. 2885–2892, Aug. 2006.
[26] C. M. Coetsier, S. Spinelli, L. Lin, B. Roig, and E. Touraud, 'Discharge of pharmaceutical products (PPs) through a conventional biological sewage treatment plant: MECs vs PECs?', *Environ. Int.*, vol. 35, no. 5, pp. 787–792, Jul. 2009.
[27] M. Oosterhuis, F. Sacher, and T. L. ter Laak, 'Prediction of concentration levels of metformin and other high consumption pharmaceuticals in wastewater and regional surface water based on sales data', *Sci. Total Environ.*, vol. 442, pp. 380–388, Jan. 2013.
[28] S. Ortiz de García, G. Pinto Pinto, P. García Encina, and R. Irusta Mata, 'Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain', *Sci. Total Environ.*, vol. 444, pp. 451–465, Feb. 2013.
[29] H. Celle-Jeanton *et al.*, 'Evaluation of pharmaceuticals in surface water: Reliability of PECs compared to MECs', *Environ. Int.*, vol. 73, pp. 10–21, Dec. 2014.
[30] J. Giebułtowicz and G. Nałęcz-Jawecki, 'Occurrence of antidepressant residues in the sewage-impacted Vistula and Utrata rivers and in tap water in Warsaw (Poland)', *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 104, pp. 103–109, Jun. 2014.

[31] L. Minguez, J. Pedelucq, E. Farcy, C. Ballandonne, H. Budzinski, and M.-P. Halm-Lemeille, 'Toxicities of 48 pharmaceuticals and their freshwater and marine environmental assessment in northwestern France', *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 23, no. 6, pp. 4992–5001, Mar. 2016.
[32] M. Winkler, J. R. Lawrence, and T. R. Neu, 'Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm systems', *Water Res.*, vol. 35, no. 13, pp. 3197–3205, 2001.
[33] E. M. Golet, A. C. Alder, and W. Giger, 'Environmental Exposure and Risk Assessment of Fluoroquinolone Antibacterial Agents in Wastewater and River Water of the Glatt Valley Watershed, Switzerland', *Environ. Sci. Technol.*, vol. 36, no. 17, pp. 3645–3651, Sep. 2002.
[34] D. Calamari, E. Zuccato, S. Castiglioni, R. Bagnati, and R. Fanelli, 'Strategic Survey of Therapeutic Drugs in the Rivers Po and Lambro in Northern Italy', *Environ. Sci. Technol.*, vol. 37, no. 7, pp. 1241–1248, Apr. 2003.
[35] N. M. Vieno, T. Tuhkanen, and L. Kronberg, 'Seasonal Variation in the Occurrence of Pharmaceuticals in Effluents from a Sewage Treatment Plant and in the Recipient Water', *Environ. Sci. Technol.*, vol. 39, no. 21, pp. 8220–8226, Nov. 2005.
[36] C. Bouissou-Schurtz *et al.*, 'Ecological risk assessment of the presence of pharmaceutical residues in a French national water survey', *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 69, no. 3, pp. 296–303, Aug. 2014.
[37] Réseau sentinelles, INSERM/UPMC, 'Réseau Sentinelles', 03-Dec-2013. [Online]. Available: https://websenti.u707.jussieu.fr/sentiweb/. [Accessed: 01-Sep-2016].
[38] Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie, 'Banque hydro - Eau France', *Hydroweb*, 2015. [Online]. Available: http://www.hydro.eaufrance.fr/.
[39] Q. Zheng, R. Zhang, Y. Wang, X. Pan, J. Tang, and G. Zhang, 'Occurrence and distribution of antibiotics in the Beibu Gulf, China: Impacts of river discharge and aquaculture activities', *Mar. Environ. Res.*, vol. 78, pp. 26–33, Jul. 2012.
[40] B. Halling-Sørensen, 'Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming', *Chemosphere*, vol. 40, no. 7, pp. 731–739, 2000.
[41] C. Tissier and M. Marchand, 'L'analyse du risque chimique en milieu marin: l'approche méthodologique', *Environ. Risques Santé*, vol. 6, no. 2, p. 127, 2007.
[42] J.-P. Besse and J. Garric, 'Médicaments à usage humain: risque d'exposition et effets sur les milieux récepteurs', *Propos. Une Liste Médicam. À Usage Hum. À Surveill. Dans Eaux Surf. Cont. Agence Eau RMC Lyon*, 2007.
[43] T. Heberer, 'Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data', *Toxicol. Lett.*, vol. 131, no. 1, pp. 5–17, 2002.
[44] E. Gracia-Lor, J. V. Sancho, R. Serrano, and F. Hernández, 'Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia', *Chemosphere*, vol. 87, no. 5, pp. 453–462, Apr. 2012.
[45] D. R. Baker and B. Kasprzyk-Hordern, 'Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: New developments', *Sci. Total Environ.*, vol. 454–455, pp. 442–456, Jun. 2013.
[46] D. J. Fairbairn *et al.*, 'Sources and transport of contaminants of emerging concern: A two-year study of occurrence and spatiotemporal variation in a mixed land use watershed', *Sci. Total Environ.*, vol. 551–552, pp. 605–613, May 2016.
[47] S. Pepin and P. Ricordeau, 'Points de repère. La consommation d'antibiotiques : situation en France au regard des autres pays européens.', 6, Nov. 2006.
[48] F. Tamtam *et al.*, 'Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions', *Sci. Total Environ.*, vol. 393, no. 1, pp. 84–95, Apr. 2008.
[49] H. Tissot-Dupont, 'Climat, environnement et infections respiratoires', *Médecine Mal. Infect.*, vol. 39, no. 3, pp. 200–202, Mar. 2009.
[50] E. Grimprel and R. Cohen, 'Relation entre la grippe et les infections bactériennes', *Médecine ThérapeutiquePédiatrie*, vol. 13, no. 4, pp. 316–321, 2010.
[51] C. S. McArdell, E. Molnar, M. J.-F. Suter, and W. Giger, 'Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland', *Environ. Sci. Technol.*, vol. 37, no. 24, pp. 5479–5486, Dec. 2003.

[52] S. Castiglioni, R. Bagnati, R. Fanelli, F. Pomati, D. Calamari, and E. Zuccato, 'Removal of Pharmaceuticals in Sewage Treatment Plants in Italy', *Environ. Sci. Technol.*, vol. 40, no. 1, pp. 357–363, Jan. 2006.
[53] T. A. Ternes, 'Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers', *Water Res.*, vol. 32, no. 11, pp. 3245–3260, 1998.
[54] A. Tauxe-Wuersch, L. F. De Alencastro, D. Grandjean, and J. Tarradellas, 'Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment', *Water Res.*, vol. 39, no. 9, pp. 1761–1772, May 2005.
[55] N. Vieno, T. Tuhkanen, and L. Kronberg, 'Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland', *Water Res.*, vol. 41, no. 5, pp. 1001–1012, Mar. 2007.
[56] M. Gros, M. Petrovic, A. Ginebreda, and D. Barcelo, 'Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes', *Environ. Int.*, vol. 36, no. 1, pp. 15–26, Jan. 2010.
[57] A. Gobel, C. Mcardell, A. Joss, H. Siegrist, and W. Giger, 'Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies', *Sci. Total Environ.*, vol. 372, no. 2–3, pp. 361–371, Jan. 2007.
[58] W.-J. Sim, J.-W. Lee, E.-S. Lee, S.-K. Shin, S.-R. Hwang, and J.-E. Oh, 'Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures', *Chemosphere*, vol. 82, no. 2, pp. 179–186, Jan. 2011.
[59] Direction régionale de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt de Midi-Pyrénées., 'Agreste Midi-Pyrénées. Mémento édition 2014', 2014.
[60] Y. Luo, L. Xu, M. Rysz, Y. Wang, H. Zhang, and P. J. J. Alvarez, 'Occurrence and Transport of Tetracycline, Sulfonamide, Quinolone, and Macrolide Antibiotics in the Haihe River Basin, China', *Environ. Sci. Technol.*, vol. 45, no. 5, pp. 1827–1833, Mar. 2011.
[61] T. Deblonde, 'Évaluation des risques de la consommation d'eaux potentiellement chargées en résidus de médicaments anticancéreux', Université de Lorraine, Nancy, 2013.
[62] J. Maes *et al.*, 'An indicator framework for assessing ecosystem services in support of the EU Biodiversity Strategy to 2020', *Ecosyst. Serv.*, vol. 17, pp. 14–23, Feb. 2016.

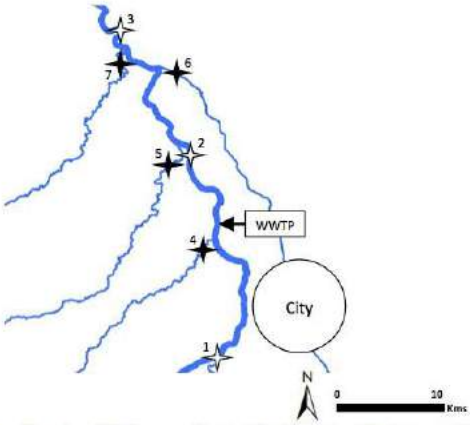


Figure 1. Map of the sampling sites. White stars (1, 2 et 3): river site; black stars (4, 5, 6 et 7): tributarie sites.

Table 1. Sampling campaigns in WWTP effluents and the river with the **X** = 77 sought DR and x = Ciprofloxacin, Spiramycin and Clarithromycin.

	2012.01.18	2012.02.09	2012.02.23	2012.03.15	2013.01.23	2013.02.06	2013.04.24	2013.04.30
WWTP inlet	X	X	X	X				
WWTP outlet	X	X	X	X	x	x		x
River				x	x	x	x	

Table 2. The 77 pharmaceuticals compounds sought during this study.

Therapeutic class (number of molecules searched)	Compounds
Antibiotics (52)	
Beta-lactams	Amoxicillin, Ampicillin, Penicillin F, Penicillin V, Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin, Cefalexin, Cefotaxime, Cefpodoxime, Ceftiofur, Cefuroxime
Macrolides	Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Josamycin, Roxithromycin, Spiramycin, Tylosin, Lincomycin, Clindamycin
Quinolones	Ciprofloxacin, Enrofloxacin, Marbofloxacin, Norfloxacin, Ofloxacin, Pipemidic acid, Oxolinic acid, Flumequine
Tetracyclines	Tetracycline, Oxytetracycline, Chlortetracycline, Doxycycline
Sulfonamides	Sulfadiazine, Sulfadimethoxine, Sulfamerazine Sulfamethazine, Sulfamethizole, Sulfamethoxazole, Sulfanilamide, Sulfapyridine, Sulfathiazole, Trimethoprim
Amphenicols	Chloramphenicol, Thiamphenicol
Imidazoles	Metronidazole
Others	Bacitracin, Monensin, Salinomycin, Virginiamycin, Fusidic acid, Rifampicin
Beta-blockers (6)	Atenolol, Bisoprolol, Metoprolol, Propranolol, Sotalol, Timolol
Antineoplasic agents (10)	5-fluorouracil, Daunorubicin, Doxorubicin, Epirubicin Ifosfamide, Cyclophosphamide, Docetaxel, Gemcitabine Methotrexate, Tamoxifen
Antivirals (9)	Abacavir, Indinavir, Lamivudine, Nelfinavir, Nevirapine Ritonavir, Saquinavir, Stavudine, Zidovudine

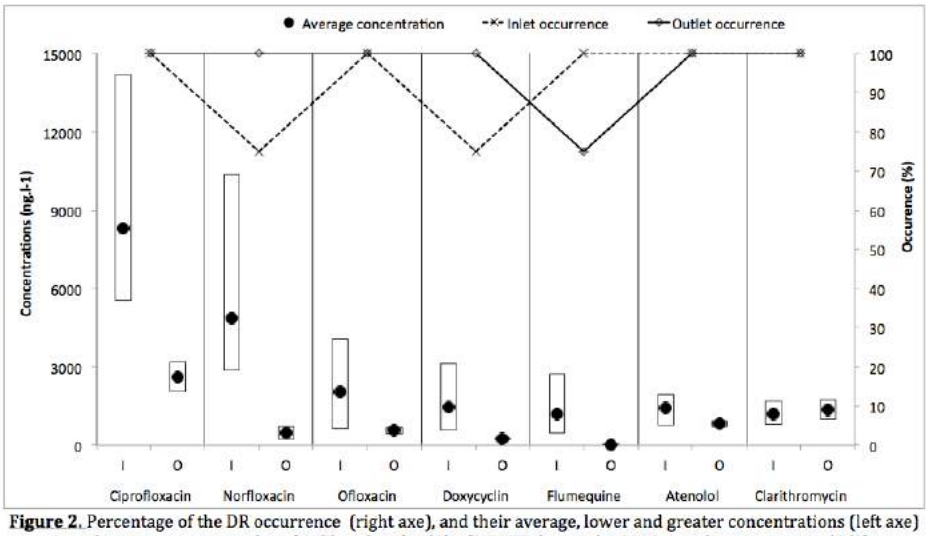
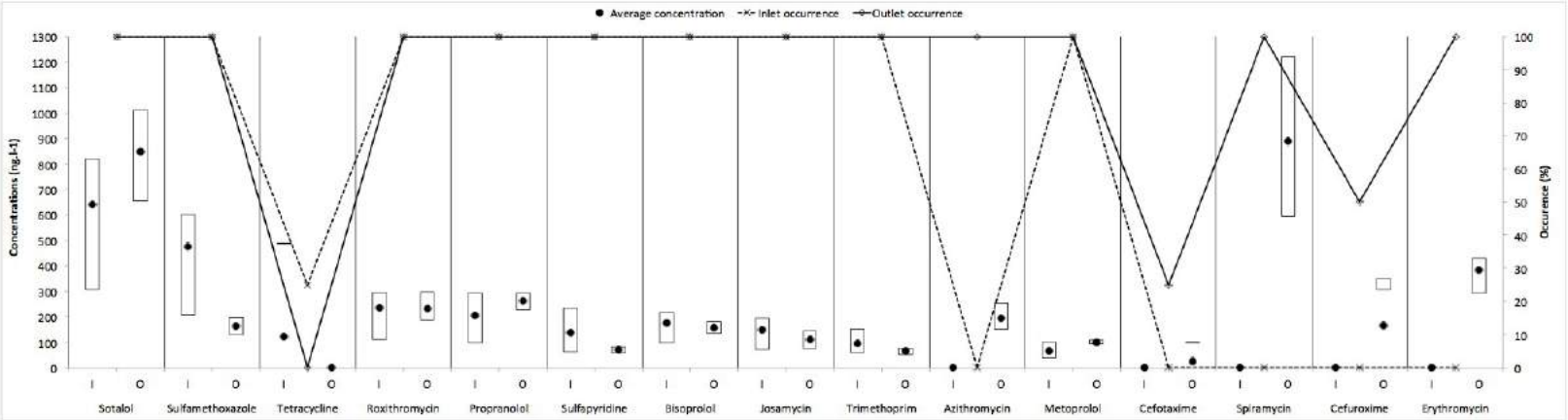


Figure 2. Percentage of the DR occurrence (right axe), and their average, lower and greater concentrations (left axe) into the sewage water at the inlet (I) and outlet (O) of WWTP during the 2012 sampling campaigns (1/2).



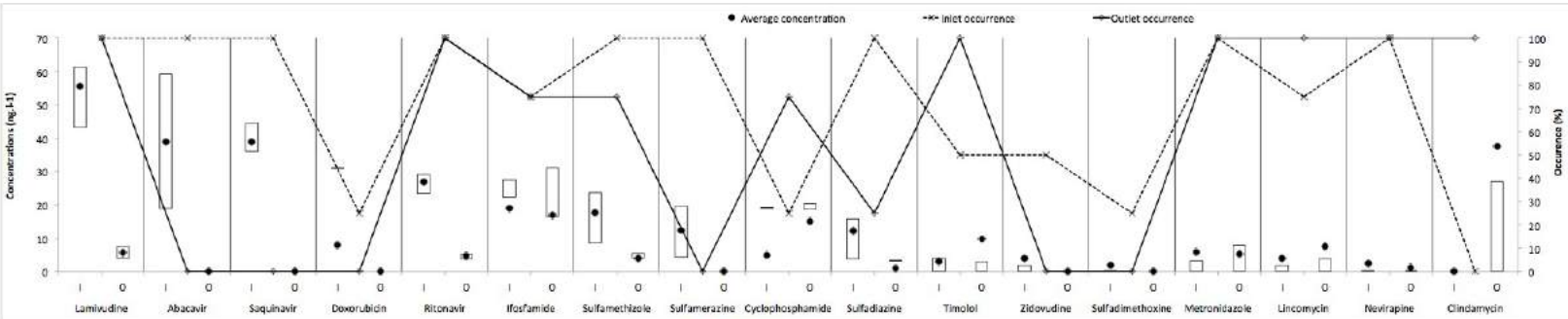


Figure 2. Continued (2/2).

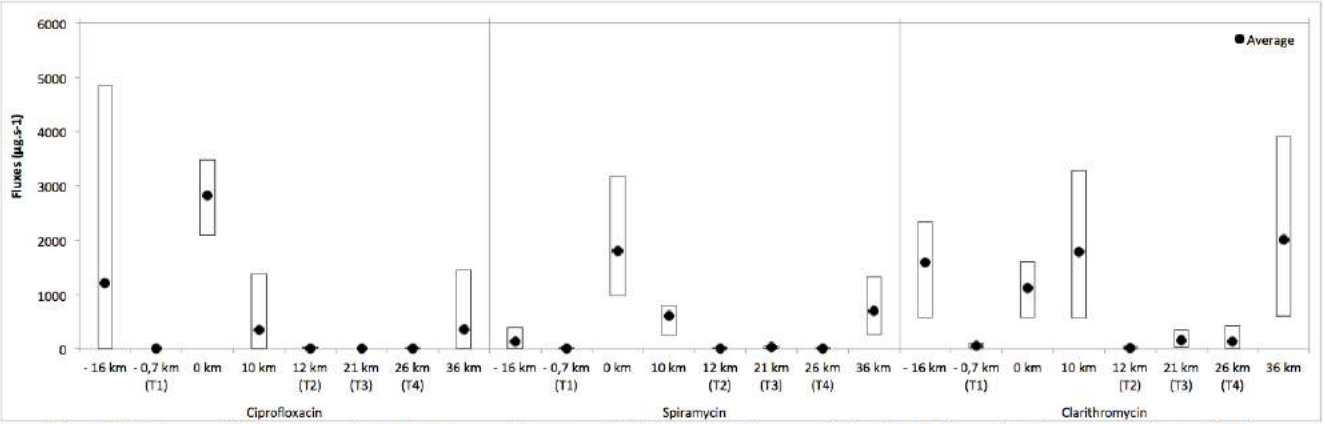


Figure 3. DR fluxes at different stations located upstream and downstream WWTP (with the kilometres indicating the distance from WWTP outlet in the main river channel) and stations on tributaries (T1, T2, T3, T4) with kilometres indicating to the distance from the confluence with the main river channel and WWTP releases. Negative kilometres are used for upstream stations. At the 0 kilometre station (WWTP outlet) the fluxes are estimated with the product of the measured concentrations in the outlet and the discharges of this outlet.

Table 3. PECs/PNECs ratios for Ciprofloxacin, Spiramycin and Clarithromycin.

PEC/PNEC	Ciprofloxacin	Spiramycin	Clarithromycin
March 2012	6,69	2,55	5,29
January 2013	0,89	0,3	1,22
February 2013	1,06	0,86	1,52
April 2013	1,57	1,77	0,8

Table 4. Occurrence percentage of ecotoxicological risk predicted (PECs/PNECs) during the four sampling campaigns (with sampling in the river) and 7 sampling campaigns (without sampling in the river), and measured (MECs/PNECs) during 4 sampling campaigns occurred in the natural middle.

% occurrence of ecotoxicological risks	Ciprofloxacin	Spiramycin	Clarithromycin
PEC/PNEC for 7 sampling campaigns	85%	71%	85%
PEC/PNEC for 4 sampling campaigns	75%	50%	75%
MEC/PNEC for 4 sampling campaigns	25%	25%	100%

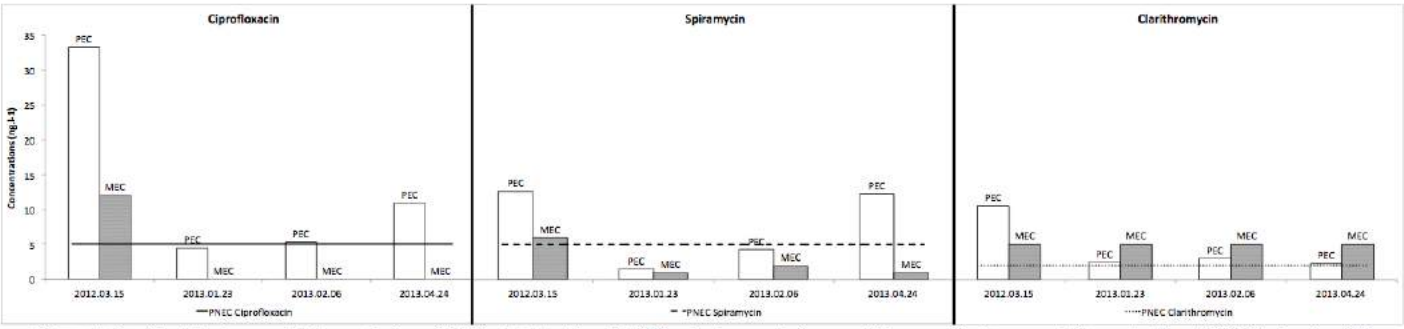


Figure 4. Predicted Environmental Concentrations (PECs) calculated from WWTP outlet concentrations, and Measured Environmental Concentrations (MECs) in the river 10 kilometres downstream the WWTP outlet. PECs and MECs are estimated for Ciprofloxacin, Spiramycin and Clarithromycin during the sampling campaigns carried out in 2012 and 2013. Lines represent the PNECs of these molecules.

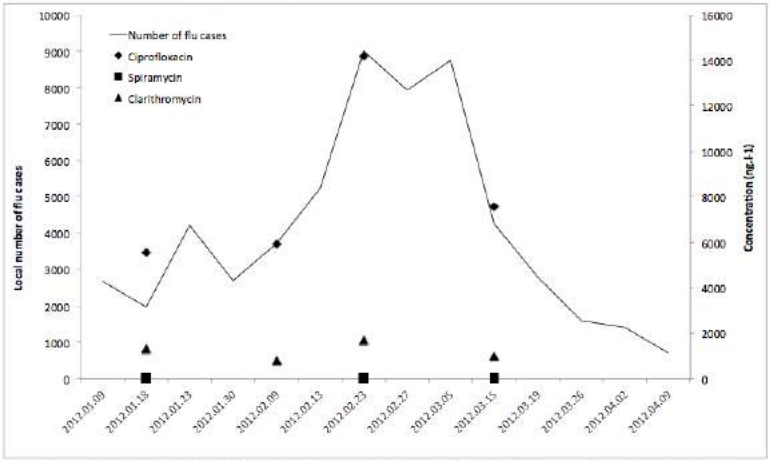


Figure 5. Comparison between the measured concentrations in the WWTP inlet concerning Ciprofloxacin, Spiramycin and Clarithromycin and the evolution of the local number of influenza cases from January 2012 to April 2012.

Table 5. Concentrations of Ciprofloxacin, Spiramycin and Clarithromycin in WWTP outlet and river discharges during the four sampling campaigns.

	2012.03.15	2013.01.23	2013.02.06	2013.04.24
Ciprofloxacin	3,201 $ng.l^{-1}$	1,802 $ng.l^{-1}$	1,253 $ng.l^{-1}$	1,994 $ng.l^{-1}$
Clarithromycin	1,012 $ng.l^{-1}$	989 $ng.l^{-1}$	715 $ng.l^{-1}$	407 $ng.l^{-1}$
Spiramycin	1,222 $ng.l^{-1}$	600 $ng.l^{-1}$	1,018 $ng.l^{-1}$	2,251 $ng.l^{-1}$
River flows	114 $m^3.s^{-1}$	359 $m^3.s^{-1}$	447 $m^3.s^{-1}$	372 $m^3.s^{-1}$

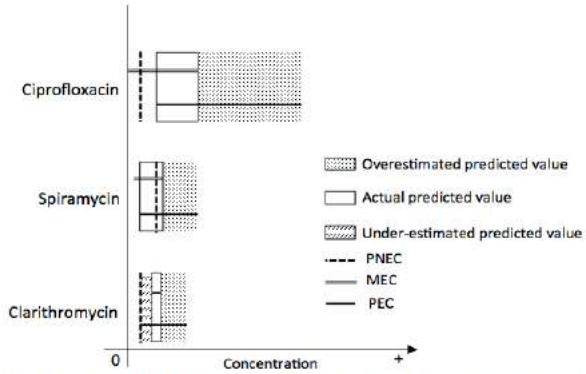


Figure 6. Concentration range comparison of PECs and MECs for the three studied antibiotics during the four sampling periods, and consequence on the ecotoxicological risks assessment.

Annexe 18. Discussion sur l'exposition des eaux usées et de la Garonne pour les classes thérapeutiques dont les risques pour la Garonne toulousaine n'ont pas été démontrés.

1.Analgésiques : Paracétamol

1.1 Comportement en STEU

En ce qui concerne l'élimination de cette molécule de la phase dissoute, les résultats du projet KNAPPE ont montré de bons rendements d'élimination dans les STEU conventionnelles quelle que soit la HRT, et des taux supérieurs à 85% pour une SRT de l'ordre de 13 jours (Roig *et al.*, 2009). La variabilité des rendements d'élimination en fonction de la SRT peut expliquer les CV élevés à la sortie des STEU étudiées. Dans le cadre de cette thèse, les rendements médians d'élimination pour cette molécule sont au moins égaux à 99,8% pour Ginestous et Seilh. Ces résultats sont également en accord avec ceux présentés dans le cadre du projet AMPERES. Ce projet a mis en évidence des rendements d'élimination moyens en France dans des STEU conventionnelles à boues activées supérieurs à 70% (Coquery, Choubert et Miège, 2010). D'autres études ont reporté des rendements en STEU supérieurs à 95% (Petrovic *et al.*, 2009 ; Gros *et al.*, 2010).

1.2 Comportement dans la Garonne

L'étude de la variabilité temporelle a montré des différences de concentrations significatives entre les différentes dates de prélèvements. Le Paracétamol présente un R^2 égal 2% et un CV des concentrations à la sortie de Ginestous égal à 112%. Dans ce cas, il est clair que la variabilité des concentrations de Paracétamol dans la Garonne en fonction du temps est essentiellement liée aux quantités déversées dans la Garonne et donc aux consommations et au processus d'élimination à Ginestous.

La comparaison des PEC et des MEC a montré des MEC significativement plus importantes que les PEC. Cette molécule a été mesurée à la station « Amont Ginestous » et la différence des concentrations médianes entre les stations « Aval Ginestous » et « Amont Ginestous » montre une valeur toujours supérieure à la PEC médiane. Ces résultats sont étonnants au regard de ce que présente la littérature. En effet, la plupart des auteurs présentent des PEC supérieures aux MEC (Ortiz de García *et al.*, 2013 ; Bouissou-Schurtz *et al.*, 2014). Cependant, les PEC ne sont pas calculées par ces auteurs à partir des concentrations mesurées à la sortie de STEU comme ce qui a été fait ici, ce qui a tendance à sur-estimer les PEC. Selon Radjenovic *et al.* (2009), malgré le fait que le Paracétamol ait été détecté à des concentrations relativement élevées dans les boues de STEU, la biodégradation est la

principale voie d'élimination de la phase dissoute de la molécule (Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2009). Avec ces nouveaux éléments, les résultats issus de la comparaison entre les PEC et les MEC sont, là encore, surprenants. Cependant, le processus d'adsorption sur les phases particulaires peut être influencé par des forces inter-moléculaires comme les forces de Van der Waals (Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2009). De plus, la biodégradation peut être influencée par différents facteurs comme l'abondance et la diversité des bactéries, la température et les conditions environnementales qui génèrent une sélection des populations microbiennes dans les cours d'eau (Benotti et Brownawell, 2009). Ainsi, la persistance du Paracétamol dans la Garonne peut être expliquée par la concomitance de plusieurs facteurs limitant l'optimisation des conditions favorables à sa biodégradation ou son adsorption. De plus, la forte consommation de cette molécule en France entraine des concentrations continuellement élevées à l'entrée des STEU (faibles CV à l'entrée des STEU), c'est d'ailleurs la molécule présentant les concentrations les plus élevées à l'entrée des STEU étudiées. De ce fait, malgré le fait que cette molécule soit très bien dégradée en STEU, cette forte consommation de Paracétamol engendre une pseudo-persistance de la molécule dans la Garonne alors qu'elle est connue pour être rapidement biodégradée.

2. Anti-cancéreux : Cyclophosphamide

2.1 Comportement en STEU

Peu de données sont disponibles sur les anti-cancéreux. C'est ce que confirme les résultats du projet KNAPPE (Roig *et al.*, 2009). Ils renseignent cependant sur le fait que les anticancéreux comme le Cyclophosphamide ne sont ni biodégradés ni adsorbés sur les boues de STEU, ils ressortent donc des STEU sans diminution de leur concentration dans la phase dissoute (Steger-Hartmann, Kümmerer et Hartmann, 1997 ; Ternes *et al.*, 2004 ; Deblonde, 2013). À Ginestous et à Seilh, le Cyclophosphamide présente des rendements inférieurs à 30% voire négatifs. Les rendements négatifs sont certainement dus à un effet matrice sur les dosages en entrée de STEU.

2.2 Comportement dans la Garonne

L'étude de la variabilité temporelle des concentrations de Cyclophosphamide dans la Garonne n'a montré aucune différence significative entre les différentes dates de prélèvements.

La comparaison des PEC et des MEC n'a montré aucune différence significative entre les MEC et les PEC. Le Cyclophosphamide n'a pas été mesuré en amont des rejets de Ginestous et les anticancéreux sont connus pour ne pas être biodégradés ni adsorbés sur

les phases particulaires (Steger-Hartmann, Kümmerer et Hartmann, 1997 ; Ternes *et al.*, 2004 ; Deblonde, 2013). Les résultats issus de la comparaison des PEC et des MEC sont donc cohérents avec les données disponibles pour ce groupe thérapeutique.

3. Anti-ulcéreux : Ranitidine

3.1 Comportement en STEU

Les rendements d'élimination varient en fonction des STEU avec un rendement médian égal à 97% pour Ginestous et seulement 63% pour Seilh. Cette variabilité a également été mise en évidence dans d'autres travaux avec des rendements variant de 15 à 80% (Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2009 ; Aminot, 2013). Des variations saisonnières dans les rendements d'élimination de la Ranitidine ont aussi été mises en évidence (Castiglioni *et al.*, 2006). La SRT et la HRT peuvent également avoir un impact sur le rendement d'élimination de cette molécule (Silva *et al.*, 2011). Enfin, Castiglioni *et al.* (2006) ont mis en évidence l'adsorption de cette molécule sur les phases particulaires (Castiglioni *et al.*, 2006). Les rendements d'élimination de la Ranitidine sont donc plus ou moins importants en fonction des paramètres décrits plus haut (SRT, HRT, ...), ce qui explique les variations observées entre les STEU étudiées.

3.2 Comportement dans la Garonne

Pour cette molécule, la variabilité temporelle des concentrations environnementales n'a pas été démontrée.

Des différences significatives ont été mises en évidence entre les PEC et les MEC pour cette molécules. Les PEC sont supérieures aux MEC. La présence de Ranitidine dans les effluents de Ginestous et la non détection de cette molécule dans la Garonne explique ces résultats. Cependant, la PEC maximale est inférieure à 1 $ng.L^{-1}$ et la limite de détection (LD) moyenne sur les trois périodes analytiques est égale à 1,1 $ng.L^{-1}$. Ainsi, en-dessous de cette LD, la détection de cette molécule n'a pas été possible. Les valeurs de MEC sont peut-être équivalentes aux PEC mais la sensibilité analytique ne permet pas de le vérifier.

4. Benzodiazépines

4.1 Comportement en STEU

L'Oxazépam présentent des rendements d'élimination dans les deux STEU étudiées mauvais, voire négatifs. Le Lorazépam peut également présenter des rendements négatifs. Ces mauvais rendements ont été mis en évidence par d'autres travaux qui ont également

montré que la HRT n'avait pas d'influence sur la dégradation des benzodiazépines (Castiglioni *et al.*, 2006). Dans sa thèse, Aminot précise que ces molécules sont excrétées sous forme glucorono-conjuguée (Aminot, 2013). Les rendements négatifs peuvent ainsi être expliqués par un effet matrice et une libération des composés parents par déconjugaison. Pour l'Oxazépam, les mauvais rendements peuvent également être expliqués par le fait que cette molécule soit à la fois un principe actif et le métabolite d'autres benzodiazépines comme le Diazépam (Bouissou-Schurtz *et al.*, 2014).

4.2 Comportement dans la Garonne

Le Lorazépam n'a jamais été détecté dans la Garonne contrairement à l'Oxazépam qui présente des fréquences d'occurrence égales à 100% à toutes les stations de la Garonne.

Les concentrations d'Oxazépam sont significativement différentes en fonction du temps. Le R^2 et le CV sont respectivement égaux à 72% et 24%. Même si le CV à la sortie de Ginestous n'est pas négligeable ici, le débit de la Garonne est majoritairement responsable de la variabilité des concentrations environnementales d'Oxazépam dans la Garonne.

La comparaison des PEC et des MEC a montré des PEC significativement plus élevées que les MEC pour le Lorazépam. Ces résultats sont en accord avec ceux retrouvés dans la littérature (Bouissou-Schurtz *et al.*, 2014). Cependant, la PEC maximale est inférieure à 1 $ng.L^{-1}$ et la limite de détection (LD) moyenne sur les trois périodes analytiques est égale à 2,4 $ng.L^{-1}$. Ainsi, en-dessous de cette LD, la détection de cette molécule n'a pas été possible. Comme pour la Ranitidine, les valeurs de MEC sont peut-être équivalentes aux PEC mais la sensibilité analytique ne permet pas de le vérifier. L'Oxazépam n'a pas montré de différence significative entre les PEC et les MEC et cette molécule a été détectée en amont des rejets de Ginestous. Elle est donc également éliminée de la phase dissoute dans la Garonne.

5. Hypolipémiants

5.1 Comportement en STEU

Les rendements médians d'élimination pour le Bézafibrate et la Pravastatine sont équivalents entre les deux STEU étudiées. Les rendements médians de la Pravastatine, supérieurs à 80% à Ginestous et Seilh, sont supérieurs à ceux retrouvés dans la littérature qui sont plutôt égaux à 60% (Radjenovic, Petrovic et Barcelo, 2007, 2009). Cependant, les différences sont beaucoup plus marquées pour le Bézafibrate qui peut présenter des rendements moyens inférieurs à 30%, supérieurs à 80%, ou des rendements médians supérieurs à 60% comme c'est le cas de cette étude (Gros, Petrovic et Barcelo, 2007 ; Radjenovic, Petrovic et Barcelo,

2007, 2009 ; Aminot, 2013). Dans la littérature, il est précisé que les périodes de pluie pouvaient drastiquement diminuer les rendements d'élimination du Bézafibrate (Ternes, 1998 ; Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007). Ces résultats suggèrent que l'élimination de cette molécule dans la phase dissoute est influencée par la HRT (Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2007). Le phénomène déconjugaison peut également être responsable de la variation des concentrations du Bézafibrate lorsque cette molécule est au contact des boues activées (Petrovic *et al.*, 2009). Enfin, selon Castiglioni *et al.* (2006), les rendements d'élimination du Bézafibrate sont plus importants en été par rapport à l'hiver lié à une corrélation positive entre la température et l'activité microbienne (Castiglioni *et al.*, 2006).

5.3 Comportement dans la Garonne

Dans la Garonne, seul le Bézafibrate a été détecté.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les concentrations mesurées aux différentes dates de prélèvements.

La comparaison des PEC et des MEC n'a pas montré de différence entre ces deux données pour le Bézafibrate. Ce qui est cohérent avec ce qui est rencontré dans la littérature (Calamari *et al.*, 2003). Cependant, le Bézafibrate a été mesurée en amont des rejets de Ginestous. Il est donc possible de dire que cette molécule est éliminée de la phase dissoute de la Garonne. En revanche, les MEC sont significativement inférieures aux PEC pour la Pravastatine. Les PEC sont comprises entre 0 et 10 $ng.L^{-1}$ et les LD sont bien inférieures à ce seuil. Il est donc possible de dire que les concentrations de cette molécule sont atténuées une fois rejetée dans la Garonne.

Tables des matières

Introduction **13**

Partie 1. Étude bibliographique **19**

Chapitre 1. Les origines de la contamination **23**

1. Émissions diffuses 25

2. Émissions ponctuelles 26

Chapitre 2. La consommation de médicaments en France et dans le monde **31**

1. Consommation de médicaments dans le monde 34

1.1 Médicaments utilisés en médecine humaine 34
1.2 Médicaments utilisés en médecine animale 35

2. Consommation de médicaments en France 36

2.1 Médicaments utilisés en médecine humaine 36
2.2 Médicaments utilisés en médecine animale 38

Chapitre 3. Présence de RM dans les milieux naturels aquatiques **41**

1. Eaux de surface 43

2. Eaux souterraines 47

3. Eaux de boisson 50

4. Synthèse 50

Chapitre 4. Exposition versus consommation **55**

1. Comparaison des données d'exposition et de consommation 57

2. Facteurs explicatifs de l'exposition environnementale 61

2.1 Propriétés physico-chimiques des médicaments 61
2.2 Métabolisation des médicaments dans l'organisme humain 64
2.3 Dégradation des médicaments en STEU 65
2.4 Dégradation des médicaments dans les milieux naturels 68

Chapitre 5. Évaluation de la dangerosité des molécules **73**

1. Données brutes de laboratoire 75

1.1 Bio-essais 75

1.1.1 Essais de toxicité aiguë 77

1.1.2 Essais de toxicité chronique 77

1.2 Biomarqueurs 77

1.2.1 Biomarqueurs d'exposition 78

1.2.2 Biomarqueurs d'effet 78

1.3 Modélisation des dangers par des modèles QSAR 79

2. PNEC 80

2.1 Méthode des facteurs d'extrapolation 80
2.2 Méthode statistique 81

Chapitre 6. Réglementation des résidus de médicaments **83**

1. États-Unis 85

2. Union Européenne 86

2.1 Directive Cadre sur l'Eau 87
2.2 Règlement REACH 88

2.2.1 Évaluation des dangers 89

2.2.2 Évaluation de l'exposition 89

2.2.3 Caractérisation des risques 90

2.3 Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) 90
2.3.1 Contenu du dossier pour la délivrance de l'AMM 90
2.3.2 Lignes directrices de l'évaluation du risque environnemental 91
2.4 France 92
3. Synthèse 93
Chapitre 7. Contexte et objectifs de l'étude 97
1. État des lieux des travaux de recherches 99
2. Objectifs de l'étude 103
Partie 2. Matériels et méthodes 107
Chapitre 1. Description de la base de données 111
1. Création de la BDD 113
2. Structuration de la BDD 114
Chapitre 2. Données écotoxicologiques (danger) 121
1. Sélection des RM 123
2. Données de danger intégrées à la BDD 126
2.1 Bio-essais 126
2.2 Biomarqueurs 128
3. Calcul de PNEC 129
4. Intégration des données de danger dans la BDD 131
Chapitre 3. Données d'exposition 135
1. Sélection des RM 137
2. Cartographie des stations 139
2.1 STEU de Ginestous 139
2.2 STEU de Seilh 141
2.3 Garonne à Toulouse 141
3. Stratégie d'échantillonnage 144
3.1 STEU 144
3.2 Milieu naturel 146
4. Calendrier des prélèvements 147
5. Méthodologies analytiques 148
6. Traitement des résultats 151
6.1 Analyses qualitatives 151
6.1.1 Pourcentages d'occurrence 151
6.1.2 Analyses statistiques de base : moyenne et coefficients de variation 152
6.2 Rendements d'élimination des RM dans les STEU 152
6.3 Variabilité spatiale des RM dans la Garonne 153
6.4 Variabilité temporelle 155
7. Influence du milieu naturel - Calcul des PEC 155
Chapitre 4. Caractérisation des risques écotoxicologiques 157
Partie 3. Résultats 161
Chapitre 1. Évaluation des dangers 165
1. Description des données de danger 168
1.1 Bio-essais 168
1.1.1 Toxicité aiguë 169
1.1.2 Toxicité chronique 170
1.2 Modélisations QSAR 170
1.3 Biomarqueurs 171

2. Comparaison des bio-essais et des modélisations QSAR....173
3. Variabilité des données issues des bio-essais et des modélisations 177
3.1 Toxicité aiguë....177
3.1.1 Cas des 66 RM....177
3.1.2 Zoom sur les RM recherchés dans le cadre de l'évaluation de l'exposition....181
3.2 Toxicité chronique 182
3.2.1 Cas des 66 RM 182
3.2.2 Zoom sur les RM analysés dans le cadre de l'évaluation de l'exposition....185
3.3 Comparaison toxicité aiguë et chronique 187
4. Variabilité des PNEC récoltées dans la littérature....188
5. PNEC calculées....191
Chapitre 2. Évaluation de l'exposition....195
1. Occurrence des RM 197
1.1 Dans les STEU....197
1.2 Comparaison Ginestous – Seilh....203
1.3 Dans le milieu naturel....205
2. Variabilité spatiale dans la Garonne....208
2.1 En terme de flux....208
2.2 En termes de concentrations 213
3. Variabilité temporelle....217
4. Comparaison des PEC et des MEC....221
Chapitre 3. Caractérisation des risques écotoxicologiques....225
1. Sélection des données de danger et exposition 227
1.1 Quotient de risque 229
2. Caractérisation du risque global 232
3. Variabilité temporelle des risques écotoxicologiques....235
Partie 4. Discussion 243
Chapitre 1. Évaluation des dangers....247
1. Modélisations QSAR....249
2. Variabilité des données de danger 250
3. PNEC....252
4. Évaluation de l'effet des mélanges 254
5. Effets écotoxicologiques non quantifiables....256
Chapitre 2. Évaluation de l'exposition....259
1. Comportement des RM dans les STEU....261
2. Comportement des RM dans la Garonne....264
3. AINS 267
3.1 Comportement en STEU....267
3.2 Comportement dans la Garonne....268
4. Antibiotiques 270
4.1 Comportement en STEU....270
4.2 Comportement dans le Garonne 271
5. Anti-épileptiques : Carbamazépine....273
5.1 Comportement en STEU....273
5.2 Comportement dans la Garonne....273
6. Cardiovasculaires....274
6.1 Comportement en STEU....274

6.2 Comportement dans la Garonne 275
7. Hormones..... 275
7.1 Comportement en STEU..... 275
7.2 Comportement dans la Garonne 275
Chapitre 3. Caractérisation des risques..... 277
1. Risques écotoxicologiques à Toulouse 279
2. Autres sources d'incertitudes..... 281
2.1 Effet cocktail..... 281
2.2 Dangers non quantifiables 282
3. Impacts potentiels sur la santé humaine..... 283
3.1 Voies de contamination directes - Cas des eaux de consommation..... 283
3.2 Voies de contamination indirectes..... 284
3.3 Risques liés à la résistance microbienne..... 287
Chapitre 4. Discussion générale..... 289
Partie 5. Conclusions et perspectives..... 297
Bibliographie..... 305
Annexes..... 325
Tables des matières..... 413
Liste des communications..... 417
Liste des tableaux..... 419
Liste des figures..... 423
Liste des abréviations..... 427

Liste des communications

Publications dans des revues à comité de lecture

D. Destrieux, F. Laurent, H. Budzinski, J. Pedelucq, P. Vervier et M. Gerino. « Drug residues in urban water: A database for ecotoxicological risk management ». Science of the Total Environment 609C (2017), pp. 927-941.

Communications dans des congrès

D. Destrieux, P. Vervier, H. Budzinski, J. Pedelucq, M. Gerino et F. Laurent. « Drug Residues flowing through a WasteWater Treatment Plant until the natural water environment. Ecotoxicological risk assessmment » (communication affichée). Conference « Functional Ecology and Environment », Auzeville-Tolosane, 11 et 12 juillet 2017.

D. Destrieux, P. Vervier, H. Budzinski, M. Gerino et F. Laurent. « Antibiotics occurrence in WWTP effluent and after arrival into the river – Ecotoxicological risks characterization (2011-2013 study) » (communication affichée). ICRAPHE, Paris, 8 et 9 septembre 2016.

D. Destrieux, P. Vervier, H. Budzinski, F. Laurent et M. Gerino. « Drug residues in an urban river – Development of a reference system for ecotoxicological risks management based on their temporal variations » (communication affichée). ICRAPHE, Paris, 8 et 9 septembre 2016.

Liste des tableaux

Tableau I. Classification ATC, niveau 1.....34

Tableau II. Répartition des ventes mondiales de médicaments vétérinaires en 2014.....36

Tableau III. Les 30 principes actifs les plus vendus en ville en 2013 (en quantité) (source : ANSM, 2014a).....37

Tableau IV. Quantités d'antibiotiques, d'antiparasitaires et d'hormones utilisés en médecine vétérinaire dans le cadre de la production de viande en France en 2004.....38

Tableau V. Consommation (kg) des principaux RM mesurés dans l'environnement en 2013 en France. Le classement est réalisé en fonction des données de l'année 2010 selon Y. Aminot.. 59

Tableau VI. Propriétés physico-chimiques des cinq principales molécules pharmaceutiques mesurées dans l'environnement. Sources : (Bouissou-Schurtz et al., 2014 ; NCBI, 2017).....63

Tableau VII. Facteurs de sécurité utilisés par la procédure du Technical Guidance Document (TGD) (Cf. page 89) . CE(L)50 : Concentration Efficace (Létale) pour 50% des organismes testés; NOEC : No Observed Effect Concentrations ou plus petite concentration pour laquelle aucun effet n'est observé.....81

Tableau VIII. Synthèse des critères d'ERE en fonction des méthodologies considérées.....94

Tableau IX. Principales différences entres les méthodologies proposées par l'ECHA et l'EMA. 94

Tableau X. Description des tables de la BDD.....117

Tableau XI. Notes attribuables à chacune des molécules pour un critère et une référence associée.....124

Tableau XII. Liste des molécules retenues pour l'évaluation du danger (66 RM). En rouge les RM inscrits sur la liste de vigilance de la DCE.....125

Tableau XIII. Règles de distinction entre les données d'écotoxicité aiguës et chroniques (h = heures ; mns = minutes).....127

Tableau XIV. Identification des biomarqueurs d'exposition ou d'effet référencés dans la BDD (source : (Garric, Morin et Vincent-Hubert, s. d.).....128

Tableau XV. Liste des molécules retenues pour l'évaluation de l'exposition (26 RM). En rouge les RM inscrits sur la liste de vigilance de la DCE.....138

Tableau XVI. Méthodologies analytiques utilisées pour l'analyse des RM de l'étude.....150

Tableau XVII. Limites de détection (LD), limite de quantification (LQ) et coefficients de variation (CV) pour chacune des campagnes d'analyses.....151

Tableau XVIII. Nombre de molécules, espèces et organismes présentant des données de toxicité provenant de bio-essais (total, aiguë et chronique), de modélisations et de biomarqueurs (total, effet et exposition).....168

Tableau XIX. Top 10 des espèces les plus utilisées dans le cadre de bio-essais avec des molécules pharmaceutiques.....169

Tableau XX. Nombres et pourcentages des données de toxicité pour chacun des organismes utilisés dans le cadre des modélisations QSAR sur des molécules pharmaceutiques.....171

Tableau XXI. Top 5 des espèces ou cellules les plus utilisées dans le cadre d'étude écotoxicologique utilisant des biomarqueurs et référencées dans la BDD.....173

Tableau XXII. Plus petites valeurs de toxicité aiguë (bio-essais et modélisations) référencées dans la BDD pour chacun des RM analysé. N. d. (= no data) signifie qu'il n'y a pas encore de donnée dans la BDD.....182

Tableau XXIII. Plus petites valeurs de toxicité chronique (bio-essais et modélisations) référencées dans la BDD pour chacun des RM analysé. N. d. (= no data) signifie qu'il n'y a pas encore de donnée dans la BDD.....186

Tableau XXIV. Données de toxicité disponibles dans la BDD (aiguë et chronique) et utilisées pour définir les facteurs de sécurité (AF) et calculer les PNEC. N. d. = pas de données.....192

Tableau XXV. Occurrence (%), concentrations moyennes (ng.L-1) et coefficient de variation (CV) (%) des concentrations dans les eaux usées brutes et traitées à Ginestous (ne = nombre d'échantillon en entrée ; ns = nombre d'échantillon en sortie). Les CV liés aux méthodologies analytiques sont présentés dans le tableau XVII.....198

Tableau XXVI. Comparaison de la variabilité des concentrations (CV) des RM entre l'entrée et la sortie des STEU. La marge d'accroissement des CV est représentée par le nombre de flèche. Pour une molécule donnée, une/des flèche(s) vers le haut indique(nt) une augmentation du CV entre l'entrée et la sortie de la STEU considérée, et une/des flèche(s) vers le bas indique(nt) une diminution du CV entre l'entrée et la sortie de la STEU considérée.....201

Tableau XXVII . Rendements d'élimination des RM à la STEU de Ginestous. Les rendements avec des pourcentages inférieurs à 30% sont représentés en rouge, les rendements avec des pourcentages compris entre 30 et 70% sont représentés en orange et les rendements avec des pourcentages supérieurs à 70% sont représentés en vert.....202

Tableau XXVIII. Comparaison des rendements d'élimination médians des STEU pour chacune des molécules étudiées.....204

Tableau XXIX. Occurrence (%), concentrations moyennes (ng.L-1) et CV (%) des concentrations dans les eaux du Touch et de la Garonne (T. = Touch ; Gin. = Ginestous ; n = nombre d'échantillons). Les CV liés aux méthodologies analytiques sont présentés dans le tableau XVII.....206

Tableau XXX. Valeurs de la probabilité (p-value) de l'hypothèse nulle (H0) : les flux de RM sont identiques entre deux stations testées avec le test de Student. Significativité : * p-value compris entre 0,005 – 0,01 ; ** p-value < 0,005 ; *** p-value < 0,0005. 211

Tableau XXXI. Valeurs de la probabilité (p-value) de l'hypothèse nulle (H0) : les concentrations de RM sont identiques entre deux stations testées avec le test de Student. Significativité : * p-value compris entre 0,005 – 0,01 ; ** p-value < 0,005 ; *** p-value < 0,0005. 214

Tableau XXXII. Résultats du test de corrélation à la station « Aval Ginestous ». Variable dépendante = concentrations ; variable indépendante = débit ; coefficient de corrélation = R2. 220

Tableau XXXIII. PNEC minimales, médianes, maximales des molécules recherchées dans les eaux usées brutes et traitées et dans le milieu naturel.....227

Tableau XXXIV. MEC minimales, médianes et maximales pour les RM mesurés à la station « Amont Ginestous », provenant des résultats des analyses effectuées sur les prélèvements réalisés de juin 2015 à avril 2017.....228

Tableau XXXV. MEC minimales, médianes et maximales pour les RM mesurés à la station « Moyenne aval Ginestous », provenant des résultats des analyses effectuées sur les prélèvements réalisés de juin 2015 à avril 2017.....229

Tableau XXXVI. Quotient de risque (MEC/PNEC) pour les MEC minimales, médianes et maximales pour la station « Amont Ginestous ». Rouge = quotients supérieurs à 1 ; orange = quotients proches de 1. Pour les quotients inférieurs à 0,01, des valeurs nulles sont indiquées. 230

Tableau XXXVII. Quotient de risque (MEC/PNEC) pour les MEC minimales, médianes et maximales pour la station « Moyenne aval Ginestous ». Rouge = quotients supérieurs à 1. Pour les quotients inférieurs à 0,01, des valeurs nulles sont indiquées.....231

Tableau XXXVIII. Organismes sensibles aux différentes familles thérapeutiques étudiées pour les toxicités aiguës et chroniques.....251

Tableau XXXIX. Synthèse des différentes sources d'incertitudes des concentrations de RM en station de traitement des eaux usées (STEU) et dans le milieu naturel (MN) (BV = bassin versant ; CV = coefficients de variation pour la STEU de Ginestous et la station « Moyenne aval Ginestous » ; HRT = temps de séjour hydraulique ; MES = matières en suspension ; SRT = âge moyen des boues).....266

Tableau XL. Pourcentages de molécules à risque à l'amont et à l'aval des rejets de Ginestous en fonction des concentrations environnementales mesurées (MEC) minimales, médianes et maximales.....280

Tableau XLI. Synthèse des différentes sources d'incertitude inter- et intra moléculaires des concentrations écotoxicologiques issues des tests réalisés sur le court-terme (aiguës) et le long-terme (chroniques) et des PNEC..... 291

Tableau XLII. Comparaison des rendements d'élimination de la phase dissoute à Ginestous et du comportement des RM dans les eaux de la Garonne toulousaine. Nd : non détectée. Pour les rendements à Ginestous : 0 = rendements médians inférieurs à 30% ; + = rendements médians compris entre 30% et 70% ; ++ = rendements médians supérieurs à 70%. Pour le comportement dans la Garonne, 0 = MEC > PEC ou MEC = PEC ; + = MEC < PEC ou MEC = PEC avec mesure du RM en amont de Ginestous ; ++ = MEC < PEC avec mesure du RM en amont de Ginestous..... 294

Liste des figures

Figure 1. Voies de transfert dans l'environnement (eau de surface, eau souterraine et sol) des médicaments utilisés en médecine humaine, responsables des émissions diffuses.....26

Figure 2. Voies de transfert dans l'environnement (eau de surface, eau souterraine et sol) des médicaments utilisés en médecine humaine et animale, responsables des émissions ponctuelles.....27

Figure 3. Classes thérapeutiques, ATC niveau 1 (Cf. tableau I), les plus consommées en 2014 en DDD/1 000 habitants/jour.....35

Figure 4. Concentrations maximales (* = moyennes) des molécules recherchées dans les eaux de surface en France et en Europe des années 90 à 2008 (liste non exhaustive). Entre parenthèses, les références associées (a : Ternes, 1998; b : Zuccato et al., 2000; c : Vieno, Tuhkanen et Kronberg, 2006; d : Togola et Budzinski, 2008 ; e : Loos et al., 2009 ; f : Vulliet et Cren-Olivé, 2011). Les classes ATC sont visibles dans le tableau I.....46

Figure 5. Concentrations maximales (* = moyennes) des molécules recherchées dans les eaux de souterraines en France et en Europe (liste non exhaustive). Entre parenthèses, les références associées (a : Sacher et al., 2001 ; b : Heberer, 2002b ; c : Vulliet et Cren-Olivé, 2011; d : ANSES, 2011; e : Lopez et Laurent, 2013). Les classes ATC sont visibles dans le tableau I.....49

Figure 6. Synthèse des RM les plus fréquemment détectés dans les eaux superficielles et souterraines européennes ainsi que dans les eaux de boisson françaises (concentrations maximales mesurées selon les références citées dans ce chapitre).....51

Figure 7. Principe de fonctionnement d'une station de traitement des eaux usées (source : Ifremer, 2002). 66

Figure 8. Principe des tests d'écotoxicité (source : INERIS, 2007).....76

Figure 9. Courbe théorique de la relation dose-réponse (source : Payet, 2013).....76

Figure 10. Courbe de distribution de sensibilité des espèce pour une molécule (source : Tissier et Marchand, 2007).....82

Figure 11. Schéma récapitulatif de l'approche proposée par la FDA (source : Besse et Garric, 2007).....86

Figure 12. Schéma récapitulatif de la procédure EMA (source : Besse et Garric, 2007).....92

Figure 13. Synthèse de la méthodologie utilisée en Suède (source : Stockholm County Council, 2014). 102

Figure 14. Exemple simplifié d'une BDD relationnelle.....113

Figure 15. Système de communication entre l'utilisateur et la BDD.....114

Figure 16. Diagramme représentant les relations existantes entre les différentes tables de la BDD.....116

Figure 17. Arbre de décision pour le choix des facteurs de sécurité (AF) pour la définition des PNEC.....130

Figure 18. Arbre de décision utilisé pour l'addition de données de danger dans la BDD.....132

Figure 19. Arbre de décision pour la sélection des molécules à analyser dans le cadre de l'évaluation de l'exposition (Ok = sélection de la molécule pour l'évaluation de l'exposition du milieu à cette dernière).....138

Figure 20. Cartographie des stations de prélèvements.....139

Figure 21. Schéma des filières de traitement de l'usine de Ginestous (source : Véolia Eau, 2010).....140

Figure 22. Vue aérienne des STEU étudiées. À gauche la STEU de Seilh et à droite la STEU de Ginestous.....141

Figure 23. Bassin versant de la Garonne (source : AEAG, 2014).....142

Figure 24. Vue aérienne des stations de prélèvements. À droite, le panache observable lié aux rejets de la STEU de Ginestous.....143

Figure 25. Localisation des stations de prélèvements par rapport aux stations de mesure de la qualité du cours d'eau. À droite, accès cartographique du Système d'Information sur l'Eau (SIE) du Bassin Adour-Garonne (source : http://adour-garonne.eaufrance.fr/carto).....144

Figure 26. Stratégie d'échantillonnage pour la sortie de la STEU de Ginestous et l'entrée et la sortie de la STEU de Seilh (L = litre(s)).....145

Figure 27. Schéma de la filière de traitement de la STEU de Ginestous avec la localisation des points de prélèvements et de mesure des débits à l'entrée de Ginestous.....146

Figure 28. Stratégie d'échantillonnage pour les entrées de la STEU de Ginestous (L = litre(s) ; J = journée).....146

Figure 29. Stratégie d'échantillonnage pour les prélèvements dans le milieu naturel (J = journée).....147

Figure 30. Calendrier des prélèvements réalisés en STEU et dans le milieu naturel (chiffre x = mois de l'année).....148

Figure 31. Cartographie des stations de mesure de la banque hydro de France et positionnement de la station de Gagnac.....154

Figure 32. Nombre de RM pour chaque catégorie de données de danger (bio-essais, modélisations QSAR, biomarqueurs et PNEC). À gauche, comparaison entre le nombre de RM pour les différentes évaluations écotoxicologiques, à droite, comparaison entre le nombre de RM pour les PNEC et les données de toxicités.....167

Figure 33. Résultats des tests écotoxicologiques provenant de bio-essais effectués sur le court-terme (toxicité aiguë) (n=16) et de modélisations QSAR (n=42) sur des algues. En grisé les valeurs médianes.....174

Figure 34. Résultats des tests écotoxicologiques provenant de bio-essais effectués sur le court-terme (toxicité aiguë) (n=176) et de modélisations QSAR (n=47) sur des crustacés. En grisé les valeurs médianes.....175

Figure 35. Résultats des tests écotoxicologiques provenant de bio-essais effectués sur le court-terme (toxicité aiguë) (n=20) et de modélisations QSAR (n=47) sur des poissons. En grisé les valeurs médianes.....176

Figure 36. Valeurs minimales, médianes (points) et maximales des toxicités aiguës intégrées dans la BDD pour chacune des molécules possédant au moins une donnée de toxicité aiguë réelle ou modélisée.....178

Figure 37. Concentrations toxiques issues des tests d'écotoxicité aiguë en fonction des molécules et des organismes testés. En grisé les valeurs médianes.....180

Figure 38. Valeurs minimales, médianes (points) et maximales des toxicités chroniques intégrées dans la BDD pour chacune des molécules possédant au moins une donnée de toxicité chronique réelle ou modélisée.....183

Figure 39. Concentrations toxiques issues des tests d'écotoxicité chronique en fonction des molécules et des organismes testés. En grisé les valeurs médianes.....185

Figure 40. Valeurs minimales, médianes (points) et maximales des toxicités aiguës (gauche) et chroniques (droite) intégrées dans la BDD pour chacune des molécules possédant au moins une donnée de toxicité aiguë ou chronique réelle ou modélisée. 187

Figure 41. Valeurs minimales, médianes (points) et maximales des PNEC intégrées dans la BDD pour chacune des molécules possédant au moins une donnée PNEC.....189

Figure 42. PNEC en fonction des molécules et des organismes testés. Les croix rouges indiquent les données pour lesquelles aucun organisme est précisé. En grisé, les valeurs médianes.....191

Figure 43. Positionnement des PNEC calculées (croix rouges) par rapport aux PNEC récoltées dans la littérature scientifique.....193

Figure 44. Nombre de molécules par classe de rendement dont le pourcentage d'élimination suit un code couleur (rouge = inférieurs à 30% ; orange = entre 30 et 70% ; vert = supérieurs à 70%) (et pour toutes les molécules présentant au moins un rendement calculable).....204

Figure 45. Flux médians des RM étudiés en fonction des stations : Touch (bleu), amont Ginestous (rouge), aval Ginestous (violet) et Gagnac (orange).....208

Figure 46. Résultat de l'analyse en composantes principales (ACP) généré à partir des flux de RM. La projection sur les deux principaux axes est affichée : à gauche les RM détectés, à droite les stations de prélèvements (bleu = « Aval Ginestous », noir = « Gagnac » et rouge = « Amont Ginestous »).....209

Figure 47. Diagrammes en boîte des flux (ng.j-1) des RM présentant des différences de flux significatives entre les stations Amont-Aval et Amont-Gagnac en fonction des stations (Amont = « Amont Ginestous » ; Aval = « Aval Ginestous »). La significativité des résultats des test-T est illustrée par des « * ». Significativité : * p-value compris entre 0,005 – 0,01 ; ** p-value < 0,005 ; *** p-value < 0,0005.....212

Figure 48. Résultat de l'analyse en composantes principales (ACP) généré à partir des concentrations de RM. La projection sur les deux principaux axes est affichée : à gauche les RM détectés, à droite les stations de prélèvements (bleu = « Aval Ginestous », noir = « Gagnac » et rouge = « Amont Ginestous »).....213

Figure 49. Diagrammes en boîte des concentrations (ng.l-1) des RM présentant des différences de concentrations significatives, entre les stations amont-aval et amont-Gagnac, en fonction des stations (Amont = « Amont Ginestous » ; Aval = « Aval Ginestous »). La significativité des résultats des test-T est illustrée par des « * ». Significativité : * p-value compris entre 0,005 – 0,01 ; ** p-value < 0,005 ; *** p-value < 0,0005.....216

Figure 50. Évolution des concentrations de RM en fonction des campagnes et des stations de prélèvements, uniquement pour les RM présentant des variations significatives en fonction du temps et de l'espace. Les CV liés aux méthodologies analytiques sont présentés dans le tableau 151.....218

Figure 51. Effet date sur les concentrations de RM mesurées dans la Garonne.....219

Figure 52. Diagrammes en boîte des concentrations (ng.L-1) des RM présentant des différences entre MEC et PEC significatives. La significativité des résultats des test-T est illustrée par des « * ». Significativité : * p-value compris entre 0,025 – 0,05 ; ** p-value < 0,025 ; *** p-value < 0,0025. 222

Figure 53. Gammes des MEC de la station « Moyenne aval Ginestous » des RM potentiellement dangereux pour la Garonne et de toutes les valeurs de PNEC disponibles dans la BDD avec distinction de l'organisme utilisé. Les croix vertes indiquent les PNEC pour lesquelles aucun organisme est précisé dans les références d'où proviennent les valeurs ou obtenues par la méthode SSD.....232

Figure 54. Diagrammes en boîte des quotients de risque des RM étudiés. Le trait rouge correspond à un QR égal à 1 et au-dessus duquel un risque potentiel pour la Garonne toulousaine existe.....233

Figure 55. Nombre de molécule présentant un risque écotoxicologique pour la Garonne toulousaine à la station « Moyenne aval Ginestous » des mois.....235

Figure 56. Concentrations des RM présentant des risques écotoxicologiques potentiels pour la Garonne à la station « Moyenne aval Ginestous » en fonction du temps. Les astérisques signalent les molécules pour lesquelles une variabilité temporelle a été mise en évidence. ** p-value < 0,005 ; *** p-value > 0,0005.....237

Figure 57. Concentrations des RM potentiellement dangereux pour la Garonne toulousaine à la station « Moyenne aval Ginestous » en fonction des campagnes de prélèvements.....238

Figure 58. Variation temporelle des quotients de risque (MEC/PNEC minimale).....240

Figure 59. Variation temporelle des quotients de risque (MEC/PNEC minimale) de la Carbamazépine et de l'Ibuprofène.....241

Figure 60. Évolution temporelle des débits de la Garonne et des concentrations de Carbamazépine, de Propranolol et d'Estrone de 2015 à 2017.....295

Liste des abréviations

ACP	Analyses en Composantes Principales
AEAG	Agence de l'Eau Adour-Garonne
AF	Assessment Factor
AiiDA	Aquatic Impact Indicators DAtabase
AINS	Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AMPERES	Analyse de Micropolluants Prioritaires et Émergents dans les Rejets et des Eaux Superficielles
ANP	Académie Nationale de Pharmacie
ANR	Agence Nationale de la Recherche
ANSM	Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé
ARMISTIQ	Amélioration de la Réduction des MIcropolluants dans les stations de traitement des eaux usées domeSTIQues
ATC	Anatomique, Thérapeutique et Chimique
BDD	Base de données
BRGM	Bureau de Recherches Géologiques et Minières
CA	Chiffre d'Affaire
CAd	Concentrations Addition
CAS	Chemical Abstract Service
CE	Commission Européenne
CE(L)50	Concentration Efficace (Létale) pour 50% des organismes testés
CHMP	Comité des médicaments à usage humain
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CV	Coefficient de Variation
DCE	Directive Cadre sur l'Eau
DDD	Defined Daily Dose
DGS	Direction Générale de la Santé
ECHA	European Chemical Agency
E2	17 beta-estradiol ou Estradiol
EE2	17 alpha-éthinylestradiol ou Éthinylestradiol
EFSA	European Food Safety Authority
EFPIA	European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations
EH	Équivalent Habitant
EIC	Expected Introductory Concentration
EMA	European Medicines Agency
EPOC	Environnement et Paléo-environnement Océanique et Continentaux

ERE	Évaluation du Risque Environnemental
FDA	Food and Drug Administration
GHS	Globally Harmonized System
GRAIE	Groupe de Recherche Rhône Alpes sur les Infrastructures et l'Eau
H0	Hypothèse nulle
H1	Hypothèse alternative
HC5	Hazardous Concentration for 5% species
HLB	Hydrophilic-Lipophilic-Balanced
HRT	Hydraulic Retention Time
IA	Independent Action
IC50	Inhibitory Concentration on 50% of the population
ICRAPHE	International Conference on Risk Assessment of PHarmaceuticals in the Environment
Inserm	Institut national de la santé et de la recherche médicale
IRMISE	Impact des Rejets de Micropolluants Issus de Stations d'Épuration
KNAPPE	Knowledge and Need Assessment on Pharmaceuticals Products in Environnemental waters
LD	Limite de Détection
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level
LOEC	Lowest Observed Effect Concentration
LPTC	Laboratoire de Physico- et Toxico-Chimie de l'environnement
LQ	Limite de Quantification
MFB	Multispecies Freshwater Biomonitor
MEC	Measured Environmental Concentration
MEEC	Maximum Expected Environmental Concentration
MIC	Minimal Inhibitory Concentration
MNU	Médicaments Non Utilisés
MPA	Swedish Medical Product Agency
NHEERL	National Health and Environmental Effects Research Laboratory
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
NOEC	No Observed Effect Concentrations
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
ONEMA	Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques
PEC	Predicted Environmental Concentration
PEHD	PolyÉthylène Haute Densité
PNEC	Predicted No Effect Concentration
PNRM	Plan National sur les Résidus de Médicaments dans l’eau
PNSE	Plan National Santé Environnement
REACH	Registration, Evaluation, Authorization and restriction of Chemicals

REGARD	Réduction et Gestion des micropolluAnts sur la métRopole borDelaise
RM	Résidus de Médicament
RRLC	Rapid Resolution Liquid Chromatography
QR	Quotient de risque
QSAR	Quantitative Structure-Activity Relationship
SANDRE	Service d'Administration Nationale des Données et Référentiels sur l'Eau
SECIS	Swendish Environmental Classification and Information System
SGBDD	Système de Gestion de Base De Données
SIE	Système d'Information sur l'Eau
SPE	Solid Phase Extraction
SRT	Sludge Retention Time
SSD	Species Sensitivity Distribution
STEU	Station de Traitement des Eaux Usée
TGD	Technical Guidance Document
TI	Toxicity Index
TU	Toxic Unit
UE	Union Européenne
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
US EPA	United States Environmental Protection Agency

Résumé

Les Résidus de Médicaments (RM) sont des molécules biologiquement actives et leur présence dans l'environnement peut induire des effets sur les écosystèmes. Afin de caractériser l'impact écotoxicologique lié à l'utilisation de ces molécules dans la région toulousaine, 26 RM ont été recherchés dans les eaux usées de deux Stations de Traitement des Eaux Usées (STEU) de la ville de Toulouse et dans le milieu récepteur de leurs rejets, la Garonne. Dans la Garonne, les prélèvements ont été réalisés en amont et en aval des effluents des STEU afin d'étudier l'impact de ces effluents sur le risque associé à la présence de ces RM dans le fleuve. Le risque écotoxicologique potentiel a été évalué en comparant, pour chacun des RM étudiés, les concentrations mesurées *in situ* (exposition) et les concentrations écotoxiques (danger). Ces comparaisons ont permis la définition de quotient de risque (RQ) en fonction du temps et de l'espace. Les résultats des analyses ont montré que, malgré le fait que la plupart des molécules soient détectées dans la Garonne en amont des rejets des STEU, certains RM ont présenté des concentrations significativement plus importantes dans la Garonne en aval des rejets. Ces résultats soulignent l'impact des effluents toulousains sur le risque associé à la la présence de RM dans la Garonne. Dans le cadre de ces travaux de recherches une base de données (BDD) a été développée qui intègre 1/ des données d'écotoxicité issues de la littérature scientifique (1237 données issues de bio-essais, modélisations et bio-marqueurs et 382 Predicted No Effect Concentrations (PNEC)) ; 2/ des données d'exposition à l'échelle de l'agglomération toulousaine (125 échantillons récoltés). L'étude des RQ, à partir des plus basses PNEC actuellement disponibles dans la BDD, a montré des risques écotoxicologiques potentiels liés à la présence de 7 RM dans la Garonne sur les 26 recherchés. Ces 7 RM sont, dans l'ordre décroissant des pourcentages d'occurrence des risques associés, Carbamazépine (anti-épileptique) (100%), Clarithromycine (100%), Diclofénac (anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)) (100%), Estrone (hormone sexuelles) (100%), Ofloxacine (antibiotiques) (93%), Ibuprofène (AINS) (62%) et Propranolol (cardiovasculaire) (31%). L'étude des concentrations écotoxiques inclues dans la BDD ont montré des variabilités intramoléculaires importantes. Pour l'évaluation des risques environnementaux (ERE), la réglementation européenne recommande d'utiliser une seule donnée d'écotoxicité pour définir le seuil toxique requis pour l'ERE (PNEC). Ces variabilités intramoléculaires démontrent que le déploiement de la démarche proposée par la réglementation pour l'ERE peut générer une sous-estimation des risques écotoxicologiques. De plus, la variabilité temporelle des données d'exposition engendre, pour les 7 RM identifiés comme potentiellement dangereux, 1/ l'alternance des périodes à risque et à non risque pour le Ibuprofène, Ofloxacine et Propranolol; 2/ des risques avérés quelle que soit la période considérée pour la Carbamazépine, Clarithromycine, Diclofénac et Estrone. Ces résultats suggèrent que, la variabilité des concentrations, qu'elles soient prédites (PEC) ou mesurées (MEC), doit être prise en compte pour mesurer l'impact de la présence de RM sur les écosystèmes aquatiques. Avec un meilleur accès aux soins de santé et une population vieillissante menant à une poly-médication, la production, l'utilisation et l'élimination des produits pharmaceutiques devraient augmenter. De par le rôle des médicaments dans la santé publique et les impacts potentiels sur les écosystèmes, cette problématique associée à la présence de RM dans les milieux aquatiques doit être prise en charge par une action concertée afin de prévenir, réduire et gérer l'introduction des RM dans l'environnement.

Mots-clés : résidus médicamenteux, risques écotoxicologiques, base de données, eaux usées, station de traitement des eaux, rivière urbaine

---

Abstract

Drug residues (DR) are biologically active molecules and their environmental occurrence can produce negatives effects on the ecosystems. In order to identify the ecotoxicological impact linked to their use in the Toulouse area, 26 DR were searched in two waste water treatment plant (WWTP) of Toulouse, inlet and outlet, and into the natural water receiving the WWTP releases, the Garonne river. In the Garonne river, sampling were carried out upstream and downstream of WWTP outlets in order to study impact of their releases on the ecotoxicological risks linked to the DR occurrence in the river. Ecotoxicological risks were estimated with the ratio between measured environmental concentrations (exposure) and environmental hazard threshold (hazard) for each drug. These ratios allowed to define hazard quotients (HQ) according to time and space. Despite the fact that most of DR were detected in the Garonne upstream of WWTP releases, some of them showed significant greater concentrations downstream the WWTP releases. For these last ones, results highlight that WWTP releases are responsible for the ecotoxicological risks linked to the presence of DR in the Garonne river. As part of this study, a database was made, including 1/ ecotoxicity data coming from scientific literature (1237 data provided from bioassays, modellings and biomarkers and 382 Predicted No Effect Concentrations (PNEC)); 2/ exposition data from Toulouse city (125 collected samplings). Since the lowest PNEC available in the database, the HQ study showed ecotoxicological risks linked to the occurrence of 7 DR in the Garonne among the 26 searched. In the decreasing order of the risks percentage occurrence, these 7 DR are Carbamazepine (antiepileptic) (100%), Clarithromycin (antibiotic) (100%), Diclofenac (non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)) (100%), Estrone (sexual hormone) (100%), Ofloxacin (antibiotic) (93%), Ibuprofen (NSAID) (62%) and Propranolol (cardiovascular) (31%). The ecotoxicity concentrations integrated in the database showed important intra-molecular variabilities. For environmental risk assessment (ERA), european regulation recommends to use only one ecotoxicity data to define the environmental threshold required for the ERA (PNEC). These intra-molecular variabilities demonstrate that implementation of the ERA process proposed by regulation could create under-estimations of the ecotoxicological risks. Moreover, exposure data temporel variability for the 7 DR identified as potentially hazardous causes 1/ alternation of risked and non-risked periods for Ibuprofen, Ofloxacin and Propranolol; 2/ proven risks whatever the considered period for Carbamazepine, Clarithromycin, Diclofenac and Estrone. These results suggest that concentrations variability, whether predicted (PEC) or measured (MEC), should be taken into account to assess the DR impact on the aquatics ecosystems. With better access to health care and an ageing population leading to a multiple medication, the production, the use and the pharmaceuticals elimination should increase. Because of their role in the public health and their potential impact on the ecosystems, the presence of DR in the aquatic environments is an issue that should be taken in hand by a concerted action in order to prevent, reduce and manage DR release in the environment.

Keywords: Drug residues, ecotoxicological risks, database, sewage, waste water treatment plant, urban river