HAL
open science

État d'imprégnation de différents compartiments du milieu aquatique par des résidus de médicaments et leurs produits de dégradation

Hiba Zind

To cite this version:

Hiba Zind. État d'imprégnation de différents compartiments du milieu aquatique par des résidus de médicaments et leurs produits de dégradation. Chimie analytique. Université de Poitiers, 2020. Français. NNT : 2020POIT2289 . tel-03219631

HAL Id: tel-03219631

https://theses.hal.science/tel-03219631

Submitted on 6 May 2021

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.

Thèse

Pour l'obtention du Grade de

Docteur de l'Université de Poitiers

(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

Ecole Doctorale : Chimie Ecologie Géosciences Agrosciences « *Théodore Monod* »

Secteur de Recherche : Chimie physique, théorique, analytique

Présentée par :

Hiba Zind

****

Etat d'imprégnation de différents compartiments du milieu aquatique par des résidus de médicaments et leurs produits de dégradation

****

Directrice de thèse : Mme Nathalie Karpel Vel Leitner, Directeur de recherches
Co-directrice de thèse : Mme Leslie Mondamert, Maître de conférences
Co-encadrant de thèse : M. Jérôme Labanowski, Chargé de recherches

****

Soutenance prévue le 17 décembre 2020

devant la Commission d'Examen

****

JURY

Rapporteurs :

M. Eric van Hullebusch	Professeur, Université Paris 7 Diderot
M. Philippe Behra	Professeur, INP Toulouse

Examinateurs :

Mme Justine Criquet	Maître de conférences, Université de Lille
Mme Nathalie Karpel Vel Leitner	Directeur de recherches, Université de Poitiers
Mme Leslie Mondamert	Maître de conférences, Université de Poitiers
M. Jérôme Labanowski	Chargé de recherches, Université de Poitiers

Remerciements

Cette thèse est le fruit de trois années de travail durant lesquelles de nombreuses personnes témoignèrent leur soutien et leur assistance. Je profite de ces quelques lignes pour les en remercier.

J'exprime ma gratitude à M. Yannick Pouilloux, directeur de l'Institut de chimie des milieux et matériaux de Poitiers, et M. Hervé Gallard, directeur de l'équipe « Eaux, biomarqueurs, contaminants organiques, milieux », pour l'accueil qu'ils m'ont fait au sein de leur laboratoire.

Je remercie Mme Nathalie Karpel Vel Leitner d'avoir accepté de diriger cette thèse.

Je pense tout particulièrement à Mme Leslie Mondamert et M. Jérôme Labanowski, mes encadrants, qui surent me conseiller et partager avec moi leur expérience. Je garde pour toujours le souvenir du temps et des encouragements précieux qu'ils m'ont accordés ces trois années passées ensemble.

Je tiens à remercier également MM. Eric van Hullebusch et Philippe Behra, Mme Justine Criquet d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse et d'évaluer mon travail.

Merci à Mlles Maha Al Badany, Olha Matviichuk et Jocelina Paranhos Rosa de Vargas du travail d'équipe que nous sûmes réaliser ensemble ; sans la précieuse aide de Mme Sylvie Liu et de MM. Quentin Blancart Remaury, Alexis Cleon et Michel Chauveau nous n'y serions jamais arrivées.

Je n'oublierai jamais les moments chaleureux vécus avec tous les membres de l'équipe : les repas de Noël, les galettes des rois, les pique-niques d'équipe, les anniversaires, les JIE, les discussions animées autour d'un café. Ils sont les souvenirs précieux d'une longue aventure qui ne sera bientôt plus qu'un instant.

Les doctorants avec qui je partageais mes journées au laboratoire, qu'il fut de chimie ou de brasserie, me permettront d'emporter avec moi leurs prénoms : Alexandre, Anette, Benoît, Fabiola, Fidâ, Florence, Jeannette, Jocelina, Julie, Justin, Layla, Liu, Nassim, Olha, Paul, Paulina, Roukaya, Solène, Thomas, Toni… Seul un doctorant peut vraiment comprendre la montagne russe d'émotions qu'est une thèse. A l'heure où nous nous séparons, je souhaite à chacun d'eux l'épanouissement et la réussite qu'ils méritent dans les projets entrepris et ceux qu'il leur reste à découvrir.

Enfin, j'adresse mes sentiments et remerciements sincères à mon amie Rita et à ma famille de leur soutien inconditionnel qui fut ma principale source de motivation. J'espère que ce travail les honore.

Table des matières

Remerciements ii

Table des matières iii

Liste des tableaux vii

Liste des figures ix

Liste des abréviations xii

Introduction générale 1

Synthèse bibliographique 5

1. Consommation de médicaments dans le monde et en France 6

1.1. Dans le monde 6

1.2. En France 8

2. Devenir des médicaments 12

2.1. Principales sources de rejet 12

2.1.1. Pollution ponctuelle : cas des effluents de STEU 13

2.1.2. Pollution diffuse : cas des épandages agricoles 15

2.2. Métabolisation dans le corps humain et animal 15

2.3. Voies d'élimination dans les stations de traitement des eaux usées 17

2.4. Voies d'élimination dans l'environnement aquatique 21

3. Présence de médicaments et de leurs produits de dégradation dans l'environnement aquatique 25

3.1. Dans les eaux de surface 25

3.2. Dans les sédiments 27

3.3. Dans les organismes aquatiques 29

4. (Eco)toxicité des médicaments et de leurs produits de dégradation 32

5. Législation actuelle concernant les médicaments et leurs produits de dégradation dans les eaux naturelles 35

5.1. En Europe 35

5.2. En France 36

5.3. Prise en considération des produits de dégradation 38

6. Stratégie et choix des compartiments et composés pour l'évaluation de la contamination d'une masse d'eau 39

6.1. Choix des compartiments considérés 40

6.1.1. Eau 40

6.1.2. Biofilm ou microbiote 42

6.1.3. Sédiment 44

6.1.4. Biote 44

6.2. Choix des molécules ciblées 47
6.2.1. Carbamazépine 47
6.2.2. Diclofénac 50
6.2.3. Amoxicilline 54
7. Conclusion 57
Matériel et méthodes 58
1. Stratégies d'échantillonnage 59
1.1. Campagne de suivi temporel de la contamination des biofilms épilithiques 59
1.2. Campagne d'évaluation spatiale et multi-compartiments de la contamination des milieux aquatiques 60
2. Extraction des composés ciblés 64
2.1. Matrices solides 64
2.2. Matrices liquides 66
2.2.1. Eau 66
2.2.2. Echantillonneurs passifs 67
3. Développement et validation des méthodes analytiques 67
3.1. Composés recherchés 67
3.2. Méthode analytique utilisée pour la campagne « biofilms » 69
3.3. Méthode analytique utilisée pour la campagne « multi-compartiments » 73
4. Détermination des taux d'échantillonnage des POCIS 76
Chapitre 1 80
Partie A : Occurrence des produits de dégradation de médicaments dans les biofilms de deux cours d'eau français 81
1. Introduction 81
2. Matériel et méthodes 83
2.1. Rappel des sites de l'étude 83
2.2. Rappel de l'analyse des composés ciblés 84
3. Résultats 85
3.1. Fréquences de détection et teneurs médianes 85
3.1.1. Fréquences de détection 85
3.1.2. Teneurs aux sites « amont » 85
3.1.3. Impact de la STEU de Poitiers 87
3.2. Evolution dans le temps des teneurs 90
3.2.1. Sites « amont » 90
3.2.2. Site « aval » 91

4. Discussion 94
4.1. Large présence des produits de dégradation de médicaments dans les biofilms 94
4.2. Différences suivant les rivières 95
4.3. Rôle des rejets de STEU dans la pseudo-persistance 96
5. Conclusion 97
Partie B : Biofilm ou POCIS, ou les deux ? 98
1. Introduction 98
2. Méthode 100
3. Résultats 100
3.1. Fréquences de détection et teneurs moyennes 100
3.1.1. Fréquences de détection 101
3.1.2. Teneurs aux sites « amont » 101
3.1.3. Impact de la STEU de Poitiers 103
3.2. Evolution des teneurs dans le temps 105
3.2.1. Site « amont » du Clain 106
3.2.2. Site « aval » du Clain 106
4. Comparaison entre les biofilms et les POCIS 109
5. Conclusion 113
Chapitre 2 : Présence de produits de dégradation dans les milieux aquatiques : valeurs homogènes ou site-dépendantes ? 114
1. Introduction 115
2. Matériel et méthodes 116
2.1. Rappel des sites de l'étude 116
2.2. Rappel de l'analyse des composés ciblés 117
2.3. Analyse factorielle discriminante 118
3. Résultats 119
3.1. Présence des produits de dégradation dans les milieux aquatiques 119
3.1.1. Niveaux de contamination des différents compartiments par les produits de dégradation 119
3.1.2. Distribution des produits de dégradation dans les différents compartiments 124
3.2. Teneurs en produits de dégradation dans les milieux aquatiques : valeurs homogènes ou site-dépendantes ? 129
3.2.1. Différenciation selon les cours d'eau 129
3.2.2. Distribution spatiale et impact de l'anthropisation 135
4. Conclusion 140

Chapitre 3 : Risques potentiels associés à la présence de produits de dégradation de médicaments dans l'environnement aquatique 142

1. Introduction 143

2. Méthode 146

2.1. Prédiction de la toxicité aigüe des composés individuels 146

2.2. Prédiction de la toxicité aigüe d'un mélange de composé parent et ses produits de dégradation associés 149

2.3. Evaluation des risques environnementaux dans l'eau et le sédiment 151

3. Résultats 153

3.1. Ecotoxicité des composés individuels 153

3.2. Ecotoxicité des mélanges 155

3.3. Comparaison avec les produits de dégradation des pesticides 157

3.4. Evaluation du risque environnemental 158

4. Conclusion 162

Conclusion générale 163

Références bibliographiques 168

Annexe I : Campagne de suivi temporel de la contamination des biofilms épilithiques – données brutes 191

Annexe II : Campagne d'évaluation spatiale et multi-compartiments de la contamination des milieux aquatiques – données brutes 194

Annexe III : Campagne d'évaluation spatiale et multi-compartiments de la contamination des milieux aquatiques – graphiques Log BCF = f (Log K_{OW}) 196

Annexe IV : Article soumis dans Water Research 205

Annexe V : *Curriculum vitae* 233

Annexe VI : Valorisation de la thèse 234

Résumé 235

Abstract 236

Liste des tableaux

Synthèse bibliographique

Tableau 1 : Part de marché des principales classes thérapeutiques en 2012 et 2019 (LEEM, 2013 ; LEEM, 2020) 8

Tableau 2 : Répartition du marché officinal en France par classe thérapeutique en 2012 et 2019 (LEEM, 2013 ; LEEM, 2020) 10

Tableau 3 : Concentrations recueillies dans la littérature d'une sélection de produits pharmaceutiques en entrée et en sortie de STEU et abattements totaux 13

Tableau 4 : Taux d'excrétion du métabolisme pour certains produits pharmaceutiques 17

Tableau 5 : Log K_d de certains produits pharmaceutiques 20

Tableau 6 : Elimination des produits pharmaceutiques par le procédé à boues activées (Monteiro & Boxall, 2010) 20

Tableau 7 : Données de concentrations en divers produits pharmaceutiques dans les eaux de surface publiées dans la littérature (adapté de Pal *et al.* (2010)) 27

Tableau 8 : Données de concentrations en divers produits pharmaceutiques dans les sédiments de rivières publiées dans la littérature 29

Tableau 9 : Données de concentrations en divers produits pharmaceutiques dans les biofilms de rivières publiées dans la littérature 31

Tableau 10 : Données de concentrations en divers produits pharmaceutiques dans les mollusques bivalves publiées dans la littérature 32

Tableau 11 : Propriétés des composés ciblés 56

Matériel et méthodes

Tableau 12 : Campagne « biofilms » : localisation des sites 60

Tableau 13 : Caractéristiques des rivières étudiées (Eau France, 2020 ; EPTB de la Vienne, 2020b, 2020a ; SAGE Thouet, 2020 ; Syndicat mixte des vallées du Clain Sud, 2020) 61

Tableau 14 : Campagne « multi-compartiments » : localisation des sites 63

Tableau 15 : Conditions d'extraction liquide sous pression des composés ciblés des matrices solides 65

Tableau 16 : Conditions d'extraction sur phase solide des composés ciblés des matrices solides 65

Tableau 17 : Rendements d'extraction des composés ciblés 66

Tableau 18 : Conditions d'extraction sur phase solide des composés ciblés de l'eau 67

Tableau 19 : Propriétés des composés ciblés 69

Tableau 20 : Temps de rétention et transitions des composés pour la campagne « biofilms » 71

Tableau 21 : Limites de détection et de quantification des composés ciblés pour la campagne « biofilms » ; n.d. = non determiné car le nombre d'échantillons analysés (n = 3) ne suffit pas pour un calcul robuste 73

Tableau 22 : Temps de rétention et masses exactes des composés pour la campagne « multi-compartiments » 75

Tableau 23 : Limites de détection et de quantification des composés ciblés pour la campagne « multi-compartiments » 76

Tableau 24 : Conditions expérimentales pour la détermination des taux d'échantillonnage 77

Tableau 25 : Composition de l'eau de source employée pour la calibration des POCIS.....77

Tableau 26 : Taux d'échantillonnage expérimentaux des composés ciblés 79

Chapitre 1

Tableau 27 : Physico-chimie moyenne du Clain à Saint-Benoît et de la Vienne à Valdivienne entre 2012 et 2019 95

Tableau 28 : Corrélations de Pearson entre les teneurs mesurées dans les biofilms et les POCIS aux sites "amont" et "aval" du Clain 111

Tableau 29 : Corrélations de Spearman entre les teneurs mesurées dans les biofilms et les POCIS aux sites "amont" et "aval" du Clain ; n.d. = non déterminé..... 112

Chapitre 3

Tableau 30 : (Eco)toxicité des composés ciblés..... 145

Tableau 31 : Codes SMILES et fractions molaires des constituants des mélanges étudiés..... 150

Tableau 32 : Interprétation des résultats du modèle EPISUITE Biowin3 pour la biodégradation ultime (Environmental Protection Agency, 2012)..... 152

Tableau 33 : Calcul des quotients de risque pour l'eau des composés ciblés..... 159

Tableau 34 : Indices de biodégradation des composés ciblés..... 159

Tableau 35 : Calcul des quotients de risque pour le sédiment des composés ciblés..... 161

Liste des figures

Synthèse bibliographique

Figure 1 : Le marché pharmaceutique mondial par zone géographique en 2019 (en prix producteur) (LEEM, 2020) 7

Figure 2 : Décomposition du chiffre d'affaires (CA) de l'industrie pharmaceutique en France métropolitaine en 2019 (LEEM, 2020) 9

Figure 3 : Consommation d'antibiotiques en France en 2012 (Santé publique France, 2020) 11

Figure 4 : Consommation d'antibiotiques en France en 2018 (Santé publique France, 2020) 11

Figure 5 : Sources de rejet de médicaments dans l'environnement aquatique (ANSES, 2020) ; ANC = assainissement non-collectif, PRO = produits résiduaires organiques (épandage agricole) 12

Figure 6 : Nombre d'études entre 2004 et 2019 sur l'échantillonneur de type POCIS en fonction du type d'adsorbants utilisés (Godlewska *et al.*, 2020) 42

Figure 7 : Répartition des espèces d'eaux douce et marine en France métropolitaine et en outre-mer en 2019 (Eau France, 2020b) 45

Figure 8 : (a) Métabolisme hépatique de la CBZ et (b) Oxydation de la CBZ dans les leucocytes (adapté de Breton *et al.* (2005)) 49

Figure 9 : Mécanisme de dégradation de la CBZ par différents procédés de traitement des eaux, proposé par Kosjek *et al.* (2009) ; X1 = Hydroxy-(9*H*,10*H*)-acridine-9-carbaldehyde, X3 = Acridone-*N*-carbaldehyde, X4 = Acridine-9-carbaldehyde, X5 = 9-Hydroxy-acridine, BQD = 1-(2-benzaldehyde)-(1*H*,3*H*)-quinazoline-2,4-dione 49

Figure 10 : Métabolisme hépatique du DCF (adapté de Vieno & Sillanpää (2014)) ; X1, X2, X3 et X4 sont les formes conjuguées des métabolites, dont les ligands n'ont pas été identifiés 52

Figure 11 : Mécanisme de photodégradation du DCF proposé par Eriksson *et al.* (2010) ; Cz1 = (8-Chloro-9*H*-carbazol-1-yl) acetic acid, Cz4 = (1,4-dioxo-4,9-dihydro-1*H*-carbazol-8-yl) acetic acid, Cz2, Cz3 et Cz5 sont des produits de photodégradation du DCF non confirmés 53

Figure 12 : Voie de transformation principale suggérée pour l'AMX par Pérez-Parada *et al.* (2011) 55

Matériel et méthodes

Figure 13 : Campagne « biofilms » : sites de prélèvement 60

Figure 14 : Campagne « multi-compartiments » : sites de prélèvement 63

Figure 15 : Gradient appliqué pour la campagne « biofilms » 70

Figure 16 : Méthode des ajouts dosés 72

Figure 17 : Gradient appliqué pour la campagne « multi-compartiments » 74

Chapitre 1

Figure 18 : Carte des sites de prélèvement 84

Figure 19 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans les biofilms du site amont du Clain, entre janvier et décembre 2018 (n = 9) 89

Figure 20 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans les biofilms du site aval du Clain, entre janvier et décembre 2018 (n = 9) 89

Figure 21 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans les biofilms du site amont de la Vienne, entre avril et août 2018 (n = 5) 90

Figure 22 : Débit mensuel moyen de la rivière et évolution au cours du temps des teneurs en composés parents et leurs produits de dégradation associés dans les biofilms des sites « amont » et « aval » du Clain, et « amont » de la Vienne 93

Figure 23 : Photographie d'un POCIS après une exposition de 15 jours au site « amont » du Clain ... 99

Figure 24 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans l'eau du site amont du Clain, entre janvier et décembre 2018 (n = 8) 104

Figure 25 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans l'eau du site aval du Clain, entre janvier et décembre 2018 (n = 8) 105

Figure 26 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans l'eau du site amont de la Vienne, entre mai et juillet 2018 (n = 3) 105

Figure 27 : Débit mensuel moyen de la rivière et évolution au cours du temps des teneurs en composés parents et leurs produits de dégradation associés dans les eaux des sites « amont » et « aval » du Clain 108

Chapitre 2

Figure 28 : Campagne multi-compartiments : sites de prélèvement 117

Figure 29 : Fréquences de détection et boîtes à moustaches des teneurs en DCF, CBZ et leurs produits de dégradation associés dans l'eau, les biofilms, les sédiments et les corbicules des trois rivières étudiées. Les boîtes à moustaches prennent en considération la totalité des données sur les trois rivières 123

Figure 30 : Teneurs moyennes (± écart type) de CBZ et ses produits de dégradation associés dans les compartiments d'intérêt, le long des trois rivières étudiées. Le triangle coloré représente le composé parent. La longueur du côté avec la flèche est proportionnelle à la valeur de concentration moyenne des trois rivières 125

Figure 31 : Teneurs moyennes (± écart type) de DCF et ses produits de dégradation associés dans les compartiments d'intérêt, le long des trois rivières étudiées. Le triangle coloré représente le composé parent. La longueur du côté avec la flèche est proportionnelle à la valeur de concentration moyenne des trois rivières 126

Figure 32 : Bioaccumulation réelle (Log BCF) *versus* bioaccumulation prédite (Log K_{OW}) des composés ciblés dans les corbicules prélevées à Airvault 128

Figure 33 : Analyse factorielle discriminante selon le cours d'eau : (a) projection des échantillons ; (b) projection des variables explicatives 132

Figure 34 : Analyse factorielle discriminante selon le cours d'eau : affinage par compartiment 134

Figure 35 : Distribution spatiale des composés ciblés dans les compartiments d'intérêt le long des trois cours d'eau étudiés. Pour chaque site, la distance de la source en kilomètres est indiquée entre parenthèses 137

Figure 36 : Analyse factorielle discriminante selon la localisation du site par rapport à une zone d'anthropisation : (a) projection des échantillons ; (b) projection des variables explicatives 139

Chapitre 3

Figure 37 : Illustration graphique des étapes de prédiction de données écotoxicologiques (OCDE, 2020) 148

Figure 38 : Résultat de l'analyse de tendances pour la 3OH-CBZ 149

Figure 39 : Ecotoxicité des composés ciblés et des mélanges vis-à-vis de *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* et *Pimephales promelas* 155

Figure 40 : Mise en évidence des composés problématiques dans les eaux de la Vienne, du Clain et du Thouet en fonction du risque associé (HQ) et du niveau de persistance (indice de biodégradation ultime) (inspiré par Mazellier *et al.* (2018)) 160

Figure 41 : Mise en évidence des composés problématiques dans les sédiments de la Vienne, du Clain et du Thouet en fonction du risque associé (HQ) et du niveau de persistance (indice de biodégradation ultime) 161

Liste des abréviations

2OH-CBZ	2-hydroxycarbamazépine
3OH-CBZ	3-hydroxycarbamazépine
4'OH-DCF	4'-hydroxydiclofénac
5OH-DCF	5-hydroxydiclofénac
Acrid	Acridone
AEAP	Agence de l'eau Artois-Picardie
AFD	Analyse factorielle discriminante
AMPA	Acide aminométhylphosphonique
AMX	Amoxicilline
AMX-diketo	Amoxicilline dicétopipérazine
AMX-pen	Acide pénilloïque de l'amoxicilline
ANC	Assainissement non-collectif
ANSES	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
ATZ	Atrazine
bbCID	*Broadband collision-induced dissociation* – Dissociation induite par collision à large bande
BAF	*Bioaccumulation factor* – Facteur de bioaccumulation
BCF	*Bioconcentration factor* – Facteur de bioconcentration
Benz	2-[(2-chlorophényl)-amine]-benzaldéhyde
BRGM	Bureau de recherches géologiques et minières
CBZ	Carbamazépine
CBZ-epox	10,11-époxycarbamazépine
COD	Carbone organique dissous
DCE	Directive cadre sur l'eau
DCF	Diclofénac
DDJ	Doses définies journalières
DEA	Déséthylatrazine
DEDIA	Déséthyldéisopropylatrazine
desDA	*Descriptive discriminant analysis* – Analyse discriminante descriptive
DGS	Direction générale de la santé
DGT	*Diffusive gradient in thin film* – Gradient diffus en couche mince
DIA	Déisopropylatrazine
Dibenz	Dibenzazepine
EC	Energie de collision
EC_{50}	*Half maximal effective concentration* – Concentration efficace médiane
EDCH	Eau destinée à la consommation humaine
EPM	*Equilibrium partitioning method* – Méthode de partition à l'équilibre
EPS	*Extracellular polymeric substances* – Substances polymériques extracellulaires
ESI	*Electrospray ionisation source* – Source d'ionisation par électronébulisation
EUP	Eau ultrapure
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HQ	*Hazard quotient* – Quotient de risque
I2M2	Indice invertébrés multi-métrique
IPR	Indice poisson rivière
IPS	Indice de polluosensibilité
JH	Journée d'hospitalisation
K_d	Coefficient de partition solide/eau

K_{OC}	Coefficient de partage carbone organique/eau
K_{OW}	Coefficient de partage octanol/eau
LC_{50}	*Median lethal concentration* – Concentration léthale médiane
LEEM	Les entreprises du médicament
LoD	Limite de détection
LOEC	*Lowest observed effect concentration* – Concentration minimale induisant des effets
LoQ	Limite de quantification
MEC	*Maximal environmental concentration* – Concentration environnementale maximale
MeOH	Méthanol
MES	Matières en suspension
MON	Matière organique naturelle
MRM	*Multiple reaction monitoring* – Suivi de réactions multiples
n.d.	Non-déterminé
NQE	Norme de qualité environnementale
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OH-ATZ	Hydroxyatrazine
OH-DCF	Hydroxydiclofénac
PCB	Polychlorobiphényles
PD	Pharmacodynamique
PEHD	Polyéthylène haute densité
PK	Pharmacocinétique
pK_a	Constante d'acidité
PLE	*Pressurized liquid extraction* – Extraction liquide sous pression
PNEC	*Predicted no effect concentration* – Concentration prédite sans effet
PNRM	Plan national sur les résidus de médicaments dans l'eau
POCIS	*Polar organic chemical integrative sampler* – Échantillonneur chimique organique polaire intégratif
PRC	*Performance and reference compound* – Composé de performance et de référence
PRO	Produits résiduaires organiques
PVDF	*Polyvinylidene fluoride* – Polyfluorure de vinylidène
QSAR	*Quantitative structure-activity relationship* – Relation quantitative structure à activité
Q-ToF	*Quadrupole time of flight* – Spectromètre de masse quadripolaire à temps de vol
R_S	*Sampling rate* – Taux d'échantillonnage
SAGE	Schéma d'aménagement et de gestion des eaux
SDAGE	Schéma directeur d'aménagement et de gestion des eaux
SIPIBEL	Site pilote de Bellecombe
SPE	*Solid phase extraction* – Extraction sur phase solide
STEU	Station de traitement des eaux usées
$t_{1/2}$	Temps de demi-vie
TQ	Spectromètre de masse triple quadripolaire
Trans-CBZ	10,11-dihydro-10,11-trans-dihydroxycarbamazépine
UHPLC	*Ultra-high performance liquid chromatography* – Chromatographie liquide à ultra haute performance
US-EPA	*United-States environmental protection agency* – Agence américaine pour la protection de l'environnement
UV	Ultra-violets

Introduction générale

Introduction générale

De nos jours, environ 2000 molécules pharmaceutiques actives entrent dans la composition des médicaments administrés aux hommes ou aux animaux. Ces composés et leurs résidus semblent de plus en plus préoccupants pour l'environnement à mesure que la consommation augmente (OCDE, 2019b). En France, 90 % des consultations médicales aboutissent à une prescription de médicament (Sermet & Pichetti, 2012) et chaque citoyen en consomme en moyenne 48 boîtes par an (ANSM, 2014).

La présence de produits pharmaceutiques dans l'environnement a été signalée pour la première fois à Kansas City, aux États-Unis, en 1976, où de l'acide clofibrique a été détecté dans des eaux usées traitées (Garrison *et al.*, 1976). Aujourd'hui, leur présence est avérée dans le monde entier dans l'ensemble des compartiments du milieu aquatique. En France, des campagnes de mesure, effectuées au niveau national au début des années 2010, ont permis de mettre en évidence la présence de médicaments appartenant à différentes classes thérapeutiques dans les eaux de surface et souterraines (AEAP, 2010 ; ANSES, 2011 ; BRGM, 2011). Les sources de rejet de ces composés dans l'environnement sont principalement les effluents des stations de traitement des eaux usées (STEU) municipales et les eaux usées urbaines non traitées issues des assainissements non-collectifs. Les émissions des usines de fabrication et de l'agriculture intensive peuvent constituer également des sources ponctuelles importantes localement.

Etant donné que les médicaments ont pour propriété d'agir sur des cibles biologiques, des concentrations infimes présentes dans l'environnement (ng L^{-1} – µg L^{-1}) peuvent avoir involontairement aussi des effets sur les organismes y vivant. Ainsi, les hormones de synthèse contenues dans les contraceptifs semblent provoquer la féminisation des poissons (Petrovic *et al.*, 2002 ; Tyler & Jobling, 2008) dont le comportement peut aussi être modifié par des

médicaments psychotropes les rendant alors moins averses au risque et plus vulnérables aux prédateurs (Huerta *et al.*, 2016). La présence d'antibiotiques dans les eaux de surface pourrait aussi contribuer à la possible sélection de gènes de résistance (Amarasiri *et al.*, 2020).

Bien que la préoccupation engendrée par la présence et l'exposition chronique aux résidus de médicaments dans l'environnement soit reconnue par les instances publiques et scientifiques, peu d'attention est portée à leurs résidus, c'est-à-dire à leurs produits de dégradation. En effet, les principes actifs peuvent être tout d'abord transformés *in vivo* par divers mécanismes liés au métabolisme, puis par des procédés épuratoires au cours des éventuelles étapes de collecte et d'assainissement des déjections humaines ou animales, mais aussi *in natura*, notamment dans les eaux naturelles et les sols. Les produits de dégradation ainsi formés peuvent être plus mobiles, polaires et toxiques que les composés d'origine. Il existe également encore aujourd'hui un certain nombre d'incertitudes liées à l'évaluation des risques environnementaux des produits pharmaceutiques en raison du manque de connaissances concernant leur devenir dans l'environnement et leur impact sur les écosystèmes et la santé humaine, ainsi que les effets de leurs mélanges avec d'autres composés chimiques, comme leurs produits de dégradation.

La présente étude propose une évaluation de l'état d'imprégnation de différents compartiments du milieu aquatique par des résidus de médicaments et leurs produits de dégradation ainsi qu'une appréhension des risques environnementaux résultants. Ce manuscrit présente cinq parties qui sont :

- Une **synthèse bibliographique** regroupant les connaissances actuelles sur la consommation de médicaments, leurs sources de rejet dans l'environnement aquatique et les mécanismes de formation de leurs produits de dégradation, leur présence dans différents compartiments du milieu aquatique, leur (éco)toxicité, la

législation en vigueur aux niveaux européen et français, ainsi que la pertinence des compartiments et des molécules choisis pour ce travail ;

- Une partie **matériel et méthodes** présentant les stratégies d'échantillonnage, les méthodes d'extraction et d'analyse des composés ciblés dans les différentes matrices d'intérêt et la procédure suivie pour la calibration en laboratoire des échantillonneurs passifs ;
- Le **chapitre 1**, présenté en **deux parties**, s'intéressant tout d'abord au suivi au cours du temps de la contamination par des résidus de médicaments et leurs produits de dégradation de biofilms épilithiques cultivés dans deux rivières différentes (le Clain et la Vienne) et à l'impact des rejets d'une STEU (Poitiers), puis à la comparaison de cet « indicateur » biofilm avec l'échantillonnage passif ;
- Le **chapitre 2** dressant l'état de la contamination par des résidus de médicaments et leurs produits de dégradation de quatre compartiments du milieu aquatique (eaux, sédiments, biofilms, corbicules) prélevés à des sites situés sur trois cours d'eau différents (la Vienne, le Clain et le Thouet) et apportant une évaluation de la variabilité spatiale des teneurs mesurées ;
- Le **chapitre 3** évaluant les risques environnementaux potentiels liés à la présence de résidus de médicaments et leurs produits de dégradation dans les trois rivières étudiées, considérés individuellement mais aussi en mélange, à travers une approche par relation quantitative structure à activité (QSAR).

Une **conclusion générale** reprend l'ensemble des conclusions tirées des différents chapitres et propose de nouvelles perspectives mises en lumière par ce travail.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

Un médicament se définit – au sens réglementaire – comme « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » (Article L5111-1, Code de la santé publique, 2007).

La raison pour laquelle les médicaments présentent un intérêt dans le contexte environnemental est qu'ils présentent les mêmes comportements physico-chimiques et les mêmes propriétés de franchissement des membranes cellulaires, de bioaccumulation et d'effets biologiques sur l'homme ou l'animal traité que sur les organismes aquatiques ou terrestres qui n'étaient pas la cible du traitement.

Ce chapitre bibliographique fait le point des connaissances actuelles sur les médicaments, leur consommation, leur devenir dans l'environnement, leur présence et leurs effets, et démontre ainsi l'importance de les étudier, ainsi que leurs produits de dégradation, dans différents compartiments du milieu aquatique.

1. Consommation de médicaments dans le monde et en France

1.1. Dans le monde

En 2019, le marché mondial du médicament a atteint environ 1106 milliards de dollars, ce qui représente 5 % de plus qu'en 2018 (LEEM, 2020). En 2012, cette part s'élevait seulement à 856 milliards de dollars (-1 % par rapport à 2011) (LEEM, 2013). L'Amérique du Nord, et notamment les Etats-Unis, représente à elle seule 47,5 % du marché mondial du médicament

et dépasse de loin le marché européen (23,2 %) ainsi que les pays émergents de l'Asie (22,5 %), tels que la Chine, et de l'Amérique du Sud (4,4 %), comme le Brésil (Figure 1).

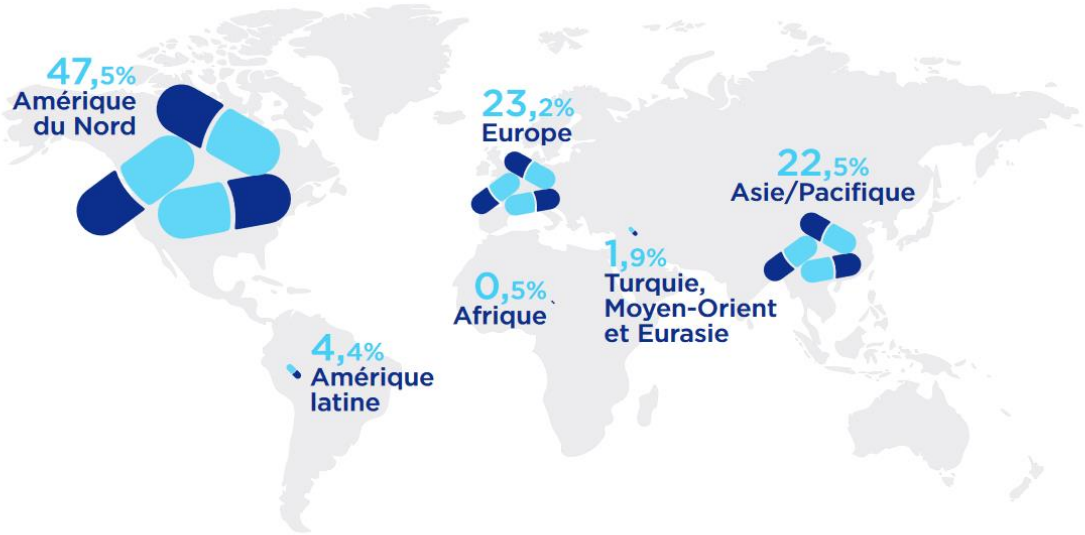


Figure 1 : Le marché pharmaceutique mondial par zone géographique en 2019 (en prix producteur) (LEEM, 2020)

Le Tableau 1 regroupe les parts du marché mondial des principales classes thérapeutiques vendues en 2019 et les met en parallèle avec les chiffres de 2012. Les anticancéreux sont les médicaments les plus vendus au monde avec 13,2 % du marché. Ils sont suivis des antidiabétiques (8,8 %) et des médicaments contre les maladies auto-immunes (7,9 %). Les autres classes thérapeutiques représentent chacune moins de 5 % du marché pharmaceutique mondial. En 2012, les anticancéreux occupaient également la première place du classement. Cependant, ils ne représentaient que 4,3 % du marché mondial du médicament. Ils étaient suivis des hypolipémiants (3,6 %) qui ne figurent plus dans la liste des principales classes thérapeutiques en 2019. Le reste des classes thérapeutiques représentaient chacune moins de 3 % du marché.

Tableau 1 : Part de marché des principales classes thérapeutiques en 2012 et 2019 (LEEM, 2013 ; LEEM, 2020)

Classe thérapeutique	Part du marché mondial 2012 (%)	Part du marché mondial 2019 (%)
Oncologie	4,3	13,2
Antidiabétiques	2,4	8,8
Maladies auto-immunes		7,9
Maladies respiratoires		4,2
Douleur		4,0
Anticoagulants		4,0
Antihypertenseurs	1,6	3,4
Antibiotiques		3,3
VIH	2,2	3,0
Santé mentale		2,9

Selon une étude de l'entreprise américaine de conseil en service pharmaceutique IQVIA (IQVIA Institute, 2019), le marché mondial du médicament devrait dépasser 1500 milliards de dollars d'ici 2023. Cette croissance mondiale des dépenses en médicaments sera principalement liée à l'adoption d'une vague de nouveaux produits innovants. Ainsi, le nombre de nouveaux produits mis sur le marché dans les pays développés devrait passer d'une moyenne de 46 produits par an au cours des cinq dernières années à 54 d'ici 2023, et les dépenses moyennes liées à la recherche et au développement devraient augmenter légèrement pour atteindre une moyenne de 45,8 milliards de dollars sur les cinq prochaines années. D'autre part, cette croissance sera liée dans une moindre mesure à un accès et une utilisation élargis des médicaments, la Chine se rapprochant à elle seule du niveau de dépenses combiné des cinq principaux marchés européens. En Europe, au cours des cinq dernières années, le marché du médicament a présenté une croissance annuelle de 4,7 % stimulée par les dépenses liées aux nouveaux produits, en particulier les traitements oncologiques et contre l'hépatite virale. Cependant, cette croissance devrait ralentir de 1 à 4 % d'ici 2023 puisque moins de nouveaux médicaments seront mis sur le marché.

1.2. En France

La France est classée au 2ème rang du marché européen des médicaments, derrière l'Allemagne, et à la 5ème place du marché mondial (LEEM, 2020). Cependant, à l'horizon 2023,

elle devrait perdre deux places, se faisant dépasser par l'Italie et le Brésil (IQVIA Institute, 2019). En 2019, le chiffre d'affaires réalisé par l'industrie pharmaceutique française s'élevait à 60 milliards d'euros, dont 50 % à l'exportation (Figure 2) (LEEM, 2020). Il est à noter que le taux de croissance annuel moyen est en diminution depuis quinze ans à peu près. Ainsi, en 2000, il se situait à 7 %, contre 1,3 % en 2019 après une année à 0,3 % en 2018 (LEEM, 2020).

En France, les médicaments sont également distingués suivant leur mode de délivrance (les médicaments de prescription médicale obligatoire ou facultative) et leur prise en charge ou non par les régimes de base de l'assurance maladie.

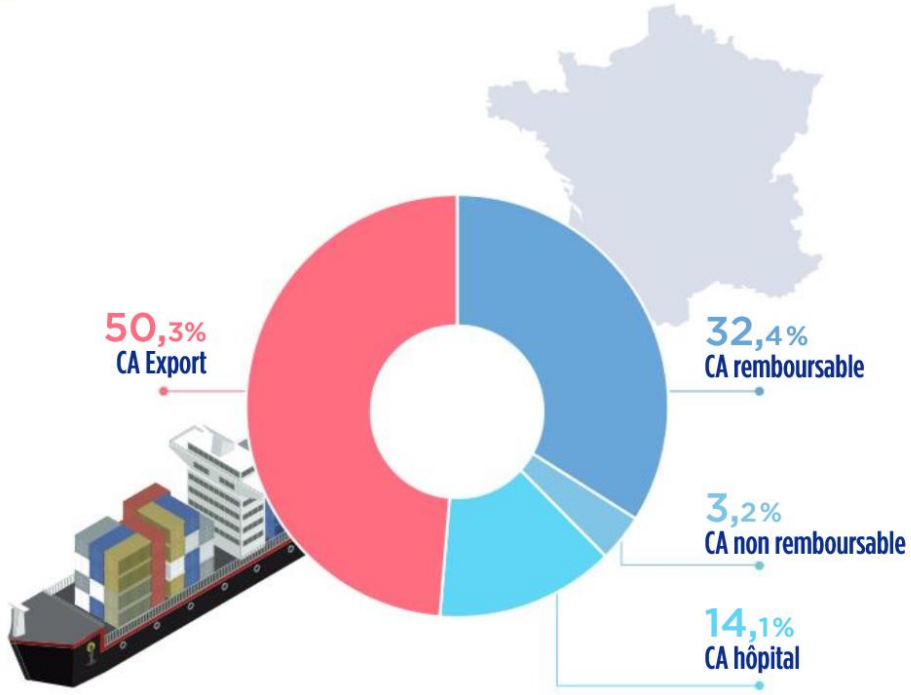


Figure 2 : Décomposition du chiffre d'affaires (CA) de l'industrie pharmaceutique en France métropolitaine en 2019 (LEEM, 2020)

La consommation moyenne de médicaments par an et par habitant en 2018 est estimée à 488 euros (LEEM, 2020). Le Tableau 2 regroupe les parts du chiffre d'affaires de toutes les classes thérapeutiques disponibles en France en 2012 et 2019. Les antinéoplasiques, i.e. les anticancéreux, et les immunomodulateurs représentent aujourd'hui la classe la plus importante du marché officinal français (18,7 %), suivis des médicaments du système nerveux central (14,4 %) et ceux de l'appareil digestif et du métabolisme (11,8 %). En 2012, en revanche,

ce sont les médicaments de l'appareil cardiovasculaire et ceux du système nerveux central qui représentaient plus de 30 % du chiffre d'affaires du marché officinal en France. Les anticancéreux n'occupaient que la 4ème place, après les médicaments de l'appareil digestif, de stomatologie et du métabolisme. Ceci met en lumière la croissance observée en Europe au cours des cinq dernières années et qui a été attribuée au développement de nouveaux produits, notamment liés à l'oncologie (IQVIA Institute, 2019).

Tableau 2 : Répartition du marché officinal en France par classe thérapeutique en 2012 et 2019 (LEEM, 2013 ; LEEM, 2020)

Classe thérapeutique*	**Part du chiffre d'affaires 2012 (%)**	**Part du chiffre d'affaires 2019 (%)**
Antinéoplasiques et immunomodulateurs	11,5	18,7
Système nerveux central	16,3	14,4
Appareil digestif, stomatologie et métabolisme	12,7	11,8
Anti-infectieux voie générale	9,7	10,5
Appareil cardiovasculaire	16,4	8,7
Appareil respiratoire	8,8	8,2
Sang et organes hématopoïétiques	5,4	7,5
Organes des sens	3,8	5,3
Appareil génito-urinaire / hormones sexuelles	4,6	3,9
Appareil locomoteur	3,9	3,0
Hormones	2,3	2,8
Dermatologie	2,6	2,7
Produits de diagnostic	0,9	1,2
Divers**	0,7	0,7
Solutés à usage hospitalier	0,2	0,3
Antiparasitaires	0,3	0,3
Total	100,0	100,0

*Classification EphMra ; **Allergènes, médicaments divers, antiseptiques et instruments chirurgicaux

Cependant, une étude de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM, 2014) qui analyse les quantités de médicaments vendues et non les parts de marché révèle que les analgésiques arrivent en première position avec 740 millions de boîtes vendues en 2013, le paracétamol étant la molécule active la plus vendue en France avec plus de 500 millions de boîtes. Cette classe thérapeutique est suivie de loin par les psycholeptiques (162 millions de boîtes vendues en 2013) et les antibactériens à usage systémique (134 millions de boîtes vendues en 2013).

Les Figure 3 et Figure 4 montrent la consommation d'antibiotiques en France en doses définies journalières (DDJ)[1] par 1000 journées d'hospitalisation (JH), en 2012 et 2018. Il en ressort que cette consommation a globalement diminué (-6,8 %, valeur moyenne sur tout le territoire français), avec des proportions différentes selon les régions (par exemple, en Ile de France : -22 % à peu près, en Nouvelle Aquitaine : entre -3 % et +1 %).

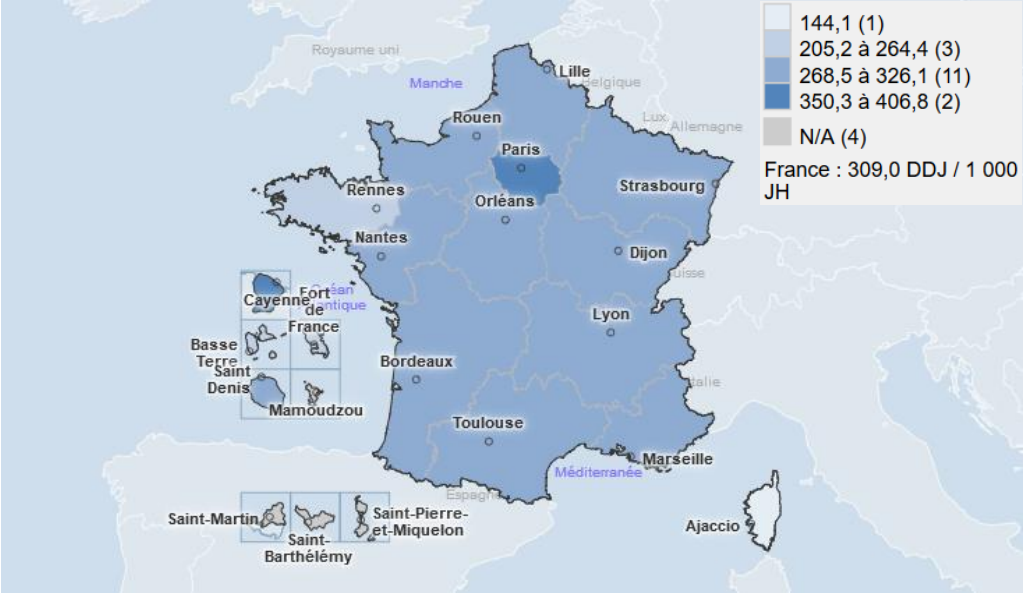


Figure 3 : Consommation d'antibiotiques en France en 2012 (Santé publique France, 2020)

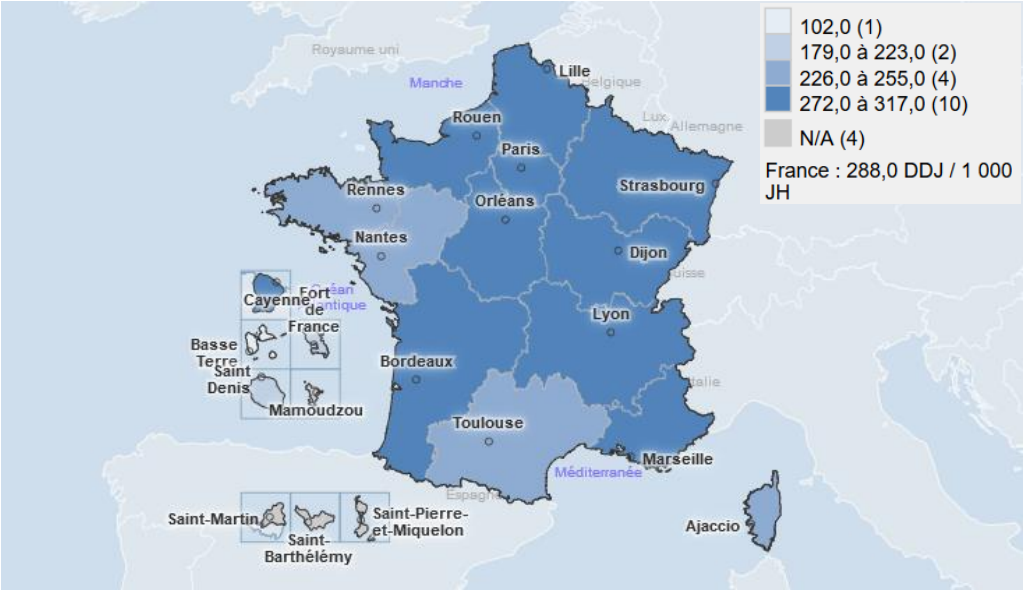


Figure 4 : Consommation d'antibiotiques en France en 2018 (Santé publique France, 2020)

[1] La DDJ correspond à la quantité totale en grammes d'antibiotique consommé divisée par la posologie quotidienne de référence (DDD). La DDD, définie par l'OMS, représente la posologie usuelle pour un adulte de 70 kg dans l'indication principale d'un principe actif.

2. Devenir des médicaments

2.1. Principales sources de rejet

Les sources de rejet de médicaments dans l'environnement (Figure 5) peuvent être divisées en sources ponctuelles et sources diffuses de pollution. La pollution ponctuelle provient de sites distincts dont les apports dans le milieu aquatique peuvent souvent être définis ou quantifiés ; l'étendue spatiale de la pollution est donc généralement plutôt limitée (Lapworth *et al.*, 2012). Il s'agit par exemple des effluents industriels provenant des usines de fabrication de médicaments, des effluents de STEU municipales, ou des effluents hospitaliers. La pollution diffuse, en revanche, provient de sources diffuses mal définies qui ont lieu généralement à des échelles géographiques plus larges (Lapworth *et al.*, 2012). Nous pouvons citer par exemple le ruissellement agricole à la suite d'épandages de boues ou de fumier, les eaux pluviales, le ruissellement urbain, ou les fuites dans les réseaux d'égouts urbains.

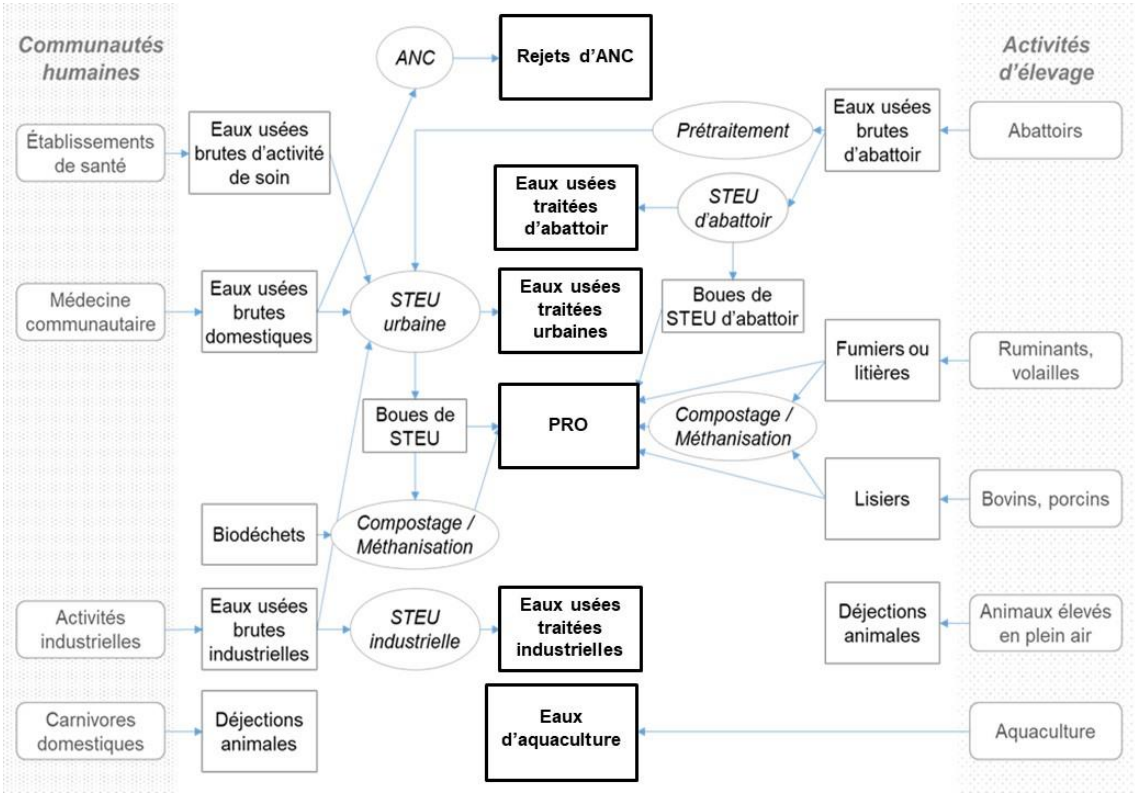


Figure 5 : Sources de rejet de médicaments dans l'environnement aquatique (ANSES, 2020) ; ANC = assainissement non-collectif, PRO = produits résiduaires organiques (épandage agricole)

2.1.1. Pollution ponctuelle : cas des effluents de STEU

Les eaux usées sont considérées comme l'une des sources ponctuelles les plus importantes de produits pharmaceutiques dans le milieu aquatique (Glassmeyer *et al.*, 2005). La présence de médicaments dans ces eaux est due à la métabolisation incomplète de ces produits dans le corps humain et leur rejet *via* les urines et les fèces. En effet, Lienert *et al.* (2007) ont analysé les voies d'excrétion de 212 principes actifs pharmaceutiques. Leurs résultats montrent qu'en moyenne, 64 % (± 27 %) de chaque molécule active est excrété par l'urine, dont 42 % (± 28 %) sous forme de métabolites, et 35 % (± 26 %) par les fèces. Les auteurs ont observé une grande variabilité entre les différentes classes thérapeutiques, mais aussi au sein de certains groupes et parfois même entre différents produits contenant le même principe actif.

Les eaux usées urbaines sont ainsi un vecteur important de médicaments et de leurs métabolites vers les STEU. De plus, plusieurs études se sont intéressées à la présence de produits pharmaceutiques dans les affluents et les effluents de STEU et ont constaté que l'élimination de ces produits est incomplète (Budzinski *et al.*, 2009 ; Luo *et al.*, 2014 ; Pomies, 2013 ; Verlicchi *et al.*, 2012). Le Tableau 3 regroupe quelques exemples de concentrations recueillies dans la littérature ainsi que des pourcentages d'abattement.

Tableau 3 : Concentrations recueillies dans la littérature d'une sélection de produits pharmaceutiques en entrée et en sortie de STEU et abattements totaux

Composé	Entrée de STEU (ng L^{-1})	Sortie de STEU (ng L^{-1})	Abattement total (%)
Amoxicilline	0,19 – 0,28[a]	0.007[a]	
Aténolol	1603[b]	109[b]	93 ± 4[b]
Carbamazépine	1200[a] ; 1200[c] ; 15780[d]	1040[a] ; 1000[c] ; < 5 – 4600[d]	< 40 %[d]
Diclofénac	1000[a] ; 1004[b] ; 750[c]	800[a] ; 627[b] ; 200[c]	33 ± 13[b] ; < 40 %[d]
Fluoxétine	79,2[b]	16,5[b]	30 ± 31[b]
Ibuprofène	37000[a] ; 11179[b] ; 12000[c]	3600[a] ; 251[b] ; 800[c]	98 ± 1[b] ; > 70 %[d]
Métoprolol	72,3[b]	25,2[b]	65 ± 16[b]
Paracétamol	292093[b]	64[b]	100 ± 0[b]
Propranolol	320[a] ; 285[b] ; 250[c] ; 60 – 638[d]	170[a] ; 134[b] ; 200[c] ; 93 – 388[d]	32 ± 17[b]
Roxithromycine	405[b]	525[b]	0[b]
Sulfaméthoxazole	920[a] ; 359[b] ; 600[c]	280[a] ; 121[b] ; 300[c]	52 ± 75[b] ; 40 – 70 %[d]

[a]Verlicchi *et al.*, 2012 ; [b]Pomies, 2013 ; [c]Budzinski *et al.*, 2009 ; [d]Luo *et al.*, 2014

Par ailleurs, Miège *et al.* (2009) ont créé une base de données, à partir de 117 publications scientifiques, afin d'évaluer quantitativement l'occurrence et l'efficacité d'élimination des produits pharmaceutiques dans les STEU. Ces auteurs ont ainsi mis en évidence des composés fortement éliminés (> 80 %) comme le triclosan, la norfloxacine, le 17β-estradiol et l'estriol, et d'autres avec un faible pourcentage d'abattement (< 30 %) tels que l'aténolol, la carbamazépine, le métoprolol, le triméthoprime, l'acide méfénamique et l'acide clofibrique. Les résultats ont quand même présenté une grande variabilité qui a été attribuée par les auteurs à la variété des STEU des différents pays considérés.

D'autre part, les effluents hospitaliers contribuent également à la présence de résidus de médicaments dans les STEU. Néanmoins, les charges de polluants transférés de l'hôpital aux STEU dépendent fortement de plusieurs facteurs, tels que le nombre d'hôpitaux, la densité des lits, le niveau d'industrialisation et la densité de la population (Verlicchi, 2018).

Le site d'étude SIPIBEL (Site Pilote de Bellecombe, Scientrier, France) est une STEU pilote qui traite les eaux usées du centre hospitalier Alpes Léman (450 lits) et les eaux usées urbaines d'un bassin versant de 21000 habitants. Ces deux types d'effluents sont traités dans des files séparées constituées des mêmes procédés de traitement : filtration, séparation des graviers et des graisses, traitement biologique conventionnel à boues activées (aérobie et anoxique) et clarification finale (Chonova *et al.*, 2016). Cette configuration particulière permet d'étudier la contribution des effluents hospitaliers aux teneurs en micropolluants dans les eaux usées totales, mais aussi d'analyser l'efficacité du traitement et de calculer la part des eaux usées hospitalières dans les effluents traités rejetés dans le milieu aquatique. Bien que les eaux usées hospitalières présentent des concentrations initiales plus élevées en micro- et macropolluants, leur contribution à la charge totale de polluants est inférieure à celle des eaux usées urbaines en raison des différences de flux de rejet. Après traitement, la contribution globale des eaux hospitalières dans les effluents traités reste inférieure à la

contribution des eaux urbaines. Cependant, l'apport des effluents hospitaliers en certains composés peut encore être relativement élevé et ne doit pas être négligé (Verlicchi, 2018).

2.1.2. Pollution diffuse : cas des épandages agricoles

L'épandage de fumier et de boues de STEU sur les sols agricoles est un élément important de la stratégie de gestion des déchets et présente l'avantage d'augmenter les niveaux de nutriments du sol. Cependant, l'élimination incomplète des produits pharmaceutiques pendant le traitement des eaux usées peut entraîner des concentrations résiduelles dans les boues qui sont appliquées au sol (Clarke & Smith, 2011).

L'utilisation d'antibiotiques vétérinaires et d'hormones stéroïdiennes dans l'alimentation animale est également une source non négligeable de contamination environnementale. Cette problématique est particulièrement pertinente aux Etats-Unis et dans certaines régions d'Europe et d'Asie où l'élevage intensif de bétail est de plus en plus courant (Bartelt-Hunt *et al.*, 2011 ; Thorne, 2007). Une proportion importante des médicaments administrés est excrétée par le bétail sous forme inchangée ou métabolisée, et stockée dans les lagunes d'épuration constituant donc une menace potentielle pour les eaux souterraines en raison des fuites ou lors de l'épandage du fumier. A titre d'exemple, du 17β-estradiol, de l'estrone, de la testostérone et de l'androstènedione ont été détectés à des concentrations allant jusqu'à 650 ng L^{-1} dans des lagunes agricoles en Californie (Kolodziej *et al.*, 2004).

2.2. Métabolisation dans le corps humain et animal

Après leur administration, les composés pharmaceutiques subissent un certain nombre de transformations à des degrés variables dans le corps humain ou animal. Généralement, une partie est métabolisée par une variété d'enzymes oxydatives et conjugatives afin de protéger l'organisme contre les effets nocifs d'une surexposition à une myriade de produits chimiques (Celiz *et al.*, 2010). Il s'agit de la transformation en deux phases des médicaments en formes

plus polaires et solubles, actives ou non sur le plan pharmacologique, facilitant leur élimination par les urines ou les fèces. Ces réactions ont principalement lieu dans le foie en deux phases. La phase I implique l'oxydation, la réduction ou l'hydrolyse des produits pharmaceutiques. Ainsi, les enzymes convertissent les molécules organiques lipophiles en composés plus solubles dans l'eau par introduction de groupements fonctionnels tels que -OH, -SH, $-NH_2$ ou -COOH. Ces produits métaboliques peuvent ensuite se conjuguer avec des molécules *in vivo* pour former des O- et N-glucuronides, des sulfates, des esters d'acétate, des carboximides et des adduits de glutathionyle lors des transformations de phase II (Khetan & Collins, 2007).

En pharmacologie, des modèles mathématiques permettent de mieux comprendre l'évolution dans le temps des effets des médicaments (Danhof *et al.*, 2007). Ils fournissent ainsi un moyen de caractériser les paramètres pharmacocinétiques (PK)[2] d'un médicament et un cadre conceptuel pour les relier à l'activité pharmacodynamique (PD)[3]. Les modèles qui combinent ces effets en une seule entité sont appelés modèles PKPD (Sheiner & Steimer, 2000). Ceux-ci permettent de relier directement l'effet observé d'un médicament au temps écoulé après la prise d'une certaine dose (Wright *et al.*, 2011) et de déterminer ainsi les temps de demi-vie des molécules médicamenteuses dans l'organisme.

Le taux de métabolisation varie selon les composés pharmaceutiques. Effectivement, comme le montre le Tableau 4, certains médicaments sont métabolisés, tandis que d'autres restent intacts avant d'être excrétés. Par conséquent, un mélange de produits pharmaceutiques et de

[2] Le modèle PK décrit la relation entre la dose et la concentration qui est normalement représentée par le profil de concentration en fonction du temps pour une dose donnée (Wright *et al.*, 2011).

[3] Le modèle PD décrit le lien entre concentration et effet, indépendamment du temps (Wright *et al.*, 2011).

leurs métabolites est rejeté par l'organisme dans les eaux usées urbaines et arrivent dans les STEU.

Tableau 4 : Taux d'excrétion du métabolisme pour certains produits pharmaceutiques

Composé	Taux d'excrétion maximal sous forme inchangée (%)	Taux d'excrétion de métabolites (%)
Amoxicilline	80 – 90[a]	10 – 20[a]
Triméthoprime	30 – 69[b]	–
Ciprofloxacine	45 – 60[c]	40 – 55[c]
Sulfaméthoxazole	10 – 30[c]	55 – 75[c]
Naproxène	< 1[c]	–
Ibuprofène	1 – 8[d]	–
Diclofénac	6 – 39[b]	–
Acide salicylique	< 5[b]	–
Acétaminophène	2 – 3[c]	–
Carbamazépine	1 – 2[d]	–
Propranolol	< 0,5[c]	–
Aténolol	85[c]	–
Gemfibrozil	< 2[c]	70[c]
Bézafibrate	40 – 69[b]	–

[a]Hirsch *et al.* (1999) ; [b]Jjemba (2006) ; [c]Anderson *et al.* (2002) ; [d]Ternes (1998)

2.3. Voies d'élimination dans les stations de traitement des eaux usées

Les médicaments, partiellement métabolisés dans l'organisme, et les métabolites sont ainsi rejetés dans les eaux usées. Ils subissent alors des transformations biologiques et physico-chimiques (principalement sorption et biodégradation) lors de leur passage dans les réseaux d'eaux usées et le traitement de ces dernières en STEU.

Les STEU sont généralement constituées de traitements primaires et secondaires. Les traitements tertiaires restant facultatifs, ils sont couramment employés dans le cas d'une réutilisation de l'eau traitée, et toujours associés à un coût de traitement élevé.

- *Les procédés de traitement primaire* visent à éliminer les matières en suspension (MES) des eaux usées et sont inefficaces quant à l'abattement de la plupart des médicaments (Carballa *et al.*, 2005) qui sont principalement transférés par **sorption** (absorption ou adsorption) sur les boues primaires (Ternes *et al.*, 2004).

La sorption d'un composé organique à un solide dépend en grande partie de son hydrophobicité. Le coefficient de partage octanol/eau (K_{OW}) est fréquemment utilisé pour prédire l'adsorption de polluants sur les solides. Rogers (1996) a fourni une règle générale pour l'application du K_{OW} à l'estimation de la sorption : un Log K_{OW} inférieur à 2,5 indique un faible potentiel de sorption, un Log K_{OW} compris entre 2,5 et 4 correspond à un potentiel de sorption moyen, et un Log K_{OW} supérieur à 4 un potentiel de sorption élevé.

A titre d'exemple, dans une STEU coréenne, Behera *et al.* (2011) ont observé un taux d'abattement pendant le traitement primaire allant jusqu'à 28 % seulement pour le diclofénac et l'estriol, ce qui suggère une adsorption limitée des composés étudiés sur les boues. En effet, les auteurs ont indiqué que douze des vingt produits pharmaceutiques étudiés avaient des valeurs de Log K_{OW} inférieures à 3 et n'étaient pas supposés s'adsorber de manière significative sur les particules. D'autres produits pharmaceutiques avec des valeurs de Log K_{OW} plus élevées, tels que l'ibuprofène, le kétoprofène, le naproxène, l'acide méfénamique et le gemfibrozil, avaient des valeurs de pK_a beaucoup plus faibles que le pH des eaux usées. Ainsi, il était attendu qu'ils soient dissociés dans la phase aqueuse et non liés aux particules.

- *Durant le traitement secondaire*, les composés pharmaceutiques sont soumis à une multitude de procédés comme la dispersion, la dilution, la partition, la biodégradation et les transformations abiotiques (Luo *et al.*, 2014). **La biodégradation et la sorption** sont les deux mécanismes principaux d'élimination pendant le traitement biologique, alors que la volatilisation reste minoritaire (Verlicchi *et al.*, 2012).

  La structure chimique d'un composé joue un rôle important dans la détermination de sa résistance à la biodégradation. Cette biodégradabilité dépend alors de la complexité du composé et de ses groupements fonctionnels. Ainsi, selon Tunkel *et al.* (2000), les

molécules contenant des liaisons esters, nitriles ou des groupes aromatiques sont facilement biodégradées, alors que des groupements fonctionnels comme les amines peuvent rendre les composés peu biodégradables. Cependant, d'autres études (Joss *et al.*, 2005 ; Radjenović *et al.*, 2009 ; Yu *et al.*, 2006) n'ont pas pu mettre en évidence une relation claire entre la structure des composés pharmaceutiques et leur biodégradabilité.

Ainsi, même si des composés appartiennent au même groupe thérapeutique, leur biodégradabilité peut montrer une grande variabilité. Par exemple, dans une étude de Salgado *et al.* (2012), parmi les anti-inflammatoires non stéroïdiens, le diclofénac présentait une faible biodégradation (< 25%), tandis que l'ibuprofène et le kétoprofène étaient biodégradés à un degré beaucoup plus élevé (> 75%). De plus, les antibiotiques ne sont généralement pas facilement biodégradables (Verlicchi *et al.*, 2012).

Dans les procédés à boues activées, le coefficient de partition solide/eau (K_d) représente la répartition d'un composé entre la boue et la phase aqueuse. Pour les composés ayant un K_d inférieur à 300 L kg^{-1} (Log K_d < 2,48), la sorption sur les boues secondaires peut être considérée négligeable (Luo *et al.*, 2014). De plus, Tadkaew *et al.* (2011) ont rapporté que les micropolluants étudiés ayant un Log K_d supérieur à 3,2 (par exemple l'estrone et le nonylphénol), ont été facilement transférés par sorption sur les boues activées (> 85 %).

Le Tableau 5 présente quelques exemples de K_d de composés pharmaceutiques rapportés dans la littérature. A l'exception de l'ibuprofène dans certains cas, tous ces composés sont considérés comme faiblement adsorbables sur les boues secondaires.

Tableau 5 : Log K_d de certains produits pharmaceutiques

Composé	Log K_d (boues secondaires)
Sulfaméthoxazole	2,4[a]
Ibuprofène	0,3 – 2,7[a]
Diclofénac	1,2[a]
Carbamazépine	1,4[a]
Aténolol	0,21[b]
Acide clofibrique	0,7 ± 0,4[c]

[a]Carballa *et al.* (2005) ; [b]Jones *et al.* (2002) ; [c]Ternes *et al.* (2004)

Plus globalement, Monteiro & Boxall (2010) ont classé les composés pharmaceutiques et certains de leurs métabolites (Tableau 6) en quatre groupes selon leur taux d'abattement par le procédé à boues activées : élimination élevée (> 90 %), élimination moyenne (50 – 89 %), faible élimination (< 40 %) et élimination variable.

Tableau 6 : Elimination des produits pharmaceutiques par le procédé à boues activées (Monteiro & Boxall, 2010)

Elimination élevée (> 90 %)	**Elimination moyenne (50 – 89 %)**	**Faible élimination (< 40 %)**	**Elimination variable**
Acide méfénamique (91) Acétaminophène (92 – 99) Hydroxyibuprofène (95) Acide salicylique (> 99)	Ciprofloxacine (78 – 80) Kétoprofène (65 – 77) Gemfibrozil (46 – 75) Acide acétylsalicylique (81)	Carbamazépine (0 – 30)	Triméthoprime (0 – 69) Sulfaméthoxazole (< 0[4] – 55) Naproxène (66 – 93) Ibuprofène (75 – 97) Diclofénac (18 – 75) Propranolol (65 – 96) Aténolol (< 0[4] – 84) Acide clofibrique (26 – 52) Bézafibrate (50 – 97)

- *Quant aux traitements tertiaires*, les procédés classiques comme la décantation rapide, le lagunage ou la filtration sur sable ont un effet limité sur l'élimination des micropolluants organiques en général, alors que les procédés dits « avancés » tels que les procédés d'oxydation et/ou d'adsorption sur charbon actif permettent de retenir ou d'éliminer 70 % des composés étudiés (Margot *et al.*, 2011 ; Martin Ruel *et al.*, 2010).

[4] Dans certains cas, les concentrations de quelques résidus de médicaments dans les effluents de STEU dépassent leurs concentrations dans les affluents. Ceci pourrait être expliqué par la présence dans les eaux brutes de métabolites conjugués qui peuvent subir une déconjugaison pendant un traitement biologique, conduisant à la réapparition des composés parents (Göbel *et al.*, 2007).

Cependant, il est à noter que cette élimination est accompagnée d'une formation de sous-produits de désinfection (Escher & Fenner, 2011).

Le devenir des composés pharmaceutiques dans les STEU est contrôlé par des facteurs intrinsèques, liés aux molécules, et extrinsèques, spécifiques à la STEU. Les facteurs internes comprennent les caractéristiques des composés : l'hydrophobicité, la biodégradabilité et la volatilité. Par exemple, les composés polaires et non volatils sont plus susceptibles d'échapper aux procédés de traitement des eaux usées. Les facteurs externes, quant à eux, sont liés aux conditions de mise en œuvre des procédés de traitement, au mélange de micropolluants qui peut avoir un effet de synergie comme un effet inhibiteur du traitement, ainsi qu'à la nature des eaux usées (pH, température,…) (Luo *et al.*, 2014).

2.4. Voies d'élimination dans l'environnement aquatique

Lors de leur passage à travers différentes matrices de l'environnement telles que les eaux de surface, les sols et les eaux souterraines, les composés pharmaceutiques, leurs métabolites et leurs produits de dégradation formés par les différents procédés de traitement des eaux sont transformés davantage par des processus biologiques et physico-chimiques en partie similaires à ceux observés dans les STEU (Escher & Fenner, 2011).

- *La photodégradation :*

Dans les eaux naturellement ensoleillées, la photodégradation est considérée comme le principal processus de transformation abiotique qui peut naturellement atténuer la concentration des produits pharmaceutiques. Lorsque la réaction est initiée par la lumière du soleil, la photolyse est qualifiée de directe, alors que lorsqu'elle s'opère en présence de radicaux libres ou d'oxygène singulet, il s'agit d'une photolyse indirecte. Les radicaux qui permettent l'oxydation des contaminants sont générés par l'action des rayons UV sur la

matière organique naturelle, les métaux ou des ions présents dans le milieu comme les nitrates (Andreozzi *et al.*, 2003).

La photodégradation dépend de plusieurs facteurs tels que l'intensité du rayonnement, la profondeur de la colonne d'eau, la saison, la latitude ou même la composition de la matière organique (Mompelat *et al.*, 2009). La présence de certains groupements fonctionnels (cycles aromatiques et hétéroatomes) dans les composés favorise également leur transformation photolytique en milieu aquatique (López-Serna *et al.*, 2012b).

De nombreux médicaments sont connus pour être dégradables par la lumière du soleil (Boreen *et al.*, 2003 ; Poiger *et al.*, 2001). A titre d'exemple, le diclofénac est rapidement dégradé par photolyse directe, avec un temps de demi-vie variable d'une étude à l'autre (33 min (Packer *et al.*, 2003) ; 9,6 h ± 1,2 h (Poirier-Larabie *et al.*, 2016)). En effet, Andreozzi *et al.* (2003) ont montré que la présence d'ions nitrates provoque une diminution de ce temps de demi-vie. D'autre part, certains composés pharmaceutiques sont connus pour être peu photolysables, comme les benzodiazépines (Calisto *et al.*, 2011) et la carbamazépine (Lam & Mabury, 2005).

La photodégradation peut également avoir lieu dans les procédés de traitement des eaux usées, mais dans une moindre mesure. Par exemple, Andreozzi *et al.* (2003) ont démontré la photosensibilité (en laboratoire) du sulfaméthoxazole, du diclofénac et du propranolol dans des effluents de STEU. Cependant, dans les STEU à boues activées, la part de la photodégradation reste faible du fait que la lumière du soleil pénètre difficilement les boues en suspension et que les clarificateurs ont une surface limitée (Pomies, 2013). En revanche, ce phénomène semble plus important dans le cas de procédés de traitement impliquant de longs temps de séjour et pas de boues en suspension. A titre d'exemple, Kreuzinger *et al.* (2004) ont montré que le lagunage permet d'éliminer le diclofénac.

- *L'hydrolyse :*

L'hydrolyse chimique est l'une des principales voies de transformation des contaminants organiques dans le milieu aquatique, car l'eau est un réactif omniprésent dans l'environnement qui peut déclencher des réactions successives (Hirte *et al.*, 2016). Bien que l'hydrolyse se produise en fonction du pH et de la température, d'autres substances présentes dans l'environnement comme la matière organique dissoute peuvent influencer l'hydrolyse des contaminants organiques dans les systèmes aquatiques (Noblet *et al.*, 1996). Les structures moléculaires de nombreux produits pharmaceutiques contiennent des groupements fonctionnels hydrolysables comme les esters, les amides, les imides et les halogènes qui sont impliqués dans la dégradation hydrolytique (Zhang *et al.*, 2015). Ces groupes hydrolysables sont particulièrement fréquents dans de nombreuses classes d'antibiotiques et de médicaments cytostatiques (médicaments administrés dans le cadre d'une chimiothérapie) comme les vinca-alcaloïdes (anti-cancéreux).

- *La biodégradation dans l'environnement :*

Les microorganismes présents dans les eaux de surface sont également impliqués dans les processus d'atténuation de la contamination des milieux aquatiques. En effet, ils peuvent dégrader les composés organiques par l'intermédiaire de deux voies : la biodégradation directe pendant laquelle les micropolluants sont utilisés comme source d'énergie pour la croissance bactérienne *via* des réactions d'oxydoréduction ou de fermentation ; et le co-métabolisme où les contaminants n'entrent pas dans le processus de croissance des microorganismes mais sont dégradés du fait de leur activité métabolique par une réaction enzymatique (Denys, 2004).

Il est important de noter que cette voie d'atténuation de la contamination n'est possible que si la toxicité des molécules n'inhibe pas l'activité microbienne (Barra Caracciolo *et al.*, 2015). A titre d'exemple, Paje *et al.* (2002) ont rapporté que des biofilms lotiques composés

de populations bactériennes et algales ont perdu environ 70 % de leur biomasse initiale globale (basée sur l'épaisseur du biofilm) après 4 semaines d'exposition à 100 µg L^{-1} de diclofénac. Cependant, certaines bactéries *Cytophaga* ont survécu et ont pu dégrader jusqu'à 97 % du composé parent au bout de 5 jours d'exposition, démontrant la capacité de certains microorganismes à s'adapter à ce composé et à le dégrader.

Ainsi, certains composés pharmaceutiques comme l'aténolol, l'ibuprofène et la carbamazépine sont connus pour être facilement biodégradables (Yamamoto *et al.*, 2009). Cependant, cette dégradation dépend grandement de la présence et de la nature des espèces microbiennes. Par conséquent, elle peut s'avérer différente d'un site à l'autre (Berlioz-Barbier, 2015).

Les antibiotiques, bien qu'ils soient conçus dans le but de lutter contre les microorganismes pathogènes, peuvent être dégradés par les communautés microbiennes de l'environnement. A titre d'exemple, les bactéries du genre *Rhodococcus*, connues pour co-métaboliser les hydrocarbures, sont capables de dégrader le sulfaméthoxazole ainsi que d'autres sulfonamides comme le sulfaméthizole (Gauthier *et al.*, 2010 ; Larcher & Yargeau, 2011). De même, il a été démontré que d'autres espèces appartenant à la classe des γ-protéobactéries dégradent co-métaboliquement diverses sulfonamides (Mao *et al.*, 2018 ; Zhang *et al.*, 2012). Cette capacité de dégrader les antibiotiques est souvent liée au développement d'une résistance à ces derniers. En effet, dans une étude de Topp *et al.* (2013), le traitement répété à long terme de sols agricoles avec de la sulfaméthazine a entraîné une augmentation des capacités de dégradation de cette molécule par les communautés microbiennes autochtones, expliquée partiellement par la sélection d'une population bactérienne résistante (*Microbacterium* sp. souche C448) capable de métaboliser et de croître aux dépens de la sulfaméthazine et d'autres sulfonamides.

Dans l'environnement, la déconjugaison de métabolites peut également avoir lieu. C'est ainsi que Topp *et al.* (2008) ont expliqué l'augmentation des teneurs en produits pharmaceutiques observée au cours du temps dans des eaux de ruissellement de terres agricoles où des boues de STEU ont été appliquées.

Globalement, plusieurs facteurs affectent la formation de produits de transformation dans le milieu aquatique tels que la turbidité de l'eau, les conditions de la couche limite, le régime hydraulique, la saison de l'année, l'intensité lumineuse, les agents photosensibles et le type de communautés microbiennes (Crane *et al.*, 2006 ; Kunkel & Radke, 2012).

3. Présence de médicaments et de leurs produits de dégradation dans l'environnement aquatique

3.1. Dans les eaux de surface

Les rejets d'effluents de STEU sont considérés comme la source principale de micropolluants dans les eaux de surface (Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2009). Dans les milieux aquatiques, les résidus de médicaments et leurs produits de dégradation sont soumis à divers degrés d'atténuation naturelle (par exemple, dilution dans l'eau de surface, sorption sur les sédiments et matières en suspension, photolyse, hydrolyse et biodégradation) (Gurr & Reinhard, 2006). Ainsi, les composés pharmaceutiques peuvent se trouver à des niveaux au moins un ordre de grandeur inférieur aux teneurs des effluents de STEU (Gros *et al.*, 2007).

De plus, la dilution dans les eaux de surface peut être affectée par les précipitations. Plusieurs études ont montré une augmentation des concentrations en micropolluants pendant les périodes sèches et une réduction marquée pendant les périodes de pluie. A titre d'exemple, Wang *et al.* (2011) ont mesuré des concentrations en produits pharmaceutiques plus élevées pendant les mois d'hiver par rapport à l'été, au Missouri, en raison de quantités d'eau plus faibles en hiver, même si les rejets de résidus de médicaments dans les eaux réceptrices étaient

similaires pour les deux saisons. Cependant, dans certains cas, les précipitations ont été identifiées comme une source d'émission de micropolluants dans les eaux de surface. En effet, les événements pluvieux pourraient favoriser les débordements dans les réseaux unitaires, entraînant un niveau plus élevé de rejet de contaminants (Luo *et al.*, 2014).

Les concentrations, recueillies dans la littérature, de divers composés pharmaceutiques et leurs produits de dégradation dans les eaux de surface, ainsi que les plus petites PNEC (*Predicted no effect concentration*) déterminées par Lin *et al.* (2008), sont résumées dans le Tableau 7. La contamination des eaux de surface par des résidus de médicaments est ainsi démontrée dans toutes les régions du monde. Les gammes de concentrations sont variables et vont jusqu'à 2000 ng L^{-1} pour les antibiotiques en Asie et Australie. En effet, il ressort que cette région est beaucoup plus impactée par la pollution des eaux par les antibiotiques que le reste du monde. Quant aux produits de dégradation, vu le manque de données concernant leurs niveaux dans les eaux de surface, il est évident qu'ils restent encore très peu étudiés.

Tableau 7 : Données de concentrations en divers produits pharmaceutiques dans les eaux de surface publiées dans la littérature (adapté de Pal *et al.* (2010))

Composés	Concentration (ng L^{-1})*			Plus petite PNEC (ng L^{-1})
	Amérique du Nord	Europe	Asie et Australie	
		Antibiotiques		
Amoxicilline	–	< 10 – 622	< LoD	–
Triméthoprime	2 – 212	0 – 78.2	4 – 150	1000
Ciprofloxacine	–	–	23 – 1300	20
Sulfaméthoxazole	7 – 211	< 0,5 – 4	1,7 – 2000	20
		Analgésiques et anti-inflammatoires		
Naproxène	0 – 135,2	< 0,3 – 146	11 – 181	37
Ibuprofène	0 – 34,0	14 – 44	28 – 360	5000
Ketoprofène	–	< 0,5 – 14	< 0,4 – 79,6	15,6 10^6
Diclofénac	2,8 – 82	< 0,5 – 548	1,1 – 6,8	10
Acide salycilique	70 – 121	< 0,3 – 302	–	–
Acide méfénamique	–	< 0,3 – 169	< 0,1 – 65,1	–
Acétaminophène	24,7 – 65,2	12 – 777	4,1 – 73	9200
		Antiépileptique		
Carbamazépine	0,7 – 340	0,3 – 684	25 – 34,7	25
		Bêta-bloquants		
Propranolol	–	20	–	500
Aténolol	–	314	–	10 10^6
		Hypolipémiants		
Acide clofibrique	3,2 – 26,7	1 – 14	22 – 248	12
Gemfibrozil	5,4 – 16	–	1,8 – 9,1	100
Bezafibrate	–	16 – 363	–	100
		Produits de dégradation		
1-hydroxyibuprofen	–	26,0 – 68,7	–	–
2-hydroxyibuprofen	< LoD – 1220	–	–	–
2-hydroxycarbamazépine	< LoD	< LoD	–	–
3-hydroxycarbamazépine	<LoD	–	–	–
10,11-époxycarbamazépine	< LoD	–	–	–
10,11-dihydro-10,11-trans-dihydroxycarbamazépine	1,9 – 2,5	–	–	–

*Ces données ont été compilées à partir de Arikan *et al.* (2008), Ashton *et al.* (2004), Comeau *et al.* (2008), de Solla *et al.* (2016), Du *et al.* (2015), Fernández *et al.* (2010), Hao *et al.* (2006), Huerta *et al.* (2016), Kasprzyk-Hordern *et al.* (2008), Kim *et al.* (2007), Kuster *et al.* (2008), Lin *et al.* (2008), Managaki *et al.* (2007), Miao & Metcalfe (2003), Mompelat *et al.* (2009), Nakada *et al.* (2008), Peng *et al.* (2008), Spongberg & Witter (2008), Vanderford & Snyder (2006), Watkinson *et al.* (2009), Wu *et al.* (2008), Xu *et al.* (2007) et S. Zhang *et al.* (2007).

3.2. Dans les sédiments

En raison de leurs propriétés physico-chimiques très variables, certains produits pharmaceutiques présents dans les masses d'eau peuvent également s'accumuler dans les sédiments (Koba *et al.*, 2018). Varga *et al.* (2010) ont indiqué que cette accumulation dépend

de la concentration en résidus de médicaments en phase aqueuse, des propriétés du composé (solubilité, pK_a et Log K_{OW}) et de la teneur totale en carbone organique des sédiments.

Le compartiment sédimentaire peut donc agir comme une source de pollution secondaire à partir de laquelle des produits pharmaceutiques peuvent être libérés à cause de changements dans les conditions environnementales (par exemple, le pH et la salinité) (Liang *et al.*, 2013). Les sédiments contaminés peuvent également être remis en suspension pendant des événements pluvieux, exposant à nouveau le biote aquatique à ces composés (Gaw *et al.*, 2014).

Les concentrations généralement observées dans les sédiments fluviaux varient entre quelques nanogrammes par gramme et plusieurs microgrammes par gramme (Kümmerer, 2009). Le Tableau 8 regroupe quelques concentrations, recueillies dans la littérature, de produits pharmaceutiques ainsi que leurs produits de dégradation dans les sédiments de rivières.

Tableau 8 : Données de concentrations en divers produits pharmaceutiques dans les sédiments de rivières publiées dans la littérature

Composés	Concentration (ng g^{-1})*			
	Amérique du Nord	**Europe**	**Afrique**	**Asie et Australie**
Antibiotiques				
Amoxicilline	–	–	–	–
Triméthoprime	< LoD – 18,2	< LoD – 2,34	< LoD	< LoD – 9,84
Ciprofloxacine	–	–	–	< LoD – 1290
Sulfaméthoxazole	< LoD – 0,7	< LoQ – 15	1595 – 5073	< LoD
Analgésiques et anti-inflammatoires				
Naproxène	< LoD	2 – 20	–	–
Ibuprofène	< LoD	< LoD – 20,9	6,53 – 30,66	–
Ketoprofène	–	< LoQ – 3,34	–	–
Diclofénac	–	5 – 38	–	–
Acide salycilique	–	–	–	–
Acide méfénamique	–	< LoD – 12,4	–	–
Acétaminophène	–	< LoQ – 222	6,03 – 8,96	–
Antiépileptique				
Carbamazépine	n.d.	< LoD – 2,84	1,02 – 2,32	–
Bêta-bloquants				
Propranolol	–	–	–	–
Aténolol	< LoD	< LoD – 3,78	–	–
Hypolipémiants				
Acide clofibrique	–	< LoD – 56,8	–	–
Gemfibrozil	< LoD	< LoD – 5,20	–	–
Bezafibrate	–	< LoD – 0,50	–	–
Produits de degradation				
Erythromycine déshydratée	< LoD – 3,4	–	–	1,33 – 14,0
α-hydroxymétoprolol	–	< LoD – 3	–	–

*Ces données ont été compilées à partir de Klosterhaus *et al.* (2013), Langford & Thomas (2011), Liang *et al.* (2013), Matongo *et al.* (2015), Silva *et al.* (2011), Tamtam *et al.* (2011), Varga *et al.* (2010) et L.-J. Zhou *et al.* (2011)

3.3. Dans les organismes aquatiques

Bien que les composés pharmaceutiques soient détectés dans l'environnement aquatique à des concentrations relativement faibles, bon nombre d'entre eux, ainsi que leurs métabolites, sont biologiquement actifs et peuvent avoir un impact sur les organismes aquatiques non ciblés (Ebele *et al.*, 2017). Ceci démontre l'importance d'étudier leur accumulation le long de la chaîne trophique. En effet, à titre d'exemple, Vernouillet *et al.* (2010) ont révélé une accumulation de l'antiépileptique carbamazépine par l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata*

et le crustacé *Thamnocephalus platyurus* avec des facteurs de bioaccumulation[5] de 2,2 et 12,6 respectivement. De plus, de Solla *et al.* (2016) ont suivi 145 produits pharmaceutiques et de soins personnels dans des moules sauvages exposées dans la rivière Grand, au Canada. 43 produits pharmaceutiques de différentes classes ont été détectés dans les tissus des moules, avec des facteurs de bioaccumulation allant de 0,66 pour la metformine à 32022 pour la sertraline. Enfin, L'oxazépam a été détecté à des concentrations élevées chez des poissons perches exposés en laboratoire, avec un facteur de bioaccumulation de 12 (Brodin *et al.*, 2014).

Cette bioaccumulation avérée des médicaments dans les tissus des organismes aquatiques ne peut être évoquée sans mentionner également les phénomènes de biotransformation, i.e. de métabolisation par ces organismes. Lahti *et al.* (2011) se sont intéressés à la bioaccumulation et à la biotransformation de cinq composés pharmaceutiques (le diclofénac, le naproxène, l'ibuprofène, le bisoprolol et la carbamazépine) par la truite arc-en-ciel, exposée à des concentrations environnementales pertinentes. Leurs résultats montrent la formation de plusieurs métabolites dont les teneurs mesurées étaient supérieures à celles des composés parents. Jones *et al.* (2009) ont, quant à eux, montré la métabolisation de l'ibuprofène par le poisson zèbre, principalement en hydroxyibuprofène. Chez les invertébrés, Jeon *et al.* (2013) ont identifié 25 métabolites de l'irgarol (pesticide), la terbutryne (pesticide), le tramadol et la venlafaxine chez *Gammarus pulex* et 11 chez *Daphnia magna.*

Les Tableau 9 et Tableau 10 présentent quelques concentrations, recueillies dans la littérature, de produits pharmaceutiques ainsi que leurs produits de dégradation dans des biofilms de rivières et des mollusques bivalves, respectivement. Il s'agit des deux niveaux trophiques

[5] Le facteur de bioaccumulation (BAF) se définit comme étant le rapport entre la concentration d'un contaminant dans les tissus d'un organisme et sa concentration totale (dissoute et particulaire) dans l'environnement. Quant au facteur de bioconcentration (BCF), il se calcule en prenant en compte uniquement la concentration dissoute dans l'eau.

choisis dans le cadre de cette étude. Il ressort que la présence de résidus de médicaments et de leurs produits de dégradation dans ces organismes aquatiques reste encore peu étudiée.

Tableau 9 : Données de concentrations en divers produits pharmaceutiques dans les biofilms de rivières publiées dans la littérature

Composés	**Concentration (ng g^{-1})***	
	Amériques	**Europe**
	Antibiotiques	
Amoxicilline	–	–
Triméthoprime	< LoD	< LoQ – 10,4
Ciprofloxacine	–	–
Sulfaméthoxazole	< LoD	n.d. – 20,1
	Analgésiques et anti-inflammatoires	
Naproxène	–	–
Ibuprofène	–	n.d.
Ketoprofène	–	< LoQ – 31,3
Diclofénac	< LoD	< LoQ – 190,3
Acide salycilique	–	–
Acide méfénamique	–	–
Acétaminophène	< LoD	n.d.
	Antiépileptique	
Carbamazépine	< LoD – 3,6	n.d. – 583,5
	Bêta-bloquants	
Propranolol	< LoD	20,6 – 965,0
Aténolol	< LoD	< LoQ – 54,2
	Hypolipémiants	
Acide clofibrique	–	–
Gemfibrozil	< LoD	n.d. – 10,3
Bezafibrate	–	n.d. – 34,5
	Produits de dégradation	
1-hydroxyibuprofène	–	n.d.
2-hydroxycarbamazépine	–	< LoQ – 1,8
10,11-époxycarbamazépine	–	< LoQ – 5,3

*Ces données ont été compilées à partir de Aubertheau *et al.* (2017), Camotti Bastos *et al.* (2017), Du *et al.* (2015), Huerta *et al.* (2016) et Wilkinson *et al.* (2018)

Tableau 10 : Données de concentrations en divers produits pharmaceutiques dans les mollusques bivalves publiées dans la littérature

Composés	Concentration (ng g^{-1})*		
	Amérique du Nord	**Europe**	**Asie et Australie**
	Antibiotiques		
Amoxicilline	–	–	–
Triméthoprime	–	–	–
Ciprofloxacine	–	–	–
Sulfaméthoxazole	–	< LoD – < LoQ	–
	Analgésiques et anti-inflammatoires		
Naproxène	–	–	–
Ibuprofène	–	–	n.d. – 93,7
Ketoprofène	–	–	–
Diclofénac	11 – 19	–	1,41 – 5,42
Acide salycilique	–	–	–
Acide méfénamique	–	–	–
Acétaminophène	–	–	–
	Antiépileptique		
Carbamazépine	1,10 – 1,40	< LoD – 2,1	n.d.
	Bêta-bloquants		
Propranolol	–	–	< LoD – 2,82
Aténolol	–	–	–
	Hypolipémiants		
Acide clofibrique	–	–	–
Gemfibrozil	–	–	–
Bezafibrate	–	–	–
	Produits de dégradation		
2-hydroxycarbamazépine	–	< LoD – 1,3	–
10,11-époxycarbamazépine	–	< LoD – 1,3	–
Norfluoxetine	0,6 – 9,8	–	–
Desméthylsertraline	78 – 88	–	–
O-déméthyl-venlafaxine	–	< LoQ – 1,4	–
N-acétyl-sulfaméthoxazole	–	< LoD	–

*Ces données ont été compilées à partir de Alvarez-Muñoz *et al.* (2015), Burket *et al.* (2019), Du *et al.* (2014) et Xie *et al.* (2015)

4. (Eco)toxicité des médicaments et de leurs produits de dégradation

Les produits pharmaceutiques ont été spécialement conçus pour maximiser leur activité biologique à faibles doses et pour cibler certains mécanismes métaboliques, enzymatiques ou cellulaires. Ces produits peuvent donc se révéler potentiellement actifs dans des organismes non-ciblés, involontairement exposés à des résidus de médicaments dans leur environnement naturel, augmentant ainsi le risque d'effets écotoxicologiques (Fabbri & Franzellitti, 2016).

Une préoccupation majeure soulevée par la présence de produits pharmaceutiques dans l'environnement aquatique est leur capacité à interférer avec le système endocrinien pour produire des effets indésirables. Ces composés sont alors qualifiés de « perturbateurs endocriniens ». Il s'agit d'un vaste groupe de produits chimiques d'origine naturelle (mycotoxines, phytoestrogènes…) et synthétique (bisphénol A…) présents dans divers produits de consommation (médicaments, produits de soins personnels, produits de nettoyage, antimicrobiens, conservateurs alimentaires, phtalates…) (Wielogórska *et al.*, 2015). Les produits pharmaceutiques perturbateurs endocriniens comprennent les hormones sexuelles, les glucocorticoïdes, les hormones de croissance vétérinaires et quelques substances pharmaceutiques non stéroïdiennes (Ebele *et al.*, 2017).

De plus, la toxicité résultant de mélanges complexes de médicaments à de faibles concentrations pourrait conduire à des interactions synergiques. Cela signifie que si des produits pharmaceutiques individuels ne provoquent pas d'effets toxiques significatifs lorsqu'ils agissent seuls à de faibles concentrations, les mélanges de médicaments peuvent, quant à eux, exercer une écotoxicité considérable. Cela a été démontré par Cleuvers (2003) qui, dans son étude, a constaté qu'un mélange de carbamazépine et d'acide clofibrique (tous deux appartenant à des classes thérapeutiques différentes) a présenté des effets beaucoup plus forts sur *Daphnia magna* que les composés pris individuellement à la même concentration.

Une autre préoccupation importante liée à la présence de médicaments dans l'environnement est l'apparition potentielle de souches résistantes aux antibiotiques dans les populations bactériennes naturelles. L'utilisation intensive d'antibiotiques en médecine humaine et en élevage est la principale cause de l'émergence et de la propagation de bactéries résistantes aux antibiotiques, qui sont devenues une menace pour la prévention et le traitement efficaces

de diverses maladies infectieuses causées par des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques (OMS, 2015).

Par ailleurs, les résidus de médicaments peuvent n'induire aucun effet néfaste sur les organismes aquatiques non-ciblés. Dans une étude de Lorenzi *et al.* (2016), l'exposition de poissons de l'espèce *Pimephales promelas* au diazépam n'a induit aucun changement significatif du taux de fécondation, de l'éclosion ou du temps d'éclosion, bien qu'une tendance vers un nombre plus élevé d'œufs par jour ait été observée chez les poissons exposés à la plus faible concentration de diazépam par rapport à ceux exposés à la concentration moyenne. Leurs résultats ont ainsi montré que l'exposition au diazépam à des concentrations allant jusqu'à 13 $\mu g\ L^{-1}$ n'avait pas d'impact significatif sur le comportement reproducteur de *Pimephales promelas.*

De même, les composés pharmaceutiques peuvent s'avérer non directement nuisibles pour la santé des espèces aquatiques exposées, mais peuvent plutôt altérer leurs comportements. Lagesson (2018) a cherché à vérifier l'hypothèse selon laquelle l'oxazépam induirait des comportements « anti-anxiété » qui améliorent la recherche de nourriture, mais peuvent également rendre les individus plus exposés aux prédateurs. Ses résultats n'ont montré aucune augmentation statistiquement significative de la croissance (liée à une alimentation améliorée) et de la mortalité (liée à l'exposition accrue aux prédateurs) chez des poissons de l'espèce *Perca fluviatilis* exposés à ce médicament. Cependant, l'étude a révélé que le prédateur naturel de ses poissons (i.e. le brochet *Esox lucius*) devenait moins efficace pour attraper des proies lorsqu'il était exposé à l'oxazépam. Cet effet de l'exposition sur l'efficacité de la prédation a probablement contribué à l'absence d'effets de prédation dans les mésocosmes étudiés.

Des études récentes ont montré que la toxicité d'un médicament varie en fonction de l'organisme exposé, de la durée de l'exposition, de la concentration du contaminant et du stade de développement durant lequel l'exposition se produit. Ainsi, une exposition chronique à un médicament présent à l'état de trace, en particulier à certains stades sensibles du développement, est plus pertinente pour expliquer les anomalies observées chez des organismes non-ciblés qu'une exposition aiguë à des doses élevées (Wilkinson *et al.*, 2016).

Comme de nombreux composés pharmaceutiques sont introduits dans l'environnement après une utilisation humaine ou vétérinaire, les concentrations de métabolites peuvent être plus importantes que celles des composés parents. De plus, dans l'environnement aquatique, ces composés sont présents avec des produits provenant des diverses voies de transformation biotiques et abiotiques. Ainsi, plusieurs études se sont intéressées à la toxicité de ses produits de dégradation. Par exemple, dans une étude de García-Galán *et al.* (2012), certains métabolites acétylés d'antibiotiques (comme la N4-acétylsulfapyridine) se sont révélés plus toxiques que le composé parent (sulfapyridine) pour les algues. De plus, les produits de photo-dégradation du naproxène auraient des effets plus toxiques que la molécule mère sur les algues, les rotifères et les micro-crustacés (Isidori *et al.*, 2005).

5. Législation actuelle concernant les médicaments et leurs produits de dégradation dans les eaux naturelles

5.1. En Europe

La Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau, mieux connue sous le nom de « directive cadre sur l'eau », constitue le texte majeur de la réglementation européenne concernant la protection des ressources en eau. Elle a pour objectifs la prévention et la réduction de la pollution des masses d'eau ; la promotion de l'utilisation durable des

ressources ; la protection de l'environnement aquatique et l'amélioration de l'état des écosystèmes ; ainsi que l'atténuation des effets des phénomènes extrêmes tels que les inondations et les sécheresses.

Dans le but d'atteindre ces objectifs, la Directive 2008/105/CE a établi des normes de qualité environnementale (NQE) dans le domaine de l'eau, c'est-à-dire des concentrations seuils (de métaux, HAP, PCB et pesticides) à comparer avec celles retrouvées dans les différents compartiments du milieu aquatique (eaux, sédiments, biote) afin d'évaluer l'état chimique d'une masse d'eau. De plus, la Directive 2013/39/UE a défini une liste de 45 substances prioritaires, dont 21 substances dangereuses, avec leurs NQE, à surveiller prioritairement dans le cadre du contrôle de la qualité des eaux de surface.

Les résidus de médicaments n'apparaissent que dans la Décision d'exécution (UE) 2015/495 établissant une liste de vigilance relative aux substances soumises à surveillance et pour lesquelles des données de surveillance à l'échelle de l'Europe doivent être recueillies en vue de mettre à jour la liste des substances prioritaires. Sur cette liste figurent 10 composés ou familles de composés dont 5 médicaments : la 17-alpha-éthinylestradiol, la 17-bêta-estradiol, l'estrone, le diclofénac et les antibiotiques de la famille des macrolides. Une nouvelle liste a vu le jour avec la Décision d'exécution (UE) 2018/840, de laquelle le diclofénac a été retiré puisque suffisamment de données de surveillance d'une qualité élevée étaient disponibles le concernant. Cette molécule a été remplacée par l'amoxicilline et la ciprofloxacine.

5.2. En France

En France, trois textes de loi principaux ont permis de mettre en place le système de gestion des ressources en eau connu de nos jours. Il s'agit de :

- *La Loi n° 64-1245 du 16 décembre 1964 relative au régime et à la répartition des eaux et à la lutte contre leur pollution*. Ce texte vise à lutter contre la pollution des eaux et à

mieux répartir l'utilisation de l'eau entre l'alimentation en eau potable, l'agriculture et l'industrie. Cette loi crée également les six agences de l'eau chargées de gérer les grands bassins hydrographiques.

- *La Loi n° 92-3 du 3 janvier 1992 sur l'eau.* Les objectifs principaux de cette loi sont : la préservation des écosystèmes aquatiques, des sites et des zones humides ; la protection de la qualité des eaux ; le développement des ressources en eau ; et la valorisation de l'eau comme ressource économique. Les schémas directeurs d'aménagement et de gestion des eaux (SDAGE) sont ainsi mis en place dans chaque bassin dans le but de fixer les lignes directrices de la gestion des ressources en eau. Ces schémas directeurs sont déclinés en schémas d'aménagement et de gestion des eaux (SAGE) à l'échelle de chaque sous-bassin.
- *La Loi n° 2006-1772 du 30 décembre 2006 sur l'eau et les milieux aquatiques.* Il s'agit de la transposition de la directive cadre européenne sur l'eau en droit français dans le but d'atteindre les objectifs fixés, notamment de bon état chimique et écologique des eaux à l'horizon 2015, puis 2021 et 2027.

Concernant la présence de composés pharmaceutiques dans les eaux, le « Plan national sur les résidus de médicaments dans l'eau » (PNRM, 2011) a notamment œuvré à « prioriser les différentes molécules et métabolites pour lesquels des travaux doivent être engagés » ; « réaliser un état des lieux de la contamination des eaux et des sols par les résidus de médicaments » ; et « engager des campagnes exceptionnelles de surveillance des milieux aquatiques et des sols ». Ce plan a permis de réaliser un état des lieux de la contamination des eaux françaises (de surface, souterraines et destinées à la consommation humaine) par les résidus de médicaments, ainsi que de définir une méthode générale pour l'évaluation des risques sanitaires. En revanche, l'action de priorisation des molécules n'a pas pu aboutir (Bilan PNRM, 2015). Ainsi, les objectifs non-atteints de ce plan ont été reconduits

dans le cadre du « Plan micropolluants 2016 - 2021 pour préserver la qualité des eaux et la biodiversité » qui vise à « réduire les émissions de micropolluants présents dans les eaux et les milieux aquatiques dont la pertinence est connue » ; « consolider les connaissances pour adapter la lutte contre la pollution des eaux et préserver la biodiversité » ; et « dresser des listes de polluants sur lesquels agir » (Plan micropolluants 2, 2016).

5.3. Prise en considération des produits de dégradation

A ce jour, aucune législation ne prend en compte la présence des produits de dégradation des médicaments dans les milieux aquatiques. Les pesticides et leurs métabolites pertinents, en revanche, sont intégrés depuis quelques années dans la réglementation. Au niveau européen, la notion de métabolite pertinent est définie par le Règlement (CE) n° 1107/2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. Ainsi : « un métabolite est jugé pertinent s'il y a lieu de présumer qu'il possède des propriétés intrinsèques comparables à celles de la substance mère en ce qui concerne son activité cible biologique, qu'il représente, pour les organismes, un risque plus élevé que la substance mère ou un risque comparable, ou qu'il possède certaines propriétés toxicologiques qui sont considérées comme inacceptables. Un tel métabolite est pertinent dans le cadre de la décision générale d'approbation ou de la définition de mesures visant à réduire les risques. »

- *Ressources en eau* : au niveau européen, seule la Directive 2006/118/CE sur la protection des eaux souterraines contre la pollution et la détérioration, transcrite en droit français par l'Arrêté du 17 décembre 2008, mentionne les métabolites de pesticides. Ainsi, elle prend en compte les « substances actives des pesticides, ainsi que les métabolites et produits de dégradation et de réaction pertinents » auxquels sont associées des NQE de 0,1 µg L^{-1} par substance individuelle et de 0,5 µg L^{-1} pour la somme de tous les pesticides détectés et quantifiés avec leurs métabolites

pertinents. En France, l'arrêté du 25 janvier 2010 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel écologique des eaux de surface définit des NQE spécifiques pour plusieurs pesticides et un métabolite, l'AMPA (métabolite principal du glyphosate).

- *Eaux destinées à la consommation humaine* : la présence des résidus de pesticides et de leurs métabolites dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) est encadrée par la Directive 98/83/CE qui fixe des limites de qualité pour les pesticides et leurs métabolites pertinents de 0,1 µg L^{-1} par substance individuelle et 0,5 µg L^{-1} pour la somme de ces molécules, comme pour les eaux souterraines, sans pour autant indiquer les métabolites pertinents. A cet égard, l'ANSES a publié en 2019 un avis relatif à l'évaluation de la pertinence des métabolites de pesticides dans les eaux EDCH (ANSES, 2019). Ce document dresse une méthodologie d'identification dans les EDCH des métabolites pertinents au regard des risques pour la santé des consommateurs afin de concentrer les mesures de gestion sur les situations prioritaires.

6. Stratégie et choix des compartiments et composés pour l'évaluation de la contamination d'une masse d'eau

Si les eaux françaises font l'objet d'une surveillance croissante depuis les années 1970, la DCE a marqué un tournant décisif dans la mise en place de stratégies de suivi. Cette directive exige notamment la mise en place de programmes de surveillance de l'état des eaux dans tous les états membres. Des paramètres indicateurs ont ainsi été sélectionnés pour définir le « bon état » d'une masse d'eau, qui correspond à la fois à un « bon état chimique » et un « bon état écologique ». En effet, au regard de la DCE, les critères de protection des milieux aquatiques sont multiples :

- Protection des organismes pélagiques, vivant dans la colonne d'eau ;

- Protection des organismes benthiques, vivant au contact du sédiment ;
- Protection des organismes supérieurs, contaminés par empoisonnement secondaire ;
- Protection de la santé humaine par la consommation de produits comestibles ;
- Protection de la santé humaine par la consommation d'eau potable ;
- Dispositions réglementaires déjà existantes.

Une masse d'eau est considérée comme ayant atteint le bon état chimique lorsqu'elle répond à toutes les normes de qualité environnementale, notamment pour les polluants chimiques. Ces substances ont été amenées à être surveillées (N.B. selon leur comportement) dans différentes matrices du milieu aquatique (eau, sédiment, biote) afin de répondre aux besoins des critères de protection. Chacune de ces matrices représente un compartiment susceptible de contenir des polluants et *in extenso* de traduire l'exposition des organismes vivants.

Aussi, afin d'étudier la contamination des milieux aquatiques par des médicaments et leurs produits de dégradation, chacun de ces compartiments a été considéré dans ce travail de thèse.

6.1. Choix des compartiments considérés

Quatre compartiments ont été considérés puis retenus pour la partie expérimentale.

6.1.1. Eau

L'eau en particulier est un vecteur majeur des contaminants anthropiques. En France, les programmes de surveillance (DCE) de l'état des eaux imposent de respecter des modalités en matière d'éléments de qualité à surveiller, de méthodes à utiliser, de sites à prospecter, de fréquence. Ces modalités sont définies de façon réglementaire par l'Arrêté du 25 janvier 2010, pris en application de l'Article R212-22 du Code de l'environnement (2007). L'eau est ainsi échantillonnée à travers des prélèvements ponctuels malgré les limites de représentativité inhérentes à cette stratégie.

Depuis deux décennies, plusieurs dispositifs d'échantillonnage passif ont été développés pour la surveillance des contaminants organiques et inorganiques dans les milieux aquatiques. Ces échantillonneurs passifs permettent d'améliorer les limites de quantification par accumulation et concentration de contaminants sur une exposition à long terme. De plus, des concentrations moyennes pondérées dans le temps sur la période d'exposition peuvent être dérivées, conduisant à une meilleure représentativité des mesures (Miège *et al.*, 2015).

Différents types et configurations d'échantillonneurs passifs existent aujourd'hui pour les composés hydrophiles, dont les médicaments. Cependant, ces dispositifs ne permettent d'obtenir que des informations semi-quantitatives. Cela est dû à l'incertitude liée à leur calibration en laboratoire et non en conditions de terrain (Miège *et al.*, 2015). Ceci est cependant corrigeable *via* l'usage d'un composé de performance et de référence (PRC – *Performance and reference compound*) qui n'est pas présent dans l'environnement (par exemple, molécule deutérée, DIA-d5), ajouté au POCIS pendant sa fabrication et qui est relargué dans l'eau environnante lors de l'exposition.

Un des échantillonneurs passifs les plus courants est le *Polar Organic Chemical Integrative Sampler* (POCIS). Ce dispositif, introduit par Alvarez *et al.* (2004), est une structure métallique formée de deux anneaux en acier inoxydable et de deux membranes en polyéthersulfone hydrophile de 0,1 µm de seuil de coupure en forme de disque de 90 mm de diamètre, enchâssant 200 mg de résine. Généralement, pour les produits pharmaceutiques, la phase d'adsorption est de type Oasis® HLB aux caractéristiques équilibrées hydrophile/lipophile. Cette double polarité offre une plus large gamme de fixation de composés polaires que les résines traditionnelles de type C18 (Liu *et al.*, 2004 ; Zhang & Zhou, 2007).

Dans une revue de la littérature, Godlewska *et al.* (2020) ont décrit les possibilités et les restrictions liées à l'utilisation des adsorbants traditionnels (Oasis® HLB, mélange

triphasique…) dans les POCIS. Depuis l'introduction de l'échantillonneur POCIS en 2004, ces dispositifs ont gagné de plus en plus d'intérêt (Figure 6). La résine Oasis® HLB présente un grand avantage par rapport au mélange triphasique spécifique aux pesticides puisqu'elle a été utilisée, selon la documentation recueillie par les auteurs, 160 fois contre 33 pour le mélange.

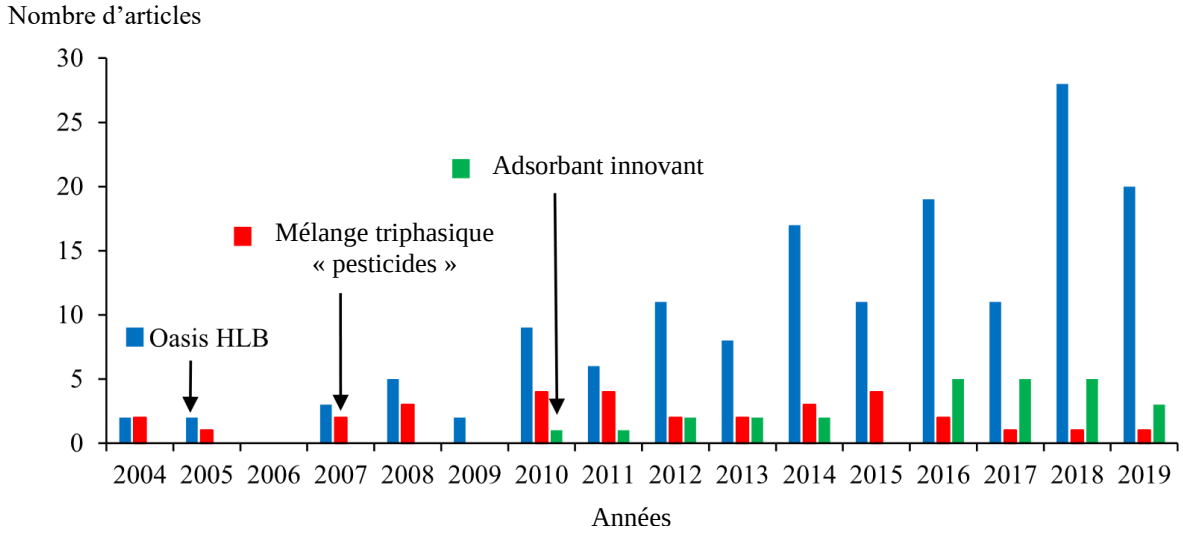


Figure 6 : Nombre d'études entre 2004 et 2019 sur l'échantillonneur de type POCIS en fonction du type d'adsorbants utilisés (Godlewska *et al.*, 2020)

Plusieurs études ont utilisé avec succès les POCIS pour le suivi de la contamination des eaux de surface (Arenas-Sánchez *et al.*, 2019 ; Björlenius *et al.*, 2018 ; Camotti Bastos *et al.*, 2017 ; Černoch *et al.*, 2012 ; Dougherty *et al.*, 2010 ; Jones *et al.*, 2019) et souterraines (Dougherty *et al.*, 2010 ; Soulier *et al.*, 2016) par les résidus de médicaments. De Plus, Jones *et al.* (2019) ont montré le potentiel de l'échantillonnage passif comme technique de surveillance des substances prioritaires ainsi que des molécules figurant sur la liste de vigilance relative aux substances soumises à surveillance (Décision d'exécution (UE) 2018/840).

6.1.2. Biofilm ou microbiote

Les biofilms sont des communautés microbiennes comprenant des cellules de complexité variable, comme des eucaryotes (microalgues, algues vertes, cyanobactéries, champignons), des procaryotes (principalement des bactéries), des protozoaires et des virus (Fernandes *et al.*,

2020). Ils se forment dans la plupart des milieux aquatiques en adhérant et croissant sur des surfaces organiques et inorganiques telles que les roches (dans ce cas, ils sont qualifiés de biofilms épilithiques), les sédiments et le bois, entre autres (Romaní *et al.*, 2016). Les différentes cellules constituant les biofilms sont entourées d'une structure complexe formée de substances polymériques extracellulaires (EPS) dérivées du métabolisme de ces micro-organismes et de constituants inorganiques (Flemming & Wingender, 2010).

Les biofilms jouent un rôle essentiel dans la chaîne trophique et les cycles biogéochimiques, contribuant à la plupart des processus de production primaire, de recyclage des éléments et de minéralisation (Battin *et al.*, 2016), ainsi qu'à la biodégradation des contaminants organiques (Vercraene-Eairmal *et al.*, 2010).

Ces communautés ont été identifiées comme un bioindicateur des effets des activités anthropiques sur les milieux aquatiques (Burns & Ryder, 2001), car elles réagissent facilement aux situations de stress (Serra-Compte *et al.*, 2018). De plus, de nombreuses études ont montré que les biofilms épilithiques sont capables d'accumuler des contaminants (Aubertheau *et al.*, 2017 ; Camotti Bastos *et al.*, 2017 ; Du *et al.*, 2015 ; Fernandes *et al.*, 2019 ; Huerta *et al.*, 2016). En effet, les biofilms offrent une large gamme de sites de sorption, y compris des sites cationiques et anioniques, ainsi que des régions lipophiles/hydrophobes, puisque les contaminants peuvent se lier aux EPS, aux membranes cellulaires et aux parois cellulaires, entre autres (Flemming & Wingender, 2010). Ainsi, ils peuvent être utilisés comme bioaccumulateurs de contaminants dans les cours d'eau et constituent un outil efficace de biosurveillance de la qualité de l'eau.

6.1.3. Sédiment

Les sédiments sont considérés comme un réservoir pour les composés pharmaceutiques dans le milieu aquatique puisque les concentrations rapportées dans ce compartiment sont souvent plus élevées que celles dans la colonne d'eau (Kim *et al.*, 2007 ; Yang *et al.*, 2010).

Néanmoins, l'accumulation dans ce compartiment n'entraîne pas nécessairement une réduction de la biodisponibilité des médicaments ou de leur toxicité. En effet, ils peuvent être continuellement relargués dans la colonne d'eau en équilibre avec le sédiment, à cause de changements dans les conditions environnementales (par exemple, le pH et la salinité) (Liang *et al.*, 2013) ou leur remise en suspension pendant des événements pluvieux (Gaw *et al.*, 2014). Cela peut avoir des effets néfastes sur les organismes benthiques qui sont constamment exposés à ces produits dans les sédiments, l'eau interstitielle et l'eau sus-jacente (Gilroy *et al.*, 2012). Ainsi, une meilleure compréhension de la présence de résidus de médicaments et de leurs produits de dégradation dans les sédiments semble impérative.

Il est également important de noter que les sédiments peuvent être considérés comme un échantillonneur passif naturel enregistrant l'historique de contamination des rivières et reflètent la situation passée et présente de contamination (Tamtam *et al.*, 2011).

6.1.4. Biote

Les milieux aquatiques sont des environnements particulièrement riches en biodiversité (environ 130 000 des 2 millions d'espèces connues) (Figure 7), alors même qu'ils n'occupent qu'une infime partie du globe (Balian *et al.*, 2010). Ils abritent des espèces "aquatiques" telles que des microorganismes, des algues, des champignons, des plantes, des poissons, des batraciens et de nombreux insectes mais aussi des espèces fortement dépendantes (oiseaux, mammifères). Tous ces organismes peuvent interagir plus ou moins avec les polluants suivant les affinités biologiques et/ou les propriétés physico-chimiques et l'exposition. Il existe

aujourd'hui en France des indices de qualité biologique fondés sur des espèces indicatrices : l'indice invertébrés multi-métrique (I2M2) basé sur le compartiment des invertébrés benthiques, l'indice poisson rivière (IPR), l'indice de polluosensibilité spécifique (IPS) sur les diatomées.

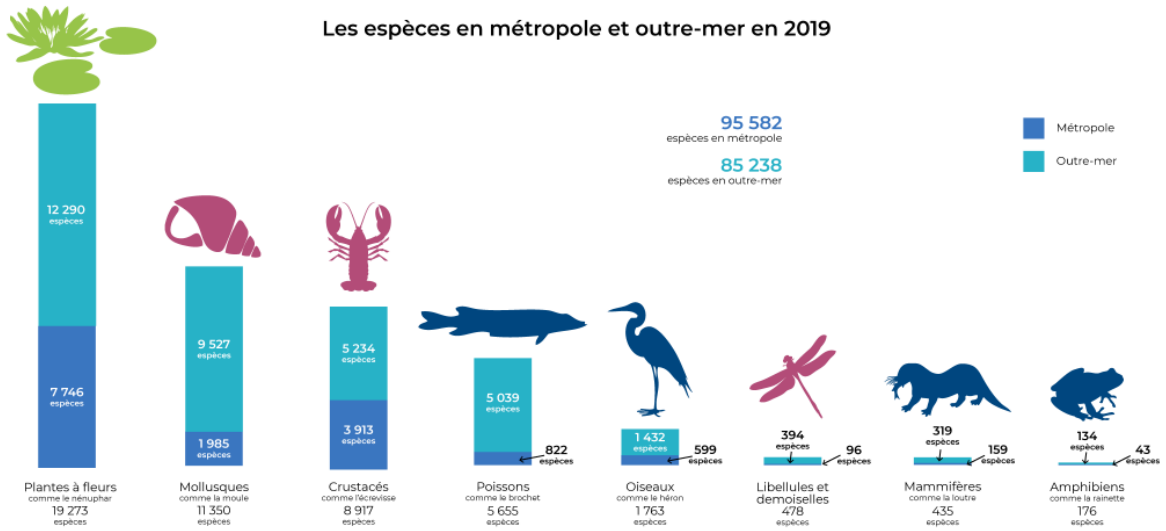


Figure 7 : Répartition des espèces d'eaux douce et marine en France métropolitaine et en outre-mer en 2019 (Eau France, 2020b)

Les mollusques n'ont pas d'indice spécifique, pourtant ils sont considérés comme de bons bioindicateurs de la pollution en raison de leur grande sensibilité et de leur capacité à accumuler des polluants. Les mollusques, dont les bivalves, sont des organismes filtreurs (environ 100 mL individu^{-1} h^{-1} (Wantzen *et al.*, 2015)) qui se déplacent très peu et qui vivent à l'interface eau/sédiment. En ce sens, ils constituent des indicateurs « locaux » des polluants transitant dans le milieu aquatique soit sous forme dissoute soit attachés aux MES. Ils sont largement utilisés dans des programmes de surveillance environnementale (Jia *et al.*, 2018 ; Kookana *et al.*, 2013 ; Martínez-Morcillo *et al.*, 2020 ; Vidal-Liñán *et al.*, 2010). Par ailleurs, certaines espèces invasives non-indigènes sont devenues tellement abondantes sur l'ensemble du territoire qu'elles constituent des bioindicateurs utilisables d'un bassin versant à un autre.

Dans le cadre de la thèse, *Corbicula fluminea* (dite corbicule ou coque chinoise) a été privilégiée. Ce bivalve se caractérise par une croissance rapide liée entre autres à ses taux élevés de filtration et d'assimilation, une atteinte précoce de la maturité sexuelle (3 à 9 mois), une courte durée de vie (1 à 5 ans) et une fécondité élevée (espèce bivoltine, i.e. se reproduisant deux fois par an).

Sousa *et al.* (2008) ont démontré l'intérêt de *C. fluminea* en tant qu'espèce bioindicatrice dans les eaux douces : cette espèce est devenue une composante majeure des communautés benthiques dans plusieurs habitats lotiques et lentiques dans différentes régions du monde et, par conséquent, elle présente une large distribution spatiale ; elle peut être trouvée à la fois dans des environnements pollués et non-pollués ; ce bivalve est facilement maintenu en laboratoire pendant plusieurs mois et peut être transplanté sur le terrain en utilisant des procédures de mise en cage ; cette espèce a une grande capacité de filtration permettant l'absorption de grandes quantités de polluants ; la taille des adultes permet la dissection et la séparation des principaux organes permettant une analyse spécifique ; en raison de son omniprésence, cette espèce peut servir de base à des comparaisons mondiales de données de surveillance environnementale dans les écosystèmes d'eau douce de la même manière que *Mytilus spp.* en milieu marin.

Ainsi, plusieurs études se sont déjà intéressées à la présence de contaminants inorganiques (métaux) et organiques (pesticides, médicaments) dans les corbicules. Jia *et al.* (2018) ont montré une plus grande contamination par les métaux de *C. fluminea* par rapport à *A. woodiana*, *S. cancellata*, *P. eximius* et *P. canaliculata* dans la rivière Liuyang en Chine. Burket *et al.* (2019) ont examiné l'accumulation de 12 produits pharmaceutiques dans *C. fluminea* au cours d'une étude *in situ* de 42 jours à Pecan Creek, un ruisseau du Texas, aux États-Unis. Les concentrations dans les tissus allaient de quelques µg kg^{-1} (méthylphénidate) à 341 µg kg^{-1} (sertraline). De plus, dès le 7ème jour d'exposition, une accumulation pseudo-stationnaire des

composés a été observée. Enfin, Jacomini *et al.* (2011) ont étudié l'accumulation d'un herbicide, l'amétryne, dans les tissus de trois espèces de mollusques bivalves (*Castaliaundosa undosa*, *Diplodon fontaineanus* et *Corbicula fluminea*) prélevées dans les rivières de Sapucaí, Pardo et Mogi-Guaçu, à Saõ Paolo au Brésil. Des résidus d'amétryne n'ont été trouvés que dans les échantillons de *C. fluminea* à des concentrations allant jusqu'à 4,49 ng g^{-1}. Par leur forte accumulation de différents contaminants, les corbicules peuvent également représenter une source d'exposition pour d'autres espèces aquatiques, puisqu'elles constituent une ressource alimentaire pour plusieurs espèces de poissons (Cantanhêde *et al.*, 2008).

6.2. Choix des molécules ciblées

Parmi l'ensemble des médicaments possiblement rejetés dans les milieux aquatiques, une sélection a été réalisée de trois molécules, notamment ciblées pour leur présence emblématique et/ou leurs effets craints pour les eaux de surface continentales mais aussi leurs nombreux produits de transformation ou métabolites reconnus : la carbamazépine, le diclofénac et l'amoxicilline. Par ailleurs, ces composés appartiennent à des familles différentes et couvrent un large spectre de réactivités physico-chimiques.

6.2.1. Carbamazépine

La **carbamazépine (CBZ)** est un antiépileptique rémanent en conditions environnementales et retrouvé systématiquement dans les eaux de surface. Elle est aujourd'hui un composé emblématique de la contamination des milieux aquatiques par les résidus de médicaments. En effet, dans une revue de la littérature portant sur la présence de micropolluants dans le milieu aquatique et de leur devenir au cours des procédés de traitement des eaux usées, Luo *et al.* (2014) ont montré que la CBZ semble être le produit pharmaceutique le plus persistant en STEU, n'étant éliminée qu'à 32,7 % en moyenne. Parmi toutes les études examinées, le taux d'abattement le plus élevé a été observé par Choi *et al.* (2008), atteignant 62,3 %. De plus, dans

une étude à l'échelle de l'union européenne, portant sur les polluants organiques polaires persistants dans les eaux fluviales, Loos *et al.* (2009) ont montré la présence de la CBZ dans 95 % des échantillons avec une concentration moyenne de 248 ng L^{-1} et une teneur maximale de 11,5 µg L^{-1}.

Chez l'homme, environ 1 % de la dose de CBZ administrée est excrété sous forme inchangée, et le reste sous forme de métabolites (Ministère des solidarités et de la santé, 2020). 72 % est éliminé dans l'urine et 28 % dans les fèces (Jurado *et al.*, 2014). La CBZ est principalement métabolisée dans le foie, par différentes voies (Figure 8 (a)). La voie majoritaire correspond à la formation du métabolite principal, la 10,11-époxycarbamazépine (CBZ-epox), qui provient de l'oxydation de la CBZ et qui est pharmacologiquement active. Ensuite, la CBZ-epox est hydrolysée en 10,11-dihydro-10,11-trans-dihydroxycarbamazépine (Trans-CBZ). Les voies les moins importantes incluent la formation de composés hydroxylés tels que la 2-hydroxycarbamazépine et la 3-hydroxycarbamazépine (3OH-CBZ) (Miao & Metcalfe, 2003) et la formation d'iminostilbène, également nommée dibenzazepine (Dibenz). Une autre voie est l'oxydation de la CBZ dans les leucocytes (Figure 8 (b)), aboutissant à la formation d'acridine et d'acridone (Acrid). Il convient de noter que l'acridine et l'acridone peuvent aussi provenir d'autres sources, notamment les carburants (Shiraishi *et al.*, 2001) et l'industrie chimique (Wesenberg *et al.*, 2003).

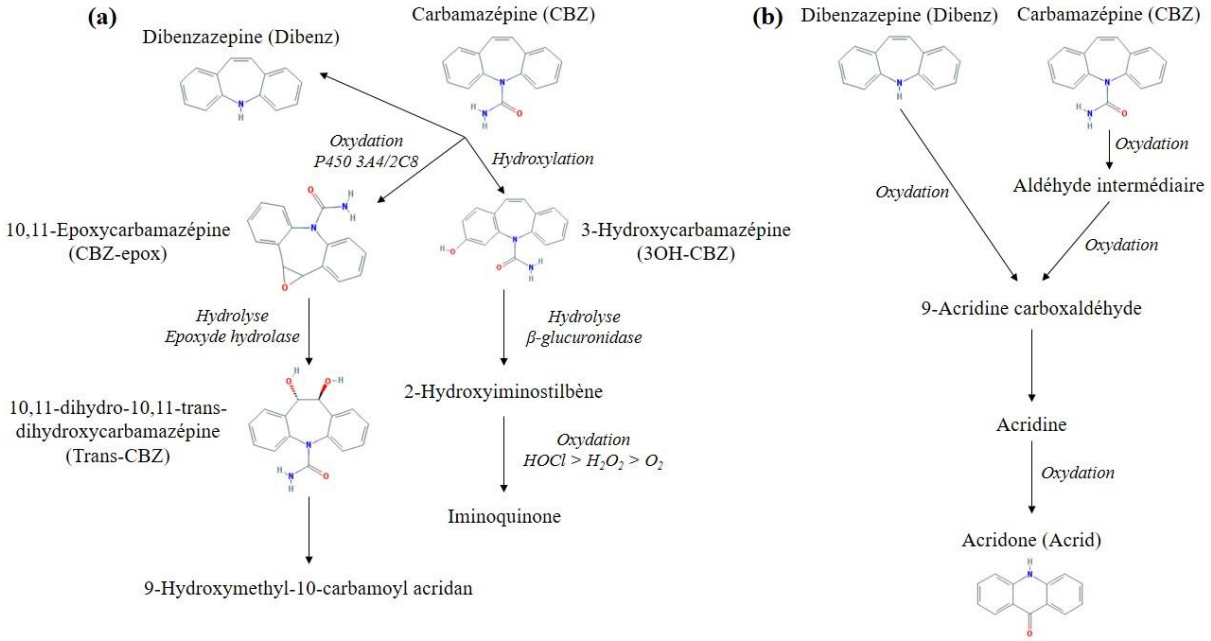


Figure 8 : (a) Métabolisme hépatique de la CBZ et (b) Oxydation de la CBZ dans les leucocytes (adapté de Breton *et al.* (2005))

Kosjek *et al.* (2009) ont également identifié la Dibenz et l'Acrid comme produits de dégradation de la CBZ par différents procédés de traitement des eaux (Figure 9). Ainsi, la Dibenz proviendrait de la dégradation thermique de la CBZ en STEU, et l'Acrid de son traitement UV ainsi que de sa biotransformation.

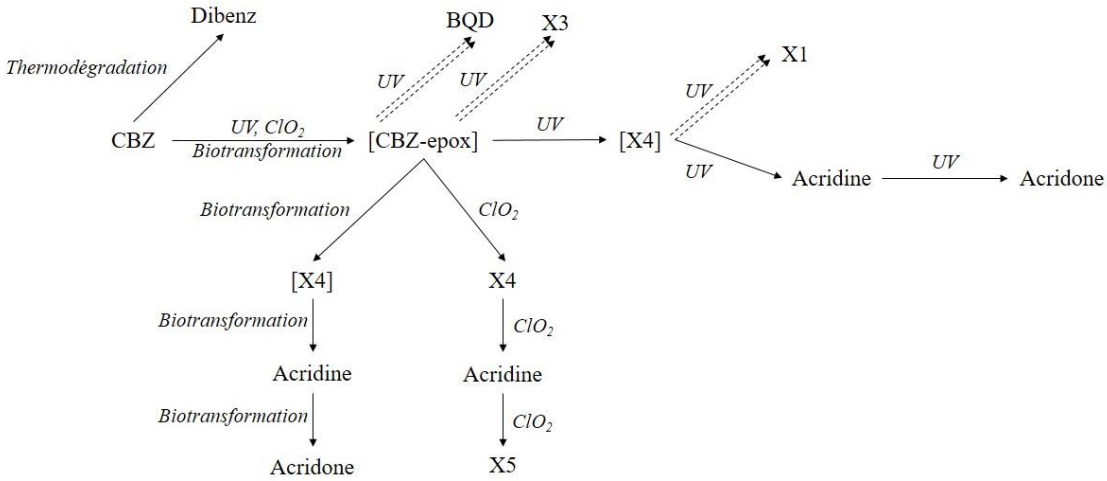


Figure 9 : Mécanisme de dégradation de la CBZ par différents procédés de traitement des eaux, proposé par Kosjek *et al.* (2009) ; X1 = Hydroxy-(9*H*,10*H*)-acridine-9-carbaldehyde, X3 = Acridone-*N*-carbaldehyde, X4 = Acridine-9-carbaldehyde, X5 = 9-Hydroxy-acridine, BQD = 1-(2-benzaldehyde)-(1*H*,3*H*)-quinazoline-2,4-dione

La CBZ et ses métabolites, la CBZ-epox, la Trans-CBZ et la 3OH-CBZ ont été détectés dans les eaux usées et les effluents de STEU, ainsi que les boues (Miao & Metcalfe, 2003 ; Miao *et al.*, 2005 ; Zhao & Metcalfe, 2008). Les concentrations de ces métabolites varient de 8,5 à 1 572

ng L^{-1} dans les eaux usées, de 9,3 à 1 325 ng L^{-1} dans les effluent de STEU et atteignent 2,2 ng L^{-1} dans les eaux de surface (Miao & Metcalfe, 2003).

Plusieurs études se sont intéressées à démontrer les effets tératogènes de la CBZ sur différentes espèces aquatiques. A titre d'exemple, Nassef *et al.* (2010) ont mis en évidence une augmentation de la mortalité et un retard de développement chez des embryons de medaka japonais (*Oryzia latipeus*) exposés à 0,012 µg œuf^{-1} de CBZ. Weigt *et al.* (2011), quant à eux, ont observé de graves déformations de la colonne vertébrale entraînant une courbure de la queue vers le haut chez des embryons de poisson zèbre exposés à une concentration de CBZ de 29625 µg L^{-1}. Van den Brandhof & Montforts (2010) ont noté un retard de croissance d'embryons de cette même espèce pour des teneurs en CBZ supérieures à 30600 µg L^{-1}.

En ce qui concerne la toxicité des produits de transformation de la CBZ, Bourgeois & Wad (1984) ont par exemple montré que l'activité antiépileptique et la neurotoxicité de la CBZ chez la souris sont proportionnelles à la somme des concentrations de CBZ et de CBZ-epox. Ainsi, la CBZ-epox est non seulement aussi bioactive que sa molécule mère, mais elle présente également la même toxicité. Bleeker *et al.* (1999) ont constaté des effets génotoxiques (test Mutatox™) de l'Acrid vis-à-vis de *Vibrio fischeri*, avec une LOEC de 5 nmol L^{-1} soit à peu près 1 µg L^{-1}. Dans une étude portant sur l'écotoxicité de la CBZ et de ses produits de transformation par photolyse UV, Donner *et al.* (2013) ont mis en évidence que la CBZ était moins toxique pour trois organismes standards (représentant des bactéries, algues et crustacés) que ses produits de dégradation, dont l'Acrid.

6.2.2. Diclofénac

Le **diclofénac** (DCF) est un anti-inflammatoire non stéroïdien très répandu dans l'environnement aquatique, probablement en raison de son taux de consommation élevé (N.B. il bénéficie de prescription sans ordonnance) et de sa polarité (Daniele *et al.*, 2016). Il est lui

aussi un des composés les plus emblématiques de la contamination par les résidus de médicaments. Il est notamment détecté à des concentrations allant jusqu'à 380 ng L^{-1}, 1200 ng L^{-1} et 7100 ng L^{-1} respectivement dans les eaux souterraines, les eaux de surface et les effluents de STEU, (Heberer *et al.*, 2002 ; Valdés *et al.*, 2014 ; Vieno & Sillanpää, 2014 ; Zhang *et al.*, 2008). De plus, dans leur revue de la littérature portant sur la présence de micropolluants dans le milieu aquatique et de leur devenir au cours des procédés de traitement des eaux usées, Luo *et al.* (2014) ont constaté de grandes disparités dans l'abattement de ce composé en STEU. Par exemple, le DCF a été éliminé de manière significative (81,4 %) dans une STEU coréenne (Behera *et al.*, 2011) alors qu'il a présenté une réduction mineure (5 %) dans une STEU espagnole (Rosal *et al.*, 2010). Les auteurs ont attribué ces différences à un certain nombre de facteurs tels que les conditions opérationnelles.

Le DCF est administré par voie locale (gel) ou orale et subit une métabolisation presque complète dans le corps humain. Lorsqu'il est administré par voie orale, entre 65 et 70 % de la dose de DCF est excrété dans l'urine et 20 à 30 % dans les fèces sous forme de composé parent ou de métabolites (Davies & Anderson, 1997 ; Stierlin & Faigle, 1979). La majorité du DCF est métabolisée dans le corps humain et seulement < 1 % de la dose administrée par voie orale est excrété sous forme de DCF inchangé (Vieno & Sillanpää, 2014). La métabolisation du DCF s'opère essentiellement au niveau du foie (Figure 10). Elle s'effectue en partie par glucuroconjugaison, mais surtout par hydroxylation et méthoxylation entraînant la formation de différents métabolites phénoliques : 3'-hydroxydiclofénac, 4'-hydroxydiclofénac (4'OH-DCF), 5-hydroxydiclofénac (5OH-DCF), 4',5-dihydroxydiclofénac et 3'-hydroxy-4'-méthoxydiclofénac, qui sont éliminés pour la plupart sous forme glucuroconjuguée (Ministère des solidarités et de la santé, 2020). Chez certains animaux, il a été démontré que la 4′OH-DCF possède 30 % de l'activité anti-inflammatoire et antipyrétique du DCF (Davies & Anderson, 1997). Cependant, selon Wiesenberg-Boettcher *et al.* (1991),

L'activité anti-inflammatoire des principaux métabolites du DCF est au moins 10 fois inférieure à celle du composé parent.

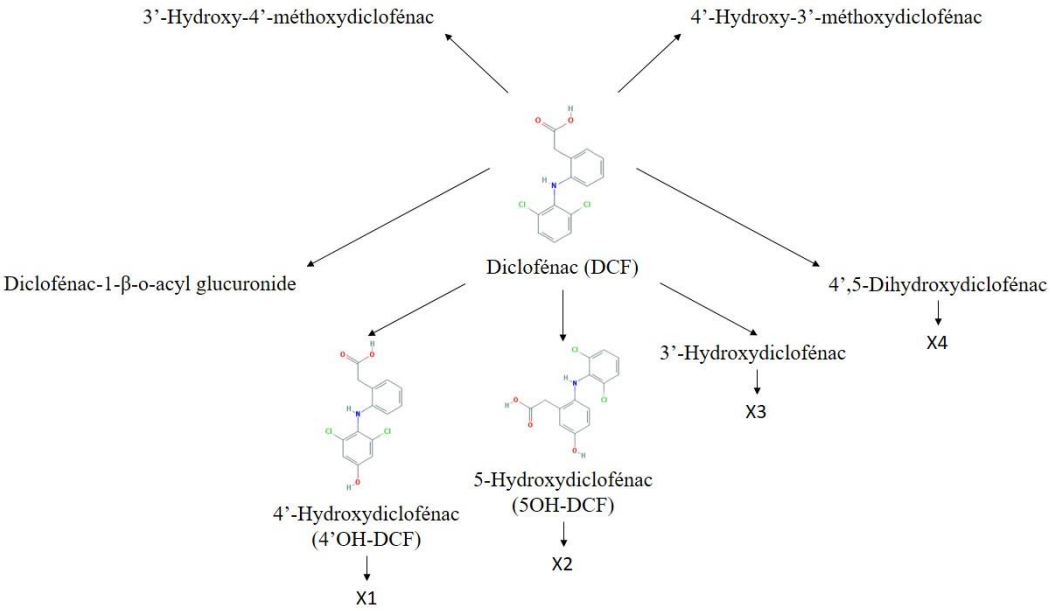


Figure 10 : Métabolisme hépatique du DCF (adapté de Vieno & Sillanpää (2014)) ; X1, X2, X3 et X4 sont les formes conjuguées des métabolites, dont les ligands n'ont pas été identifiés

Dans l'environnement, la phototransformation est la principale voie de dégradation du DCF (Boreen *et al.*, 2003). Eriksson *et al.* (2010) ont identifié la 2-[(2-chlorophényl)-amine]-benzaldéhyde (Benz) (Figure 11) comme le produit le plus stable, bien qu'il provienne d'une voie de transformation minoritaire, puisque la quantité totale formée dans le cadre de leur étude était inférieure à 2 % de la concentration initiale de DCF.

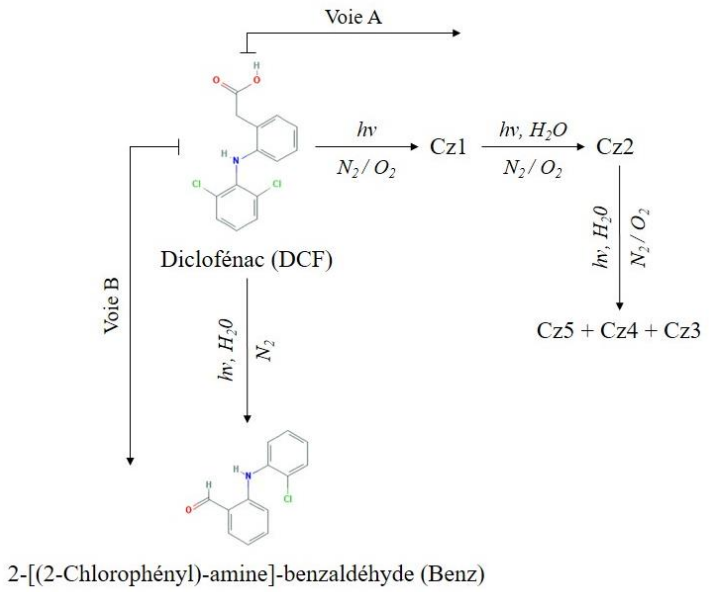


Figure 11 : Mécanisme de photodégradation du DCF proposé par Eriksson *et al.* (2010) ; Cz1 = (8-Chloro-9*H*-carbazol-1-yl) acetic acid, Cz4 = (1,4-dioxo-4,9-dihydro-1*H*-carbazol-8-yl) acetic acid, Cz2, Cz3 et Cz5 sont des produits de photodégradation du DCF non confirmés

Dans une étude s'intéressant à la quantification de plus de 150 micropolluants dans différentes matrices aqueuses, Hermes *et al.* (2018) ont inclus le DCF et son métabolite, la 4'OH-DCF. Le DCF a été détecté à des concentrations allant jusqu'à 2,9 ± 0,1 µg L^{-1} dans les eaux brutes de STEU, 2,1 ± 0,1 µg L^{-1} dans les effluents secondaires, 1,0 ± 0,1 µg L^{-1} dans les effluents tertiaires, et 0,03 µg L^{-1} dans les eaux de surface. La 4'OH-DCF a présenté des concentrations allant jusqu'à 0,9 ± 0,2 µg L^{-1}, 0,7 ± 0,3 µg L^{-1}, 0,40 ± 0,03 µg L^{-1} et 0,01 µg L^{-1}, dans les eaux brutes de STEU, les effluents secondaires et tertiaires, et les eaux de surfaces respectivement. Quant à Scheurell *et al.* (2009), ils ont quantifié le DCF, la 4'OH-DCF et la 5OH-DCF dans des eaux de surface au Pakistan à des concentrations maximales de 8,5 µg L^{-1}, 1,8 µg L^{-1} et 0,3 µg L^{-1} respectivement.

De nombreuses études sur la toxicité du DCF existent, montrant des effets néfastes pour différentes espèces, même à de faibles concentrations (Bort *et al.*, 1999 ; Haap *et al.*, 2008 ; Hartmann *et al.*, 2008). Il s'agit notamment de la cytopathologie des cellules du foie, des reins et des branchies avec une LOEC de 1 µg L^{-1}, ainsi que des lésions rénales et de l'altération des branchies à une LOEC de 5 µg L^{-1}. Les lésions rénales causées par le DCF ont été identifiées

comme responsables du déclin massif de la population de vautours en Asie centrale pendant les années 1990 (Oaks *et al.*, 2004). De plus, comme Bort *et al.* (1999) l'ont démontré sur des lignées cellulaires de rat et d'humain, l'hépatotoxicité du DCF serait en partie due à ses métabolites 4'- et 5-hydroxylés. D'autre part, Schulze *et al.* (2010) ont rapporté que la Benz est 10 fois plus toxique que le DCF. En effet, dans leur étude, ce produit de dégradation présentait une EC_{50} vis-à-vis de l'algue *Scenedesmus vacuolatus* (4,8 mg L^{-1}) 10 fois inférieure à celle du DCF (48,1 mg L^{-1}).

6.2.3. Amoxicilline

L'**amoxicilline** (AMX) est un antibiotique de la classe des β-lactamines. En 2016, cette famille représentait 65 % de la consommation française totale d'antibiotiques en officine, et 58 % à l'hôpital (ANSM, 2017). Par rapport à d'autres composés pharmaceutiques, l'AMX a un taux de métabolisation très bas chez l'homme, puisque 80 à 90 % est excrété sous forme non modifiée (Hirsch *et al.*, 1999). Ce composé est métabolisé en acide pénicilloïque inactif, et est éliminé principalement par l'urine (Ministère des solidarités et de la santé, 2020).

L'AMX appartient plus particulièrement au groupe des pénicillines qui n'est généralement pas considéré comme problématique pour l'environnement en raison de la faible stabilité du cycle β-lactame (Pérez-Parada *et al.*, 2011), qui peut être ouvert par la β-lactamase, une enzyme rencontrée dans des populations bactériennes variées, ou par hydrolyse chimique (Christian *et al.*, 2003). De ce fait, l'AMX n'est pas régulièrement détectée dans les eaux, mais compte tenu de sa forte consommation, son suivi analytique devient pertinent, d'autant plus qu'elle figure sur la liste de vigilance relative aux substances soumises à surveillance (Décision d'exécution (UE) 2018/840). Ainsi, cette molécule a, par exemple, été quantifiée dans les eaux brutes de trois des huit STEU italiennes étudiées par Castiglioni *et al.* (2005), avec une concentration maximale de 120 ng L^{-1}, et dans quatre des seize eaux de surface

allemandes auxquelles se sont intéressés Christian *et al.* (2003), uniquement en automne et non au printemps, avec une teneur d'à peu près 5 ng L^{-1}.

Dans une étude s'intéressant au comportement de l'AMX dans les eaux usées et les eaux fluviales, Pérez-Parada *et al.* (2011) ont identifié les principaux produits de transformation de cette molécule (Figure 12). Il s'agit des diastéréoisomères de l'amoxicilline dicétopipérazine (AMX-diketo) ainsi que de ceux de l'acide pénilloïque de l'AMX (AMX-pen), obtenus par hydrolyse en conditions basique (pH = 10) et acide (pH = 2).

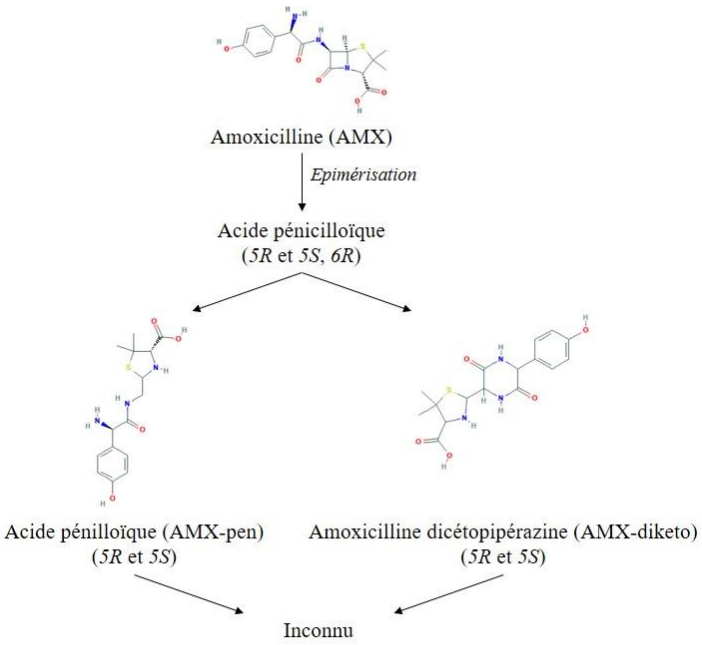


Figure 12 : Voie de transformation principale suggérée pour l'AMX par Pérez-Parada *et al.* (2011)

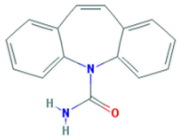
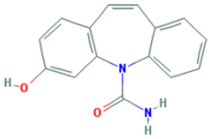
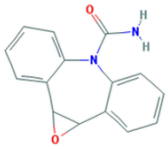
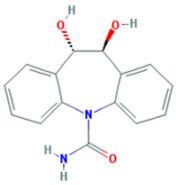
Gozlan *et al.* (2013) ont déterminé l'incidence de l'AMX et de ses produits de dégradation dans des effluents secondaires et des eaux souterraines en Israël. Les résultats quantitatifs ont indiqué la présence de traces d'AMX-pen (0,15 µg L^{-1}) et d'AMX-diketo (0,5 µg L^{-1}) dans les effluents secondaires. Dans les eaux souterraines, seul l'AMX-diketo a été détectée à un niveau de 0,03 µg L^{-1}.

Le risque principal lié à la présence de l'AMX dans l'environnement est lié au fait que cette molécule associée à l'acide clavulanique figure sur la liste des antibiotiques critiques établie

par l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, puisqu'elle est considérée comme particulièrement génératrice d'antibiorésistance (ANSM, 2017).

Le Tableau 11 présente les composés choisis pour cette étude ainsi que leurs propriétés physico-chimiques. Les constantes d'acidité (pK_a) des différentes molécules ciblées sont situées en dehors de la gamme de pH des eaux naturelles (6,5 – 8,5), à l'exception de la Benz (pK_a = 8,18). Ainsi, cette dernière uniquement pourrait se présenter sous une forme et une charge apparente différente selon le pH au point de prélèvement. Quant au coefficient de partage octanol/eau (Log K_{OW}), il est un indicateur de l'hydrophobicité des composés, dont dépendent leur sorption à un solide (tel que le sédiment) et leur bioaccumulation. Rogers (1996) a fourni une règle générale pour l'application de Log K_{OW} à l'estimation de la sorption : Log K_{OW} < 2,5 indique un faible potentiel de sorption, 2,5 < Log K_{OW} < 4 correspond à un potentiel de sorption moyen, et Log K_{OW} > 4 un potentiel de sorption élevé. Par conséquent, la majorité des composés étudiés seraient peu accumulables, sauf les produits de dégradation du DCF qui seraient moyennement accumulables, et le DCF ainsi que la Dibenz qui sont les plus hydrophobes avec des Log K_{OW} de 4,51 et 4,06 respectivement.

Tableau 11 : Propriétés des composés ciblés

Composé	**CBZ**	**3OH-CBZ**	**CBZ-epox**	**Trans-CBZ**
Classe	Composé parent	Métabolite	Métabolite	Métabolite
Numéro CAS	298-46-4	68011-67-6	36507-30-9	58955-93-4
pKa*	16,00	9,10	16,00	12,20
Log K_{OW}*	2,45	1,42	0,95	-0,21
Structure chimique				
Dibenz	**Acrid**	**DCF**	**4'OH-DCF**	**5OH-DCF**

Métabolite 256-96-2 19,50 4,06	Métabolite 578-95-0 0,32 1,69	Composé parent 15307-86-5 4,05 4,51	Métabolite 64118-84-9 3,76 3,70	Métabolite 69002-84-2 3,81 3,18
Benz	**AMX**	**AMX-diketo**	**AMX-pen**	
Produit de dégradation 71758-44-6 8,18 3,65	Composé parent 26787-78-0 2,73 -1,99	Produit de dégradation 94659-47-9 3,05 -3,50	Produit de dégradation 1356020-01-3 2,63 -1,61	

*Valeurs prédites par la boîte à outils QSAR (version 4.4)

7. Conclusion

L'étude de la littérature scientifique confirme les besoins d'enrichir les connaissances sur les conséquences de la présence des médicaments dans les milieux aquatiques et plus encore sur leurs produits de transformation et métabolites. Ces derniers ne sont pas du tout considérés alors que l'état actuel des connaissances suggère la possibilité d'un très grand nombre de composés provenant de chaque principe actif et qui peuvent – parmi les quelques-uns qui ont fait l'objet d'étude toxicologique – avoir des effets sur le vivant.

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Stratégies d'échantillonnage

Les données expérimentales présentées dans ce manuscrit sont issues de deux campagnes d'échantillonnage. La première campagne d'échantillonnage a été utilisée dans le cadre du suivi temporel de la contamination de biofilms épilithiques (Chapitre 1). La seconde campagne a été utilisée pour l'évaluation spatiale et multi-compartiments de la contamination des milieux aquatiques (Chapitre 2, Chapitre 3).

1.1. Campagne de suivi temporel de la contamination des biofilms épilithiques

Cette campagne s'est focalisée sur trois sites de prélèvement, deux situés sur le Clain, en amont et en aval de la STEU de Poitiers, et un sur la Vienne, au moulin de Chitré, en amont de Châtellerault (Figure 13, Tableau 12). Du biofilm a été obtenu à partir de roches initialement propres, immergées dans des boîtes en treillis métallique à proximité des berges. Les roches ainsi exposées à l'eau des rivières se sont recouvertes progressivement d'une couche d'un biofilm indigène au site. Un temps d'installation de plusieurs mois (1 – 4 mois) a été respecté pour permettre au biofilm de suffisamment se développer et de s'équilibrer avec son environnement. Les campagnes de prélèvement ont été déclenchées immédiatement à la suite de ce temps d'équilibre. Pour cela, 72 roches par site ont ensuite été prélevées tous les mois, puis le biofilm a été décroché en grattant manuellement la surface avec une brosse stérile et propre. Neuf prélèvements ont ainsi été effectués entre janvier et décembre 2018 (avec une interruption entre avril et juin) pour les sites du Clain. Pour le site de la Vienne, cinq prélèvements ont été réalisés entre mars et juillet 2018.

Des échantillonneurs passifs de type *Polar Organic Chemical Integrative Samplers* (POCIS – EWH-Pharm, ExposMeter AB, Tavelsjö, Suède) ont aussi été déployés à proximité des roches, et récupérés tous les 15 jours afin de suivre également la présence des composés dans l'eau.

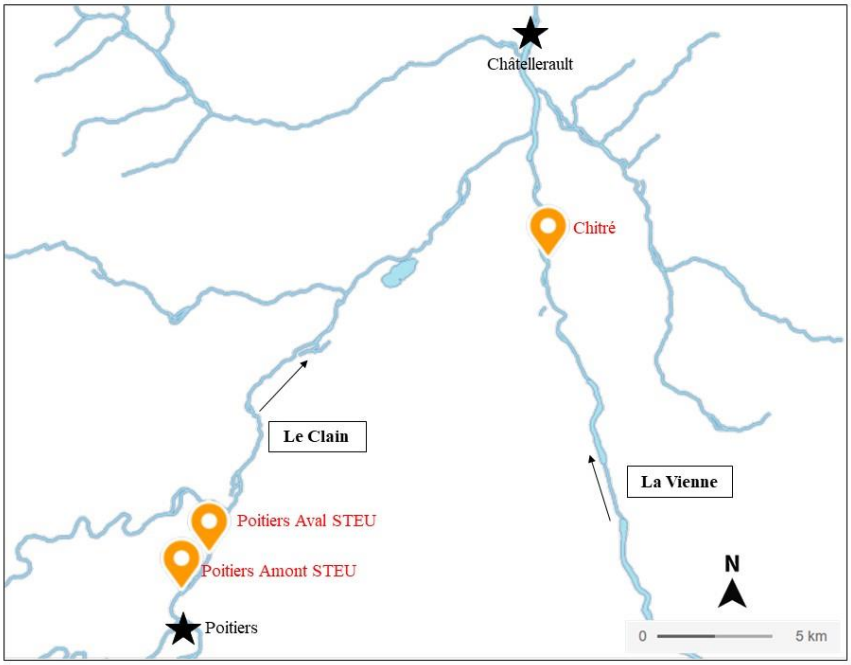


Figure 13 : Campagne « biofilms » : sites de prélèvement

Tableau 12 : Campagne « biofilms » : localisation des sites

Cours d'eau	Site de prélèvement	Amont/Aval d'une zone anthropisée	Distance de la zone anthropisée	Coordonnées	
				Latitude	Longitude
Le Clain	Poitiers Amont STEU	Amont STEU	3 km	46° 36' 7,92'' N	0° 20' 33,72'' E
	Poitiers Aval STEU	Aval STEU	Au rejet	46° 36' 49,04'' N	0° 21' 29,88'' E
La Vienne	Chitré	Amont Ville	10 km	46° 43' 53,76'' N	0° 32' 52,08'' E

1.2. Campagne d'évaluation spatiale et multi-compartiments de la contamination des milieux aquatiques

L'état de la contamination des milieux aquatiques par les résidus de carbamazépine, de diclofénac, d'amoxicilline et de leurs produits de dégradation a été évalué au cours d'une série d'échantillonnages menés sur trois cours d'eau de l'ouest de la France : la Vienne, le Clain et

le Thouet (Tableau 13). Des zones géographiquement proches ont été privilégiées pour rester sous l'influence de conditions hydro-climatiques et d'activités socio-économiques similaires.

Tableau 13 : Caractéristiques des rivières étudiées (Eau France, 2020 ; EPTB de la Vienne, 2020b, 2020a ; SAGE Thouet, 2020 ; Syndicat mixte des vallées du Clain Sud, 2020)

	La Vienne	**Le Clain**	**Le Thouet**
Longueur totale (km)	372	125	152
Débit moyen annuel ($m^3 s^{-1}$)	78,23 ± 19,62 (n = 7) *(Chauvigny)*	14,51 ± 6,39 (n = 8) *(Poitiers)*	8,17 ± 3,42 (n = 8) *(Missé)*
Population totale (habitants)	1 030 248	285 000	230 640
Substrat	Sédiments grossiers	Sédiments grossiers	Sédiments grossiers
Utilisation des terres	Grandes cultures et élevage bovin laitier	Grande production céréalière	Zone rurale à *openfield*[6]
pH moyen (unités pH)	7,6 ± 0,2 (n = 23) *(Valdivienne)*	8,1 ± 0,2 (n = 66) *(Saint-Benoit)*	7,9 ± 0,3 (n = 97) *(Missé)*
Conductivité moyenne ($\mu S\ cm^{-1}$)	178 ± 51 (n = 23) *(Valdivienne)*	573 ± 58 (n = 65) *(Saint-Benoit)*	467 ± 130 (n = 96) *(Missé)*
COD moyen ($mg\ C\ L^{-1}$)	5,7 ± 1,2 (n = 21) *(Valdivienne)*	2,7 ± 0,9 (n = 61) *(Saint-Benoit)*	6,9 ± 1,8 (n = 87) *(Missé)*

- La Vienne (372 km) prend sa source dans le centre de la France sur le plateau de Millevaches à 920 m d'altitude, et traverse les plateaux du Haut Limousin (de 300 à 400 m d'altitude) avant de passer par les formations sédimentaires du Poitou et enfin rejoindre la Loire à Candes-Saint-Martin en Indre-et-Loire (37) (EPTB de la Vienne, 2020b). Les sites d'échantillonnages ont été concentrés sur un tronçon de la partie aval du bassin versant soumis à la fois à des zones rurales et plus urbaines. Il se caractérise par des terrains sédimentaires, une densité de réseaux hydrographiques faible à moyenne et de nombreux aquifères. L'agglomération de Châtellerault représente le principal pôle urbain de cette section, caractérisée également par une faible densité urbaine et une faible activité

[6] En français, il serait toutefois pertinent d'employer le terme de « grande campagne ».

industrielle, avec une prédominance des grandes cultures (céréales et oléagineux) et de l'élevage bovin laitier (EPTB de la Vienne, 2020a).

- Le Clain (125 km) est l'un des principaux affluents de la Vienne. Son bassin versant est principalement développé sur des terrains sédimentaires, ce qui explique la faible densité du réseau hydrographique et la présence de plusieurs aquifères superposés. L'activité agricole de ce sous-bassin est plutôt orientée vers la grande production céréalière (EPTB de la Vienne, 2020a). Les sites échantillonnés se situent sur un tronçon localisé entre l'agglomération de Poitiers et la confluence avec la Vienne. Cette partie du Clain est soumise à une urbanisation et une activité industrielle fortement développées.

- Le Thouet (152 km) est un autre affluent de la Loire, prenant sa source dans le massif armoricain à 225 m d'altitude. La rivière traverse ensuite deux entités géologiques différentes : (i) à l'ouest, le massif armoricain caractérisé par des sols granitiques qui constituent des zones de ruissellement des précipitations ; (ii) à l'est, le bassin parisien à couverture sédimentaire, permettant la formation d'un aquifère dont les réserves en eau soutiennent les débits d'étiage (SAGE Thouet, 2020). Les sites d'échantillonnage ont été concentrés sur la partie orientale du bassin versant, caractérisée par une zone rurale à *openfield*, avec des habitats groupés et de rares petites villes.

Les dix sites situés le long de ces trois cours d'eau ont été choisis en fonction de leur emplacement (en amont et en aval de zones anthropisées) et de la possibilité de prélever des échantillons (Figure 14, Tableau 14). Lors d'une campagne menée en septembre 2018, des échantillons de différents compartiments ont été prélevés à chaque site sur une zone d'environ 20 m^2. Ainsi, 2 L d'eau ont été collectés dans un flacon en polyéthylène haute densité (PEHD). Pour les biofilms, cinq à dix roches indigènes ont été choisies aléatoirement à une profondeur de 50 à 100 cm, et le périphyton a été récupéré en grattant la surface avec une brosse propre. Les sédiments de surface ont été recueillis avec une pelle, sous la forme

d'un échantillon composite en regroupant trois échantillons à chaque site, et tamisés sur place à < 2 mm. Environ 100 corbicules (*C. fluminea*) d'une taille > 16 mm ont été récoltées à la main. Tous les échantillons ont été transférés dans des flacons en PEHD propres, et stockés dans une glacière jusqu'à la fin de la journée d'échantillonnage.

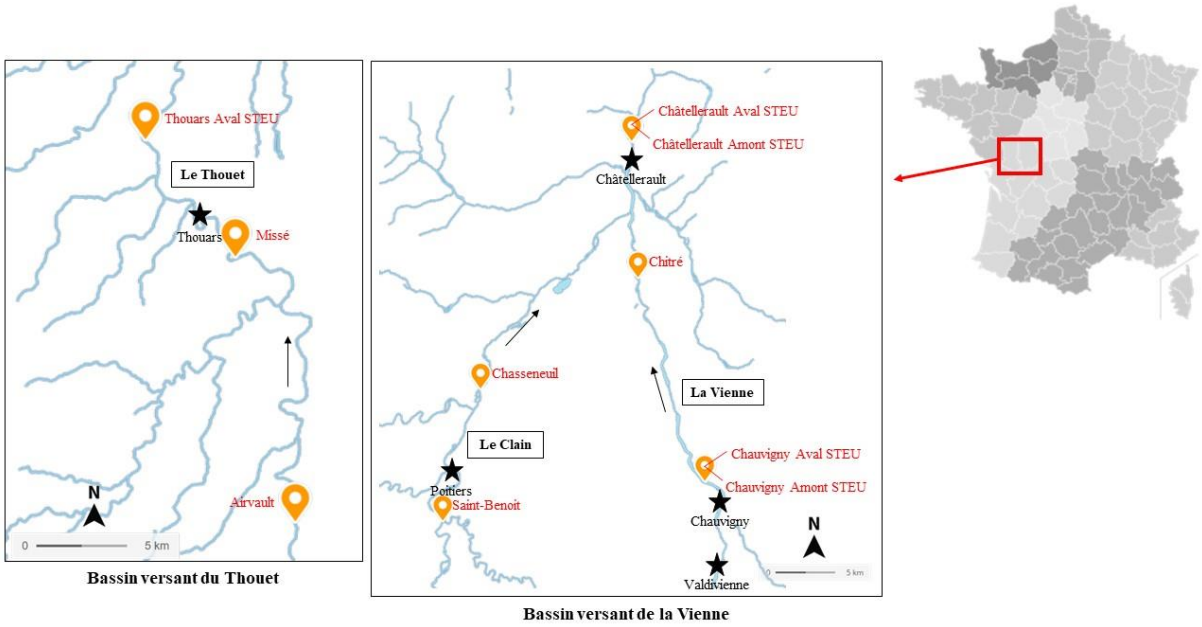


Figure 14 : Campagne « multi-compartiments » : sites de prélèvement

Tableau 14 : Campagne « multi-compartiments » : localisation des sites

Cours d'eau	Site de prélèvement	Amont/Aval d'une zone anthropisée	Distance de la zone anthropisée	Coordonnées	
				Latitude	Longitude
La Vienne	Chauvigny Amont STEU	Amont STEU	40 m	46° 34' 45,84'' N	0° 37' 17,04'' E
	Chauvigny Aval STEU	Aval STEU	30 m	46° 34' 46,2'' N	0° 37' 13,8'' E
	Chitré	Amont Ville	10 km	46° 43' 53,76'' N	0° 32' 52,08'' E
	Châtellerault Amont STEU	Amont STEU	60 m	46° 49' 57'' N	0° 32' 30,48'' E
	Châtellerault Aval STEU	Aval STEU	15 m	46° 49' 59,16'' N	0° 32' 28,68'' E
Le Clain	Saint-Benoît	Amont Ville	5 km	46° 32' 59,28'' N	0° 20' 7,08'' E
	Chasseneuil	Aval Ville	10 km	46° 38' 54,24'' N	0° 22' 34,68'' E
Le Thouet	Airvault	Amont Ville	20 km	46° 49' 17,04'' N	0° 8' 50,28'' O
	Missé	Amont Ville	5 km	46° 57' 9,36'' N	0° 11' 25,8'' O
	Thouars Aval STEU	Aval STEU	1 km	47° 0' 38,88'' N	0° 15' 21,6'' O

2. Extraction des composés ciblés

2.1. Matrices solides

Les composés ciblés ont été extraits des matrices solides, c'est-à-dire des sédiments, des biofilms et des corbicules, par une extraction liquide sous pression (PLE) (ASE 350, Thermo Scientific Inc., Waltham, Etats-Unis) suivie d'une extraction sur phase solide (SPE) (Autotrace 150, Thermo Scientific Inc., Waltham, Etats-Unis). La méthode développée par Laurent (2013) a été employée pour les sédiments et les biofilms, alors que celle présentée par Alvarez-Muñoz *et al.* (2015) a été adaptée pour les corbicules. Les Tableau 15 et

Tableau 16 résument les conditions d'extraction par matrice. Pour chaque échantillon, deux cellules d'extraction ont été préparées. Chacun des deux extraits obtenus a été dilué avec de l'eau ultrapure (EUP) (Milli-Q IQ 7000, Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne) jusqu'à 500 mL pour les biofilms et *C. fluminea*, et jusqu'à 1 L pour les sédiments, et chargé sur deux cartouches SPE. Ensuite, les quatre extraits obtenus ont été évaporés à sec sous un flux de diazote à 30 °C (TurboVap LV, Biotage AB, Uppsala, Suède). Enfin, les résidus secs ont été restitués dans 500 µL de MeOH/EUP (10/90 ; v/v) et dopés avec des concentrations croissantes d'un mélange de standards analytiques (concentrations finales de 0 ; 0,01 ; 0,05 et 0,1 mg L^{-1}) en vue d'une quantification par la méthode des ajouts dosés.

Tableau 15 : Conditions d'extraction liquide sous pression des composés ciblés des matrices solides

	Sédiment	**Biofilm**	***C. fluminea***
Préparation	Tamisage à < 2 mm Lyophilisation Broyage	Lyophilisation Broyage	Lyophilisation Récupération de la chair Broyage
Masse d'échantillon/cellule (g)	2,5	0,5	0,5
Volume de la cellule (mL)	34	10	10
Solvants d'extraction	MeOH/EUP (1/2 ; v/v)	MeOH/EUP (1/2 ; v/v)	MeOH/EUP (1/2 ; v/v)
Température (°C)	80	80	50
Pression (bar)	100	100	100
Cycles statiques	5	5	3
Durée d'un cycle (min)	4	4	5
Volume extrait (mL)	105	30	30

Tableau 16 : Conditions d'extraction sur phase solide des composés ciblés des matrices solides

	Sédiment	**Biofilm**	***C. fluminea***
Cartouche	Oasis HLB 6 cc, 200 mg (Waters)	Oasis HLB 6 cc, 200 mg (Waters)	Oasis HLB 6 cc, 200 mg (Waters)
Conditionnement	5 mL MeOH + 5 mL EUP	5 mL MeOH + 5 mL EUP	6 mL MeOH + 6 mL EUP
Volume chargé/cartouche (mL)	500	250	250
Débit de chargement (mL min^{-1})	10	10	10
Rinçage	5 mL EUP	5 mL EUP	6 mL EUP
Séchage	5 min sous flux de N_2 (10 mL min^{-1})	5 min sous flux de N_2 (10 mL min^{-1})	5 min sous flux de N_2 (10 mL min^{-1})
Elution	8 mL MeOH	8 mL MeOH	6 mL MeOH

Afin de déterminer les rendements d'extraction, chaque matrice a été dopée avec tous les composés étudiés à une concentration de 400 ng g^{-1}. Après séchage pendant 12 h à température ambiante et à l'abri de la lumière, une extraction des échantillons a été effectuée dans les conditions décrites au paragraphe 2.1 ci-dessus, avant analyse. Cette procédure a été répétée trois fois et les rendements ont été calculés selon l'équation : Rendement (%) = $100 \times \frac{C_{dopé} - C_{non\text{-}dopé}}{400}$; où $C_{dopé}$ et $C_{non\text{-}dopé}$ représentent les concentrations de chaque composé

mesurées (en ng g^{-1} de matrice) dans les matrices dopées et non dopées respectivement. Le Tableau 17 consigne les résultats obtenus pour chacune des matrices solides.

Tableau 17 : Rendements d'extraction des composés ciblés

	Sédiment (%)	Biofilm (%)	Corbicules (%)
CBZ	190 ± 26	94 ± 6	98 ± 29
3OH-CBZ	150 ± 10	123 ± 7	61 ± 2
CBZ-epox	122 ± 9	121 ± 3	97 ± 5
Trans-CBZ	114 ± 10	120 ± 7	73 ± 8
Dibenz	61 ± 10	30 ± 7	142 ± 1
Acrid	147 ± 5	91 ± 5	59 ± 4
DCF	93 ± 8	41 ± 13	42 ± 6
OH-DCF	65 ± 5	38 ± 12	29 ± 12
Benz	30 ± 10	19 ± 28	37 ± 42
AMX + AMX-diketo	15 ± 5	37 ± 18	24 ± 8
AMX-pen	10 ± 9	65 ± 2	15 ± 7

2.2. Matrices liquides

2.2.1. Eau

Pour chaque échantillon d'eau, 2 L ont été filtrés sous vide à travers une membrane en polyfluorure de vinylidène (PVDF) à 0,45 µm de seuil de coupure (Durapore, Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne), avant SPE. Le Tableau 18 présente les conditions d'extraction. Chaque échantillon a été chargé sur quatre cartouches, et les quatre extraits obtenus ont subi une évaporation et une restitution dans les mêmes conditions que pour les matrices solides.

Tableau 18 : Conditions d'extraction sur phase solide des composés ciblés de l'eau

	Eau
Cartouche	Oasis HLB 6 cc, 200 mg (Waters)
Conditionnement	5 mL MeOH + 5 mL EUP
Volume chargé/cartouche (mL)	500
Débit de chargement (mL min^{-1})	10
Rinçage	5 mL EUP
Séchage	5 min sous flux de N_2 (10 mL min^{-1})
Elution	8 mL MeOH

2.2.2. Echantillonneurs passifs

Afin d'extraire les composés ciblés adsorbés sur les échantillonneurs passifs, les résines ont été transférées dans des cartouches de SPE vides et propres. Elles ont ensuite été séchées pendant 5 min sous un flux de diazote à 10 mL min^{-1} et éluées avec 8 mL de méthanol. L'extrait ainsi obtenu a été divisé en quatre avant évaporation et restitution dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment.

3. Développement et validation des méthodes analytiques

3.1. Composés recherchés

Trois composés pharmaceutiques appartenant à des familles différentes et couvrant un large spectre de propriétés physico-chimiques ont été choisis pour cette étude : (i) la carbamazépine (CBZ), un antiépileptique rémanent en conditions environnementales et retrouvé systématiquement dans les eaux de surface ; (ii) le diclofénac (DCF), un anti-inflammatoire non stéroïdien très répandu ; (iii) l'amoxicilline (AMX), un antibiotique de la classe des bêtalactamines. En 2016, cette famille représentait 65 % de la consommation française totale d'antibiotiques en ville, et 58 % à l'hôpital (ANSM, 2017).

Les produits de dégradation ont été choisis à partir d'une étude bibliographique, et dans la limite des standards analytiques disponibles et accessibles. Ainsi, trois métabolites (3-hydroxycarbamazépine (3OH-CBZ), carbamazépine-10,11-epoxide (CBZ-epox) et 10,11-dihydro-trans-10,11-dihydroxycarbamazépine (Trans-CBZ)) et deux produits de transformation (dibenzazepine (Dibenz) et acridone (Acrid)) de la CBZ, deux métabolites (4'-hydroxydiclofénac (4'OH-DCF) et 5-hydroxydiclofénac (5OH-DCF)) et un produit de transformation (2-[(2-chlorophenyl)-amine]-benzaldehyde (Benz)) du DCF et deux produits de transformation (amoxicilline dicétopipérazine (AMX-diketo) et acide pénilloïque (AMX-pen)) de l'AMX ont été sélectionnés pour cette étude. Il est à noter que le 4'OH-DCF et le 5OH-DCF ont ensuite été regroupés en OH-DCF car la méthode chromatographique ne permettait pas leur séparation.

Des standards analytiques de CBZ, 3OH-CBZ, CBZ-epox, Dibenz, Acrid, DCF, 4'OH-DCF et 5OH-DCF ont été procurés par Sigma-Aldrich (Darmstadt, Allemagne), tandis que les standards de Trans-CBZ et de Benz ont été procurés par Santa Cruz Biotechnology (Heidelberg, Allemagne) et Synchem UG & Co. KG (Altenburg, Allemagne), respectivement. Des solutions mères individuelles ont été préparées dans du méthanol de qualité LC-MS (Carlo Erba Reagents, Val de Reuil, France) à 200 mg L^{-1} et stockées à -20 °C.

Le Tableau 19 regroupe quelques propriétés des composés ciblés. Les constantes d'acidité (pK_a) des différentes molécules sont globalement situées en dehors de la gamme de pH des eaux naturelles (6,50 – 8,50), à l'exception de la Benz (pK_a = 8,18). Ainsi, cette dernière uniquement pourrait se présenter sous une forme et une charge apparente différente selon le pH au point de prélèvement. La majorité des composés étudiés présentent un faible potentiel de sorption (Log K_{OW} < 2,5) (Rogers, 1996), sauf les produits de dégradation du DCF qui présentent un potentiel de sorption moyen (2,5 < Log K_{OW} < 4), et le DCF ainsi que la Dibenz qui ont un caractère hydrophobe, avec des Log K_{OW} de 4,51 et 4,06 respectivement.

Tableau 19 : Propriétés des composés ciblés

Composé	Classe	pKa*	Log Kow*
CBZ	Composé parent	16,00	2,45
3OH-CBZ	Métabolite	9,10	1,42
CBZ-epox	Métabolite	16,00	0,95
Trans-CBZ	Métabolite	12,20	-0,21
Dibenz	Produit de dégradation	19,50	4,06
Acrid	Produit de dégradation	0,32	1,69
DCF	Composé parent	4,05	4,51
4'OH-DCF	Métabolite	3,76	3,70
5OH-DCF	Métabolite	3,81	3,18
Benz	Produit de dégradation	8,18	3,65
AMX	Composé parent	2,73	-1,99
AMX-diketo	Produit de dégradation	3,05	-3,50
AMX-pen	Produit de dégradation	2,63	-1,61

* Valeurs prédites par la boîte à outils QSAR (version 4.4)

Un pesticide et son métabolite ont également été suivis durant la campagne « biofilms » afin de permettre un comparatif entre médicaments et pesticides. L'atrazine (ATZ) est un herbicide de la famille des triazines. Bien que son utilisation soit interdite en France depuis octobre 2003, ce composé et ses métabolites, et plus particulièrement la déséthylatrazine (DEA), sont encore largement retrouvés dans les eaux de surface (Ministère des affaires sociales et de la santé, 2016).

3.2. Méthode analytique utilisée pour la campagne « biofilms »

Pour la campagne « biofilms », les composés ont été séparés par chromatographie liquide à ultra haute performance (UHPLC) (Nexera X2, Shimadzu France SAS, Marne la Vallée, France) sur une colonne Acquity UPLC BEH C_{18} (2,1 x 100 mm, 1,7 µm ; Waters Corporation, Milford, Etats-Unis) maintenue à 30°C. Un débit de 0,4 mL min^{-1} et un volume d'injection de 5 µL ont été utilisés, avec une phase mobile composée d'EUP et de MeOH, tous deux acidifiés

avec 0,1 % d'acide formique. Le gradient appliqué était celui développé par Daniele *et al.* (2017) pour la séparation de la carbamazépine et de douze de ses produits de dégradation (Figure 15). Dans ces conditions, la séparation des composés et la résolution des pics chromatographiques étaient optimales. Il est à noter que cette méthode n'a pas permis la séparation de la 4'OH-DCF et de la 5OH-DCF. Pour cela, ces deux composés ont été regroupés pour la suite de l'étude et sont désignés par OH-DCF.

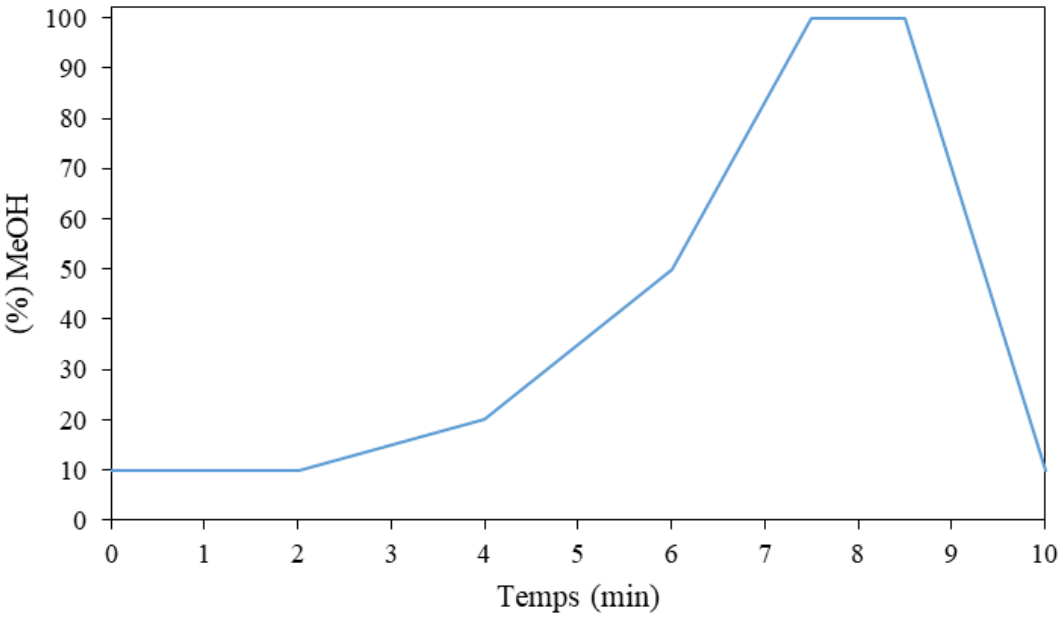


Figure 15 : Gradient appliqué pour la campagne « biofilms »

Le système d'UHPLC était couplé à un spectromètre de masse triple quadripolaire (TQ) (LCMS-8060, Shimadzu France SAS, Marne la Vallée, France) équipé d'une source d'ionisation par *electrospray* (ESI) et fonctionnant en mode *multiple reaction monitoring* (MRM). Les transitions optimisées pour chaque composé ainsi que les temps de rétention sont présentés dans le Tableau 20. Pour chaque molécule ciblée, la transition la plus intense a servi pour la quantification et les deux autres pour confirmer l'identification.

Tableau 20 : Temps de rétention et transitions des composés pour la campagne « biofilms »

	Temps de rétention (min)	Mode ESI	Transition de quantification (EC* (V))	1ère transition de confirmation (EC (V))	2nde transition de confirmation (EC (V))
CBZ	7,3	+	237,20>194,20 (-19)	237,20>193,20 (-30)	-
3OH-CBZ	7,0	+	253,20>210,15 (-19)	253,20>208,15 (-20)	253,20>167,25 (-38)
CBZ-epox	6,8	+	253,20>180,20 (-30)	253,20>236,15 (-11)	253,20>210,25 (-14)
Trans-CBZ	6,5	+	271,20>180,20 (-30)	271,20>236,20 (-12)	-
Dibenz	7,8	+	194,00>179,15 (-28)	194,00>178,15 (-37)	194,00>165,25 (-43)
Acrid	7,1	+	196,20>167,25 (-34)	196,20>166,25 (-43)	196,20>139,25 (-52)
DCF	7,9	+	296,15>214,10 (-34)	296,15>215,15 (-19)	296,15>250,10 (-12)
OH-DCF	7,6	+	312,10>230,10 (-32)	312,10>231,10 (-20)	312,10>266,05 (-13)
Benz	8,0	+	232,15>214,15 (-15)	232,15>151,20 (-37)	232,15>179,25 (-33)
AMX	0,9	+	366,10>114,15 (-20)	366,10>349,15 (-10)	366,10>134,20 (-30)
AMX-diketo	3,3	+	366,10>160,25 (-16)	366,10>114,20 (-36)	-
AMX-pen	2,8	-	338,20>260,20 (+14)	338,20>166,20 (+20)	338,20>264,10 (+15)

*EC : Energie de collision

La quantification par la méthode des ajouts dosés a été choisie afin de pallier les effets matrice. Ainsi, la droite d'équation : Aire = a × Concentration + b, représentée à la Figure 16, est obtenue, et la concentration dans l'échantillon est calculée pour une aire de pic nulle : $x = \left|\frac{b}{a}\right|$.

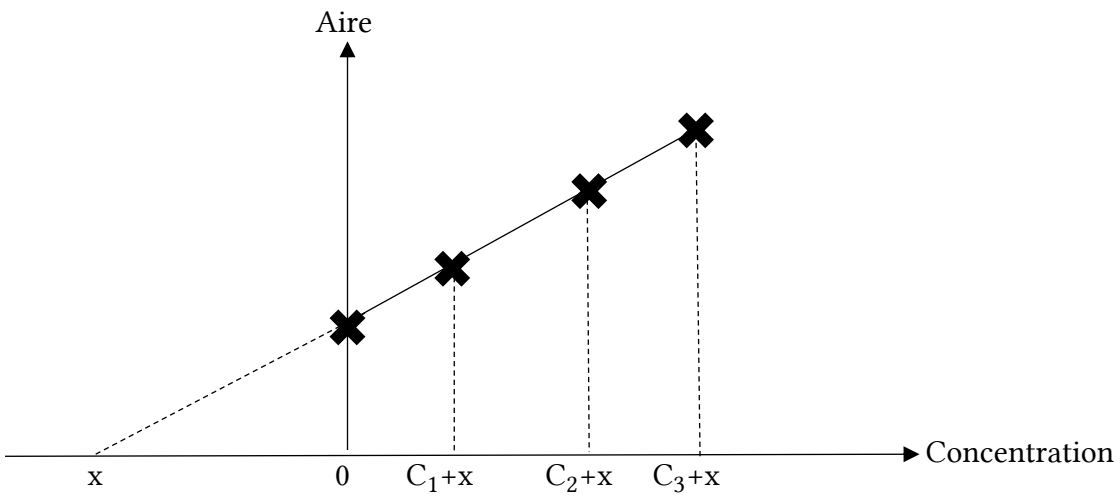


Figure 16 : Méthode des ajouts dosés

Les performances de cette méthode analytique ont été évaluées *via* la linéarité, les limites de détection et de quantification, la répétabilité et la reproductibilité, selon la norme XP T90-210 (AFNOR, 1999). Le Tableau 21 résume les limites de détection (LoD) et de quantification (LoQ) des composés ciblés dans les biofilms et les POCIS de chaque site étudié, estimées à partir du bruit de fond chromatographique.

Tableau 21 : Limites de détection et de quantification des composés ciblés pour la campagne « biofilms » ; n.d. = non determiné car le nombre d'échantillons analysés (n = 3) ne suffit pas pour un calcul robuste

	Clain Amont				**Clain Aval**				**Chitré**			
	Biofilm (ng g^{-1})		**POCIS (µg L^{-1})**		**Biofilm (ng g-1)**		**POCIS (µg L^{-1})**		**Biofilm (ng g-1)**		**POCIS (µg L^{-1})**	
	LoD	**LoQ**	**LoD**	**LoQ**	**LoD**	**LoQ**	**LoD**	**LoQ**	**LoD**	**LoQ**	**LoD**	**LoQ**
CBZ	0,7	2	$2\ 10^{-4}$	$7\ 10^{-4}$	10	34	$4\ 10^{-5}$	$1\ 10^{-4}$	2	6	n.d.	n.d.
3OH-CBZ	0,4	1	$6\ 10^{-5}$	$2\ 10^{-4}$	5	16	$1\ 10^{-5}$	$4\ 10^{-5}$	0,8	2	n.d.	n.d.
CBZ-epox	0,2	0,7	$1\ 10^{-4}$	$5\ 10^{-4}$	1	4	$3\ 10^{-5}$	$1\ 10^{-4}$	0,6	2	n.d.	n.d.
Trans-CBZ	0,9	3	$3\ 10^{-4}$	$1\ 10^{-3}$	3	10	$3\ 10^{-5}$	$1\ 10^{-4}$	0,9	3	n.d.	n.d.
Dibenz	7	22	$6\ 10^{-6}$	$2\ 10^{-5}$	9	31	$1\ 10^{-5}$	$3\ 10^{-5}$	7	24	n.d.	n.d.
Acrid	0,4	1	$9\ 10^{-6}$	$3\ 10^{-5}$	6	20	$1\ 10^{-4}$	$4\ 10^{-4}$	0,7	2	n.d.	n.d.
DCF	8	28	$5\ 10^{-5}$	$2\ 10^{-4}$	25	82	$6\ 10^{-5}$	$2\ 10^{-4}$	6	21	n.d.	n.d.
OH-DCF	1	5	$5\ 10^{-6}$	$2\ 10^{-5}$	45	150	$1\ 10^{-5}$	$5\ 10^{-5}$	4	12	n.d.	n.d.
Benz	86	286	$2\ 10^{-4}$	$8\ 10^{-4}$	n.d.	n.d.	$5\ 10^{-5}$	$1\ 10^{-4}$	371	1238	n.d.	n.d.
AMX	2	8	$1\ 10^{-5}$	$4\ 10^{-5}$	9	31	$2\ 10^{-4}$	$8\ 10^{-4}$	4	12	n.d.	n.d.
AMX-diketo	2	5	$8\ 10^{-6}$	$3\ 10^{-5}$	4	14	$2\ 10^{-4}$	$7\ 10^{-4}$	1	4	n.d.	n.d.
AMX-pen	0,3	1	$1\ 10^{-5}$	$4\ 10^{-5}$	0,6	2	$1\ 10^{-5}$	$5\ 10^{-5}$	0,7	2	n.d.	n.d.

3.3. Méthode analytique utilisée pour la campagne « multi-compartiments »

Pour la campagne « multi-compartiments », les composés ont été séparés par chromatographie liquide à ultra haute performance (UHPLC) (UltiMate 3000, Thermo Scientific Inc., Waltham, Etats-Unis) sur une colonne Acquity UPLC BEH C_{18} (2,1 x 100 mm, 1,7 µm ; Waters Corporation, Milford, Etats-Unis) maintenue à 30°C. Un débit de 0,4 mL min^{-1} et un volume d'injection de 10 µL ont été utilisés, avec une phase mobile composée d'EUP et de MeOH, tous deux acidifiés avec 0,1 % d'acide formique. Le gradient appliqué était celui représenté à la Figure 17, adapté de la méthode développée pour la campagne « biofilms », afin de permettre une meilleure séparation des composés et une meilleure résolution des pics chromatographiques.

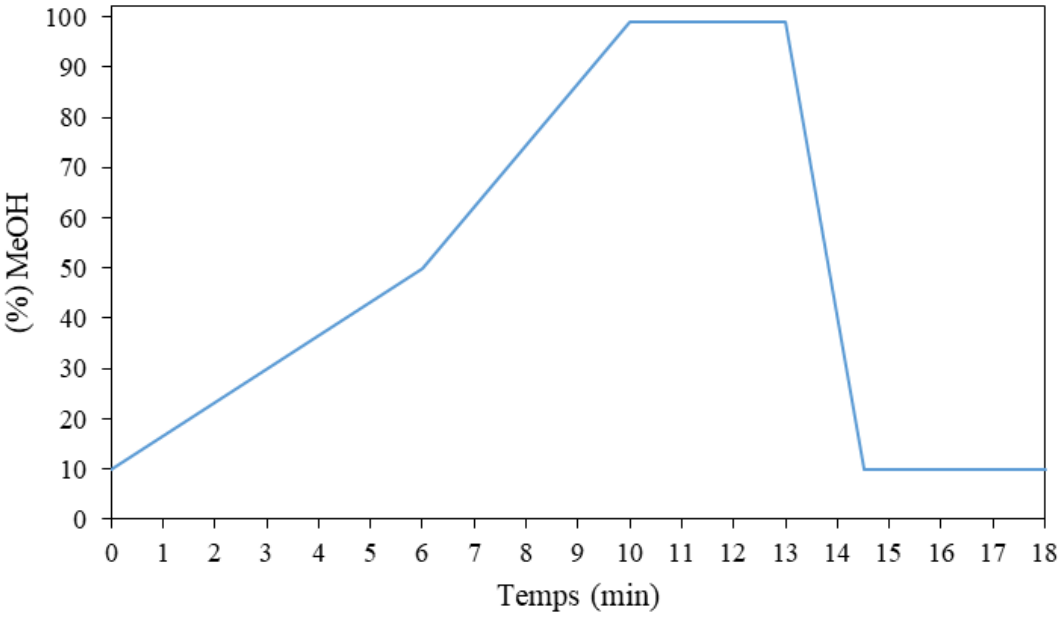


Figure 17 : Gradient appliqué pour la campagne « multi-compartiments »

Le système d'UHPLC était couplé à un spectromètre de masse hybride quadripolaire à temps de vol (Q-ToF) (Impact HD QTOF, Bruker GmbH, Champs sur Marne, France) équipé d'une source d'ionisation par *electrospray* (ESI) et fonctionnant en mode *broadband collision-induced dissociation* (bbCID). La plage de masse était de 150 à 500 m/z, la tension capillaire était réglée à 2700 V, le débit de gaz de séchage était de 4,0 L min^{-1} et sa température de 250 °C. Le Tableau 22 répertorie les temps de rétention et les masses exactes qui ont servi à l'identification de tous les composés. Outre le 4'OH-DCF et le 5OH-DCF, cette méthode n'a pas permis de distinguer l'AMX et son produit de dégradation l'AMX-diketo du fait de leurs masses et temps de rétention identiques, ainsi que l'absence d'autres moyens de confirmation comme les transitions possibles avec le TQ. Ainsi, ces deux composés ont été regroupés en AMX + AMX-diketo pour la suite de l'étude.

Tableau 22 : Temps de rétention et masses exactes des composés pour la campagne « multi-compartiments »

Composé	Temps de retention (min)	$[M+H]^+$
CBZ	8,5	237,1022
3OH-CBZ	7,9	253,0972
CBZ-epox	7,7	253,0972
Trans-CBZ	7,5	271,1077
Dibenz	9,6	194,0964
Acrid	8,1	196,0757
DCF	10,0	296,0240
OH-DCF	9,3	312,0189
Benz	10,2	232,0524
AMX + AMX-diketo	6,3	366,1118
AMX-pen	3,5	340,1326

Les performances de cette méthode analytique ont également été évaluées *via* la linéarité, les limites de détection et de quantification, la répétabilité et la reproductibilité, selon la norme XP T90-210 (AFNOR, 1999). Le Tableau 23 résume les limites de détection (LoD) et de quantification (LoQ) des composés ciblés dans les différentes matrices, estimées à partir du bruit de fond chromatographique.

Tableau 23 : Limites de détection et de quantification des composés ciblés pour la campagne « multi-compartiments »

	Eau (ng L^{-1})		Sédiment (ng g^{-1})		Biofilm (ng g^{-1})		Corbicules (ng g^{-1})	
	LoD	**LoQ**	**LoD**	**LoQ**	**LoD**	**LoQ**	**LoD**	**LoQ**
CBZ	11,0	36,7	2	6	7	22	5	16
3OH-CBZ	5,6	18,8	0,1	0,2	6	20	2	6
CBZ-epox	4,4	14,6	0,0	0,2	5	17	1	4
Trans-CBZ	3,5	11,8	0,9	3	6	20	3	9
Dibenz	0,3	1,1	0,1	0,3	7	23	2	5
Acrid	0,6	2,1	0,2	0,6	6	20	0,9	3
DCF	4,8	16,1	0,6	2	3	11	2	6
OH-DCF	1,0	3,4	0,3	1	4	12	2	6
Benz	4,8	16,1	2	5	29	97	10	33
AMX + AMX-diketo	1,1	2,2	0,4	1	3	9	1	4
AMX-pen	0,7	2,3	0,2	0,7	0,9	3	1	3

4. Détermination des taux d'échantillonnage des POCIS

La quantité d'analyte piégé dans un POCIS peut être reliée à sa concentration moyenne dans l'eau à travers l'équation : $C_W = \frac{m}{R_S \times t}$; où C_W représente la concentration moyenne dans l'eau exprimée en mg L^{-1}, m la quantité d'analyte piégé dans le POCIS en mg, R_S le taux d'échantillonnage en L j^{-1}, et t le temps d'exposition du POCIS en jours.

Le taux d'échantillonnage R_S est propre à chaque molécule et peut être déterminé en laboratoire par une calibration de l'échantillonneur passif. Ce paramètre dépend des conditions environnementales telles que la température et la présence de matière organique naturelle.

Ainsi, des systèmes composés d'aquariums de 10 L ont été mis en place dans le but de déterminer les taux d'échantillonnage des composés d'intérêt pour cette étude (Tableau 24). Des séries d'exposition de triplicatas de POCIS ont été réalisées sous agitation, pendant 8

jours, à 4 °C ou 20 °C, dans une eau de source (Tableau 25) enrichie ou non en composés ciblés et en matière organique naturelle (*Humic acid sodium salt*, Sigma Aldrich, à 6 mg L^{-1} de C). Des expériences sans POCIS (en volumes réduits ~ 2 L) ont aussi été réalisées pour suivre la stabilité des composés suivant les différentes conditions.

Tableau 24 : Conditions expérimentales pour la détermination des taux d'échantillonnage

	Volume (L)	**POCIS**	**MON (~ 6 mg L^{-1})**	**Température (°C)**	**Dopage (µg L^{-1})**
Détermination des taux d'échantillonnage	10	Oui	Non	20	0
	10	Oui	Non	4	0
	10	Oui	Non	20	3
	10	Oui	Non	4	3
	10	Oui	Oui	20	3
	10	Oui	Oui	4	3
Détermination du taux de dégradation en conditions environnementales	2	Non	Non	20	0
	2	Non	Oui	20	0
	2	Non	Non	20	3
	2	Non	Oui	20	3

Tableau 25 : Composition de l'eau de source employée pour la calibration des POCIS

Calcium (mg L^{-1})	67
Magnésium (mg L^{-1})	14,7
Sodium (mg L^{-1})	20,8
Potassium (mg L^{-1})	1,2
Bicarbonates (mg L^{-1})	236
Chlorures (mg L^{-1})	38,7
Sulfates (mg L^{-1})	38
Nitrates (mg L^{-1})	< 1
Fluor (mg L^{-1})	< 0,3
Silice (mg L^{-1})	10
Extrait à sec à 180 °C (mg L^{-1})	347
pH (unités de pH)	7,7

Dans les conditions retenues, à savoir en eau minérale et en présence de matière organique, la perte de composés ciblés par dégradation étant négligeable, l'équation suivante a permis le calcul du taux d'échantillonnage pour chacun d'eux (Morin *et al.*, 2012) : $R_S = \frac{C_i - C_t}{C_i} \times \frac{V_T}{t}$; avec C_i et C_t les concentrations initiale et au temps t de l'analyte dans l'eau exprimées en µg L^{-1}, V_T le volume total du réacteur en L, et t le temps d'exposition en jours.

Le Tableau 26 regroupe les taux d'échantillonnage moyens ainsi calculés pour les composés ciblés aux deux températures étudiées. Une comparaison est également établie entre ces taux et ceux retrouvés dans la littérature. Ce paramètre R_S a été déterminé pour la première fois dans cette étude pour l'AMX et pour tous les produits de dégradation étudiés. Pour la CBZ et le DCF, les R_S déterminés se rapprochent des valeurs obtenues par d'autres auteurs.

Tableau 26 : Taux d'échantillonnage expérimentaux des composés ciblés

	R_S (L j^{-1})	Littérature
CBZ	0,544 ± 0,080	0,600 ± 0,087[a] 0,188 ± 0,005[b] 0,288 ± 0,009[c] 0,20 [Valeur prédite][d] 0,561 ± 0,024[e] 0,397 ± 0,018[e] 0,230 ± 0,016 [< 10 °C][e] 0,235 ± 0,046 [Condition statique][e] 0,348 ± 0,116[f] 0,112 ± 0,023 [Condition statique][f] 0,100 [*In situ* (site aval)][g] 0,210 [*In situ* (effluent de STEU)][g] 0,443[h]
3OH-CBZ	0,360 ± 0,031	
CBZ-epox	0,373 ± 0,032	
Trans-CBZ	0,827 ± 0,550	
Dibenz	1,189 ± 0,024	
Acrid	0,533 ± 0,023	
DCF	0,617 ± 0,032	0,429 ± 0,273[a] 0,225 ± 0,009[b] 0,166 ± 0,052[f] 0,092 ± 0,055 [Condition statique][f] 0,120 [*In situ* (site aval)][g] 0,160 [*In situ* (effluent de STEU)][g] 0,334[h]
OH-DCF	0,425 ± 0,103	
Benz	1,228 ± 0,024	
AMX	1,066 ± 0,010	
AMX-diketo	1,118 ± 0,024	
AMX-pen	1,220 ± 0,012	

[a] Bayen *et al.*, 2014 ; [b] Morin *et al.*, 2013 ; [c] Bartelt-Hunt *et al.*, 2011 ; [d] Bartelt-Hunt *et al.*, 2009 ; [e] Li *et al.*, 2009 ; [f] MacLeod *et al.*, 2007 ; [g] Z. Zhang *et al.*, 2008 ; [h] Guibal *et al.*, 2018

Chapitre 1

Partie A

Occurrence des produits de dégradation de médicaments dans les biofilms de deux cours d'eau français

(Article publié dans le recueil de conférences de la 24ème édition des Journées informations eaux, 6-8 octobre 2020, Poitiers – France)

Partie B

Biofilm ou POCIS, ou les deux ?

Chapitre 1

Partie A : Occurrence des produits de dégradation de médicaments dans les biofilms de deux cours d'eau français

1. Introduction

La consommation de médicaments augmente depuis des décennies à cause de l'augmentation de la population mondiale, mais aussi en raison de l'amélioration de l'accès aux soins (Lindsley, 2018). Par exemple, dans les pays de l'OCDE, entre 2000 et 2017, l'utilisation d'antihypertenseurs a augmenté de 70 % en moyenne et celle d'hypocholestérolémiants a triplé (OCDE, 2019a). Parallèlement, les besoins alimentaires croissants induisent une plus grande demande de production animale, entraînant aussi une utilisation accrue des produits vétérinaires. En France, l'exposition globale des animaux aux antibiotiques a augmenté de 0,7 % entre 2017 et 2018, malgré une forte baisse observée depuis 2011 (ANSES, 2019b). Cette forte consommation de médicaments constitue aujourd'hui un problème récurrent à l'origine de leur dissémination dans la plupart des milieux naturels. En effet, les médicaments administrés aux hommes ou aux animaux ne sont qu'en partie métabolisés une fois à l'intérieur de l'organisme, ce qui entraîne l'excrétion d'une partie des composés d'origine et de métabolites dans l'urine et les matières fécales (Hirsch *et al.*, 1999 ; Kümmerer, 2004). Les fèces rejetées - *via* les eaux usées traitées, les fumiers, les lisiers ou directement - contribuent ainsi à introduire les médicaments et les métabolites dans les milieux aquatiques et les sols. A ces résidus viennent s'ajouter de nombreux composés issus de leur transformation progressive par les processus environnementaux biotiques ou abiotiques (Escher & Fenner, 2011).

Des études menées dans divers bassins versants du monde ont montré que les médicaments, comme d'autres contaminants organiques, s'accumulent dans les biofilms épilithiques

(Aubertheau *et al.*, 2017 ; Camotti Bastos *et al.*, 2017; Fernandes *et al.*, 2019 ; Rheinheimer dos Santos *et al.*, 2020). Les biofilms sont des communautés de micro-organismes principalement composées de cellules microbiennes (bactéries, champignons, protozoaires et algues), de substances polymériques extracellulaires (EPS) et d'éléments inorganiques (Flemming & Wingender, 2010) et adhérées à une surface immergée. Ils sont largement répandus dans les rivières et les ruisseaux (Romaní *et al.*, 2016) où ils contribuent à la transformation des matières organiques, des minéraux et des nutriments (Battin *et al.*, 2016 ; Flemming & Wingender, 2010). En raison de leur positionnement environnemental et de leur cycle de vie court, ils peuvent réagir plus rapidement aux variations de qualité que les organismes de niveau trophique supérieur (Dar & Bhat, 2020). De nombreux travaux ont ainsi souligné le potentiel des biofilms comme indicateur *in situ* des polluants transitant dans la masse d'eau (Du *et al.*, 2015 ; Huerta *et al.*, 2016 ; Laurent, 2013 ; Wilkinson *et al.*, 2018) et comme sentinelle de la qualité du milieu (Burns & Ryder, 2001). Cependant la réponse apportée par le biofilm dépend de son affinité vis-à-vis des contaminants. En effet, la capacité à intégrer des composés est liée à l'accessibilité, la disponibilité des divers sites de sorption et à l'hétérogénéité de la composition du biofilm qui peut permettre différentes affinités. En ce sens, de multiples cinétiques de bioaccumulation peuvent exister au sein d'un même biofilm (Zhang *et al.*, 2018 ; Zhang *et al.*, 2009).

Les médicaments sont des composés biologiquement actifs, sélectionnés pour leur(s) action(s) spécifique(s) sur l'organisme. Par conséquent, une exposition en dehors du cadre d'usage usuel peut conduire à des effets non désirés (effets toxiques ou perturbateurs, résistance) sur des êtres vivants. De nombreux travaux ont déjà rapporté des changements dans la composition et le fonctionnement de communautés microbiennes dans les eaux (Liebig *et al.*, 2010 ; Waiser *et al.*, 2016) et les sols (Revellin *et al.*, 2018) liés à l'exposition aux résidus de médicaments (à des concentrations environnementales). Les métabolites et les produits de

transformation peuvent aussi présenter une toxicité pour le vivant. Celle-ci peut être plus faible, similaire, ou alors plus élevée que les composés parents dans certains cas (Han & Lee, 2017 ; Heye *et al.*, 2016).

Dans la présente étude, la présence des produits de dégradation de deux des médicaments les plus retrouvés dans les milieux aquatiques (la carbamazépine et le diclofénac), ainsi que d'un antibiotique connu pour être particulièrement générateur d'antibiorésistance (l'amoxicilline) a été recherchée dans les biofilms épilithiques. A ce jour, très peu d'études se sont intéressées à la présence des produits de dégradation des composés pharmaceutiques dans les biofilms de rivières (Du *et al.*, 2015 ; Huerta *et al.*, 2016), bien que leur présence dans l'eau à des concentrations comparables à celles des composés parents soit avérée (Gozlan *et al.*, 2013 ; Hermes *et al.*, 2018 ; Miao & Metcalfe, 2003 ; Miao *et al.*, 2005 ; Scheurell *et al.*, 2009 ; Zhao & Metcalfe, 2008). Ainsi, afin de dresser un premier état des lieux de la contamination par les produits de dégradation de médicaments, des suivis ont été menés sur le Clain et sur la Vienne, deux rivières avec des niveaux d'anthropisation modérés. En parallèle, des suivis ont aussi été menés sur le Clain en aval du rejet de la STEU de l'agglomération de Poitiers pour évaluer plus spécifiquement la contribution d'un rejet de STEU.

2. Matériel et méthodes

2.1. Rappel des sites de l'étude

Pour chacun des trois sites de prélèvement, situés sur le Clain, en amont et en aval de la STEU de Poitiers, et sur la Vienne, au moulin de Chitré, en amont de Châtellerault (Figure 18), du biofilm a été cultivé sur des roches initialement propres, déposées dans les cours d'eau pendant environ 4 mois afin que les biofilms se développent et s'équilibrent. 72 roches ont ensuite été prélevées tous les mois sur chaque site. Le biofilm a été récupéré en grattant la surface avec une brosse propre. Pour les sites du Clain, neuf prélèvements ont été effectués,

de janvier à mars 2018, puis de juillet à décembre 2018. Pour le site de la Vienne, cinq échantillonnages, de mars à juillet 2018, ont été réalisés.

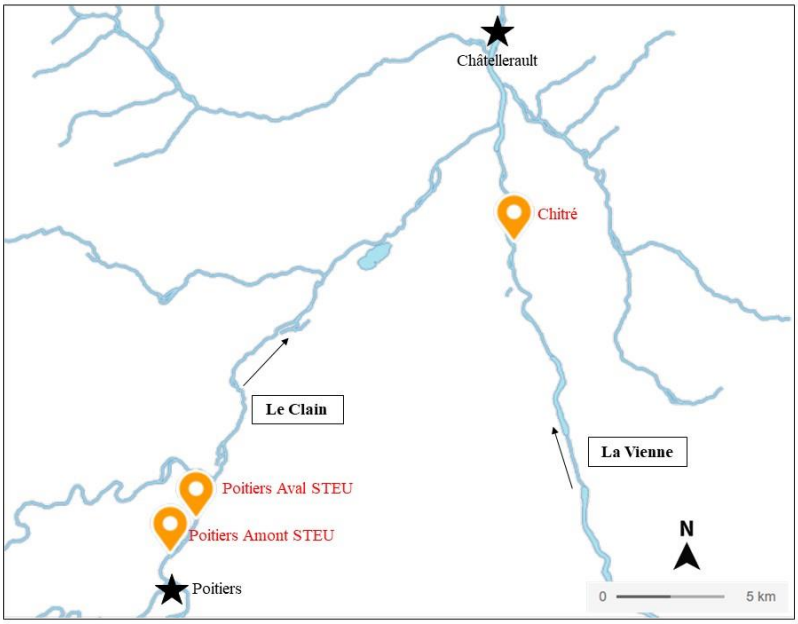


Figure 18 : Carte des sites de prélèvement

2.2. Rappel de l'analyse des composés ciblés

Les échantillons de biofilm ont subi une extraction liquide sous pression (ASE 350, Thermo Scientific Inc., Waltham, Etats-Unis), suivie d'une étape de purification par extraction sur phase solide (SPE) (Autotrace 150, Thermo Scientific Inc., Waltham, Etats-Unis), selon la méthode développée par Laurent (2013). Ensuite, une évaporation sous flux d'azote a permis la concentration des échantillons avant restitution et analyse. Les extraits ont été analysés par chromatographie liquide à ultra haute performance (UHPLC) (Nexera X2, Shimadzu France SAS, Marne la Vallée, France) couplée à un spectromètre de masse triple quadripolaire (TQ) (LCMS-8060, Shimadzu France SAS, Marne la Vallée, France). La quantification des composés ciblés a été faite par la méthode des ajouts dosés.

3. Résultats

3.1. Fréquences de détection et teneurs médianes

Les Figure 19, Figure 20 et Figure 21 présentent les fréquences de détection, ainsi que les concentrations moyennes, minimales et maximales des composés parents et de leurs produits de dégradation mesurées dans les biofilms des trois sites étudiés. Le tableau des données brutes pour chaque site, ainsi que celui des données de statistiques descriptives ayant permis la construction des boîtes à moustaches sont disponibles en Annexe I.

3.1.1. Fréquences de détection

Au niveau des sites « amont » (Clain et Vienne), la CBZ et ses produits de dégradation présentent des fréquences de détection élevées (entre 89 % et 100 %). Seule la Dibenz est moins souvent détectée (entre 33 % et 60 %) alors qu'elle possède un fort potentiel de sorption (Log Kow > 4). Le DCF est aussi fréquemment détecté (78 à 100 %) de même que ses produits de dégradation, mais leur fréquence de détection est plus ou moins importante suivant le site. Quant à l'AMX, elle est connue pour ne pas être régulièrement détectée dans les eaux (Christian *et al.*, 2003), en dépit de sa forte consommation. Ceci serait dû à sa transformation métabolique ou son hydrolyse rapide en conditions environnementales (Christian *et al.*, 2003 ; Pérez-Parada *et al.*, 2011). Cependant, les résultats de cette étude montrent qu'elle peut se retrouver dans les biofilms de rivières (67 à 100 %). Au site « aval » du Clain, les fréquences de détection sont proches de celles déterminées à l'amont. Cependant, trois composés (Dibenz, AMX et AMX-diketo) ne sont quantifiés (parfois détectés mais non quantifiés) dans aucun échantillon.

3.1.2. Teneurs aux sites « amont »

Les teneurs en CBZ varient de 0,1 à 9 ng g^{-1} dans les biofilms du Clain et de 7 à 19 ng g^{-1} dans les biofilms de la Vienne. Des valeurs similaires ont été rapportées par Laurent (2013) dans

des biofilms de la Vienne (1,4 à 10,4 ng g^{-1}). La présente étude montre que les concentrations en produits de dégradation de la CBZ sont du même ordre de grandeur que celles en composé parent (~ 4 ng g^{-1} biofilm dans le Clain, ~ 10 ng g^{-1} biofilm dans la Vienne à l'exception de la Dibenz (~ 79 ng g^{-1} biofilm)). Des valeurs plus élevées sont observées à Chitré par rapport au site amont du Clain. A titre d'exemple, la CBZ présente une teneur médiane de 15 ng g^{-1} biofilm à Chitré, et de 3 ng g^{-1} biofilm au site amont du Clain.

Les teneurs en DCF et en ses produits de dégradation apparaissent globalement supérieures aux teneurs en CBZ et ses produits de dégradation. Sur la totalité des échantillons des sites « amont » du Clain et de la Vienne, les teneurs varient de 1 à 75 ng g^{-1} biofilm pour le DCF (supérieures à celles déterminées par Wilkinson *et al.* (2018) dans les biofilms de trois cours d'eau anglais : jusqu'à 4,4 ng g^{-1} biofilm), de 13 à 92 ng g^{-1} biofilm pour l'OH-DCF et de 27 à 4847 ng g^{-1} biofilm pour la Benz. Cette différence peut tout autant relever d'une plus forte présence dans l'eau ou d'une plus forte fixation dans les biofilms. En effet le DCF et ses produits de dégradation possèdent des Log K_{OW} supérieurs aux autres molécules. Les données font aussi ressortir que les teneurs en DCF et en son métabolite OH-DCF sont du même ordre de grandeur alors que son autre produit de dégradation (Benz) est retrouvé à des concentrations bien plus importantes (jusqu'à 692 et 4847 ng g^{-1} biofilm sur le Clain et la Vienne, respectivement).

Pour la famille de l'AMX, les produits de dégradation présentent des concentrations médianes du même ordre de grandeur que le composé parent au site amont du Clain (~ 9 ng g^{-1} biofilm) et à Chitré (~ 28 ng g^{-1} biofilm).

A titre de comparaison, les valeurs ont été comparées avec les teneurs en ATZ et en son principal métabolite (la DEA) mesurées dans les mêmes échantillons de biofilms. L'ATZ et la DEA ont été choisies pour leur omniprésence dans les eaux de surface en France. A cet égard, elles sont souvent responsables du déclassement des masses d'eaux au titre de la Directive

cadre sur l'eau (DCE) (Conseil européen, 2000) ou encore des dépassements de la limite de qualité des eaux destinées à la consommation humaine (Ministère des affaires sociales et de la santé, 2016). Les résultats montrent que les niveaux de contamination en médicaments observés dans les biofilms sont comparables avec ces composés considérés comme indicateurs d'un milieu dégradé : ~ 6 ng g^{-1} biofilm pour les trois composés parents (CBZ, DCF et AMX) au site amont du Clain, contre 8 ng g^{-1} biofilm, en médiane, pour l'ATZ ; et ~ 27 ng g^{-1} biofilm pour les trois composés parents à Chitré, contre 13 ng g^{-1} biofilm, en médiane, pour l'ATZ.

Les teneurs en produits de dégradation de la CBZ se rapprochent de celles de la DEA. En effet, les concentrations médianes sont du même ordre de grandeur (~ 4 ng g^{-1} biofilm pour les produits de dégradation de la CBZ au site amont du Clain, contre 7 ng g^{-1} biofilm pour la DEA ; ~ 8 ng g^{-1} biofilm pour les produits de dégradation de la CBZ à Chitré, contre 10 ng g^{-1} biofilm, à l'exception de la Dibenz). Les autres produits de dégradation sont globalement plus concentrés que la DEA.

3.1.3. Impact de la STEU de Poitiers

La comparaison des profils de teneurs entre Clain amont et Clain aval met en évidence des rapprochements dans les fréquences de détection et les teneurs des composés parents et/ou leurs métabolites. Ainsi la concentration médiane de la CBZ (10 ng g^{-1} biofilm) apparait plus importante que celles de ses produits de dégradation au niveau de l'aval du rejet : 3 ng g^{-1} biofilm, 1 ng g^{-1} biofilm, 6 ng g^{-1} biofilm et 3 ng g^{-1} biofilm pour la 3OH-CBZ, la CBZ-epox, la Trans-CBZ et l'Acrid, respectivement. De même, la concentration médiane en DCF est plus importante en aval (59 ng g^{-1} biofilm) et dépasse celle de l'OH-DCF (17 ng g^{-1} biofilm).

Ces observations suggèrent que les composés CBZ et DCF sont fortement apportés par le rejet de la STEU. Les données de la littérature confirment leur élimination incomplète (entre

5 et 81,4 %) dans le cadre d'une filière de traitement biologique conventionnelle (Behera *et al.*, 2011 ; Luo *et al.*, 2014 ; Rosal *et al.*, 2010).

Dans une étude sur l'impact des rejets des STEU sur la contamination des biofilms, Aubertheau *et al.*, (2017) ont détecté la CBZ et le DCF dans 100 % des échantillons à des concentrations allant jusqu'à 583,5 ng g^{-1} et 190 ng g^{-1} biofilm, respectivement. De même, Huerta *et al.* (2016) ont mesuré des teneurs en DCF allant jusqu'à 103 ng g^{-1} biofilm à proximité d'une STEU en Espagne. En revanche, ils n'ont détecté la CBZ dans aucun de leurs échantillons, malgré sa présence dans l'eau. Du *et al.* (2015) ont retrouvé de la CBZ dans les biofilms d'une rivière texane impactée par des rejets de STEU, mais à des concentrations très faibles, de l'ordre de 0,90 ± 0,07 ng g^{-1} biofilm.

Très peu d'études ont en revanche mis en évidence la présence de sous-produits de la CBZ et du DCF en aval des rejets de STEU. Ainsi, Aubertheau *et al.* (2017) ont observé la présence de CBZ-epox dans plus de la moitié des biofilms prélevés avec des teneurs mesurées inférieures à celles de la CBZ (allant jusqu'à 5,3 ng g^{-1} biofilm). Huerta *et al.* (2016) ont quantifié la 2OH-CBZ dans un seul de leurs biofilms (1,8 ng g^{-1} biofilm). Il est à noter que dans l'ensemble de ces travaux, les teneurs en sous-produits n'excèdent pas celles des composés parents. Ces observations semblent en cohérence avec les données obtenues. Ainsi, il apparaîtrait que les STEU sont plus pourvoyeuses de composés parents que de leurs produits de dégradation pour les milieux aquatiques.

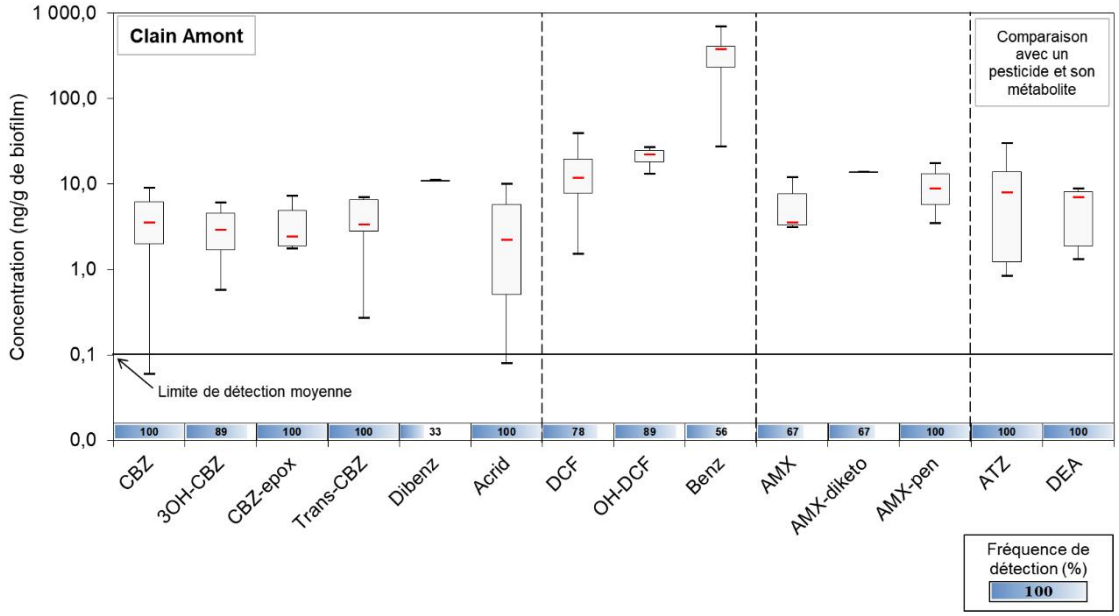


Figure 19 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans les biofilms du site amont du Clain, entre janvier et décembre 2018 (n = 9)

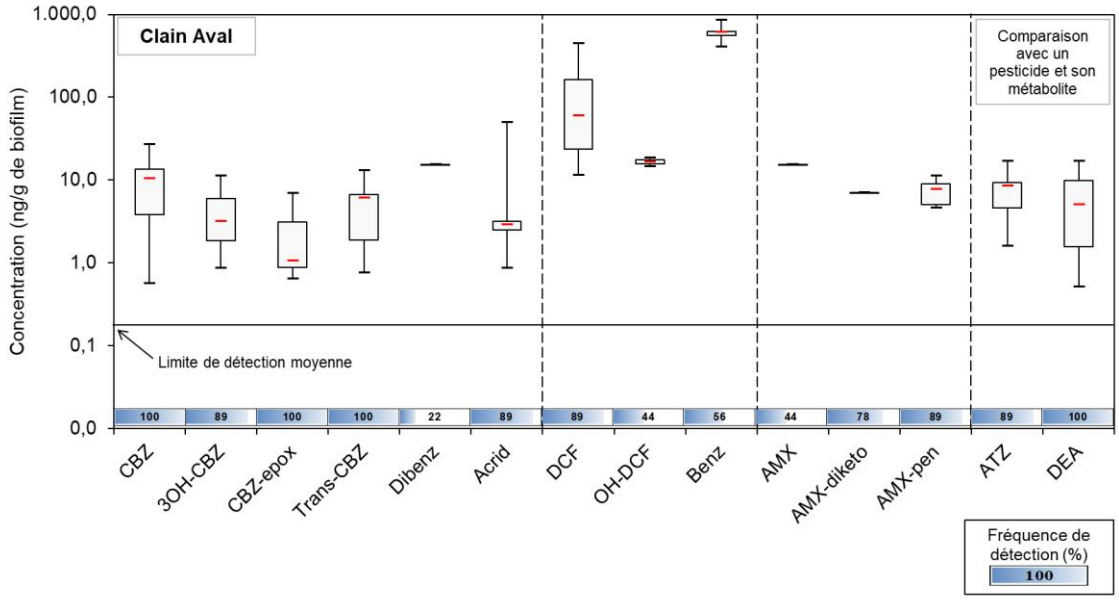


Figure 20 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans les biofilms du site aval du Clain, entre janvier et décembre 2018 (n = 9)

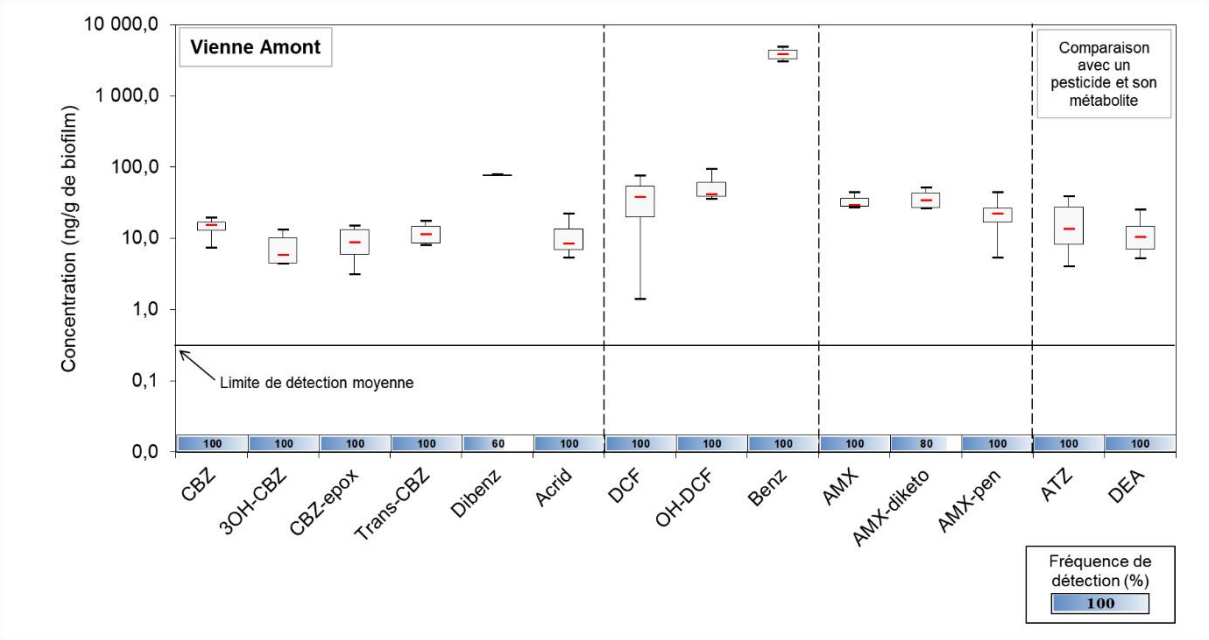


Figure 21 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans les biofilms du site amont de la Vienne, entre avril et août 2018 (n = 5)

3.2. Evolution dans le temps des teneurs

La Figure 22 met en parallèle les teneurs en différents composés ciblés mesurées chaque mois dans les biofilms, et les débits mensuels moyens du Clain ou de la Vienne.

3.2.1. Sites « amont »

Au site amont du Clain, la CBZ et l'AMX ainsi que leurs produits de dégradation ont des comportements similaires au cours d'une année. Toutes les molécules présentent un premier pic de teneurs en février 2018 (à l'exception de la CBZ-epox), puis un second pic plus important (maximum) en août, suivi d'une diminution progressive jusqu'en novembre, avant une augmentation finale des teneurs en décembre. Les fortes concentrations observées au mois d'août peuvent être expliquées par la période d'étiage qui conduit à une baisse du débit du Clain (2,27 m^3 s^{-1}). En revanche, les autres pics de teneurs (en février et décembre) sont plutôt observés en hiver, lors des forts régimes hydrologiques. La CBZ ne soignant pas des pathologies hivernales, il n'y a vraisemblablement pas de lien avec une saisonnalité de consommation. Le DCF et ses produits de dégradation ne montrent en revanche aucune

évolution temporelle caractéristique. Les teneurs en Benz dans les biofilms sont particulièrement élevées au cours des trois premiers mois de l'année et aussi en juillet, puis elles diminuent fortement jusqu' à rejoindre des teneurs comparables à celles du DCF et de l'OH-DCF.

Sur la Vienne, la CBZ et ses produits de dégradation présentent un pic en avril, avant de diminuer progressivement jusqu'en juin. L'AMX et ses produits de dégradation tendent également à présenter un pic de teneur à la même période (décalé en mai pour l'AMX-diketo). Ces augmentations semblent cependant indépendantes de l'évolution mensuelle des débits de la rivière. Tout comme au site amont du Clain, les teneurs en DCF et OH-DCF restent stables pendant toute la période d'échantillonnage, tandis que la Benz atteint un maximum en mai 2018.

Les résultats obtenus pour les deux rivières montrent que les teneurs en produits de dégradation varient significativement au cours d'une année avec des périodes distinctes de plus ou moins grande présence dans les biofilms. La similitude d'évolution des composés parents et de leurs produits de dégradation associés suggèrent qu'ils sont apportés en même temps et par le même mécanisme ce qui exclut vraisemblablement la biodégradation dans le biofilm comme source de certains métabolites.

3.2.2. Site « aval »

En aval direct de la STEU de Poitiers, les teneurs en CBZ et ses produits de dégradation suivent aussi une évolution relativement similaire dans les biofilms. L'évolution temporelle des teneurs est ainsi caractérisée par deux pics de concentration : un en septembre 2018, pendant la période d'étiage, et un autre un peu moins marqué en novembre. Les profils d'évolution des teneurs en DCF et ses produits de dégradation présentent également quelques similitudes entre l'amont et l'aval. Ainsi, les composés suivent des évolutions relativement

similaires. La mise en évidence de la même similitude en aval entre les composés parents et leurs produits de dégradation tend à confirmer que les produits de dégradation retrouvés dans les biofilms trouvent principalement leur origine dans les rejets de la STEU.

En revanche, pour l'AMX, les concentrations en composé parent et ses produits de dégradation présentent moins de similitudes avec les évolutions observées en amont si ce n'est l'augmentation des teneurs pendant la période d'étiage.

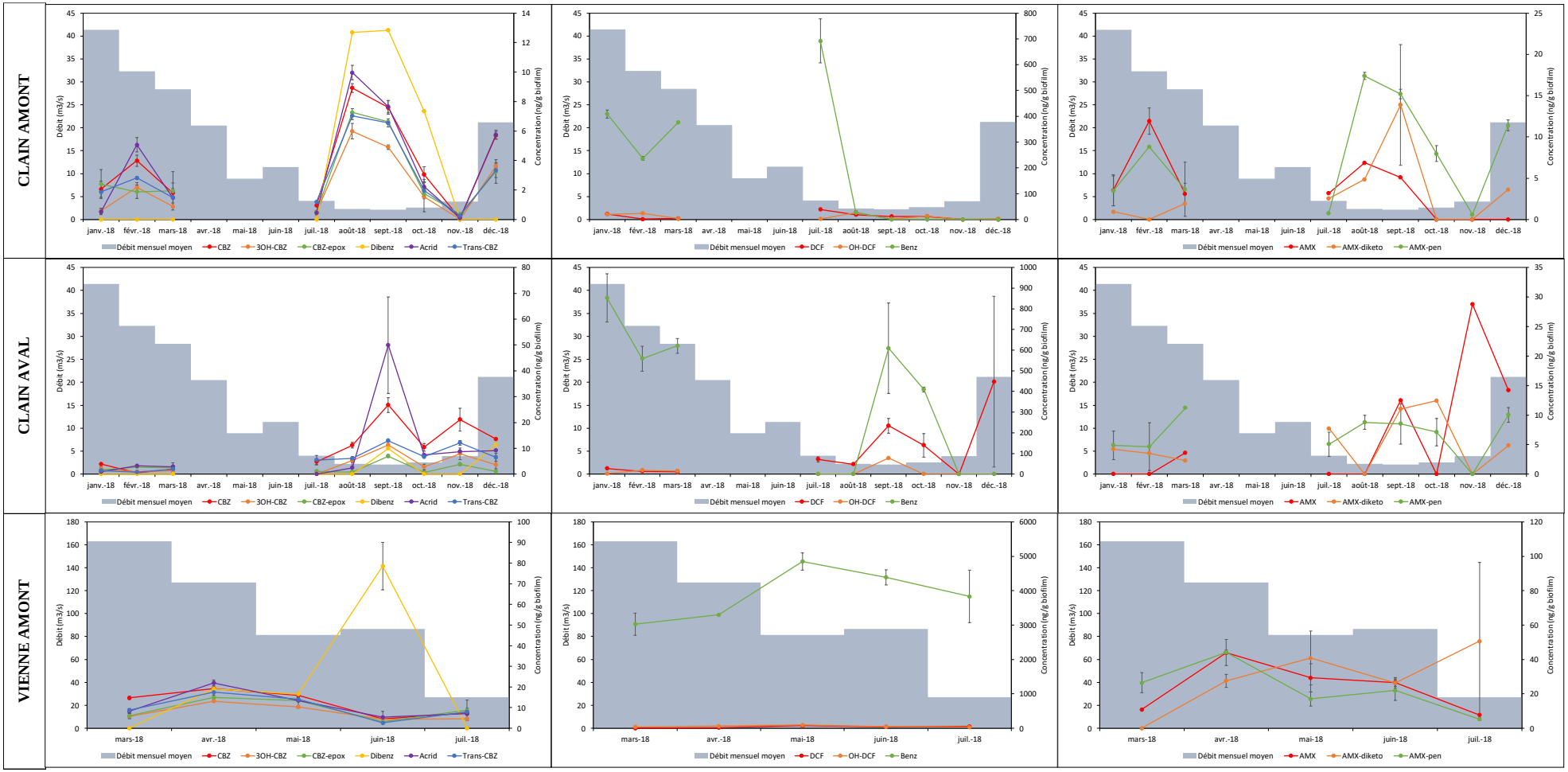


Figure 22 : Débit mensuel moyen de la rivière et évolution au cours du temps des teneurs en composés parents et leurs produits de dégradation associés dans les biofilms des sites « amont » et « aval » du Clain, et « amont » de la Vienne

4. Discussion

4.1. Large présence des produits de dégradation de médicaments dans les biofilms

Au niveau des rivières étudiées, les résultats (Clain amont et Vienne) mettent en lumière une large présence dans les biofilms des produits de dégradation de médicaments avec la présence au moins une fois des sous-produits étudiés, certains étant détectés dans 100% des échantillons analysés (CBZ-epox, Trans-CBZ, Acrid, AMX-pen pour le Clain, et tous sauf Dibenz et AMX-diketo pour la Vienne). Les concentrations mesurées en produits de dégradation s'avèrent du même ordre de grandeur que les composés parents voire parfois plus élevées. Il ressort ainsi que le rapport des niveaux de contamination entre les médicaments et leurs produits de dégradation peut être dans le même ordre de grandeur que ce qui est généralement observé pour les pesticides et leurs métabolites.

Les similitudes d'évolution des concentrations entre les composés parents et leurs produits de dégradation indiquent qu'ils sont liés à une même source d'apport/de variation dans le milieu. En ce sens, il apparait que la biodégradation au sein du biofilm n'est pas suffisamment significative pour modifier le rapport des concentrations entre le parent et les produits, ou entre les produits dans le biofilm. Ceci s'explique par le fait que les temps de demi-vie des composés organiques retrouvés dans l'environnement relèvent généralement de la journée à plusieurs semaines voire des mois (Baena-Nogueras *et al.*, 2017) alors que les temps d'équilibre de sorption/désorption sont généralement de l'ordre de quelques heures dans les biofilms (Writer *et al.*, 2011). Cette hypothèse est confortée par la similitude d'évolution des concentrations entre l'amont et l'aval de la STEU. Ainsi il apparait que les fluctuations mensuelles des concentrations observées en aval (plus élevées) se corrèlent avec les fluctuations observées sur le Clain, suggérant que les variations apportées par les rejets de STEU s'imposent comme le déterminant des teneurs en produits de dégradation.

4.2. Différences suivant les rivières

La comparaison des données en produits de dégradation de médicaments relevés sur le Clain (amont) et sur la Vienne met en évidence une différence dans les fréquences de détection ainsi que dans les concentrations globalement plus élevées dans les biofilms de la Vienne. Ces différences pourraient s'expliquer par des niveaux d'anthropisation différents entre les deux bassins versants. En effet, le bassin de la Vienne, dont la longueur totale s'élève à 372 km, couvre une superficie de 21 157 km^2, et alimente une population de 1 030 248 habitants (EPTB de la Vienne, 2020b). Le Clain, quant à lui, a une longueur totale de 144 km, couvrant une superficie de 3 200 km^2, avec une population de 285 000 habitants (Syndicat mixte des vallées du Clain Sud, 2020). Les deux sites d'intérêt sont situés dans le tronçon aval de leurs bassins versants respectifs, c'est-à-dire en aval de nombreuses pressions de rejet. Les niveaux de teneurs retrouvés en produits de dégradation (et composés parents) dans les biofilms semblent ainsi suivre le niveau d'anthropisation des bassins versants.

Toutefois, les différences de niveaux de contamination pourraient être aussi liées aux caractéristiques physico-chimiques des rivières qui *in extenso* impactent la composition et la capacité du biofilm à fixer des contaminants. Le Tableau 27 présente quelques-uns de ces paramètres suivis entre 2012 et 2019 sur le Clain et la Vienne à proximité des sites de prélèvement (Eau France, 2020a).

Tableau 27 : Physico-chimie moyenne du Clain à Saint-Benoît et de la Vienne à Valdivienne entre 2012 et 2019

	pH (unités pH)	**Conductivité (µS/cm)**	**COD (mg C/L)**	**[Ca^{2+}] (mg Ca/L)**
Clain	8,1 ± 0,2 (n = 66)	573 ± 58 (n = 65)	2,7 ± 0,9 (n = 61)	92,2 ± 9,1 (n = 33)
Vienne	7,6 ± 0,2 (n = 23)	178 ±51 (n = 23)	5,7 ± 1,2 (n = 21)	13,1 ± 4,4 (n = 15)

La Vienne ayant une concentration en matière organique (COD) plus élevée que le Clain, et le Clain un pH et une force ionique (conductivité et concentration en ions calcium) plus

importants que la Vienne, ceci pourrait justifier la différence de contamination des biofilms entre les deux cours d'eau. En effet, Zhang *et al.* (2019) ont étudié les effets de la matière organique naturelle, du pH et de la force ionique sur la photodégradation d'un antibiotique (l'oxytétracycline). Leurs résultats montrent que la matière organique naturelle peut inhiber la dégradation alors que le pH et la force ionique la favorisent. Ainsi, dans l'eau de la Vienne, les composés ciblés seraient moins dégradés que dans le Clain, ce qui favoriserait leur persistance dans les biofilms.

4.3. Rôle des rejets de STEU dans la pseudo-persistance

La comparaison entre les sites amont et aval du Clain montre que la STEU de Poitiers ne contribue pas à la diversification des composés dans le milieu, et notamment les produits de dégradation de médicaments. Effectivement, en moyenne, sept de ces molécules sur neuf ont été détectées dans les biofilms, que ce soit en amont ou en aval de la STEU.

Cependant, un enrichissement en certaines molécules ciblées est observé au rejet de la STEU de Poitiers, à des degrés différents. Ainsi, en moyenne, le DCF est 8 fois plus concentré dans les biofilms en aval, l'Acrid 3 fois, la CBZ 2,5 fois, la Benz 2 fois, et la Trans-CBZ ainsi que la 3OH-CBZ sont 1,5 fois plus concentrées. Cet apport est continu notamment pour le DCF et la CBZ qui présentent systématiquement des teneurs plus élevées au rejet de la STEU, alors que pour les produits de dégradation, l'augmentation n'est observée que ponctuellement. Ce rejet continuel de composés parents dans le milieu aquatique les rend « persistants », même s'ils sont facilement dégradés dans le cours d'eau, surtout le DCF qui est, par exemple, rapidement photolysable en conditions environnementales ($t_{1/2}$ = 9,6 ± 1,2 h (Poirier-Larabie *et al.*, 2016)). Il s'agit donc d'une « pseudo-persistance » des composés parents dans le milieu.

5. Conclusion

Cette étude met en évidence l'accumulation à des teneurs comparables de composés pharmaceutiques et de leurs produits de dégradation dans les biofilms épilithiques de rivières. Alors que les composés parents sont connus pour leur pseudo-persistance dans le milieu, il ressort que leurs produits de dégradation le sont aussi dans les biofilms et à des concentrations globalement du même ordre de grandeur que les molécules mères. Ce constat pose la question des effets écologiques et fonctionnels sur le biofilm de par la présence de composés pouvant présenter une certaine toxicité pour les microorganismes. Cependant, il manque encore aujourd'hui des connaissances sur l'écotoxicité, la durée de vie et la dynamique environnementale des produits de dégradation de médicaments afin de mieux appréhender le risque qu'ils peuvent constituer pour les milieux aquatiques. Par ailleurs, seuls quelques composés ont été suivis dans ce travail alors qu'un grand nombre de produits sont rapportés dans la littérature ou sont probablement encore inconnus. En ce sens, la présence de ces composés doit être plus prise en considération et mobiliser une plus grande connaissance scientifique.

Partie B : Biofilm ou POCIS, ou les deux ?

1. Introduction

La mise en évidence de la présence de médicaments dans les biofilms témoigne d'une exposition de la faune aquatique à travers les composés présents dans l'eau ou les sédiments. Généralement, la fixation, l'absorption et l'accumulation de polluants par le biote sont régies par des lois cinétiques et d'affinité avec les tissus et les organes (Du *et al.*, 2015). Les teneurs dans les organismes vivants reflètent ainsi plus l'exposition subie au cours de la vie qu'une valeur de contamination à l'instant de mesure. Aussi, le suivi des concentrations présentes dans l'eau est nécessaire pour déterminer la qualité d'un milieu aquatique à un moment donné.

Les connaissances actuelles montrent que les médicaments et leurs produits de dégradation associés sont essentiellement présents à l'état de « traces » dans les masses d'eau. Par conséquent, leur suivi implique la mise en œuvre de méthodes complexes de préparation d'échantillon (généralement impliquant une étape de concentration) avant son analyse (Gonzalez & Foan, 2015). Par ailleurs, l'usage de techniques d'échantillonnage ponctuelles induit aussi certaines limites de sensibilité puisqu'elles ne prennent pas en compte la variabilité temporelle (Ort *et al.*, 2010). A cet égard, de nouvelles méthodologies d'échantillonnage ont émergé ces dernières années, notamment pour le suivi des contaminants organiques. Ainsi, des systèmes d'échantillonneurs passifs dits « intégratifs » ont été développés avec succès pour le suivi des médicaments dans les eaux : POCIS pour Polar organic chemical integrative samplers. L'échantillonneur POCIS (Figure 23) est une structure métallique formée de deux anneaux en acier inoxydable et de deux membranes en polyéthersulfone hydrophile de 0,1 µm de seuil de coupure en forme de disque de 90 mm de diamètre, enchâssant 200 mg de résine, généralement de type Oasis® HLB aux

caractéristiques équilibrées hydrophile/lipophile (Alvarez *et al.*, 2004). Cette double polarité offre une plus large gamme de fixation de composés polaires que les résines traditionnelles de type C18 (Liu *et al.*, 2004 ; Zhang & Zhou, 2007). Criquet *et al.* (2017) ont montré la pertinence des POCIS vis-à-vis d'un prélèvement d'eau moyenné sur 24 h pour plusieurs composés dont des médicaments et des pesticides. Les échantillonneurs passifs ont donné des concentrations moyennes fiables comprises entre les concentrations journalières minimales et maximales.

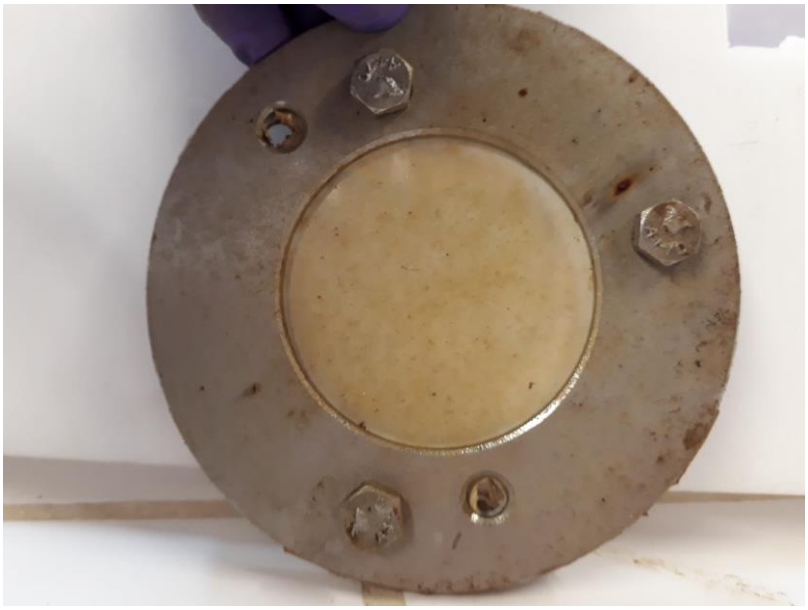


Figure 23 : Photographie d'un POCIS après une exposition de 15 jours au site « amont » du Clain

Plusieurs études ont utilisé avec succès les POCIS pour le suivi de la contamination des eaux de surface (Arenas-Sánchez *et al.*, 2019 ; Björlenius *et al.*, 2018 ; Camotti Bastos *et al.*, 2017 ; Černoch *et al.*, 2012 ; Dougherty *et al.*, 2010 ; Jones *et al.*, 2019) et souterraines (Dougherty *et al.*, 2010 ; Soulier *et al.*, 2016) par les résidus de médicaments. De Plus, Jones *et al.* (2019) ont montré le potentiel de l'échantillonnage passif comme technique de surveillance des substances prioritaires ainsi que des molécules figurant sur la liste de vigilance relative aux substances soumises à surveillance (Décision d'exécution (UE) 2018/840). Le potentiel d'utilisation des POCIS comme outil semi-quantitatif et qualitatif pour le criblage de produits pharmaceutiques et de leurs produits de dégradation a aussi été démontré par Martínez

Bueno *et al.* (2016) pour les eaux de mer. Leurs résultats ont ainsi confirmé la présence de CBZ ainsi que de certains de ses principaux métabolites (Trans-CBZ et 10-hydroxy-10,11-dihydrocarbamazépine) au cours d'une campagne de surveillance d'un an menée sur les côtes méditerranéennes françaises. Poulier *et al.* (2014 et 2018) ont également montré un fort potentiel pour le suivi des pesticides en rivières.

Dans le cadre de notre étude, un suivi de la contamination de l'eau a été mené en parallèle du suivi du biofilm avec des échantillonnages réguliers de POCIS. Les résultats ci-après montrent l'évolution des teneurs en CBZ, DCF et AMX ainsi qu'en leurs produits de dégradation mesurée au travers des POCIS. Ces résultats sont ensuite comparés et discutés au regard des observations faites à partir des biofilms.

2. Méthode

Des POCIS (EWH-Pharm, ExposMeter AB, Tavelsjö, Suède) ont été systématiquement déployés au cours des mois de colonisation des biofilms, à raison de deux POCIS tous les 15 jours. Après leur récupération, la résine a été collectée au sein d'un tube SPE afin de permettre l'extraction des composés adsorbés (suivant la procédure décrite au paragraphe 2.2.2 de la partie « matériel et méthodes »), puis leur analyse. Seuls les POCIS correspondant à la seconde quinzaine de chaque mois (i.e. prélevés en même temps que les biofilms) ont été analysés.

3. Résultats

3.1. Fréquences de détection et teneurs moyennes

Les Figure 24, Figure 25 et Figure 26 présentent les fréquences de détection, ainsi que les concentrations médianes, minimales et maximales des composés parents et de leurs produits de dégradation mesurées dans les eaux des trois sites étudiés, par l'intermédiaire d'échantillonneurs passifs de type POCIS, exposés pendant une durée de 15 jours. Le tableau

des données brutes pour chaque site, ainsi que celui des données de statistiques descriptives ayant permis la construction des boîtes à moustaches sont disponibles en Annexe I.

3.1.1. Fréquences de détection

Au niveau des sites « amont » du Clain et de la Vienne, la CBZ et ses produits de dégradation (à l'exception de la Dibenz : 88 % dans le Clain et 67 % dans la Vienne) ont été détectés dans tous les échantillons. Le DCF et l'ensemble de ses produits de dégradation sont aussi systématiquement retrouvés dans les POCIS déployés au niveau du site « amont » du Clain. Les résultats concernant les produits de dégradation du DCF au site de Chitré n'ont pas pu être exploités (à la suite de problèmes analytiques) afin de confirmer également leur présence. Seuls l'AMX et ses produits de dégradation montrent des fréquences de détection variables entre 75 % et 100 % au niveau des deux sites « amont ». Au site « aval » du Clain, tous les composés ont été détectés dans tous les POCIS déployés, à l'exception de l'AMX-pen qui présente néanmoins une fréquence de détection élevée de 88 %.

3.1.2. Teneurs aux sites « amont »

Les concentrations en CBZ varient de 0,3 à 20,8 ng L^{-1} dans l'eau du Clain et de 1,3 à 2,1 ng L^{-1} dans l'eau de la Vienne. Les teneurs mesurées dans le Clain sont en accord avec celles déterminées par Huerta *et al.* (2016) dans une rivière espagnole, qui sont comprises entre 15,0 et 38,6 ng L^{-1}. Celles mesurées dans la Vienne se rapprochent plus des concentrations trouvées par Miao & Metcalfe (2003) dans un cours d'eau canadien et qui sont de 0,7 ng L^{-1} en moyenne. Les produits de dégradation de la CBZ présentent des teneurs plus faibles que leur composé parent dans l'eau du Clain (~ 0,9 ng L^{-1} contre ~ 4,6 ng L^{-1} pour la CBZ, en valeur médiane). Dans l'eau de la Vienne, la Trans-CBZ et l'Acrid ont des concentrations du même ordre de grandeur que la CBZ (~ 2,3 ng L^{-1}), alors que les autres produits de dégradation sont moins concentrés (~ 0,4 ng L^{-1}). Très peu d'études se sont intéressées à la présence de ces produits

de dégradation dans les cours d'eau. A titre d'exemple, Miao & Metcalfe (2003) ont suivi les teneurs en 3OH-CBZ, CBZ-epox et Trans-CBZ dans une rivière au Canada. Les deux premiers composés n'ont été détectés dans aucun échantillon, alors que la Trans-CBZ a présenté une concentration moyenne de 2,2 ± 0,3 ng L^{-1} qui se rapproche de celles mesurées dans notre étude dans les eaux de la Vienne. Les valeurs médianes observées au site « amont » du Clain sont jusqu'à deux fois plus élevées par rapport aux valeurs trouvées au site de Chitré. Cependant, il est à noter que huit points de mesure ont pu être effectués sur les sites du Clain contre seulement trois pour la Vienne, rendant le traitement statistique des résultats moins robuste pour cette dernière.

Les teneurs en DCF présentent une plus grande variabilité que celles de la CBZ, mais apparaissent globalement inférieures (~ 3,2 ng L^{-1} au site « amont » du Clain et ~ 0,6 ng L^{-1} à Chitré). Sur la totalité des échantillons des sites « amont » du Clain et de la Vienne, les concentrations varient de 0,1 à 33,3 ng L^{-1}. Fernández *et al.* (2010) ont observé la même variabilité dans les teneurs en DCF dans une rivière espagnole, avec des concentrations mesurées supérieures à celles de notre étude, allant de 0,7 à 156,0 ng L^{-1}. Il en est de même pour Kasprzyk-Hordern *et al.* (2008) qui ont mesuré des concentrations en DCF dans un cours d'eau gallois comprises entre < 0,5 et 261 ng L^{-1}. Les produits de dégradation du DCF n'ont pas pu être quantifiés à Chitré, mais les teneurs mesurées dans l'eau du Clain montrent des concentrations du même ordre de grandeur que le composé parent (~ 1,9 ng L^{-1}).

Les concentrations médianes des produits de dégradation de l'AMX semblent du même ordre de grandeur que le composé parent au site « amont » du Clain (~ 0,3 ng L^{-1}) mais inférieures à Chitré (~ 0,2 ng L^{-1} contre 0,6 ng L^{-1} pour l'AMX). En comparaison des données de la littérature, les teneurs en AMX mesurées dans notre étude sont inférieures à celles déterminées par Kasprzyk-Hordern *et al.* (2008) au Pays de Galles (<10 - 622 ng L^{-1}). De même,

les teneurs en AMX-diketo sont près de 100 fois inférieures à celles mesurées par Gozlan *et al.* (2013) dans une eau souterraine israélienne (30 ng L^{-1}).

3.1.3. Impact de la STEU de Poitiers

La comparaison des teneurs entre les sites « amont » et « aval » du Clain met en évidence l'enrichissement en certains composés par le rejet de la STEU. En effet, les concentrations observées en « aval » se révèlent du même ordre de grandeur qu'en « amont » pour la Dibenz (~ 0,2 ng L^{-1}), l'Acrid (~ 0,6 ng L^{-1}) et l'AMX-pen (~ 0,4 ng L^{-1}), mais entre 8 et 43 fois plus importantes pour les autres composés. La 3OH-CBZ (~ 17,7 ng L^{-1} ; x 28), la CBZ-epox (~ 51,6 ng L^{-1} ; x 43) et la Trans-CBZ (~ 22,9 ng L^{-1} ; x 11) présentent une augmentation plus importante que la CBZ (~ 38,7 ng L^{-1} ; x 8). De même, l'OH-DCF (~ 52,8 ng L^{-1} ; x 30) a un facteur d'enrichissement supérieur à celui du DCF (~ 43,3 ng L^{-1} ; x 13). Cependant, la Benz présente une augmentation plus faible (~ 18,7 ng L^{-1} ; x 9). Quant à l'AMX-diketo (~ 2,4 ng L^{-1} ; x 10), son facteur d'enrichissement est du même ordre de grandeur que sa molécule mère, l'AMX (~ 2,5 ng L^{-1} ; x 10). Ces observations suggèrent que la CBZ, le DCF et l'AMX ainsi que leurs produits de dégradation sont fortement apportés par le rejet de la STEU. Ceci confirme le fait que les STEU sont une source importante de composés pharmaceutiques (parents et produits de dégradation) pour les milieux aquatiques (Jelić *et al.*, 2012 ; Miège *et al.*, 2009). Les concentrations en CBZ (10,3 – 158,3 ng L^{-1}), 3OH-CBZ (8,7 – 41,7 ng L^{-1}) et Trans-CBZ (4,8 – 46,2 ng L^{-1}) mesurées en aval direct de STEU dans notre étude sont inférieures à celles déterminées par Miao & Metcalfe (2003) dans un effluent de STEU au Canada (426,2 ± 6,1 ng L^{-1} pour la CBZ, 101,5 ± 0,3 ng L^{-1} pour la 3OH-CBZ et 1325,0 ± 12,2 ng L^{-1} pour la Trans-CBZ), alors que celles en CBZ-epox (15,3 – 221,8 ng L^{-1}, dans cette étude) sont du même ordre de grandeur (52,3 ± 1,2 ng L^{-1}). En aval de STEU au Royaume uni, Ashton *et al.* (2004) ont mesuré des teneurs en DCF allant de < 20 à 568 ng L^{-1} qui sont supérieures à celles déterminées dans notre étude (12,9 – 135,5 ng L^{-1}). En Allemagne, Stülten *et al.* (2008)

ont détecté la 4'OH-DCF et la 5OH-DCF dans des effluents de STEU à des concentrations allant jusqu'à 710 ng L^{-1} et 450 ng L^{-1}, respectivement. Ces valeurs sont supérieures à la concentration maximale en OH-DCF mesurée en aval de la STEU de Poitiers (267,8 ng L^{-1}). Finalement, les teneurs en AMX-diketo et AMX-pen déterminées dans notre étude (~ 2,4 ng L^{-1} et ~ 0,3 ng L^{-1}, respectivement) sont inférieures à celles mesurées par Gozlan *et al.* (2013) dans un effluent secondaire en Israël (500 ng L^{-1} pour l'AMX-diketo et 150 ng L^{-1} pour l'AMX-pen).

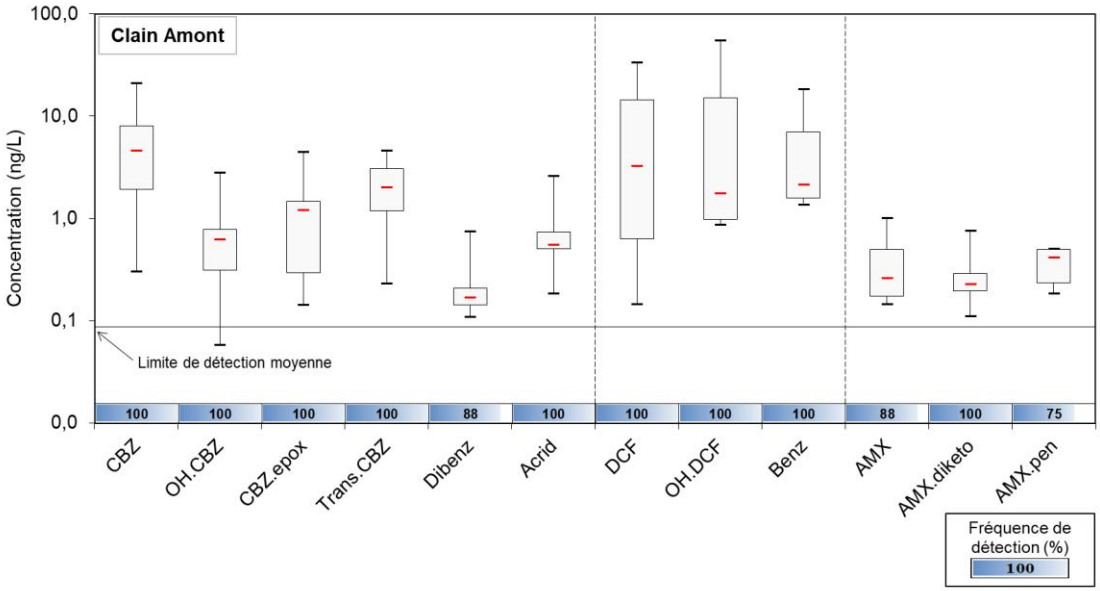


Figure 24 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans l'eau du site amont du Clain, entre janvier et décembre 2018 (n = 8)

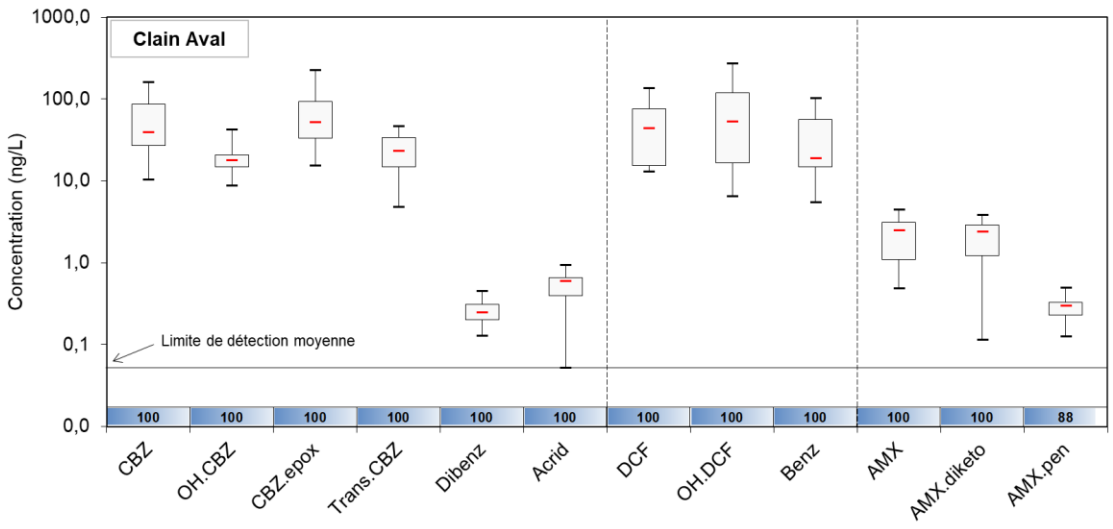


Figure 25 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans l'eau du site aval du Clain, entre janvier et décembre 2018 (n = 8)

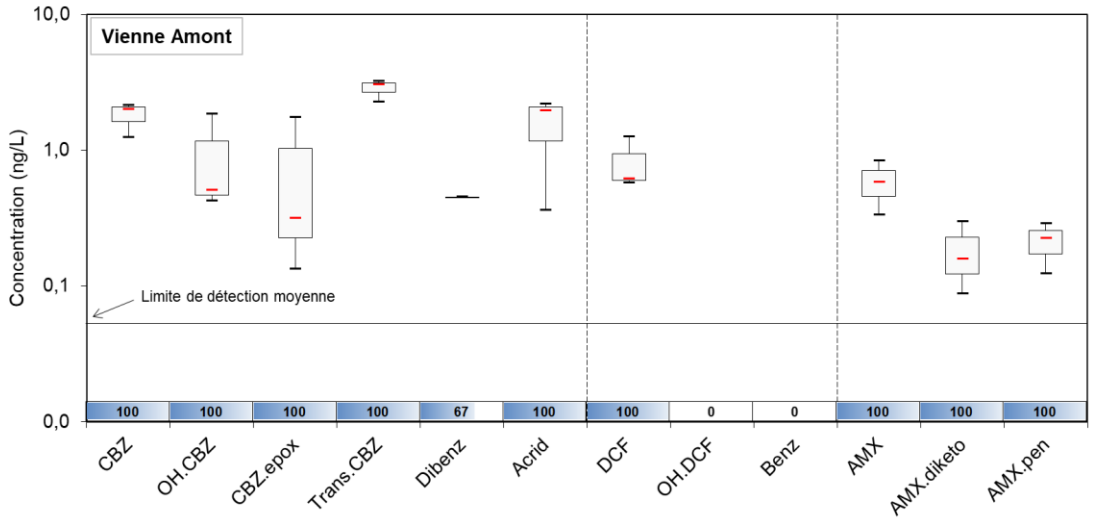


Figure 26 : Concentrations médianes et fréquences de détection des composés parents et de leurs produits de dégradation associés dans l'eau du site amont de la Vienne, entre mai et juillet 2018 (n = 3)

3.2. Evolution des teneurs dans le temps

La Figure 27 montre l'évolution mois par mois des teneurs en composés ciblés dans l'eau (à travers les POCIS) et du débit mensuel moyen du Clain. Le site « amont » de la Vienne n'a pas été considéré puisque peu de mesures ont pu être effectuées (n = 3).

3.2.1. Site « amont » du Clain

Au site « amont » du Clain, les évolutions des teneurs de chaque composé parent et de ses produits de dégradation associés dans l'eau sont similaires. Pour la famille de la CBZ, une diminution s'opère les trois premiers mois de l'année, puis un pic est observé en septembre 2018, correspondant à la période d'étiage, et un second pic moins marqué a lieu en novembre. Quant au DCF et ses produits de dégradation, l'OH-DCF évolue parallèlement à son composé parent et ils présentent presque les mêmes tendances que la famille de la CBZ, i.e. une diminution les trois premiers mois et un pic en septembre 2018. Cependant, le second pic en novembre 2018 semble absent. Quant à la Benz, elle présente des teneurs plus élevées de janvier à mars 2018, avec un pic en février, puis une concentration presque constante le reste de l'année. Finalement, le même pic est observé en septembre 2018 pour les teneurs en AMX et ses produits de dégradation, avec une augmentation finale en décembre 2018 pour cette famille.

La mise en évidence, comme dans les biofilms, d'une évolution conjointe des concentrations des composés parents et de leurs produits de dégradation dans l'eau tend à confirmer l'hypothèse d'une source commune d'apport et de peu de transformation dans la colonne d'eau.

3.2.2. Site « aval » du Clain

En aval de la STEU de Poitiers, les teneurs en composés parents et leurs produits de dégradation suivent aussi une évolution relativement similaire dans l'eau. Cette observation montre que le prorata des teneurs en composés parents et en leurs produits de dégradation est fixé par le rejet de la STEU et *in extenso* par les processus épuratoires qui auraient une efficacité similaire d'un mois à l'autre. Ainsi, pour la famille de la CBZ, un maximum est observé pour ce composé parent et la CBZ-epox en février 2018, mais pas pour les autres

produits de dégradation. En septembre 2018, tous les composés de cette famille présentent un pic, qui est décalé en octobre pour la 3OH-CBZ, avant une légère augmentation finale en décembre 2018. Le maximum en février 2018 est également observé pour le DCF et ses produits de dégradation, ainsi que le pic en septembre pour le DCF et la Benz, et en octobre pour l'OH-DCF. Quant à la famille de l'AMX, les teneurs en AMX-pen sont presque constantes sur toute l'année, alors que l'AMX et l'AMX-diketo présentent une augmentation les trois premiers mois, suivie des mêmes pics observés pour les deux autres familles, i.e. en septembre puis en décembre 2018.

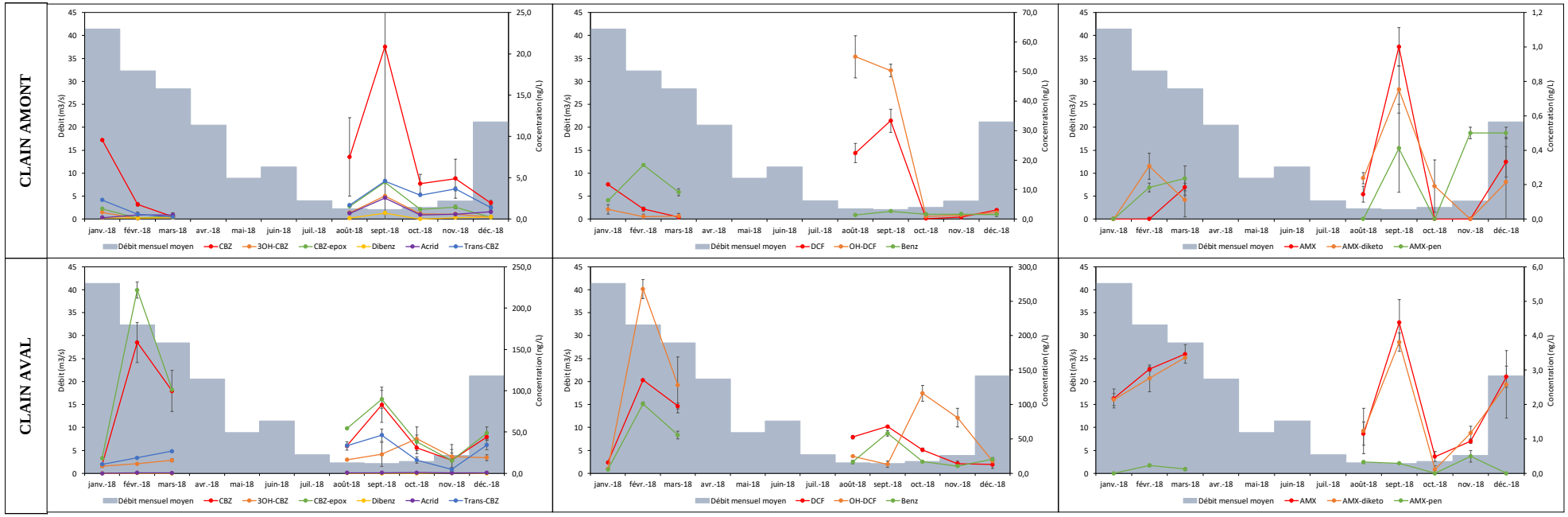


Figure 27 : Débit mensuel moyen de la rivière et évolution au cours du temps des teneurs en composés parents et leurs produits de dégradation associés dans les eaux des sites « amont » et « aval » du Clain

4. Comparaison entre les biofilms et les POCIS

Comme illustré par les observations réalisées notamment sur le Clain, les données retournées par les échantillonneurs passifs et les biofilms ne semblent pas toujours concordantes. Aussi, une comparaison statistique a été réalisée de manière à confronter les teneurs mesurées dans les biofilms et celles mesurées via les POCIS au niveau des sites « amont » et « aval » du Clain (i.e. sites pour lesquels le jeu de données est le plus important). Les Tableau 28 et Tableau 29 regroupent les coefficients de corrélation de Pearson (relation linéaire) et de Spearman (relation monotone non-linéaire) qui évaluent, pour chaque composé ciblé, la relation entre les concentrations dans les biofilms et les POCIS.

Globalement, les coefficients de corrélation calculés sont tous faibles (< 0,63 en corrélation de Pearson, sauf AMX-diketo = 0,88 ; < 0,77 en corrélation de Spearman) et confirment une absence d'évolution coordonnée entre les teneurs en composés pharmaceutiques et leurs produits de dégradation mesurées dans les biofilms et celles déterminées dans l'eau par l'intermédiaire des échantillonneurs passifs. En effet, dans les biofilms les teneurs en produits de dégradation de la CBZ sont du même ordre de grandeur que le composé parent alors qu'elles sont plus faibles dans les POCIS. De plus, dans les biofilms, les concentrations en DCF et ses produits de dégradation sont supérieures à celles en CBZ et ses produits de dégradation, tandis que dans les POCIS il s'agit du cas inverse. De même, des différences sont aussi observées pour le DCF et ses produits de dégradation. Ainsi l'OH-DCF présente des niveaux du même ordre de grandeur que le DCF dans les biofilms, avec la Benz beaucoup plus concentrée alors que dans les POCIS, les produits de dégradation du DCF ont des teneurs légèrement plus faibles que la molécule mère. En aval de la STEU, des différences ont également été observées entre les deux compartiments. Ainsi, les concentrations en composés parents dans les biofilms sont supérieures à celles en leurs produits de dégradation, alors qu'un enrichissement en toutes les molécules ciblées est observé dans les POCIS. Finalement,

les évolutions des teneurs dans le temps présentent des profils différents dans les biofilms et dans les POCIS.

Dans le cas des composés ciblés de notre étude, plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer la différence observée entre l'accumulation dans les biofilms et les POCIS :

- *Une différence d'affinités avec les sites de sorption.* Les tendances observées sur l'ensemble des composés étudiés montrent que les biofilms accumulent davantage les composés relativement hydrophobes (DCF et sous-produits), alors que la résine des POCIS a plus d'affinité pour les molécules polaires (CBZ et sous-produits). La résine entrant dans la conception des POCIS (Oasis® HLB, Waters SA) est dite amphiphile et leur confère théoriquement un potentiel à fixer mieux des composés polaires que le biofilm.
- *Une différence de cinétique de saturation.* Les biofilms sont un compartiment aquatique vivant soumis à un cycle de vie. Ainsi, selon le moment de l'échantillonnage, le biofilm peut être à différents stades : mature, brouté, partiellement arraché ou en reformation. Ces différents stades jouent sur la saturation ou la disponibilité des sites de fixation. De plus, le biofilm a une composition variable au grès des réponses de l'activité microbienne sous l'influence de la température et de la composition de l'eau. Le POCIS est, au contraire, de composition/nature fixe même si son efficacité est aussi modulée par les changements physico-chimiques. Par conséquent, le biofilm est caractérisé par une plus forte évolutivité que les POCIS.
- *La biodégradation par les microorganismes.* Au niveau du site « amont » du Clain, les teneurs en produits de dégradation (dont les métabolites) dans les POCIS sont plus faibles que celles des composés parents (CBZ et DCF), alors qu'elles sont du même ordre de grandeur dans les biofilms. Ceci pourrait être un indicateur d'une formation des produits de dégradation dans le biofilm *via* l'activité microbienne. En revanche,

les biofilms collectés au niveau du site « aval » présentent des teneurs en CBZ et en DCF proches de celles de leurs produits de dégradation. Sous l'influence du rejet de la STEU, il semblerait que l'accumulation de la CBZ et du DCF (issus des eaux usées traitées) soit un mécanisme prépondérant par rapport à la biodégradation, ou par rapport à la fixation des produits de dégradation. Le développement de bio-encrassement sur la face extérieure des POCIS peut avoir aussi permis la formation de produits de dégradation.

Tableau 28 : Corrélations de Pearson entre les teneurs mesurées dans les biofilms et les POCIS aux sites "amont" et "aval" du Clain

Corrélation de Pearson (linéaire)	Clain Amont (n = 8)	Clain Aval (n = 8)
CBZ	0,46	-0,35
3OH-CBZ	0,45	0,21
CBZ-epox	0,59	-0,01
Trans-CBZ	0,17	0,25
Dibenz	0,25	-0,49
Acrid	0,53	0,17
DCF	0,56	-0,52
OH-DCF	0,20	0,20
Benz	0,63	0,63
AMX	-0,17	0,47
AMX-diketo	0,88	0,47
AMX-pen	-0,11	-0,51

Tableau 29 : Corrélations de Spearman entre les teneurs mesurées dans les biofilms et les POCIS aux sites "amont" et "aval" du Clain ; n.d. = non déterminé

Corrélation de Spearman (monotone non-linéaire)	Clain Amont (n = 8)	Clain Aval (n = 8)
CBZ	0,33	-0,31
3OH-CBZ	0,24	0,67
CBZ-epox	0,38	0,15
Trans-CBZ	-0,12	0,21
Dibenz	-0,28	-0,49
Acrid	0,69	0,36
DCF	0,29	n.d.
OH-DCF	0,15	n.d.
Benz	0,77	n.d.
AMX	-0,44	0,44
AMX-diketo	0,20	0,50
AMX-pen	-0,14	-0,41

De nombreuses études se sont intéressées à la détermination simultanée des teneurs en différents contaminants par l'intermédiaire du biote (biodisponibilité) et par divers échantillonneurs passifs (Bourgeault *et al.*, 2011 ; Casiot *et al.*, 2009 ; Diviš *et al.*, 2012 ; Kovarova *et al.*, 2012). Cependant, une telle différenciation entre la contamination du milieu d'exposition (i.e. l'eau perçue au travers du POCIS) et le vivant n'est pas systématique. En effet, nos résultats sont en contradiction avec ceux de Vermeirssen *et al.* (2005) concernant la contamination de rivières par les estrogènes provenant de rejets de STEU. Ces auteurs ont montré que les résultats provenant de l'échantillonnage ponctuel, de l'échantillonnage passif de type POCIS et de la bioaccumulation dans des truites étaient corrélés. Ainsi, dans leur étude, les POCIS fournissent une mesure intégrée et biologiquement significative de l'estrogénicité puisqu'ils semblent accumuler les estrogènes selon un schéma similaire à celui de la truite. De même, Røyset *et al.* (2005) ont montré que les teneurs en aluminium (Al) dans les branchies des truites d'une rivière norvégienne étaient significativement corrélées avec

celles mesurées dans des échantillonneurs passifs de type DGT (*diffusive gradient in thin film*) ($0,75 < r < 0,85$; $p < 0,05$).

5. Conclusion

La comparaison entre les teneurs mesurées dans les biofilms et celles déterminées dans les POCIS montre qu'il n'y a pas de recouvrement entre ces deux types d'échantillonnage. L'utilisation des POCIS paraît plutôt adaptée pour l'évaluation des teneurs en composés relativement hydrophiles dissous dans l'eau, qui semblent s'accumuler moins dans les biofilms. Cependant, il semblerait plus difficile de prévoir les concentrations en composés ciblés dans les biofilms à partir de données d'échantillonnage passif. En effet, Gonzalez & Foan (2015) ont montré que les teneurs déterminées par échantillonnage passif sont essentiellement régies par les niveaux de contaminants dans le milieu et leur spéciation, tandis que dans le cas du biote elles sont aussi soumises à la variabilité des conditions trophiques et métaboliques.

En conclusion, les données générées par les POCIS et par les biofilms offrent une vision complémentaire de la contamination d'un milieu, permettant ainsi de cibler des problématiques liées à des composés ou des produits de dégradation propres à chacun de ces deux compartiments. Des travaux récents soulignent aussi ce constat et mettent en évidence que le biofilm fait bien ressortir les zones sous pressions anthropiques directes – *via* certains traceurs comme le sucralose – alors que les POCIS permettent de mieux suivre la dissémination/persistance environnementale de la CBZ (Camotti Bastos *et al.*, 2017).

Chapitre 2

Présence de produits de dégradation dans les milieux aquatiques : valeurs homogènes ou site-dépendantes ?

Chapitre 2 : Présence de produits de dégradation dans les milieux aquatiques : valeurs homogènes ou site-dépendantes ?

1. Introduction

Si la présence de composés pharmaceutiques dans les eaux naturelles est désormais démontrée dans les rivières du monde entier (Aubertheau *et al.*, 2017 ; de Solla *et al.*, 2016 ; Du *et al.*, 2015 ; Huerta *et al.*, 2016 ; Miao & Metcalfe, 2003 ; Wilkinson *et al.*, 2017), de nombreuses études rapportent également une accumulation de ces contaminants dans d'autres compartiments des milieux aquatiques. Ainsi, les sédiments peuvent accumuler des composés pharmaceutiques (Li *et al.*, 2014 ; Tamtam *et al.*, 2011) mais aussi favoriser les processus de dégradation microbienne (Kunkel & Radke, 2008). Plusieurs études ont rapporté une accumulation significative de produits pharmaceutiques dans les organismes benthiques comme les biofilms épilithiques (Aubertheau *et al.*, 2017 ; Huerta *et al.*, 2016) et les invertébrés (Burket *et al.*, 2019 ; de Solla *et al.*, 2016 ; Du *et al.*, 2015 ; Xie *et al.*, 2019), ainsi que dans les poissons (Brooks *et al.*, 2005 ; Huerta *et al.*, 2013 ; Xie *et al.*, 2019). Seules les plantes aquatiques semblent ne pas accumuler, ou faiblement, ces composés (Wilkinson *et al.*, 2018). Une telle « omniprésence » de produits pharmaceutiques dans l'environnement aquatique pose la question quant à celle de leurs métabolites et produits de transformation (liés aux éventuels traitements dans les STEU ou à l'atténuation naturelle par hydrolyse, photo-dégradation…) dans nombre de ces compartiments.

En effet, après leur administration à l'homme ou à l'animal, les composés pharmaceutiques subissent un certain nombre de transformations à des degrés variables. Durant une première phase, les médicaments sont partiellement métabolisés dans l'organisme, et les métabolites ainsi que les composés parents sont rejetés dans les eaux usées (López-Serna *et al.*, 2012). Au cours d'une deuxième phase, les composés pharmaceutiques et leurs métabolites excrétés

subissent des transformations biologiques et physico-chimiques (sorption, hydrolyse, oxydation, photo-dégradation et biodégradation) lors de leur passage dans les réseaux d'eaux usées et le traitement de ces dernières (Luo *et al.*, 2014 ; Verlicchi *et al.*, 2012). Finalement, des processus biochimiques similaires à ceux de la deuxième phase transforment davantage les composés pharmaceutiques et les produits de dégradation présents dans les effluents des STEU rejetés dans l'environnement, au cours de leur écoulement à travers différentes matrices telles que les eaux de surface, les sols et les eaux souterraines (Rehman *et al.*, 2015).

Dans cette partie, nous proposons d'étudier le devenir de ces produits de dégradation – formés lors du cheminement des produits pharmaceutiques vers l'environnement aquatique – dans différents compartiments du milieu aquatique. Pour ce faire, les composés ciblés ont été quantifiés dans les eaux, les biofilms, les sédiments et les corbicules (*Corbicula fluminea*) de trois cours d'eau français. Ensuite, un traitement statistique des données ainsi générées a permis de définir les moteurs principaux qui régissent la contamination de ces différents compartiments du milieu aquatique par ces composés.

2. Matériel et méthodes

2.1. Rappel des sites de l'étude

Une campagne d'échantillonnage a été menée en septembre 2018 sur trois rivières (Vienne, Clain et Thouet) situées dans la même partie de l'Ouest de la France (nord du département de la Vienne et sud des Deux-Sèvres) (Figure 28). Ces trois rivières ont été choisies pour leurs caractéristiques similaires en termes d'occupation rurale/urbaine, d'activités agricoles/socio-économiques et de conditions hydro-climatiques. Elles sont typiques et représentatives des eaux de surface de cette partie Centre Ouest de la France. Dix sites d'échantillonnage ont été sélectionnés en fonction de leur emplacement : en amont ou en aval de zones anthropisées

(Figure 28). Sur chaque site, une zone d'échantillonnage de 20 m^2 a été prospectée pour collecter des échantillons des différents compartiments d'intérêt.

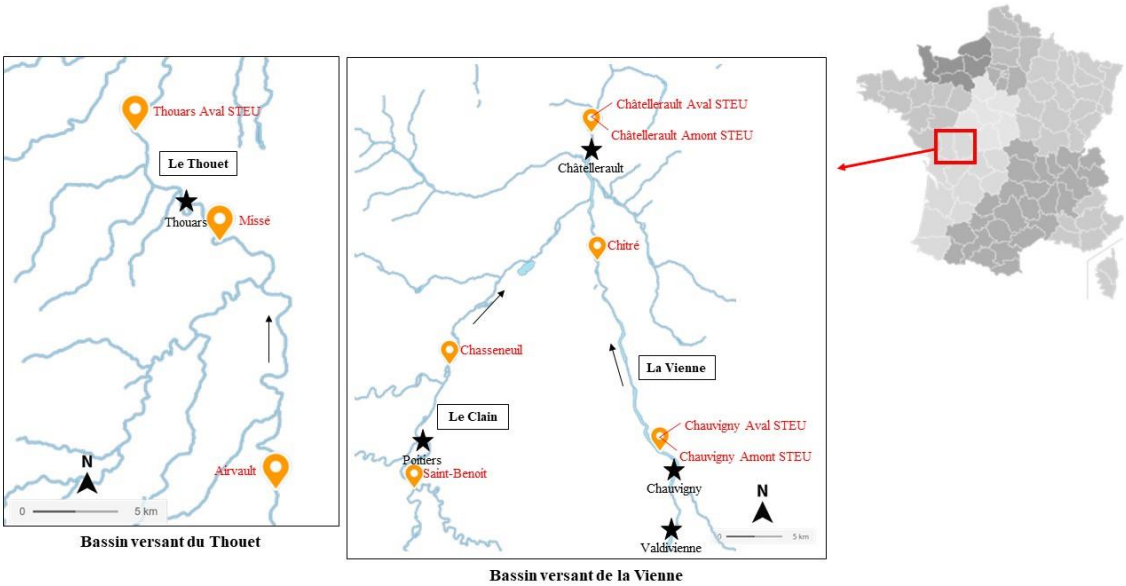


Figure 28 : Campagne multi-compartiments : sites de prélèvement

2.2. Rappel de l'analyse des composés ciblés

Les analytes ciblés ont été extraits des matrices solides (i.e. biofilms, sédiments et corbicules) par une extraction liquide sous pression (PLE) suivie d'une extraction en phase solide (SPE). Les extraits obtenus ont été évaporés à sec sous un flux d'azote à 30 ° C. Enfin, ils ont été restitués dans un mélange méthanol/eau (10/90 ; v/v) et dopés avec des concentrations croissantes d'un mélange de standards analytiques pour la quantification par la méthode des ajouts dosés. Quant aux échantillons d'eau, ils ont été filtrés à travers une membrane en PVDF de 0,45 µm de seuil de coupure avant extraction par SPE des composés. Les extraits obtenus

ont subi une évaporation et une restitution dans les mêmes conditions que les matrices solides.

L'analyse des échantillons ainsi extraits a été réalisée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse quadripolaire à temps de vol (UPLC/Q-TOF-MS).

2.3. Analyse factorielle discriminante

Les données obtenues ont fait l'objet d'un traitement statistique afin de pouvoir mettre en évidence les variabilités inter-compartiments et inter-sites, notamment entre rivières et entre exposition amont et aval. L'analyse factorielle discriminante (AFD) a été choisie pour sa fonctionnalité à étudier le lien entre une variable qualitative à expliquer et des variables quantitatives dites explicatives. Elle permet de mettre en évidence les caractéristiques qui permettent de séparer au mieux les différents groupes d'appartenance d'une population donnée. Ainsi, il s'agit de projeter les observations sur un graphique à une, deux ou trois dimensions afin de vérifier si les groupes auxquels elles appartiennent sont bien distincts, tout en identifiant les caractéristiques de ces groupes.

Les calculs ont été réalisés *via* la fonction « desDA » (***des**criptive **D**iscriminant **A**nalysis*) du *package* « DiscriMiner » (version 0.1-29) du logiciel de statistiques « R » (version 4.0.2). Cette fonction requiert trois arguments : (i) la matrice des variables explicatives, (ii) le vecteur de la variable qualitative définissant les groupes d'appartenance à distinguer et (iii) la matrice de covariance à utiliser. Pour la matrice de covariance, les possibilités sont « *within* », i.e. cas où la matrice de covariance intra-classe estimée est utilisée dans les calculs ou « *total* », i.e. cas où la matrice de covariance totale est employée. La différence entre ces deux options réside dans les valeurs propres obtenues. Dans cette étude, la matrice de covariance totale a été choisie. La fonction « desDA » renvoie une liste avec les éléments suivants : (i) « *power* » : le tableau des pouvoirs discriminants des variables explicatives, (ii) « *values* » : le tableau des

valeurs propres qui rapporte la part de variance expliquée par chaque axe de projection, (iii) « *discrivar* » : le tableau des variables discriminantes, c'est-à-dire les coefficients des fonctions discriminantes linéaires, (iv) « *discor* » : le tableau des corrélations entre les variables et les axes discriminants, contenant les coordonnées des variables explicatives dans le plan de projection et (v) « *scores* » : le tableau des scores discriminants pour chaque observation, c'est-à-dire les coordonnées des observations dans le plan de projection (Lebart *et al.*, 2006). Ainsi, les graphiques représentant les individus séparés selon leur groupe d'appartenance et celui représentant les variables explicatives peuvent être tracés.

Dans cette étude, la variable qualitative peut être le compartiment étudié (eau, sédiment, biofilm, corbicule), le cours d'eau ou la localisation par rapport à une zone anthropisée, les variables explicatives étant les teneurs en différents composés ciblés mesurées dans chaque échantillon. Ainsi, l'AFD permettrait de séparer au mieux les échantillons selon la nature du compartiment étudié, la rivière où ils ont été prélevés ou la localisation du site de prélèvement en amont ou en aval d'une zone d'anthropisation, tout en indiquant les composés ciblés qui distinguent chaque groupe.

3. Résultats

3.1. Présence des produits de dégradation dans les milieux aquatiques

3.1.1. Niveaux de contamination des différents compartiments par les produits de dégradation

La Figure 29 montre les fréquences de détection et les boîtes à moustaches des teneurs en DCF et en CBZ ainsi qu'en leurs produits de dégradation associés dans l'eau, les biofilms, les sédiments et les corbicules. Les boîtes à moustaches représentent la totalité des données obtenues le long des trois rivières. Le tableau des données brutes pour chaque compartiment et chaque site, ainsi que celui des données de statistiques descriptives ayant permis la

construction des boîtes à moustaches sont disponibles en Annexe II. La famille de l'AMX n'a pas été considérée du fait de l'impossibilité de la distinguer de son produit de dégradation, l'AMX-diketo.

Tous les produits de dégradation étudiés et leurs composés parents ont été retrouvés dans tous les échantillons des trois rivières, avec quelques exceptions dues à des problèmes analytiques. Ces résultats mettent en évidence la présence importante de produits de dégradation des composés pharmaceutiques dans le milieu aquatique.

Pour la famille de la CBZ, les concentrations médianes dans l'eau varient de 0,19 µg L^{-1} pour la Trans-CBZ à 0,56 µg L^{-1} pour la CBZ. Dans les biofilms, les concentrations médianes sont comprises entre 231 ng g^{-1} pour la Trans-CBZ et 1553 ng g^{-1} pour la Dibenz. Dans les sédiments, les concentrations médianes sont comprises entre 44 ng g^{-1} pour la 3OH-CBZ et 124 ng g^{-1} pour la CBZ. Enfin, dans les corbicules, les niveaux médians varient de 338 ng g^{-1} pour la Trans-CBZ à 997 ng g^{-1} pour l'Acrid. Ces résultats montrent que les concentrations médianes de la Dibenz et de l'Acrid se trouvent à des niveaux proches de celles de la CBZ. Les autres produits sont généralement moins concentrés.

Pour la famille du DCF, les données montrent *a contrario* que les produits de dégradation sont plus concentrés que le composé parent. Ainsi, les concentrations médianes dans l'eau vont de 0,09 µg L^{-1} pour la Benz à 0,24 µg L^{-1} pour l'OH-DCF. Dans les biofilms, les niveaux médians varient de 283 ng g^{-1} pour le DCF à 2495 ng g^{-1} pour la Benz. Dans les sédiments, les concentrations médianes varient de 23 ng g^{-1} pour le DCF à 124 ng g^{-1} pour la Benz. Enfin, dans les corbicules, les concentrations médianes sont comprises entre 383 ng g^{-1} pour le DCF et 912 ng g^{-1} pour l'OH-DCF.

Les niveaux observés s'accordent avec les données rapportées dans la littérature scientifique. Ainsi dans l'eau, les concentrations en CBZ (0,28 – 0,74 µg L^{-1}) sont proches des niveaux les

plus élevés déterminés par Koba *et al.* (2018) dans une lagune de traitement tertiaire d'effluents d'eaux usées en République tchèque (290 – 560 ng L^{-1}), mais supérieures aux concentrations mesurées par Du *et al.* (2014) dans un cours d'eau impacté par des rejets de STEU dans le centre du Texas, aux États-Unis (370 ± 14 ng L^{-1}). Les niveaux de DCF (0,07 – 0,43 µg L^{-1}) sont du même ordre de grandeur que ceux déterminés par Koba *et al.* (2018) (22 – 870 ng L^{-1}), ou par Wilkinson *et al.* (2017) dans trois rivières du sud de l'Angleterre (< 0,96 – 253 ng L^{-1}), mais supérieures à ceux mesurés par Du *et al.* (2014) (86 ± 55 ng L^{-1}). Les valeurs ainsi trouvées dans notre étude font état d'une présence significative de ces composés dans le milieu aquatique.

Dans les biofilms également, les niveaux de CBZ sont plus élevés que ceux mesurés par Aubertheau *et al.* (2017) dans la Vienne. Par exemple, au site aval de la STEU de Châtellerault, la concentration en CBZ dans cette étude est de 1095 ± 28 ng g^{-1}, alors que dans l'étude d'Aubertheau *et al.* (2017) elle était de 583,5 ng g^{-1}. De même pour la concentration en DCF qui s'élève à 64 ± 26 ng g^{-1} au site aval de la STEU de Châtellerault dans cette étude, et à 37,2 ng g^{-1} dans l'étude d'Aubertheau *et al.* (2017).

Dans les sédiments, Koba *et al.* (2018) ont déterminé des niveaux beaucoup plus faibles de CBZ (5,1 – 16 ng g^{-1}) et de DCF (2,6 – 30 ng g^{-1}) par rapport à ceux déterminés dans cette étude (37 – 224 ng g^{-1} pour la CBZ, 3 – 174 ng g^{-1} pour le DCF).

Enfin, la CBZ n'a pas été détectée dans les corbicules du lac Taihu en Chine (Xie *et al.*, 2015), et les concentrations en DCF (1,41 – 5,42 ng g^{-1}) étaient inférieures à celles mesurées dans cette étude (81 – 1359 ng g^{-1}).

Quant aux produits de dégradation, ils sont beaucoup moins étudiés que les composés pharmaceutiques « parents ». Dans leur étude d'une rivière canadienne, Miao & Metcalfe (2003) n'ont détecté la 3OH-CBZ et la CBZ-epox dans aucun échantillon, mais ont déterminé

des concentrations de Trans-CBZ de 2,2 ± 0,3 ng L^{-1}, bien inférieures à celles mesurées dans cette étude (0,14 – 0,30 µg L^{-1}). Koba *et al.* (2018) ont détecté la CBZ-epox et la Trans-CBZ dans l'eau de la lagune à des concentrations allant jusqu'à 71 ng L^{-1} (inférieure à cette étude, 0,14 – 0,40 µg L^{-1}) et 490 ng L^{-1} (supérieure à cette étude, 0,14 – 0,30 µg L^{-1}), respectivement, et dans les sédiments à des concentrations inférieures à la limite de quantification. De plus, Aubertheau *et al.* (2017) ont détecté la CBZ-epox dans les biofilms de la Vienne avec une concentration maximale estimée à 5,3 ng g^{-1} qui est inférieure à celles déterminées dans cette étude (152 – 548 ng g^{-1}). Enfin, Stülten *et al.* (2008) ont détecté la 4'OH-DCF et la 5OH-DCF dans des effluents de STEU en Allemagne, à des concentrations supérieures aux niveaux mesurés dans cette étude (0,10 – 0,52 µg L^{-1}), allant jusqu'à 0,71 µg L^{-1} et 0,45 µg L^{-1}, respectivement.

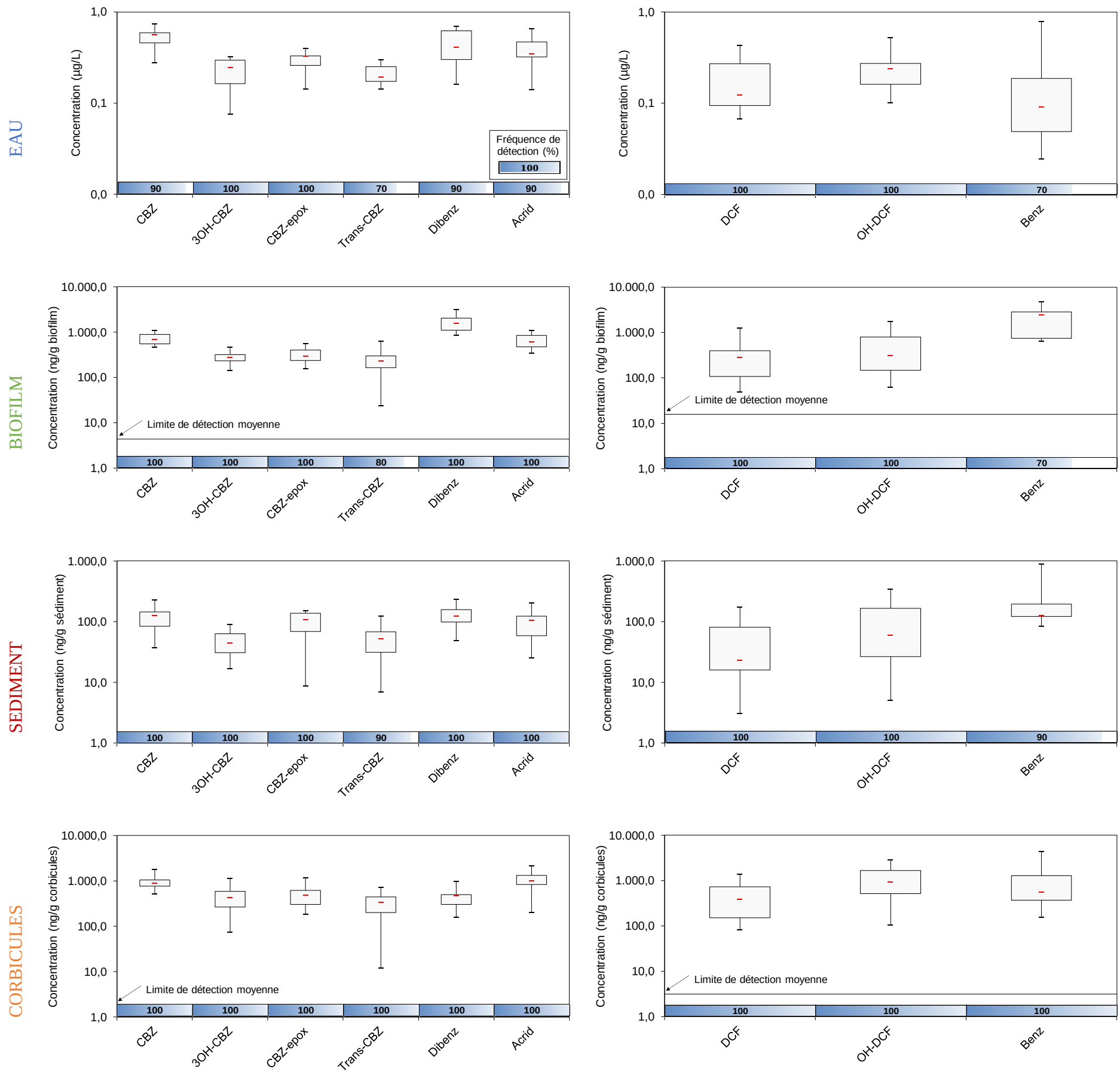


Figure 29 : Fréquences de détection et boîtes à moustaches des teneurs en DCF, CBZ et leurs produits de dégradation associés dans l'eau, les biofilms, les sédiments et les corbicules des trois rivières étudiées. Les boîtes à moustaches prennent en considération la totalité des données sur les trois rivières

3.1.2. Distribution des produits de dégradation dans les différents compartiments

Une représentation des résultats *via* des triangles proportionnels à la concentration moyenne des composés a été réalisée pour illustrer et comparer la distribution des produits de dégradation et de leur composé parent dans les différentes matrices (Figure 30 et Figure 31). Les figures font ainsi apparaître des compartiments privilégiés pour certains produits de dégradation.

Pour la famille de la CBZ, la Dibenz semble être présente dans une proportion importante dans les biofilms et sa teneur moyenne (1735 ± 811 ng g^{-1}) dépasse même celle de son composé parent (722 ± 219 ng g^{-1}). La distribution des concentrations dans les sédiments est quant à elle plus diversifiée, avec une présence équivalente de CBZ (119 ± 54 ng g^{-1}), CBZ-epox (100 ± 47 ng g^{-1}), Dibenz (128 ± 56 ng g^{-1}) et Acrid (97 ± 51 ng g^{-1}). Ceci est également le cas dans l'eau (0,52 ± 0,13 µg L^{-1} pour la CBZ, 0,30 ± 0,07 µg L^{-1} pour la CBZ-epox, 0,43 ± 0,20 µg L^{-1} pour la Dibenz et 0,39 ± 0,15 µg L^{-1} pour l'Acrid). Finalement, dans les corbicules, les deux composés qui semblent dominer sont la CBZ (962 ± 381 ng g^{-1}) et l'Acrid (1066 ± 566 ng g^{-1}).

Pour la famille du DCF, il ressort que la Benz est fortement présente dans les biofilms (2153 ± 1532 ng g^{-1}) et les sédiments (229 ± 250 ng g^{-1}) par rapport aux autres composés. Dans les corbicules, elle est présente (1031 ± 1223 ng g^{-1}) en proportion proche de l'OH-DCF (1149 ± 916 ng g^{-1}). Ainsi, les produits de dégradation du DCF étudiés semblent systématiquement plus présents dans les trois matrices solides que le composé parent alors que dans l'eau les proportions sont plus homogènes (0,20 ± 0,14 µg L^{-1} pour le DCF, 0,26 ± 0,15 µg L^{-1} pour l'OH-DCF et 0,19 ± 0,27 µg L^{-1} pour la Benz).

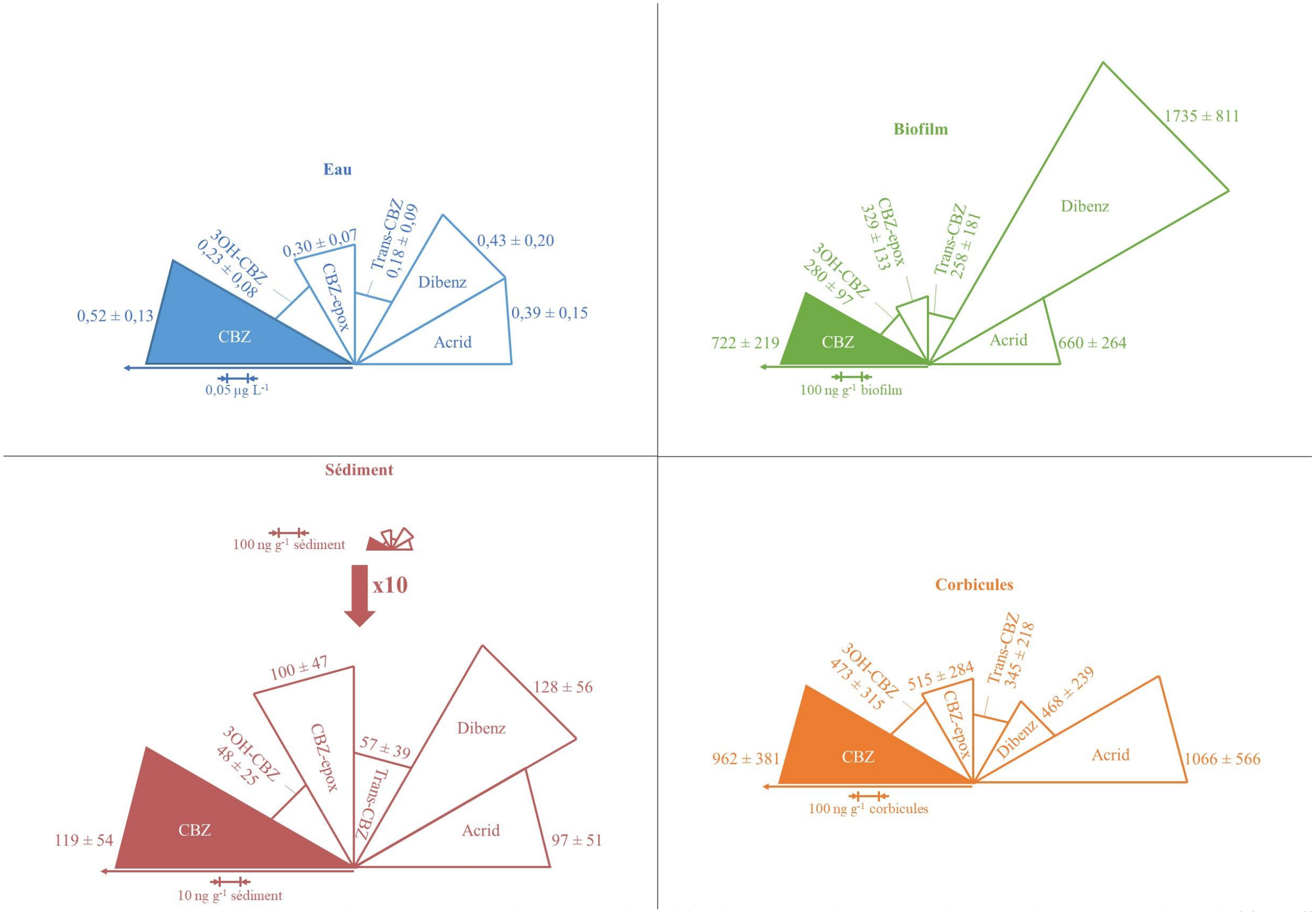


Figure 30 : Teneurs moyennes (± écart type) de CBZ et ses produits de dégradation associés dans les compartiments d'intérêt, le long des trois rivières étudiées. Le triangle coloré représente le composé parent. La longueur du côté avec la flèche est proportionnelle à la valeur de concentration moyenne des trois rivières

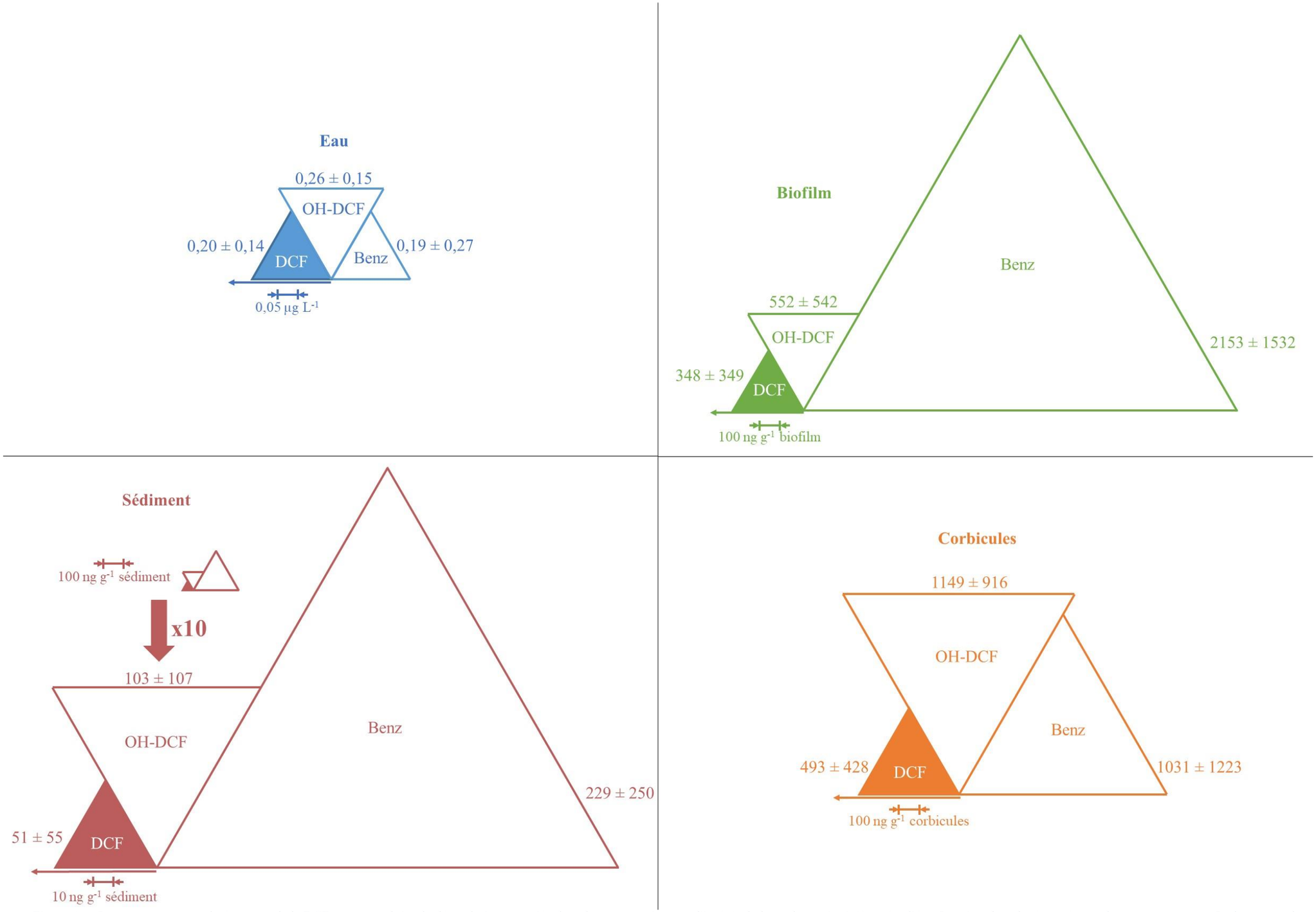


Figure 31 : Teneurs moyennes (± écart type) de DCF et ses produits de dégradation associés dans les compartiments d'intérêt, le long des trois rivières étudiées. Le triangle coloré représente le composé parent. La longueur du côté avec la flèche est proportionnelle à la valeur de concentration moyenne des trois rivières

Les distributions observées pour les différents compartiments peuvent s'expliquer par plusieurs paramètres/conditions qui interagissent probablement entre eux :

- *La présence/distribution du composé parent et de ses produits de dégradation dans l'eau.* La contamination des biofilms, des sédiments et des corbicules dépend des composés véhiculés par l'eau. Cependant, la composition de l'eau peut évoluer rapidement (Ort *et al.*, 2010) tandis que celle des matrices solides est contrainte par la cinétique de sorption (Gonzalez *et al.*, 2012). Ainsi, les données de teneurs dans l'eau montrent une différence significative dans la distribution des composés par rapport aux autres matrices, notamment pour le DCF où les sédiments et les biofilms sont caractérisés par une présence importante de Benz par rapport à l'eau. Les différences sont moins importantes pour la CBZ et ses produits de dégradation, en particulier entre l'eau et les sédiments. Cependant, certains composés, comme la Dibenz, présentent des distributions très différentes.
- *La partition.* C'est une propriété importante des molécules qui est généralement liée à leur hydrophobicité (coefficient de partage octanol/eau – Log K_{OW}). Ainsi, la présence significative de DCF et de ses produits de dégradation dans les organismes benthiques (biofilms, corbicules) est cohérente avec leurs Log K_{OW} élevés. Ces composés sont donc plus hydrophobes que la CBZ et ses produits de dégradation qui présentent des niveaux plus élevés dans l'eau et les sédiments que le DCF et ses produits de dégradation. La Dibenz présente une exception (Log K_{OW} = 4,06) et cela se reflète dans sa forte accumulation dans les biofilms.

A titre d'exemple, la Figure 32 représente le facteur de bioconcentration (Log BCF) calculé, grâce à l'équation : $\mathrm{BCF}\ (\mathrm{L\ kg^{-1}}) = \frac{C_{\mathrm{Corbicules}}\ (\mathrm{ng\ g^{-1}})}{C_{\mathrm{Eau}}\ (\mu\mathrm{g\ L^{-1}})}$, pour tous les composés dans les corbicules prélevées à Airvault (sur le Thouet), en fonction de leur Log K_{OW}. L'ensemble des graphiques pour tous les sites et tous les compartiments se

trouve en Annexe III. Les BCF du DCF et ses produits de dégradation supérieurs à 1000 montrent que ces composés sont fortement bioaccumulés dans les corbicules. Ceci est en accord avec leurs Log K_{OW} qui prédisent une bioaccumulation potentielle pour l'OH-DCF et la Benz et une forte bioaccumulation pour le DCF. La CBZ, malgré son Log K_{OW} inférieur à 3, est fortement bioaccumulée dans les corbicules (1000 < BCF < 5000). Ce comportement pourrait être expliqué par une faible capacité d'élimination de la CBZ par les corbicules ou par une spéciation particulière (interactions avec différents composants du milieu) qui pourrait faciliter son accumulation. Au contraire, la Dibenz, supposée être très bioaccumulable (Log K_{OW} > 4) ne l'est que modérément (100 < BCF < 1000) dans les corbicules d'Airvault, alors que pour les autres produits de dégradation de la CBZ, les BCF sont en adéquation avec la faible bioaccumulation prédite par les Log K_{OW} (< 3).

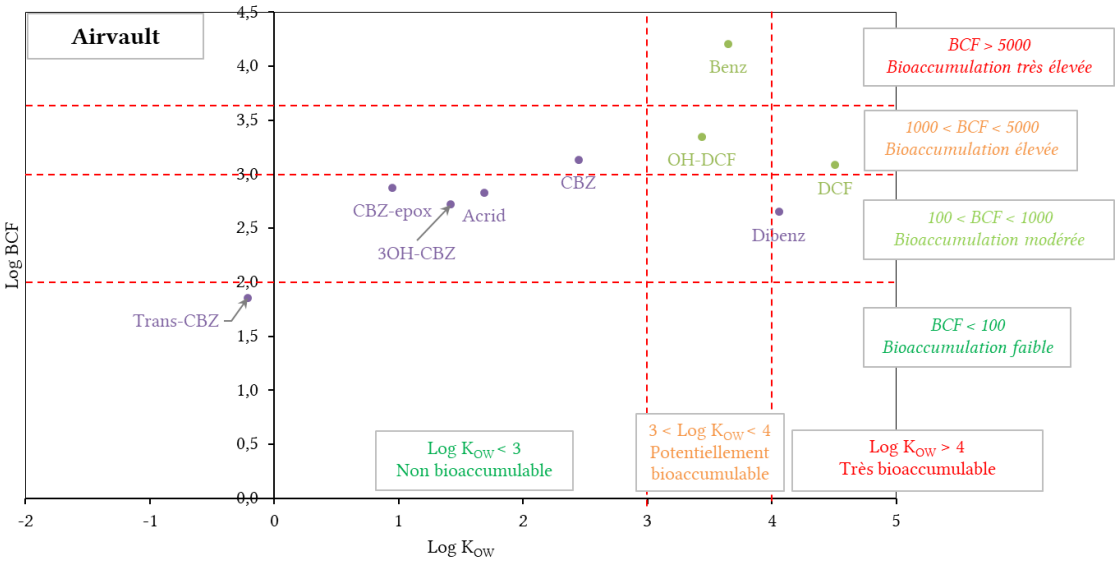


Figure 32 : Bioaccumulation réelle (Log BCF) *versus* bioaccumulation prédite (Log K_{OW}) des composés ciblés dans les corbicules prélevées à Airvault

- *La formation de produits de dégradation.* Ainsi, la phototransformation est la principale voie de dégradation du DCF dans l'environnement (Boreen *et al.*, 2003), et elle a lieu rapidement ($t_{1/2}$ = 9,6 ± 1,2 h (Poirier-Larabie *et al.*, 2016)), avec la Benz identifiée comme le produit le plus stable (Eriksson *et al.*, 2010). Cela pourrait expliquer la faible

proportion de DCF par rapport à ses produits de dégradation. Il est à noter que la Benz est plus abondante dans les matrices exposées à la lumière du soleil (biofilms, sédiments) que dans la chair des corbicules. La CBZ, en revanche, est connue pour être persistante dans l'environnement (Loos *et al.*, 2009). Ce composé est l'un des moins dégradés/éliminés dans les procédés de traitement des eaux usées (~ 32,7% (Luo *et al.*, 2014)), et conduit à la formation de Dibenz et d'Acrid (Kosjek *et al.*, 2009). Ces propriétés peuvent expliquer la similitude entre les distributions.

La comparaison entre les deux familles étudiées montre que la CBZ et ses produits de dégradation sont généralement présents à des concentrations plus élevées dans l'eau et les sédiments, tandis que le DCF et ses produits de dégradation sont plus accumulés dans les biofilms (en particulier la Benz) et les corbicules. Ainsi chaque famille a un comportement différent.

Les résultats suggèrent également une plus grande accumulation des composés ciblés dans les corbicules que dans les biofilms ou les sédiments. Cela pourrait être dû à leur cycle de vie plus long par rapport à celui d'un biofilm et donc à une exposition plus longue aux contaminants, ou au fait qu'elles filtrent l'eau pour l'alimentation favorisant ainsi la bioaccumulation dans les tissus. Quant aux sédiments étudiés, ils présentaient tous un aspect plutôt sableux, avec peu de matière organique capable de retenir les composés.

3.2. Teneurs en produits de dégradation dans les milieux aquatiques : valeurs homogènes ou site-dépendantes ?

3.2.1. Différenciation selon les cours d'eau

La comparaison entre les trois cours d'eau de cette étude permet de montrer que les eaux semblent être contaminées de manière similaire, à l'exception des eaux du Thouet qui sont moins concentrées en DCF et ses produits de dégradation (~ 0,12 µg L^{-1}) que les deux autres

rivières (~ 0,28 µg L^{-1} pour la Vienne et ~ 0,22 µg L^{-1} pour le Clain). La distribution des résidus de médicaments et de leurs produits de dégradation dans les autres compartiments du milieu aquatique diffère selon les cours d'eau. Ainsi, la Vienne se distingue du Clain et du Thouet par les fortes teneurs en Benz dans les biofilms (Vienne : ~ 3232 ng g^{-1} ; Clain : « n.d. » ; Thouet : ~ 713 ng g^{-1}), les sédiments (Vienne : ~ 307 ng g^{-1} ; Clain : ~ 82 ng g^{-1} ; Thouet : ~ 147 ng g^{-1}) et les corbicules (Vienne : ~ 1610 ng g^{-1} ; Clain : ~ 177 ng g^{-1} ; Thouet : ~ 636 ng g^{-1}). Au contraire, le DCF et l'OH-DCF présentent des teneurs moins élevées dans les biofilms (~ 251 ng g^{-1}) et les sédiments (~ 54 ng g^{-1}) de la Vienne par rapport à ceux du Clain (biofilms : ~ 687 ng g^{-1} ; sédiments : ~ 138 ng g^{-1}) et du Thouet (biofilms : ~ 567 ng g^{-1} ; sédiments : ~ 74 ng g^{-1}). Les sédiments et les corbicules de la Vienne se distinguent également par des niveaux élevés de CBZ et ses produits de dégradation (sédiments : ~ 124 ng g^{-1} ; corbicules : ~ 874 ng g^{-1}), à l'exception de la Trans-CBZ (sédiments : ~ 58 ng g^{-1} ; corbicules : ~ 372 ng g^{-1}) et de la Dibenz (dans les corbicules uniquement : ~ 507 ng g^{-1}), par rapport au Clain (sédiments : ~ 59 ng g^{-1} ; corbicules : ~ 642 ng g^{-1}) et au Thouet (sédiments : ~ 76 ng g^{-1} ; corbicules : ~ 484 ng g^{-1}). Dans les sédiments du Clain, l'AMX et ses produits de dégradation présentent des teneurs plus faibles que dans la Vienne et le Thouet (Clain : ~ 113 ng g^{-1} ; Vienne : ~ 365 ng g^{-1} ; Thouet : ~ 376 ng g^{-1}). Enfin, les biofilms du Thouet se distinguent par des concentrations élevées en AMX + AMX-diketo en comparaison avec ceux de la Vienne et du Clain (Thouet : ~ 956 ng g^{-1} ; Vienne : ~ 133 ng g^{-1} ; Clain : ~ 117 ng g^{-1}).

Afin de mieux comprendre s'il existe une vraie distinction entre les trois rivières étudiées et, le cas échéant, quels composés distinguent chacune d'elle, une analyse factorielle discriminante a été menée avec les cours d'eau comme variable qualitative. La Figure 33 présente les résultats de cette analyse avec : (a) les projections des échantillons et (b) celles

des variables explicatives sur deux axes discriminants selon le cours d'eau où l'échantillon a été prélevé.

Ces résultats montrent que la variance est expliquée à 100 % par les deux axes de projection. Cependant, les échantillons de la Vienne et du Thouet sont assez dispersés quoique leurs barycentres soient plutôt bien séparés, alors que ceux du Clain ne sont pas assez nombreux pour permettre une conclusion quant à leur distinction des autres points.

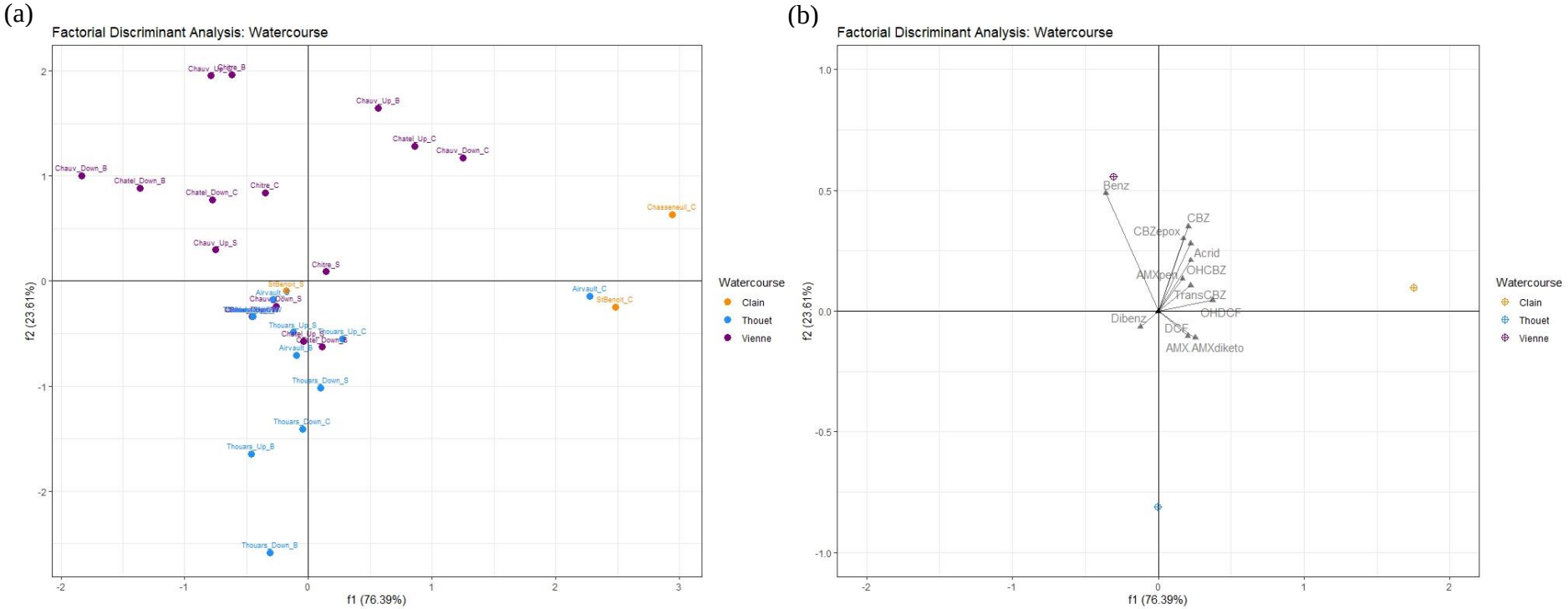


Figure 33 : Analyse factorielle discriminante selon le cours d'eau : (a) projection des échantillons ; (b) projection des variables explicatives

Ainsi, la prise en considération de l'ensemble des données n'a pas permis de séparer au mieux les observations selon la rivière où l'échantillon a été prélevé. Pour cela, trois analyses factorielles discriminantes, représentées à la Figure 34, ont été effectuées en prenant en compte les données relatives à chacune des matrices solides (biofilms, sédiments, corbicules) séparément.

Les biofilms de la Vienne se distinguent par leurs fortes concentrations en Benz et AMX-pen. Ceux du Clain sont corrélés positivement avec les teneurs en 3OH-CBZ, Dibenz et Acrid, et négativement avec celles en CBZ et CBZ-epox. Quant aux biofilms du Thouet, ils se différencient par leurs niveaux élevés de Trans-CBZ, DCF et AMX + AMX-diketo. Les sédiments du Clain se caractérisent par de fortes teneurs en DCF et OH-DCF, et ceux du Thouet par des concentrations élevées de Trans-CBZ et AMX + AMX-diketo, alors que les sédiments de la Vienne sont corrélés avec les teneurs de tous les autres composés. Enfin, les corbicules de la Vienne sont corrélées positivement avec les concentrations en CBZ, CBZ-epox, Acrid et Benz, et négativement avec celles en DCF, OH-DCF et AMX + AMX-diketo. Celles du Clain se distinguent par leurs fortes teneurs en Trans-CBZ et Dibenz, et leurs faibles teneurs en AMX-pen, à l'inverse des corbicules du Thouet.

Les résultats mettent en lumière des différences mieux marquées entre les trois cours d'eau. De plus, les points sont regroupés à proximité des barycentres pour les biofilms, mais le sont moins pour les corbicules et encore moins pour les sédiments. Les sédiments présentent donc plus de variabilité. Ceci pourrait être expliqué par l'hétérogénéité naturelle de ce compartiment ainsi que par les phénomènes de remobilisation et de sédimentation qui permettent un renouvellement plus facile du sédiment par rapport au biofilm ou aux corbicules.

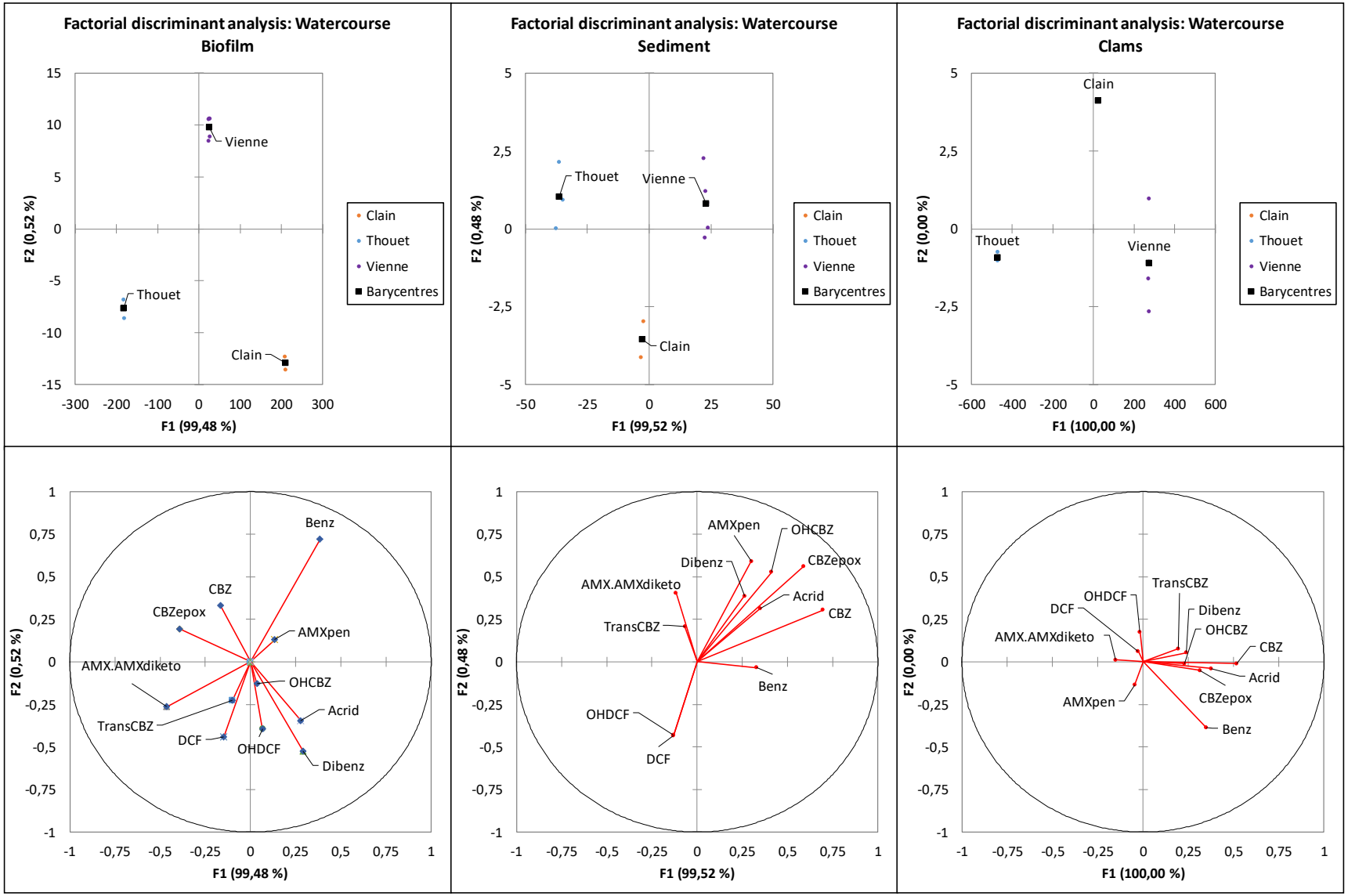


Figure 34 : Analyse factorielle discriminante selon le cours d'eau : affinage par compartiment

3.2.2. Distribution spatiale et impact de l'anthropisation

La Figure 35 montre la distribution spatiale par compartiment des différents composés ciblés le long des trois cours d'eau étudiés. Globalement, le long de la Vienne, les concentrations en composés pharmaceutiques et leurs produits de dégradation augmentent avec l'éloignement de la source de la rivière, avec, en revanche, une diminution marquée à Chitré qui se situe entre les deux villes de Chauvigny et Châtellerault. Cette tendance est également observée le long du Thouet, alors que sur le Clain, les teneurs aux deux sites étudiés sont proches.

Pour l'eau, les biofilms et les corbicules, une tendance graduelle cohérente avec les niveaux d'anthropisation du milieu est observée. Sur le Clain, les deux sites étudiés étant en milieu urbain et relativement éloignés de rejets de STEU, ceci pourrait expliquer les teneurs en différents composés proches, quoique légèrement plus élevées à Saint-Benoit pour l'eau et le biofilm, et à Chasseneuil pour les corbicules. Pour la Vienne, en amont de la station d'épuration de Châtellerault, la rivière a déjà récupéré les eaux du Clain (qui traverse la ville de Poitiers) et a traversé la ville de Châtellerault, ce qui explique les concentrations en différents composés plus élevées qu'à Chitré (par exemple pour le DCF et ses produits de dégradation, la concentration totale dans l'eau est de 1,8 10^{-9} mol L^{-1} à Chitré et de 3,1 10^{-9} mol L^{-1} en amont de la STEU de Châtellerault). Cette tendance a également été observée pour l'eau par Wilkinson *et al.* (2017). Concernant le biote, dans une étude de ces mêmes auteurs (Wilkinson *et al.*, 2018), les produits pharmaceutiques n'ont été détectés que dans les escargots *B. tentaculata* et les crustacés *G. pulex* collectés en aval des rejets de STEU. Pour les biofilms, Aubertheau *et al.* (2017) ont également montré que la distance du point de rejet de la STEU affecte à la fois la distribution en composés pharmaceutiques et la concentration retrouvée dans ce compartiment.

Pour les sédiments, les concentrations totales de chaque famille de composés sont globalement maintenues sur l'ensemble des trois rivières, avec une évolution de la

distribution des molécules. Une augmentation des concentrations n'est observée qu'aux derniers points de rejet, en aval des STEU de Châtellerault et de Thouars. Ces résultats diffèrent de ceux de Wilkinson *et al.* (2018) en ce sens que, dans leur étude, pour le compartiment sédimentaire, les concentrations en contaminants les plus faibles ont été déterminées dans des échantillons prélevés en tête de bassin versant, puis en amont des STEU. De plus, les niveaux les plus élevés en composés étudiés ont été mesurés à 50 m en aval des sites de rejet des effluents de STEU et les concentrations ont diminué progressivement avec l'éloignement des sites de rejet.

Sur la Vienne, la contribution de la STEU de Chauvigny à la contamination du milieu aquatique semble négligeable. En effet, pour tous les compartiments, les concentrations en différents composés en aval de la STEU sont soit du même ordre de grandeur que celles en amont (par exemple, pour le DCF et ses produits de dégradation, la concentration totale dans le biofilm est de 15 10^{-9} mol g^{-1} en amont et 12 10^{-9} mol g^{-1} en aval) ou légèrement supérieures (par exemple, pour la CBZ et ses produits de dégradation, la concentration totale dans le sédiment est de 2,5 10^{-9} mol g^{-1} en amont et 3,1 10^{-9} mol g^{-1} en aval). Néanmoins, la contribution de la STEU de Châtellerault semble plus importante puisqu'à l'exception de l'AMX et sa famille dans le biofilm, toutes les concentrations sont plus élevées en aval de la STEU, notamment dans les corbicules (par exemple, pour le DCF et ses produits de dégradation, la concentration totale dans les corbicules est de 3,4 10^{-9} mol g^{-1} en amont et 32 10^{-9} en aval). Il en est de même sur le Thouet pour la STEU de Thouars. Bien que le site de prélèvement soit éloigné d'1 km du rejet de la station, les concentrations y sont plus élevées qu'à l'amont (par exemple, dans le biofilm, la teneur totale en CBZ et ses produits de dégradation est de 15 10^{-9} mol g^{-1} en amont et 32 10^{-9} mol g^{-1} en aval), à l'exception du compartiment corbicules où les teneurs sont globalement du même ordre de grandeur.

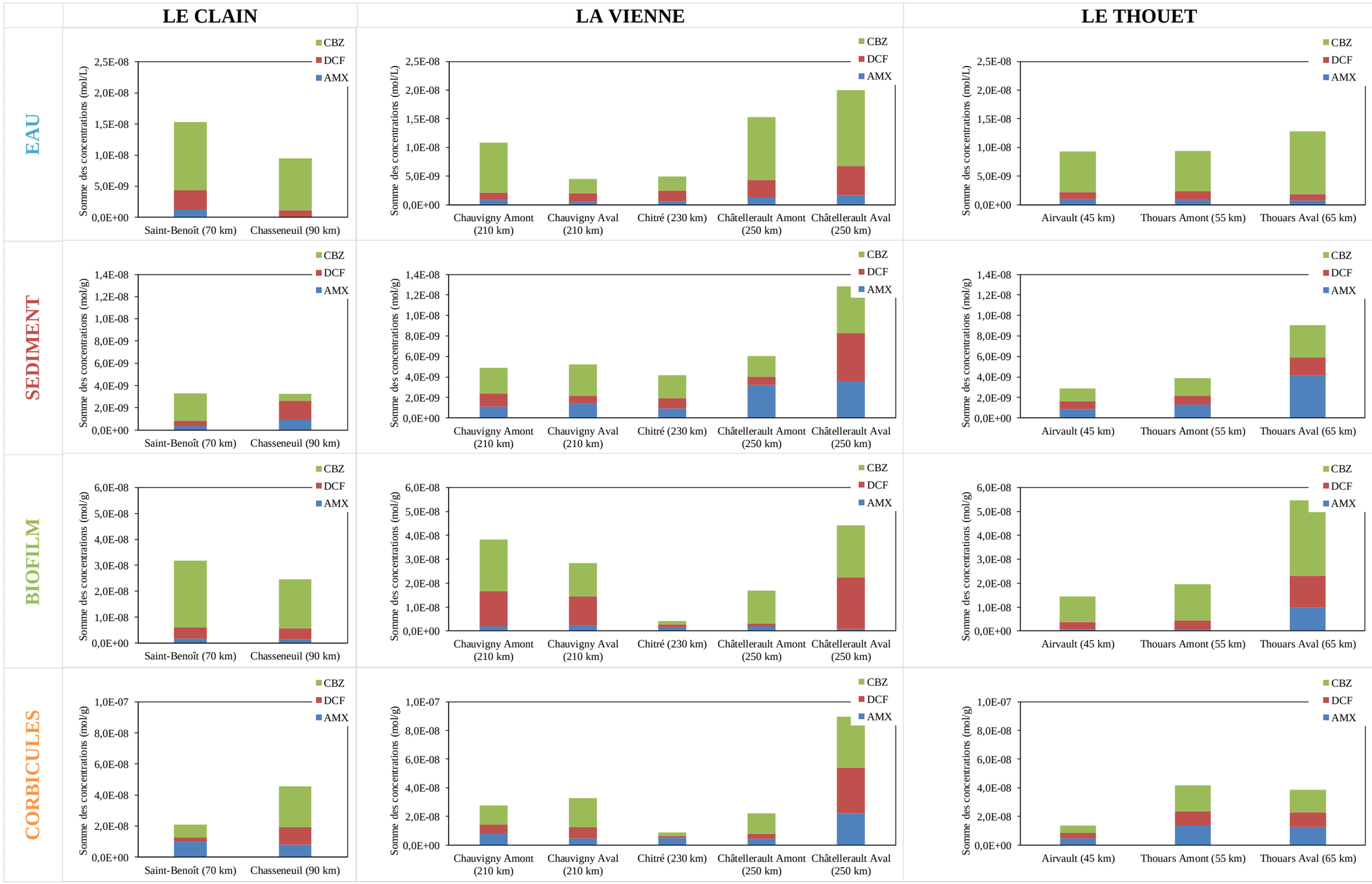


Figure 35 : Distribution spatiale des composés ciblés dans les compartiments d'intérêt le long des trois cours d'eau étudiés. Pour chaque site, la distance de la source en kilomètres est indiquée entre parenthèses

Une analyse factorielle discriminante a été menée en prenant comme variable qualitative la localisation des sites par rapport aux zones de rejet, afin de vérifier cet impact apparent de l'anthropisation du milieu. La Figure 36 représente les résultats de cette analyse : (a) les projections des échantillons et (b) celles des variables explicatives sur deux axes discriminants selon la localisation du site de prélèvement par rapport à une zone d'anthropisation.

Un seul axe de projection est obtenu puisque la variable qualitative n'admet que deux valeurs : amont ou aval. Les échantillons prélevés en aval de STEU ou de villes se distinguent clairement de ceux prélevés en amont, et se caractérisent par des teneurs plus fortes de tous les composés ciblés. Ainsi, l'exposition semble être un déterminant de la contamination des différents compartiments aquatiques par les produits de dégradation de médicaments. Plusieurs études sur les contributions relatives de diverses sources de produits pharmaceutiques suggèrent que la contribution des rejets de STEU est l'une des plus importantes (Jelić *et al.*, 2012 ; Miège *et al.*, 2009 ; Paíga *et al.*, 2016). De plus, de nombreux auteurs ont observé que la concentration de produits pharmaceutiques augmente de 2 à 10 fois en aval des points de rejet des STEU (Baker & Kasprzyk-Hordern, 2013 ; Batt *et al.*, 2006 ; Gabet-Giraud *et al.*, 2014 ; Lindqvist *et al.*, 2005 ; Paíga *et al.*, 2016). Par conséquent, les biofilms, sédiments et corbicules prélevés en aval de zones de rejet seraient plus exposés aux composés étudiés et donc les accumulent plus que ceux prélevés en amont.

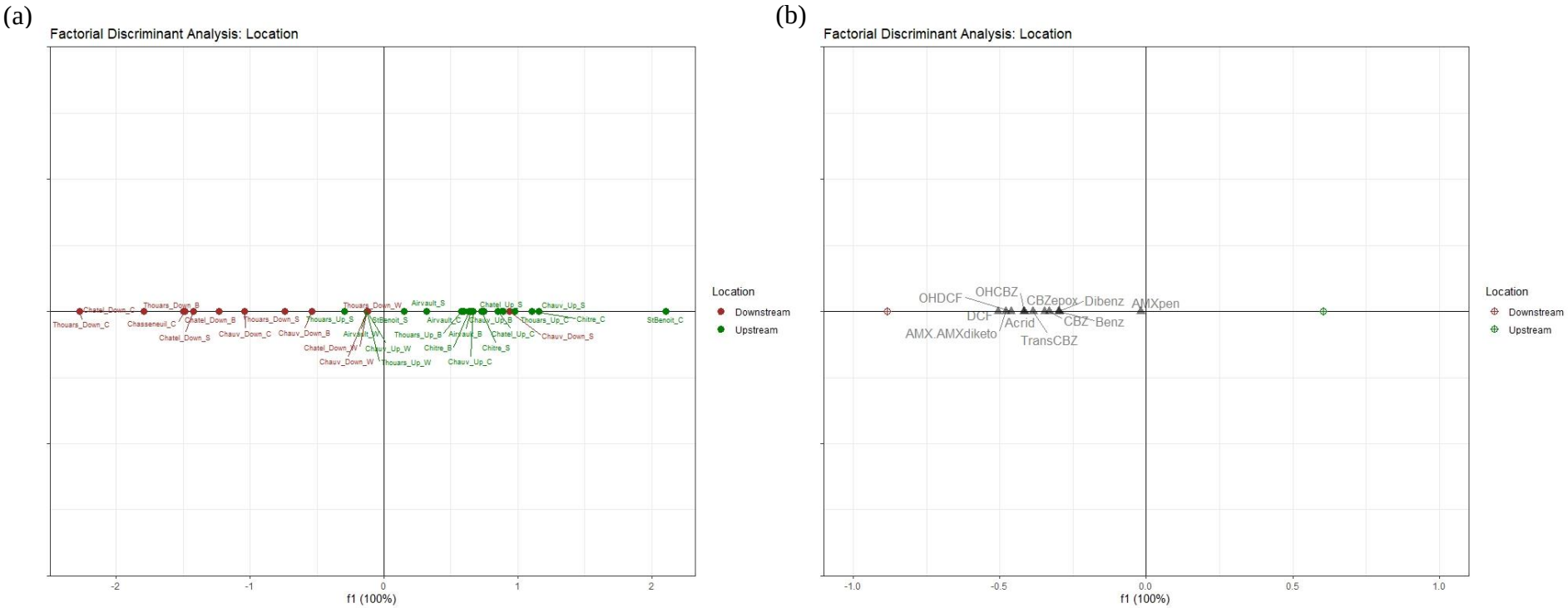


Figure 36 : Analyse factorielle discriminante selon la localisation du site par rapport à une zone d'anthropisation : (a) projection des échantillons ; (b) projection des variables explicatives

4. Conclusion

Dans ce chapitre, la présence importante de produits de dégradation de composés pharmaceutiques dans le milieu aquatique a été mise en lumière. Ces composés présentent des teneurs variables qui peuvent être du même ordre de grandeur que leur composé parent (cas de la Dibenz et de l'Acrid), plus faibles (cas des autres produits de dégradation de la CBZ) ou bien même plus élevées (cas des produits de dégradation du DCF).

De plus, certains produits de dégradation semblent s'accumuler davantage dans certains compartiments en comparaison avec leur composé parent. Par exemple, les produits de dégradation du DCF semblent systématiquement plus présents dans les trois matrices solides que leur molécule mère, alors que dans l'eau les proportions sont plus homogènes.

La distribution observée dans les différents compartiments de cette étude pourrait être expliquée par la présence des résidus de médicaments et leurs produits de dégradation dans l'eau, leurs propriétés physico-chimiques et notamment de partition, ainsi que par les différentes voies de dégradation des composés dans l'environnement aquatique (photo-dégradation, biodégradation…). Ainsi, il a été démontré que chaque famille de composés présente un comportement différent : la CBZ et ses produits de dégradation se retrouvent plus dans les eaux et les sédiments, alors que le DCF et ses produits de dégradation dominent dans les biofilms et les corbicules. D'autre part, une plus grande accumulation des composés ciblés dans les corbicules a été observée par rapport aux biofilms ou aux sédiments.

L'analyse factorielle discriminante a permis de mettre en évidence la différence entre les échantillons selon le cours d'eau où ils ont été prélevés. Cette observation est d'autant plus marquée avec l'affinage des données par compartiment. Les résultats montrent une plus grande variabilité entre les échantillons de sédiments par rapport aux biofilms ou aux corbicules, qui pourrait être attribuée à l'hétérogénéité naturelle de ce compartiment ou aux

phénomènes de remobilisation et de sédimentation qui permettent un renouvellement plus facile du sédiment.

Enfin, l'exposition semble jouer un rôle important comme déterminant de la contamination des différents compartiments étudiés. En effet, les biofilms, sédiments et corbicules prélevés en aval de zones de rejet seraient plus exposés aux composés pharmaceutiques et leurs produits de dégradation et donc les accumulent plus que ceux prélevés aux site « amont ». Cette analyse statistique met ainsi en lumière l'importance de l'établissement d'une stratégie d'échantillonnage en amont de toute étude visant la surveillance ou la compréhension de l'environnement aquatique.

Chapitre 3

Risques potentiels associés à la présence de produits de dégradation de médicaments dans l'environnement aquatique

Chapitre 3 : Risques potentiels associés à la présence de produits de dégradation de médicaments dans l'environnement aquatique

1. Introduction

Alors qu'un intérêt commence juste à être porté aux produits de dégradation des médicaments, il ressort que ces produits sont encore très mal connus et surtout pas ou peu documentés du point de vue de leurs effets sur les écosystèmes naturels. Or, au regard des effets connus chez l'homme de certains produits de dégradation, la présence de métabolites et/ou de produits de transformation pourrait être un problème environnemental aussi, voire plus important que leurs composés parents (Escher & Fenner, 2011 ; Huerta *et al.*, 2012 ; Schmitt-Jansen *et al.*, 2007 ; Schulze *et al.*, 2010).

En effet, de nombreux médicaments produisent des métabolites dits « bioactifs » (Walgren *et al.*, 2005), c'est-à-dire qui présentent une certaine réactivité dans l'organisme ciblé. C'est notamment le cas de nombreux médicaments familiers tels que l'acétaminophène, le DCF et la CBZ. D'autres médicaments (le gemfibrozil et la CBZ, par exemple) se transforment en produits intermédiaires qui peuvent à leur tour produire des métabolites réactifs. Certains de ces métabolites ont le potentiel de se lier à des protéines ou d'autres éléments cellulaires, ce qui peut perturber la fonction cellulaire, provoquant éventuellement un effet toxique ou une réponse immunitaire (Zhou *et al.*, 2005). A titre d'exemple, un des métabolites de la CBZ, la 2-hydroxycarbamazépine, peut subir une hydrolyse en 2-hydroxyiminostilbène, qui à son tour subit une transformation en iminoquinone. Ju & Uetrecht (1999) suggèrent que l'iminoquinone est responsable d'effets secondaires induits par la CBZ chez l'homme. En outre, il a été démontré que la 9-acridine carboxaldéhyde, un autre métabolite de la CBZ, peut se lier aux globules blancs (Furst *et al.*, 1995) et contribuer aussi à provoquer des effets secondaires et des effets immunitaires de ce médicament (Furst & Uetrecht, 1995). Des

malformations fœtales chez la souris ont également été attribuées au métabolite CBZ-epox et à ses produits de transformation (Bennett *et al.*, 1996). De plus, la cytotoxicité du DCF chez le rat (Hargus *et al.*, 1994) mais aussi chez l'homme (Shen *et al.*, 1999) est attribuée à la liaison des métabolites acyl glucuronide et *p*-benzoquinone imine aux protéines dans des microsomes (particules cytoplasmiques extrêmement petites) hépatiques. Bien que générés dans l'organisme à la suite de la prise du composé parent (principe actif), certains de ces métabolites peuvent néanmoins rejoindre les milieux aquatiques si leurs propriétés leur permettent de résister au traitement des eaux usées.

Dans l'environnement, certaines voies de transformation peuvent produire des composés équivalents à ceux générés par le métabolisme. Ainsi le DCF est transformé en *p*-benzoquinone imine à partir du 5OH-DCF. La *p*-benzoquinone imine subit ensuite une sorption dans les sédiments (Gröning *et al.*, 2007). Néanmoins les processus de transformation environnementale créent aussi une multitude d'autres composés *via* des réactions biotiques par les microorganismes ou abiotiques *via* le rayonnement solaire ou des réactions chimiques. Les possibles effets (éco)toxicologiques de certains de ces composés commencent à faire l'objet d'études mais beaucoup sont encore mal connus.

Le Tableau 30 regroupe quelques effets associés aux composés ciblés dans cette étude. Les produits de dégradation de la CBZ sont très peu étudiés. Ainsi, sur les cinq composés d'intérêt de cette étude, des informations ne sont disponibles que pour deux molécules. Il s'agit de la CBZ-epox qui présente une activité équivalente à sa molécule mère chez la souris, et de l'Acrid qui s'avère génotoxique envers *Vibrio fischeri* avec une LOEC proche des concentrations mesurées dans l'environnement (de l'ordre du $\mu g\ L^{-1}$). Quant aux produits de dégradation du DCF, alors que l'OH-DCF n'est responsable que d'une partie des activités anti-inflammatoire, antipyrétique et hépatotoxique du composé parent, la Benz s'avère dix fois plus toxique que ce dernier pour les algues. Concernant l'AMX, bien que cette molécule

soit classée comme génératrice d'antibiorésistance, les effets de ses produits de dégradation ne sont pas encore étudiés.

Tableau 30 : (Eco)toxicité des composés ciblés

	Toxicité	Références
CBZ	Effets tératogènes pour différentes espèces aquatiques	Van den Brandhof & Montforts, 2010 Weigt *et al.*, 2011
3OH-CBZ	Pas d'informations	
CBZ-epox	Activité antiépileptique et neurotoxicité chez la souris égales à celles de la CBZ	Bourgeois & Wad, 1984
Trans-CBZ	Pas d'informations	
Dibenz	Pas d'informations	
Acrid	Génotoxicité chez *Vibrio fischeri* : LOEC=1 µg L^{-1}	Bleeker *et al.*, 1999
DCF	Cytopathologie des cellules du foie, des reins et des branchies : LOEC=1 µg L^{-1} Lésions rénales et altération des branchies : LOEC=5 µg L^{-1}	Triebskorn *et al.*, 2004 Schwaiger *et al.*, 2004
4'OH-DCF	Possède 30 % de l'activité anti-inflammatoire et antipyrétique du DCF Responsable d'une partie de l'hépatotoxicité du DCF chez le rat et l'homme	Davies & Anderson, 1997 Bort *et al.*, 1999
5OH-DCF	Responsable d'une partie de l'hépatotoxicité du DCF chez le rat et l'homme	Bort *et al.*, 1999
Benz	10 fois plus toxique que DCF pour l'algue *Scenedesmus vacuolatus*	Schulze *et al.*, 2010
AMX	Associée à l'acide clavulanique, particulièrement génératrice d'antibiorésistance	ANSM, 2017
AMX-diketo	Pas d'informations	
AMX-pen	Pas d'informations	

Bien que certains produits de dégradation soient clairement plus toxiques que leur molécule mère associée (Acrid, Benz…), les informations disponibles ne permettent pas de mener à bien l'évaluation du risque environnemental de ces molécules. Par ailleurs, il est également important de considérer que les effets résultant de l'exposition à un mélange de composé parent et de ses produits de dégradation associés peuvent être très différents de ce qui pourrait être observé lors de l'évaluation de la toxicité d'un composé seul (Filby *et al.*, 2007 ; Sumpter & Johnson, 2005). En effet, les composés peuvent avoir des interactions biochimiques imprévisibles lorsqu'ils sont considérés dans un mélange, ce qui entraîne des effets (cumulatifs ou non) différents de ceux des molécules individuelles.

La mise en évidence de la présence de tous les produits de dégradation ciblés dans les eaux, les sédiments, les biofilms et les corbicules des sites étudiés (Vienne, Clain, Thouet), dans pratiquement tous les échantillons mais à des concentrations variables, a motivé l'intérêt d'appréhender les potentiels risques (éco)toxicologiques pour le milieu aquatique. Afin de pallier le manque de données disponibles dans la littérature, une approche basée sur les relations quantitatives structure-activité (QSAR pour *quantitative structure-activity relationship*) a été employée pour prédire l'(éco)toxicité de composés à partir de leur structure chimique. Cette approche QSAR se base sur une prédiction à partir d'une base de données expérimentale disponible pour le composé ciblé ou des composés de structures proches. Un large éventail de relations est disponible couvrant diverses espèces (daphnies, poissons…), paramètres (aigus et chroniques) et classes chimiques.

2. Méthode

L'écotoxicité des métabolites et des produits de transformation de la CBZ et du DCF a été prédite à l'aide de la boîte à outils QSAR (version 4.4) de l'OCDE. L'AMX et ses produits de dégradation n'ont pas été considérées du fait de l'impossibilité de distinguer entre le composé parent et l'AMX-diketo. Les prédictions ont porté sur la toxicité aigüe des composés individuels puis en mélanges, vis-à-vis de trois espèces aquatiques représentant trois niveaux trophiques différents : *Pseudokirchneriella subcapitata* (algue verte, EC_{50}, taux de croissance, 96 h), *Daphnia magna* (invertébré, LC_{50}, mortalité, 48 h) et *Pimephales promelas* (poisson, LC_{50}, mortalité, 96 h).

2.1. Prédiction de la toxicité aigüe des composés individuels

La démarche schématisée à la Figure 37 a été suivie dans le but de déterminer la toxicité aigüe des molécules ciblées. Un profilage individuel de chaque composé a été effectué pour rechercher des informations pertinentes (par exemple, les mécanismes d'action probables) et

potentiellement regrouper la cible avec d'autres composés. Pour la toxicité aquatique, quatre classifications sont prises en considération : la classification modifiée de Verhaar pour la toxicité aquatique aigüe, la classification ECOSAR pour la toxicité aquatique, les nouvelles catégories chimiques de l'agence américaine pour la protection de l'environnement (US-EPA) et la classification OASIS des modes d'action pour la toxicité aquatique aigüe. À la suite de ce profilage, les données toxicologiques « expérimentales » déjà existantes sont extraites des bases de données : ECHA REACH, ECOTOX, Aquatic OASIS et Food TOX Hazard EFS.

Les données manquantes font l'objet d'une prédiction par analyse de tendances (*trend analysis*). En effet, cette méthode est appropriée pour les paramètres quantitatifs si un nombre élevé (≥ 10) d'analogues avec des résultats expérimentaux est identifié. Le calcul est basé sur le constat suivant : pour un effet (éco)toxicologique donné, les membres d'une même catégorie sont souvent liés par une tendance s'opérant en fonction de la masse moléculaire, la longueur de la chaîne carbonée ou d'une autre propriété physico-chimique, comme le K_{OW} (OCDE, 2020). La démonstration de tendances cohérentes dans le comportement d'un groupe de composés chimiques est l'un des attributs souhaitables et l'un des indicateurs qu'un mécanisme commun pour toutes les molécules est impliqué. Ainsi, les valeurs manquantes peuvent être estimées par une simple régression à partir des valeurs mesurées, afin de combler les lacunes dans les données.

Pour ce faire, il est nécessaire de définir, à partir du profilage effectué précédemment, une catégorie chimique pour chacun des composés de sorte que les données manquantes puissent être comblées par analyse de tendances. Dans cette étude, la classification selon l'US-EPA est employée (cf. Figure 37) afin de trouver des analogues de chaque composé pour lesquels des données expérimentales sont disponibles.

L'analyse de tendances produit un graphique exposant les résultats expérimentaux de EC_{50} ou LC_{50} de tous les analogues au composé ciblé en fonction d'un descripteur qui, par défaut,

est le Log Kow (exemple à la Figure 38). Cette analyse est ensuite affinée par une sous-catégorisation. Il s'agit de l'application d'une classification supplémentaire à la catégorie définie précédemment. Cette étape permet d'identifier des analogues ayant des résultats de profilage différents (N.B. : vis-à-vis de la classification de Verhaar, puis ECOSAR et enfin OASIS) et de les éliminer de la catégorie finale. L'acceptation de la prédiction permet alors de combler la donnée manquante dans la matrice du composé étudié.

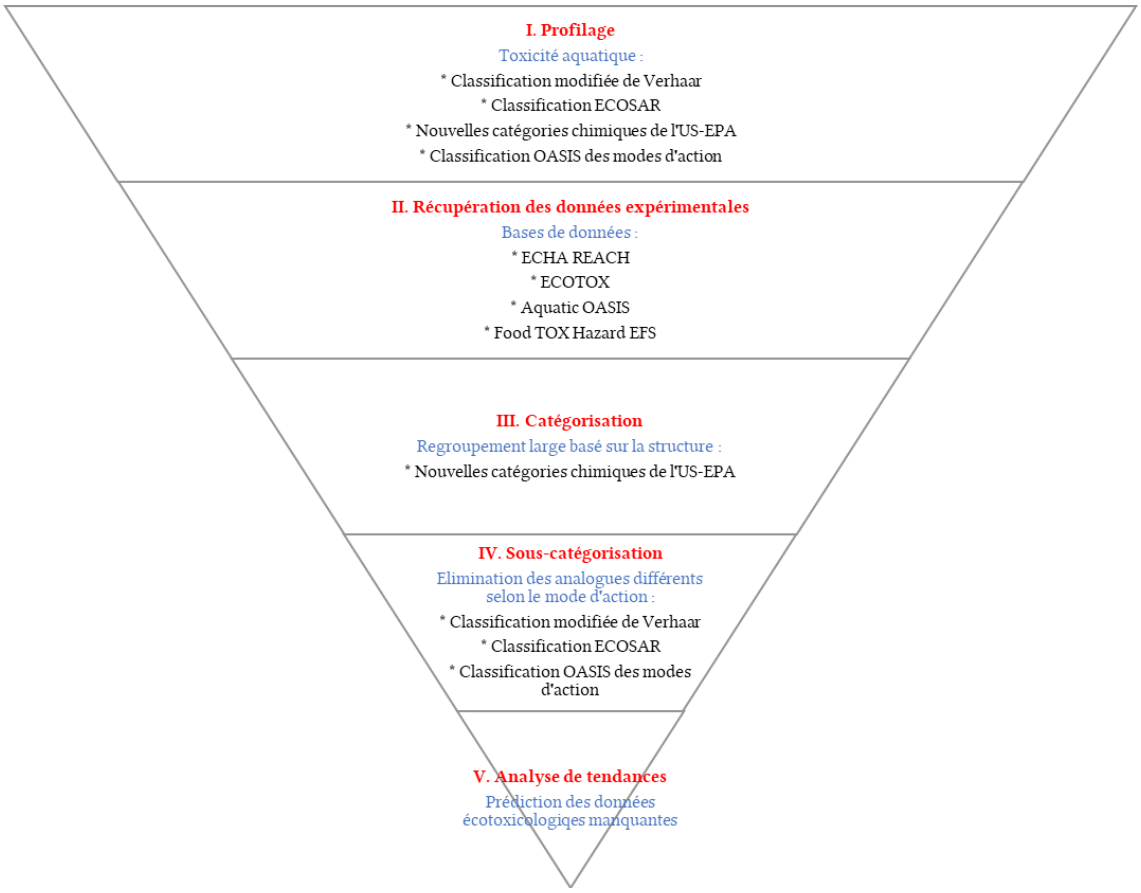


Figure 37 : Illustration graphique des étapes de prédiction de données écotoxicologiques (OCDE, 2020)

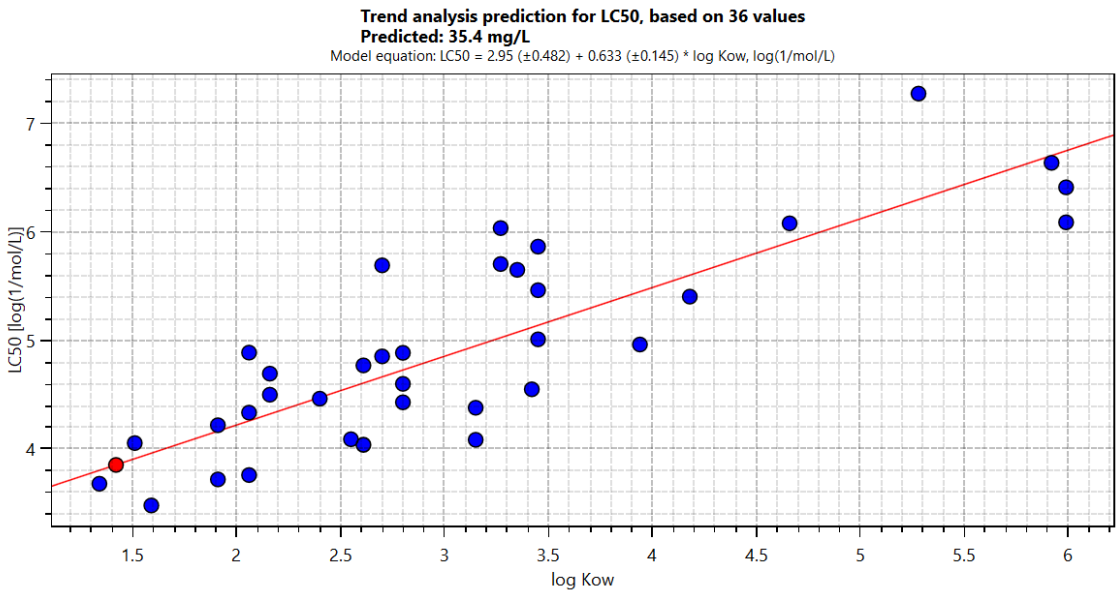


Figure 38 : Résultat de l'analyse de tendances pour la 3OH-CBZ

2.2. Prédiction de la toxicité aigüe d'un mélange de composé parent et ses produits de dégradation associés

Du fait de la mise en évidence d'une présence simultanée et régulière de tous les produits de dégradation dans les matrices étudiées, une seconde approche a été mise en place pour prédire la toxicité de mélanges. Les mélanges considérés correspondent à la CBZ et ses cinq produits de dégradation, puis au DCF et ses trois sous-produits. Chaque composé est représenté par son code SMILES qui permet d'assurer que la structure chimique attribuée au composé créé est la bonne, puisque tous les calculs de prédiction sont basés sur cette dernière (Tableau 31). L'approche repose sur les résultats obtenus individuellement pour chaque composé afin de prédire la toxicité aiguë d'un mélange de la molécule mère et de ses produits de dégradation, dans des proportions molaires fixées par les concentrations moyennes mesurées dans les eaux de la Vienne, du Clain et du Thouet.

Tableau 31 : Codes SMILES et fractions molaires des constituants des mélanges étudiés

		Code SMILES	Fraction molaire (%)
Mélange CBZ	**CBZ**	C1=CC=C2C(=C1)C=CC3=CC=CC=C3N2C(=O)N	24
	3OH-CBZ	C1=CC=C2C(=C1)C=CC3=C(N2C(=O)N)C=C(C=C3)O	10
	CBZ-epox	C1=CC=C2C(=C1)C3C(O3)C4=CC=CC=C4N2C(=O)N	13
	Trans-CBZ	C1=CC=C2C(=C1)[C@@H]([C@H](C3=CC=CC=C3N2C(=O)N)O)O	7
	Dibenz	C1=CC=C2C(=C1)C=CC3=CC=CC=C3N2	24
	Acrid	C1=CC=C2C(=C1)C(=O)C3=CC=CC=C3N2	22
Mélange DCF	**DCF**	C1=CC=C(C(=C1)CC(=O)O)NC2=C(C=CC=C2Cl)Cl	28
	4'OH-DCF	C1=CC=C(C(=C1)CC(=O)O)NC2=C(C=C(C=C2Cl)O)Cl	18
	5OH-DCF	C1=CC(=C(C(=C1)Cl)NC2=C(C=C(C=C2)O)CC(=O)O)Cl	18
	Benz	C1=CC=C(C(=C1)C=O)NC2=CC=CC=C2Cl	36

Pour cela, une première étape vise à déterminer le mode d'action des constituants du mélange pour établir s'ils sont similaires ou indépendants. Pour les deux mélanges considérés, il ressort que les composés présentent des modes d'action différents selon les quatre classifications prises en compte. Ainsi, le DCF et ses produits de dégradation appartiennent à des catégories différentes selon l'US-EPA : le DCF est classé dans le groupe des organiques neutres, l'OH-DCF dans celui des phénols et celui des fractions acides et le Benz dans celui des aldéhydes. De même, selon la classification ECOSAR, alors que la Dibenz et l'Acrid appartiennent à la même catégorie – celle des organiques neutres – la CBZ est considérée comme une urée substituée, la 3OH-CBZ comme un phénol, la CBZ-epox comme un époxide et la Trans-CBZ est classée dans le groupe des alcools benzyliques. Par conséquent, un mode d'action indépendant, ce qui veut dire tenant compte de la diversité des modes d'actions des composants d'un même mélange, a été retenu pour la prédiction des toxicités aigües des mélanges.

Dans une seconde étape, il est formulé l'hypothèse que : l'effet combiné peut être calculé à partir des effets causés par les composants individuels du mélange en suivant le concept

statistique d'événements aléatoires indépendants. Ainsi, la réponse d'un mélange peut être calculée par l'équation suivante : $E(C_{Mix}) = 1 - \Pi_{i=1}^{N}[1 - E(C_i)]$; avec $E(C_{Mix})$ l'effet provoqué par le mélange total, et $E(C_i)$ les effets que les composés du mélange considérés individuellement provoqueraient s'ils étaient appliqués seuls à la concentration à laquelle ils sont présents dans le mélange (OCDE, 2020).

Cependant, les relations dose-réponse étant pratiquement inconnues, cette méthode permet de prédire uniquement des paramètres spécifiques, tels que les EC_{50} ou LC_{50}, et non des courbes.

2.3. Evaluation des risques environnementaux dans l'eau et le sédiment

Les données obtenues à partir de l'approche QSAR ont ensuite été utilisées pour estimer la concentration prévue sans effet (*predicted no effect concentration* – PNEC), puis calculer le quotient de risque (*hazard quotient* – HQ) associé à chaque composé dans l'eau et le sédiment.

Pour le calcul de la $PNEC_{eau}$, la valeur d'écotoxicité (expérimentale ou estimée) retenue pour l'évaluation est celle qui correspond à la valeur la moins élevée parmi les algues vertes, les invertébrés et les poissons. Selon les lignes directrices de l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) (European Chemicals Agency, 2008), cette valeur d'écotoxicité retenue est divisée par un facteur d'évaluation de 1000 afin d'obtenir la $PNEC_{eau}$, car au moins une LC_{50} ou EC_{50} à court terme de chacun des trois niveaux trophiques était disponible. Ensuite, le quotient de risque (HQ) a été calculé en divisant la concentration environnementale maximale (MEC) mesurée dans les eaux de la Vienne, du Clain et du Thouet par la $PNEC_{eau}$ calculée. Lorsque le HQ est inférieur à 0,1, le composé concerné ne présente aucun risque pour les organismes aquatiques. Un HQ compris entre 0,1 et 1 indique un risque moyen, tandis qu'une valeur supérieure à 1 signifie que la molécule étudiée présente un risque élevé pour l'écosystème aquatique (Straub, 2002).

Pour les sédiments, aucun paramètre d'écotoxicité n'a pu être prédit par la boîte à outils QSAR. Par conséquent, la méthode de partition à l'équilibre (EPM pour *equilibrium partitioning method*), décrite dans le document d'orientation technique du Bureau européen des produits chimiques (European Chemicals Bureau, 2003), est employée pour dériver une $PNEC_{sédiment}$ de la $PNEC_{eau}$. Ainsi, $PNEC_{sédiment} = (0{,}783 + 0{,}0217 * K_{OC}) * PNEC_{eau}$ où K_{OC} représente le coefficient de partage carbone organique/eau, donnant donc une indication sur l'aptitude d'un composé à être adsorbé sur la matière organique du sédiment. En effet, un Log K_{OC} supérieur à 3 indique une adsorption potentiellement significative sur le sédiment (Tissier *et al.*, 2005). Quant au calcul du HQ, une correction doit être appliquée pour la MEC, exprimée en masse de matière sèche, afin de prendre en compte l'équilibre sédiment/eau. Pour cela, un taux de matière sèche de 1 % est considéré.

Les HQ obtenus sont ensuite confrontés à l'indice de biodégradation ultime calculé à l'aide de l'outil QSAR en appliquant le modèle EPISUITE Biowin3 pour la biodégradation ultime. Ce dernier donne une idée sur la persistance des différents composés dans l'environnement (cf. Tableau 32). Cependant, dans ce cas, seule la biodégradation est prise en compte alors que de nombreux autres processus sont impliqués dans la transformation des composés dans les milieux aquatiques (hydrolyse, photolyse…).

Tableau 32 : Interprétation des résultats du modèle EPISUITE Biowin3 pour la biodégradation ultime (US-EPA, 2012)

Indice de biodégradation ultime	**Temps de demi-vie**
> 4,75 – 5	Quelques heures
> 4,25 – 4,75	Quelques heures – quelques jours
> 3,75 – 4,25	Quelques jours
> 3,25 – 3,75	Quelques jours – quelques semaines
> 2,75 – 3,25	Quelques semaines
> 2,25 – 2,75	Quelques semaines – quelques mois
> 1,75 – 2,25	Quelques mois
< 1,75	Plus long = « récalcitrant »

3. Résultats

3.1. Ecotoxicité des composés individuels

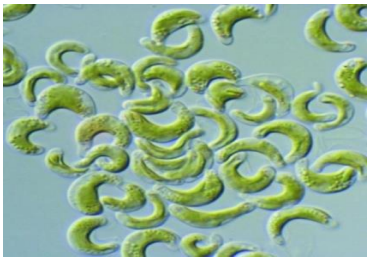
L'écotoxicité des produits de dégradation de la CBZ et du DCF a été évaluée pour trois niveaux trophiques aquatiques : les algues (*Pseudokirchneriella subcapitata*), les invertébrés (*Daphnia magna*) et les poissons (*Pimephales promelas*) (Figure 39). Les valeurs obtenues par l'approche QSAR mettent en évidence que le DCF et ses produits de dégradation (Benz et OH-DCF) sont aussi toxiques pour les algues vertes (EC_{50} ~ 6,01 mg L^{-1}). En revanche, l'OH-DCF (LC_{50} = 2,30 mg L^{-1}) est environ 40 fois plus toxique pour les daphnies que le DCF (LC_{50} = 80,10 mg L^{-1}). Pour le poisson *P. promelas*, la Benz est 4 fois plus toxique (LC_{50} = 2,71 mg L^{-1}) que le DCF (LC_{50} = 11,20 mg L^{-1}), tandis que l'OH-DCF a la même toxicité que ce dernier (LC_{50} = 10,70 mg L^{-1}). Seule une valeur de LC_{50} anormalement élevée a été trouvée pour la Benz vis-à-vis des daphnies (2,88 10^{15} mg L^{-1}), démontrant les limites réelles des modèles QSAR pour prédire la toxicité de tous les composés pour tous les organismes. En effet, Boxall *et al.* (2004) ont démontré que bien que les prévisions par QSAR se situent généralement à moins de deux ordres de grandeur des valeurs expérimentales, la toxicité prédite de certains composés était réduite de quatre ordres de grandeur. Par conséquent, leur utilisation devrait être menée avec précaution, afin de fournir des données supplémentaires utiles pour l'estimation des risques.

Pour la famille de la CBZ, la Dibenz se distingue de tous les autres composés, étant la plus toxique pour les trois espèces étudiées. Les autres produits de dégradation présentent des toxicités légèrement supérieures, du même ordre de grandeur ou inférieures à celles du composé parent. Ainsi, pour les algues vertes, la 3OH-CBZ est aussi toxique que la CBZ (EC_{50} ~ 19,55 mg L^{-1}), tandis que les autres composés sont 10 à 70 fois moins toxiques. Pour les daphnies, la 3OH-CBZ et la CBZ-epox (LC_{50} ~ 36,50 mg L^{-1}) sont environ 3 fois plus toxiques que la CBZ, alors que l'Acrid est tout aussi toxique (LC_{50} ~ 105,45 mg L^{-1}) et la Trans-CBZ 65

fois moins toxique. Pour les poissons, la CBZ-epox présente une valeur de LC_{50} du même ordre de grandeur que la CBZ (~ 44,70 mg L^{-1}) tandis que les autres produits de dégradation sont de l'ordre de 3 à 6 fois moins toxiques. Tous ces résultats sont en accord avec les conclusions de Pereira *et al.* (2020) qui, dans leur revue systématique sur la toxicité expérimentale et estimée de certains produits pharmaceutiques dans différents compartiments aquatiques, ont constaté que le DCF et son métabolite la 4OH-DCF présentaient des toxicités similaires chez les invertébrés et les poissons. En outre, ils ont mis en évidence des toxicités généralement plus élevées des anti-inflammatoires, dont le DCF, par rapport aux antiépileptiques tels que la CBZ. Cependant, nos résultats diffèrent en ce qui concerne les espèces les plus sensibles. En effet, alors que dans notre étude les algues vertes semblent être les plus sensibles, suivies par les poissons et les daphnies, Pereira *et al.* (2020) ont observé que les espèces les plus sensibles étaient les poissons, suivis des invertébrés et des algues. Néanmoins, leur observation a été expliquée par le fait qu'une partie des données expérimentales sur les poissons a été obtenue par des tests de lignées cellulaires ou de tissus, ce qui rend difficile l'extrapolation des valeurs à l'ensemble de l'organisme.

	EC_{50} (mg L^{-1}) Taux de croissance t = 96 h
DCF	6
OH-DCF	3,42
Benz	8,62
Mélange	5,63

CBZ	10,4
3OH-CBZ	28,7
CBZ-epox	107
Trans-CBZ	707
Dibenz	5,29
Acrid	278
Mélange	37

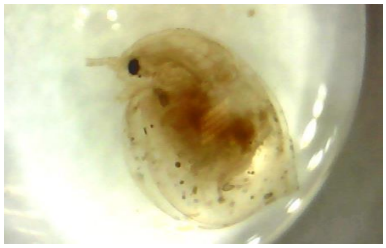


Pseudokirchneriella subcapitata

	EC_{50} (mg L^{-1}) Inhibition de la croissance t = 72 h
ATZ	0,14
DEA	1,96
DIA	1,7
DEDIA	22,8
OH-ATZ	0,26
Aniline	17

	LC_{50} (mg L^{-1}) Mortalité t = 48 h
DCF	80,1
OH-DCF	2,3
Benz	2,88E+15
Mélange	1710000

CBZ	111
3OH-CBZ	35,4
CBZ-epox	37,6
Trans-CBZ	7110
Dibenz	1,58
Acrid	99,9
Mélange	40,8



Daphnia magna

	LC_{50} (mg L^{-1}) Mortalité t = 48 h
ATZ	6,9
DEA	97,3
DIA	152
DEDIA	464
OH-ATZ	3,41
Aniline	0,08

	LC_{50} (mg L^{-1}) Mortalité t = 96 h
DCF	11,2
OH-DCF	10,7
Benz	2,71
Mélange	6,67

CBZ	37,3
3OH-CBZ	120
CBZ-epox	52,1
Trans-CBZ	206
Dibenz	3,27
Acrid	233
Mélange	41,5

Pimephales promelas

	LC_{50} (mg L^{-1}) Mortalité t = 96 h
ATZ	4,1
DEA	15,6
DIA	28
DEDIA	120
OH-ATZ	19,5
Aniline	32

Figure 39 : Ecotoxicité des composés ciblés et des mélanges vis-à-vis de *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* et *Pimephales promelas*

3.2. Ecotoxicité des mélanges

La modélisation par QSAR a également été utilisée pour évaluer l'écotoxicité des mélanges de composés parents avec leurs produits de dégradation associés (Figure 39) puisque les données expérimentales ont révélé leur présence simultanée dans l'eau et les organismes benthiques (biofilms, corbicules).

Les résultats (Figure 39) montrent notamment que les valeurs de toxicité du DCF ou de la CBZ et de leur mélange de produits de dégradation se situent globalement dans la fourchette moyenne des valeurs individuelles prédites pour chaque composé. Ainsi, pour *Pimephales promelas*, le mélange de la CBZ et de ses produits de dégradation (LC_{50} = 41,50 mg L^{-1}) est environ 12 fois moins toxique que la Dibenz seule (LC_{50} = 3,27 mg L^{-1}). Cependant, le mélange est 3 à 5 fois plus toxique que les autres produits de dégradation pris individuellement. Selon la prédiction QSAR, la toxicité du mélange est inférieure à la toxicité individuelle du composé parent, la CBZ, pour *Pimephales promelas* (41,50 mg L^{-1} *versus* 37,30 mg L^{-1}), et en particulier pour les algues *P. subcapitata* (37,00 mg L^{-1} *versus* 10,40 mg L^{-1}). Au contraire, la modélisation prévoit une toxicité plus élevée du mélange pour les daphnies. Ces résultats, basés sur la modélisation, mettent en évidence l'importance d'évaluer expérimentalement ces paramètres pour confirmer l'« effet mélange » et ainsi l'intérêt de considérer les produits de dégradation avec leurs composés pharmaceutiques parents associés dans l'évaluation des risques écologiques. Néanmoins, il est maintenant connu que les effets résultant de l'exposition à un mélange de contaminants organiques peuvent être très différents des observations lors de l'évaluation de la toxicité d'un seul composé, comme cela a déjà été démontré pour les perturbateurs endocriniens par exemple (Filby *et al.*, 2007 ; Sumpter & Johnson, 2005). Jusqu'à présent, peu d'études se sont intéressées à cet effet de mélange avec de nombreux composés pharmaceutiques, et encore moins avec les produits de dégradation. Cleuvers (2003) a montré qu'un mélange de CBZ et d'un agent hypolipidémiant, l'acide clofibrique, présentait une toxicité plus élevée que les composés individuels à la même concentration lors des tests d'immobilisation de *D. magna*. Le même auteur (Cleuvers, 2004) a observé la toxicité aiguë d'un mélange d'anti-inflammatoires dont le DCF, à des concentrations plus faibles que pour les produits individuels.

Wang *et al.* (2020) ont été les premiers à développer un modèle QSAR pour prédire les écotoxicités de mélanges de fluoroquinolones avec leurs produits de photodégradation pour *Escherichia coli.* Leurs résultats montrent que la toxicité du mélange des dérivés de fluoroquinolones est une addition de leurs toxicités individuelles. Qin *et al.* (2018) ont développé un modèle QSAR pour prédire les écotoxicités aiguës des mélanges de deux antibiotiques et de quatre pesticides vis-à-vis d'*Aliivibrio fischeri.* Les 45 mélanges étudiés ont présenté des effets additifs, synergiques et antagonistes. Les auteurs ont également montré que, par rapport aux modèles traditionnels d'additivité de concentrations et de modes d'actions indépendants, leur modèle QSAR prédisait mieux les toxicités des mélanges.

3.3. Comparaison avec les produits de dégradation des pesticides

Des données d'écotoxicité ont aussi été déterminées pour un pesticide courant (atrazine – ATZ) et certains de ses principaux produits de dégradation (déséthylatrazine – DEA, déisopropylatrazine – DIA, déséthyldéisopropylatrazine – DEDIA, hydroxyatrazine – OH-ATZ et aniline) afin de permettre une comparaison avec la CBZ, le DCF et leurs produits de dégradation (Figure 39). L'atrazine a été interdite en France en 2001 mais se trouve toujours dans l'eau et les sédiments fluviaux. De plus, l'ATZ et son métabolite la DEA sont fréquemment responsables de la dégradation de la qualité et du déclassement des eaux de surface ou souterraines. La comparaison avec l'ATZ et ses métabolites montre que bien que le DCF et la CBZ soient moins toxiques pour les trois espèces d'intérêt que ce pesticide, leurs produits de dégradation présentent des valeurs d'EC_{50} et de LC_{50} globalement comparables à celles des métabolites de l'ATZ.

En France, la présence de résidus de pesticides et de leurs métabolites dans l'eau est toujours réglementée par la directive européenne 98/83/CE relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) (Conseil Européen, 1998). Ce texte fixe les limites de qualité en EDCH à 0,1 µg L^{-1} par substance individuelle et à 0,5 µg L^{-1} pour leur somme. Les contrôles

de la qualité de l'eau sont de plus en plus révélateurs de situations où les limites réglementaires de qualité sont dépassées pour les métabolites. Ainsi, la direction générale de la santé (DGS) a approché l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) pour définir une méthodologie d'identification des métabolites pertinents (ANSES, 2019a). À la lumière des effets possibles de certains produits pharmaceutiques, cette approche devrait être transposée afin d'identifier uniquement les produits de transformation pertinents pour la santé humaine et/ou environnementale.

3.4. Evaluation du risque environnemental

Une méthodologie a été développée pour associer à la fois les données d'écotoxicité et de persistance afin d'évaluer le risque lié à la présence de produits de dégradation de médicaments dans les rivières étudiées. Ainsi, les $PNEC_{eau}$ ont été calculées à partir des paramètres d'écotoxicité prédits pour chaque composé individuel ainsi que pour les mélanges, puis les HQ ont été obtenus en divisant la MEC observée dans l'eau au cours de cette étude par la $PNEC_{eau}$ (N.B. : la MEC d'un mélange est exprimée en masse de molécule mère et correspond à la somme des MEC des différents composés) (Tableau 33). La persistance a été évaluée avec l'indice de biodégradation ultime obtenu avec le modèle EPISUITE Biowin3 inclus dans la boîte à outils QSAR (US-EPA, 2012). Il est à noter que dans ce cas, seule la biodégradation est prise en compte dans la persistance, tandis que d'autres mécanismes (hydrolyse, photolyse, *etc.*) peuvent également transformer/dégrader les composés. Pour les mélanges, l'indice de biodégradation ultime a été obtenu en calculant la moyenne pondérée des indices des constituants de chaque mélange. Les indices de biodégradation varient entre 2,31 et 2,70 pour les produits de dégradation de la CBZ et du DCF, ce qui signifie une demi-vie de quelques semaines à quelques mois, à l'exception de la Trans-CBZ (2,92) qui présente une biodégradation légèrement plus rapide que les autres molécules (Tableau 34).

Tableau 33 : Calcul des quotients de risque pour l'eau des composés ciblés

	MEC (µg L^{-1})	Plus petite valeur d'écotoxicité (mg L^{-1})	$PNEC_{eau}$ (mg L^{-1})	HQ
DCF	0,43	6,00	0,01	0,07
OH-DCF	0,52	2,30	0,00	0,23
Benz	0,78	2,71	0,00	0,29
Mélange DCF	1,92	5,63	0,01	0,34
CBZ	0,74	10,40	0,01	0,07
3OH-CBZ	0,32	28,70	0,03	0,01
CBZ-epox	0,40	37,60	0,04	0,01
Trans-CBZ	0,30	206,00	0,21	0,00
Dibenz	0,69	1,58	0,00	0,44
Acrid	0,65	99,90	0,10	0,01
Mélange CBZ	3,31	37,00	0,04	0,09

Tableau 34 : Indices de biodégradation des composés ciblés

	Indice de biodégradation
DCF	2,29
4'OH-DCF	2,31
5OH-DCF	2,31
Benz	2,37
Mélange DCF	2,33
CBZ	2,68
3OH-CBZ	2,70
CBZ-epox	2,63
Trans-CBZ	2,92
Dibenz	2,64
Acrid	2,61
Mélange CBZ	2,67

La Figure 40 présente une classification des composés selon leur risque associé (HQ) pour les rivières étudiées et leur indice de biodégradation. Les composés ciblés peuvent être divisés en quatre groupes : (1) « les composés préoccupants » à cause de leur persistance et leurs concentrations élevées : OH-DCF, Benz et Dibenz. Ces composés ont un HQ inférieur à 1 (risque moyen) pour les organismes aquatiques et sont donc préoccupants par rapport aux autres composés étudiés. Il en va de même pour la notion de persistance dans l'eau ; (2) « les composés à surveiller en raison de leur persistance dans l'eau » : ces molécules pourraient devenir préoccupantes si leurs niveaux ont tendance à augmenter : DCF, CBZ, 3OH-CBZ, CBZ-epox et Acrid. (3) « les molécules à surveiller à cause de leur dépassement de la $PNEC_{eau}$ » : aucun composé identifié dans cette étude ; et (4) « les molécules non

préoccupantes », y compris les composés avec un niveau de contamination inférieur à la $PNEC_{eau}$ (HQ <0,1) et une faible persistance en phase dissoute : Trans-CBZ.

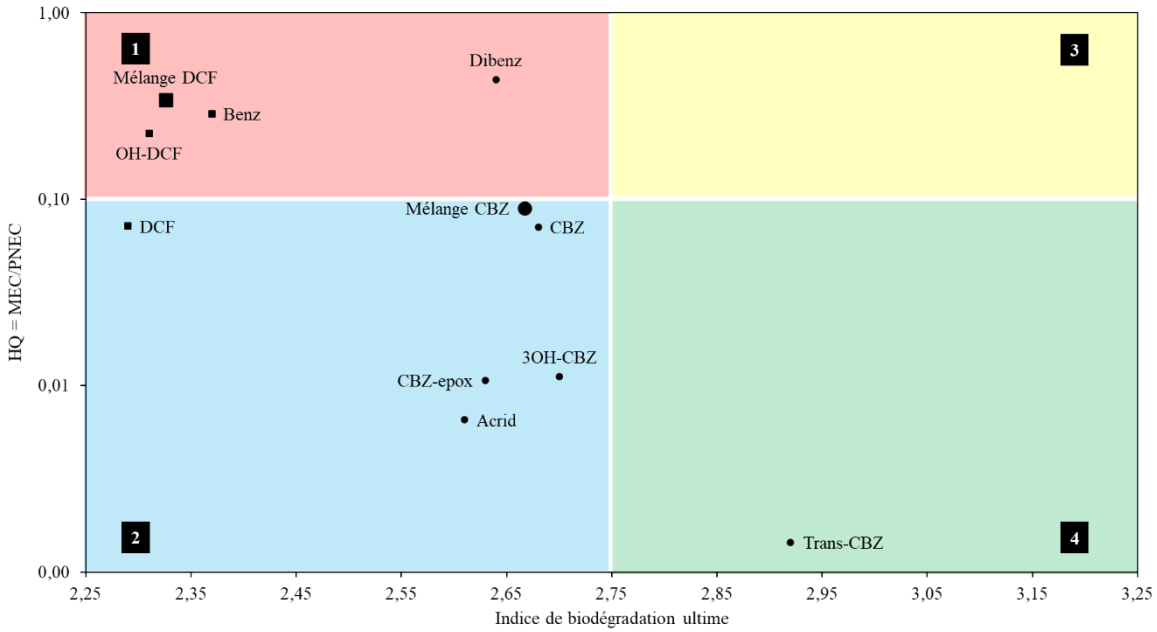


Figure 40 : Mise en évidence des composés problématiques dans les eaux de la Vienne, du Clain et du Thouet en fonction du risque associé (HQ) et du niveau de persistance (indice de biodégradation ultime) (inspiré par Mazellier *et al.* (2018))

La même méthodologie a été employée pour évaluer le risque concernant le compartiment sédimentaire. Les $PNEC_{sédiment}$ ont été dérivées des $PNEC_{eau}$ par la méthode de partition à l'équilibre. Le K_{OC} d'un mélange est la moyenne pondérée des valeurs de K_{OC} de ses constituants. Les données ainsi calculées, ainsi que les valeurs de MEC mesurées dans les sédiments des trois rivières échantillonnées, ont été utilisées pour déduire les HQ de chaque composé par rapport aux organismes benthiques (Tableau 35). La Figure 41 présente la classification des composés selon leur risque associé et leur indice de biodégradation dans les sédiments des rivières étudiées. Ainsi, l'OH-DCF et la Benz sont classés comme « composés déjà préoccupants » ; le DCF, la CBZ, la 3OH-CBZ, la CBZ-epox et la Dibenz sont des « composés à surveiller – groupe 2 » ; et la Trans-CBZ est considérée comme une « molécule non préoccupante ». La comparaison entre les risques dans l'eau et dans les sédiments (Figure 40 et Figure 41) suggère que la Dibenz est plus préoccupante pour les espèces aquatiques que pour les organismes benthiques. Le reste des composés présente le même risque dans les

sédiments que dans l'eau. De plus, le même comportement est observé pour les mélanges, en particulier celui du DCF et de ses produits de dégradation qui est plus préoccupant que le composé parent seul.

Tableau 35 : Calcul des quotients de risque pour le sédiment des composés ciblés

	MEC (ng g^{-1}) (en considérant 1 % de matière sèche)	K_{OC} (L kg^{-1})	$PNEC_{sédiment}$ (mg kg^{-1})	HQ
DCF	1,74	407,38	0,06	0,03
OH-DCF	3,43	248,31	0,01	0,24
Benz	8,78	467,74	0,03	0,30
Mélange DCF	16,22	358,26	0,05	0,34
CBZ	2,24	1318,26	031	0,01
3OH-CBZ	0,89	66,07	0,06	0,01
CBZ-epox	1,50	20,42	0,05	0,03
Trans-CBZ	1,22	0,86	0,17	0,01
Dibenz	2,31	1348,96	0,05	0,05
Acrid	2,00	102,33	0,30	0,01
Mélange CBZ	10,79	194,90	0,19	0,06

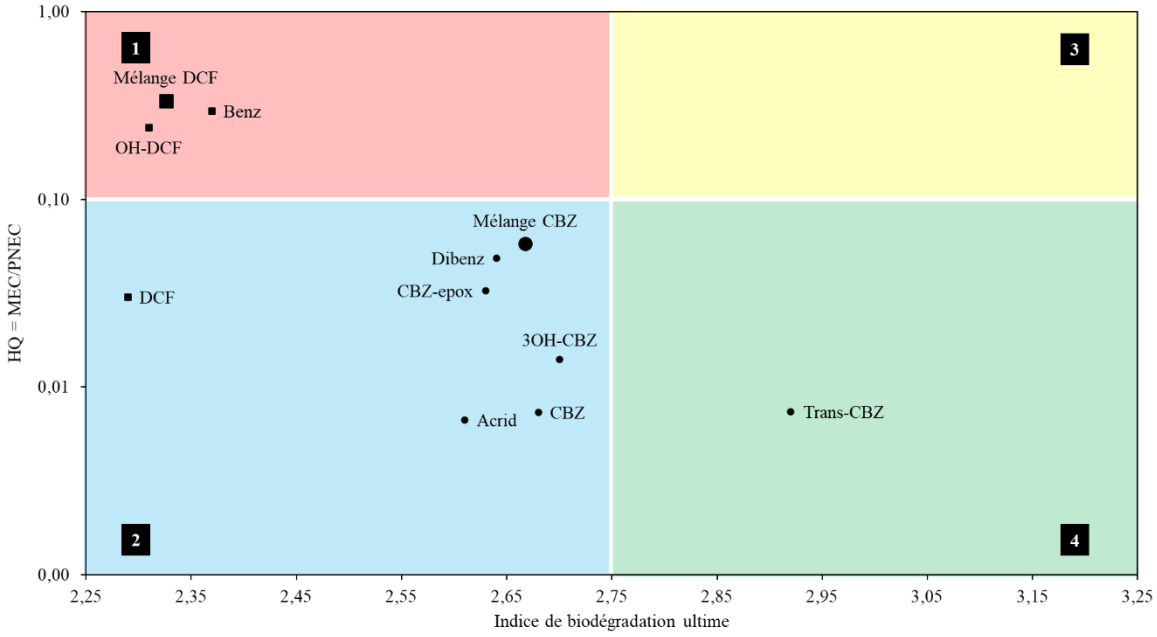


Figure 41 : Mise en évidence des composés problématiques dans les sédiments de la Vienne, du Clain et du Thouet en fonction du risque associé (HQ) et du niveau de persistance (indice de biodégradation ultime)

Les résultats montrent également l'importance de considérer les mélanges et non seulement les composés parents, comme l'illustre le cas du DCF. En effet, ce composé, considéré individuellement, ne semble pas présenter de risque (i.e. groupe 2, Figure 40 et Figure 41), alors qu'en mélange avec ses produits de dégradation, il est considéré préoccupant pour le

milieu aquatique en raison de leur persistance et de leurs niveaux élevés. Cependant, cette observation n'est pas généralisée puisque la CBZ seule et en mélange avec ses produits de dégradation présentent le même niveau de risque. Cela suggère qu'il serait nécessaire d'identifier uniquement les composés pour lesquels la considération de l'« effet mélange » est pertinente.

4. Conclusion

Pour conclure, l'utilisation de modèles QSAR a permis de pallier le manque de données écotoxicologiques, et par conséquent de mettre en évidence que certains des produits de dégradation de la CBZ ou du DCF pourraient être plus toxiques que leurs composés parents pour les espèces aquatiques. Ainsi, la présence de certains produits de dégradation de médicaments (par exemple, l'OH-DCF, la Benz et la Dibenz en raison de leurs quotients de risque relativement élevés et de leur biodégradation relativement lente) représente un risque pour la faune aquatique.

La prise en compte de la toxicité des produits de dégradation (effet individuel) pose également des questions sur l'effet cocktail. En effet, les composés peuvent avoir des interactions biochimiques imprévisibles lorsqu'ils sont considérés dans un mélange, ce qui entraîne des effets (cumulatifs ou non) différents de ceux des molécules individuelles. Comme le montre la modélisation des mélanges, il apparaît que le risque pour le milieu aquatique est plus élevé lorsque l'on considère le DCF avec ses produits de dégradation. Néanmoins, les résultats montrent également que cela n'est pas généralisable pour tous les composés parents (par exemple, la CBZ) et qu'il serait urgent d'identifier uniquement les produits de dégradation pertinents, comme c'est le cas pour les pesticides.

Finalement, une approche basée sur le cycle de vie des produits pharmaceutiques, combinant plusieurs secteurs politiques orientés sur la source, l'utilisation et la fin de vie de ces produits,

est nécessaire pour aborder efficacement ces contaminants dans l'environnement tout au long de leur cycle de vie (OCDE, 2019b).

Conclusion générale

Conclusion générale

Les travaux menés dans cette thèse ont permis de dresser un état des lieux de la contamination de différents compartiments du milieu aquatique par des résidus de carbamazépine, de diclofénac et d'amoxicilline, ainsi que de certains de leurs produits de dégradation, et d'évaluer le risque environnemental associé.

Dans un premier temps, l'accumulation de ces composés pharmaceutiques et de leurs produits de dégradation a été démontrée dans les biofilms épilithiques de différentes rivières. La pseudo-persistance des composés parents dans ce compartiment a été confirmée et celle des métabolites et produits de transformation a été démontrée, à des niveaux du même ordre de grandeur que les molécules mères. Ces composés se sont avérés probablement peu formés dans le milieu mais plutôt apportés par les rejets de STEU. La comparaison de l'indicateur biofilm avec les échantillonneurs passifs de type POCIS a révélé une complémentarité entre ces deux types d'échantillonnage dans l'évaluation de la contamination d'un milieu aquatique par les résidus de médicaments. Cependant, aucune corrélation n'a été constatée, permettant de prévoir les concentrations en composés ciblés dans les biofilms à partir des données de l'échantillonnage passif. Ceci montre que les concentrations en composés ciblés dans les biofilms sont différentes de celles perçues dans l'eau par l'échantillonnage passif, vraisemblablement en lien avec l'affinité et la disponibilité des composés pour les matrices.

Une étude élargie à plusieurs compartiments du milieu aquatique (eaux, biofilms, sédiments, corbicules) – prélevés *in situ* le long de trois cours d'eau différents, à des sites plus ou moins impactés par des rejets anthropiques – a mis en lumière la présence de produits de dégradation de composés pharmaceutiques dans l'ensemble de l'écosystème aquatique. Ces contaminants présentent des teneurs variables, du même ordre de grandeur, plus faibles ou plus élevées que celles des composés parents. De plus, la distribution des molécules ciblées

dans les différents compartiments étudiés a été reliée à leur présence dans l'eau, leurs propriétés physico-chimiques et leur dégradation dans l'environnement aquatique. Les échantillons ont été différenciés par analyse factorielle discriminante selon le cours d'eau où ils ont été prélevés, et une plus grande variabilité des sédiments par rapport aux biofilms ou aux corbicules a été montrée. De plus, l'exposition (i.e. amont ou aval d'un rejet) semble être un déterminant important de la contamination des compartiments étudiés.

Cette large présence de produits de dégradation de médicaments dans le milieu aquatique a permis de mettre en lumière l'intérêt d'évaluer le risque que peuvent présenter ces composés pour les organismes aquatiques. Afin de pallier le manque de données écotoxicologiques, des modèles QSAR ont été employés et ont permis de mettre en évidence la toxicité plus élevée de certains produits de dégradation en comparaison avec leurs composés parents vis-à-vis de trois espèces appartenant à des niveaux trophiques différents. Le calcul des quotients de risque associés a montré un risque plus élevé du mélange de diclofénac avec ses produits de dégradation par rapport aux composés pris individuellement. Cependant, ce constat n'a pas été observé pour la famille de la carbamazépine.

Finalement, ce travail aura permis de montrer pour la première fois l'omniprésence de métabolites et de produits de transformation de médicaments dans plusieurs compartiments du milieu aquatique et leur effet possible sur le vivant. Il pose donc ouvertement la question de la prise en considération de ces composés ou certains de ces composés, à l'image des sous-produits de pesticides.

Il ouvre aussi des perspectives d'approfondissement. Ainsi, un intérêt plus spécifique pourrait être porté à la cinétique de formation des produits de dégradation de médicaments dans chacun des compartiments du milieu aquatique. Ceci permettrait d'apporter un éclairage quant aux processus qui contribueraient à leur persistance dans l'environnement. Une telle

étude pourrait être menée dans des microcosmes de laboratoire avec des composés marqués, facilitant ainsi le suivi de la dégradation biotique et abiotique de différentes molécules pharmaceutiques et sous diverses conditions. De plus, la spectrométrie de masse haute résolution semble être un outil adapté pour l'identification des métabolites et des produits de transformation les plus stables, qui mériteraient donc d'être considérés dans des études ultérieures.

Un suivi *in situ* d'un plus grand nombre de produits de dégradation, ou une analyse non-ciblée, permettrait d'évaluer la contribution de chacune des voies de dégradation des médicaments dans l'environnement aquatique (i.e. photolyse, biodégradation, hydrolyse…) et de lier la présence des composés d'intérêt à d'autres traceurs chimiques (par exemple, la caféine comme marqueur de rejets d'eaux usées) ou microbiologiques (par exemple, des gènes de résistance ou des espèces spécifiques de la flore intestinale) afin de déterminer la source principale de leur présence dans l'environnement.

D'autre part, il semblerait important de mener une démarche de priorisation des produits de dégradation de médicaments pertinents, au même titre que les métabolites de pesticides. A cette fin, les modèles QSAR pourraient permettre de prédire l'ensemble des métabolites et des produits de transformation possibles pour chaque composé pharmaceutique, ainsi que leurs écotoxicités associées. Ainsi, une première sélection des molécules les plus stables et les plus toxiques pourrait être effectuée. Dans un second temps, des études écotoxicologiques devraient être menées en laboratoire afin de vérifier et confirmer la pertinence des composés choisis. Ceci contribuerait à montrer l'importance de considérer les produits de dégradation de médicaments dans la surveillance des milieux aquatiques et à attirer l'attention de la scène politique et sanitaire sur les risques qu'ils présentent.

Références bibliographiques

AEAP. (2010). Les médicaments dans les cours d'eau du bassin Artois-Picardie—Résultats de la campagne exploratoire 2010.

AFNOR. (1999). XP T90-210 Qualité de l'eau—Protocole d'évaluation d'une méthode alternative d'analyse physico-chimique quantitative par rapport à une méthode de référence.

Alvarez, D. A., Petty, J. D., Huckins, J. N., Jones-Lepp, T. L., Getting, D. T., Goddard, J. P., & Manahan, S. E. (2004). Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. Environmental Toxicology and Chemistry, 23(7), 1640–1648.

Alvarez-Muñoz, D., Huerta, B., Fernandez-Tejedor, M., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D. (2015). Multi-residue method for the analysis of pharmaceuticals and some of their metabolites in bivalves. Talanta, 136, 174-182. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.12.035

Amarasiri, M., Sano, D., & Suzuki, S. (2020). Understanding human health risks caused by antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG) in water environments : Current knowledge and questions to be answered. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 50(19), 2016-2059. https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1692611

Anderson, P. O., Knoben, J. E., & Troutman, W. G. (2002). Handbook of Clinical Drug Data (10ème édition). McGraw-Hill, USA.

Andreozzi, R., Raffaele, M., & Nicklas, P. (2003). Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. Chemosphere, 50(10), 1319-1330. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00769-5

ANSES. (2011). Campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine. Ressources en eaux brutes et eaux traitées.

ANSES. (2019a). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation de la pertinence des métabolites de pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine.

ANSES. (2019b). Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2018.

ANSES. (2020). Antibiorésistance et environnement—État et causes possibles de la contamination des milieux en France par les antibiotiques, les bactéries résistantes aux antibiotiques et les supports génétiques de la résistance aux antibiotiques. Avis de l'Anses. Saisine n° 2016-SA-0252.

ANSM. (2014). Analyse des ventes de médicaments en France en 2013.

ANSM. (2017). La consommation d'antibiotiques en France en 2016.

Arenas-Sánchez, A., Rico, A., Rivas-Tabares, D., Blanco, A., Garcia-Doncel, P., Romero-Salas, A., … Vighi, M. (2019). Identification of contaminants of concern in the upper Tagus river basin (central Spain). Part 2 : Spatio-temporal analysis and ecological risk assessment. Science of The Total Environment, 667, 222-233. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.286

Arikan, O. A., Rice, C., & Codling, E. (2008). Occurrence of antibiotics and hormones in a major agricultural watershed. Desalination, 226(1-3), 121-133. https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.01.238

Arrêté du 25 janvier 2010 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel écologique des eaux de surface pris en application des articles R. 212-10, R. 212-11 et R. 212-18 du code de l'environnement. , (2010).

Article L5111-1—Code de la santé publique. , (2007).

Article R212-22—Code de l'environnement. , (2007).

Ashton, D., Hilton, M., & Thomas, K. V. (2004). Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. Science of The Total Environment, 333(1), 167-184. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.04.062

Aubertheau, E., Stalder, T., Mondamert, L., Ploy, M.-C., Dagot, C., & Labanowski, J. (2017). Impact of wastewater treatment plant discharge on the contamination of river biofilms by pharmaceuticals and antibiotic resistance. Science of The Total Environment, 579, 1387-1398. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.136

Baena-Nogueras, R. M., González-Mazo, E., & Lara-Martín, P. A. (2017). Degradation kinetics of pharmaceuticals and personal care products in surface waters : Photolysis vs biodegradation. Science of The Total Environment, 590-591, 643-654. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.015

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. Science of The Total Environment, 454-455, 442-456. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.043

Balian, E., Harrison, I., Butchart, S., Chambers, P., Cordeiro, J., Cumberlidge, N., … Yeo, D. (2010). Chapter 2. Diversity of Species in Freshwater System. In Conservation International and Cemex Conservation Book Series. Freshwater – the essence of Life (R. A. Mittermeier, T. Farrell, I. J. Harrison, A. J. Upgren, T. Brooks, p. 50-89). China: Earth in Focus Editions.

Barra Caracciolo, A., Topp, E., & Grenni, P. (2015). Pharmaceuticals in the environment : Biodegradation and effects on natural microbial communities. A review. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 106, 25-36. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.11.040

Bartelt-Hunt, S. L., Snow, D. D., Damon, T., Shockley, J., & Hoagland, K. (2009). The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska. Environmental Pollution, 157(3), 786-791. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.025

Bartelt-Hunt, S. L., Snow, D. D., Damon-Powell, T., Brown, D. L., Prasai, G., Schwarz, M., & Kolok, A. S. (2011). Quantitative evaluation of laboratory uptake rates for pesticides, pharmaceuticals, and steroid hormones using POCIS. Environmental Toxicology and Chemistry, 30(6), 1412-1420. https://doi.org/10.1002/etc.514

Bartelt-Hunt, S., Snow, D. D., Damon-Powell, T., & Miesbach, D. (2011). Occurrence of steroid hormones and antibiotics in shallow groundwater impacted by livestock waste control facilities. Journal of Contaminant Hydrology, 123(3), 94-103. https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2010.12.010

Batt, A. L., Bruce, I. B., & Aga, D. S. (2006). Evaluating the vulnerability of surface waters to antibiotic contamination from varying wastewater treatment plant discharges. Environmental Pollution, 142(2), 295-302. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.10.010

Battin, T. J., Besemer, K., Bengtsson, M. M., Romani, A. M., & Packmann, A. I. (2016). The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. Nature Reviews Microbiology, 14(4), 251-263. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.15

Bayen, S., Segovia, E., Loh, L. L., Burger, D. F., Eikaas, H. S., & Kelly, B. C. (2014). Application of Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) to monitor emerging contaminants in tropical waters. Science of The Total Environment, 482-483, 15-22. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.082

Behera, S. K., Kim, H. W., Oh, J.-E., & Park, H.-S. (2011). Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. Science of The Total Environment, 409(20), 4351-4360. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.07.015

Bennett, G. D., Amore, B. M., Finnell, R. H., Wlodarczyk, B., Kalhorn, T. F., Skiles, G. L., … Slattery, J. T. (1996). Teratogenicity of carbamazepine-10,11-epoxide and oxcarbazepine in the SWV mouse. J Pharmacol Exp Ther, 279, 1237–1242.

Berlioz-Barbier, A. (2015). Développement de méthodologies innovantes basées sur la nanochromatographie couplée à la spectrométrie de masse pour l'étude de la bioaccumulation et de la biotransformation de polluants émergents chez des invertébrés aquatiques d'eau douce. Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon.

Bilan PNRM. (2015). Bilan du plan national sur les résidus de médicaments dans les eaux 2011-2015. Ministère des affaires sociales, de la santé et des droits des femmes. Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie. Consulté à l'adresse https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/pnmr1115.pdf

Björlenius, B., Ripszám, M., Haglund, P., Lindberg, R. H., Tysklind, M., & Fick, J. (2018). Pharmaceutical residues are widespread in Baltic Sea coastal and offshore waters – Screening for pharmaceuticals and modelling of environmental concentrations of carbamazepine. Science of The Total Environment, 633, 1496-1509. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.276

Bleeker, E. A. J., Van Der Geest, H. G., Klamer, H. J. C., De Voogt, P., Wind, E., & Kraak, M. H. S. (1999). Toxic and Genotoxic Effects of Azaarenes : Isomers and Metabolites. Polycyclic Aromatic Compounds, 13(3), 191-203. https://doi.org/10.1080/10406639908020563

Boreen, A. L., Arnold, W. A., & McNeill, K. (2003). Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment : A review. Aquatic Sciences, 65, 320-341. https://doi.org/10.1007/s00027-003-0672-7

Bort, R., Macé, K., Boobis, A., Gomez-Lechon, M.-J., Pfeifer, A., & Castell, J. (1999). Hepatic Metabolism of Diclofenac : Role of Human CYP in the Minor Oxidative Pathways. Biochemical Pharmacology, 58(5), 787-796. https://doi.org/10.1016/S0006-2952(99)00167-7

Bort, R., Ponsoda, X., Jover, R., Gómez-Lechón, M. J., & Castell, J. V. (1999). Diclofenac toxicity to hepatocytes : A role for drug metabolism in cell toxicity. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 288(1), 65-72.

Bourgeault, A., Gourlay-Francé, C., Priadi, C., Ayrault, S., & Tusseau-Vuillemin, M.-H. (2011). Bioavailability of particulate metal to zebra mussels : Biodynamic modelling shows that assimilation efficiencies are site-specific. Environmental Pollution, 159(12), 3381-3389. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.08.034

Bourgeois, B. F. D., & Wad, N. (1984). Individual and combined antiepileptic and neurotoxic activity of carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide in mice. The Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics, 231(2), 411-415.

Boxall, A. B. A., Sinclair, C. J., Fenner, K., Kolpin, D., & Maund, S. J. (2004). Peer Reviewed : When Synthetic Chemicals Degrade in the Environment. Environmental Science & Technology, 38(19), 368A-375A. https://doi.org/10.1021/es040624v

Breton, H., Cociglio, M., Bressolle, F., Peyriere, H., Blayac, J.-P., & Hillaire-Buys, D. (2005). Liquid chromatography–electrospray mass spectrometry determination of carbamazepine, oxcarbazepine and eight of their metabolites in human plasma. Journal of Chromatography B, 828(1), 80-90. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.09.019

BRGM. (2011). Rapport final : Suivi des résidus de substances pharmaceutiques dans les systèmes aquatiques du bassin Loire-Bretagne.

Brodin, T., Piovano, S., Fick, J., Klaminder, J., Heynen, M., & Jonsson, M. (2014). Ecological effects of pharmaceuticals in aquatic systems—Impacts through behavioural alterations. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 369(1656), 20130580. https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0580

Brooks, B. W., Chambliss, C. K., Stanley, J. K., Ramirez, A., Banks, K. E., Johnson, R. D., & Lewis, R. J. (2005). Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. Environmental Toxicology and Chemistry, 24(2), 464-469. https://doi.org/10.1897/04-081R.1

Budzinski, H., Soulier, C., Esperanza, M., Miège, C., Coquery, M., Choubert, J.-M., … Bruchet, A. (2009). Concentrations et flux de micropolluants dans les eaux usées et les boues de stations d'épuration : Concentrations en entrée et sortie de station d'épuration.

Burket, S. R., White, M., Ramirez, A. J., Stanley, J. K., Banks, K. E., Waller, W. T., … Brooks, B. W. (2019). Corbicula fluminea rapidly accumulate pharmaceuticals from an effluent dependent urban stream. Chemosphere, 224, 873-883. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.014

Burns, A., & Ryder, D. S. (2001). Potential for biofilms as biological indicators in Australian riverine systems. Ecological Management & Restoration, 2(1), 53-64. https://doi.org/10.1046/j.1442-8903.2001.00069.x

Calisto, V., Domingues, M. R. M., & Esteves, V. I. (2011). Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments – Kinetics and photodegradation products. Water Research, 45(18), 6097-6106. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.008

Camotti Bastos, M., Rheinheimer dos Santos, D., Monteiro de Castro Lima, J. A., Le Guet, T., Santanna dos Santos, M. A., Zanella, R., … Labanowski, J. (2017). Presence of Anthropogenic Markers in Water : A Case Study of the Guaporé River Watershed, Brazil. CLEAN – Soil, Air, Water, 46(3), 1700019. https://doi.org/10.1002/clen.201700019

Cantanhêde, G., Hahn, N. S., Gubiani, E. A., & Fugi, R. (2008). Invasive molluscs in the diet of Pterodoras granulosus (Valenciennes, 1821) (Pisces, Doradidae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. Ecology of Freshwater Fish, 17(1), 47-53. https://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2007.00258.x

Carballa, M., Omil, F., & Lema, J. M. (2005). Removal of cosmetic ingredients and pharmaceuticals in sewage primary treatment. Water Research, 39(19), 4790-4796. https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.09.018

Casiot, C., Egal, M., Elbaz-Poulichet, F., Bruneel, O., Bancon-Montigny, C., Cordier, M.-A., … Aliaume, C. (2009). Hydrological and geochemical control of metals and arsenic in a Mediterranean river contaminated by acid mine drainage (the Amous River, France); preliminary assessment of impacts on fish (Leuciscus cephalus). Applied Geochemistry, 24(5), 787-799. https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2009.01.006

Castiglioni, S., Bagnati, R., Calamari, D., Fanelli, R., & Zuccato, E. (2005). A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. Journal of Chromatography A, 1092(2), 206-215. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.012

Celiz Mary, D., Tso, J., & Aga Diana, S. (2010). Pharmaceutical metabolites in the environment : Analytical challenges and ecological risks. Environmental Toxicology and Chemistry, 28(12), 2473-2484. https://doi.org/10.1897/09-173.1

Černoch, I., Fránek, M., Diblíková, I., Hilscherová, K., Randák, T., Ocelka, T., & Bláha, L. (2012). POCIS sampling in combination with ELISA : Screening of sulfonamide residues in surface and waste waters. Journal of Environmental Monitoring, 14(1), 250-257. https://doi.org/10.1039/C1EM10652J

Choi, K., Kim, Y., Park, J., Park, C. K., Kim, M., Kim, H. S., & Kim, P. (2008). Seasonal variations of several pharmaceutical residues in surface water and sewage treatment plants of Han River, Korea. Science of The Total Environment, 405(1), 120-128. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.038

Chonova, T., Keck, F., Labanowski, J., Montuelle, B., Rimet, F., & Bouchez, A. (2016). Separate treatment of hospital and urban wastewaters : A real scale comparison of effluents and their effect on microbial communities. Science of The Total Environment, 542, 965-975. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.161

Christian, T., Schneider, R. J., Färber, H. A., Skutlarek, D., Meyer, M. T., & Goldbach, H. E. (2003). Determination of Antibiotic Residues in Manure, Soil, and Surface Waters. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 31(1), 36-44.

Clarke, B. O., & Smith, S. R. (2011). Review of 'emerging' organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids. Environment International, 37(1), 226-247. https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.06.004

Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. Toxicology Letters, 142(3), 185-194. https://doi.org/10.1016/S0378-4274(03)00068-7

Cleuvers, M. (2004). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. Ecotoxicology and Environmental Safety, 59(3), 309-315. https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00141-6

Comeau, F., Surette, C., Brun, G. L., & Losier, R. (2008). The occurrence of acidic drugs and caffeine in sewage effluents and receiving waters from three coastal watersheds in Atlantic Canada. Science of The Total Environment, 396(2), 132-146. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.02.031

Crane, M., Watts, C., & Boucard, T. (2006). Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals. Science of The Total Environment, 367(1), 23-41. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.04.010

Criquet, J., Dumoulin, D., Howsam, M., Mondamert, L., Goossens, J.-F., Prygiel, J., & Billon, G. (2017). Comparison of POCIS passive samplers vs. composite water sampling : A case study. Science of The Total Environment, 609, 982-991. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.227

Danhof, M., de Jongh, J., De Lange, E. C. M., Della Pasqua, O., Ploeger, B. A., & Voskuyl, R. A. (2007). Mechanism-Based Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling : Biophase Distribution, Receptor Theory, and Dynamical Systems Analysis. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 47(1), 357-400. https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.47.120505.105154

Daniele, G., Fieu, M., Joachim, S., Bado-Nilles, A., Beaudouin, R., Baudoin, P., … Vulliet, E. (2017). Determination of carbamazepine and 12 degradation products in various compartments of an outdoor aquatic mesocosm by reliable analytical methods based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Environmental Science and Pollution Research, 24(20), 16893-16904. https://doi.org/10.1007/s11356-017-9297-6

Daniele, G., Fieu, M., Joachim, S., James-Casas, A., Andres, S., Baudoin, P., … Vulliet, E. (2016). Development of a multi-residue analysis of diclofenac and some transformation products in bivalves using QuEChERS extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Application to samples from mesocosm studies. Talanta, 155(Supplement C), 1-7. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.04.016

Dar, S. A., & Bhat, R. A. (2020). Aquatic Pollution Stress and Role of Biofilms as Environment Cleanup Technology. In H. Qadri, R. A. Bhat, M. A. Mehmood, & G. H. Dar (Éd.), Fresh Water Pollution Dynamics and Remediation (p. 293-318). https://doi.org/10.1007/978-981-13-8277-2_16

Davies, N. M., & Anderson, K. E. (1997). Clinical Pharmacokinetics of Diclofenac. Clinical Pharmacokinetics, 33(3), 184-213. https://doi.org/10.2165/00003088-199733030-00003

de Solla, S. R., Gilroy, È. A. M., Klinck, J. S., King, L. E., McInnis, R., Struger, J., … Gillis, P. L. (2016). Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products in the unionid mussel Lasmigona costata in a river receiving wastewater effluent. Chemosphere, 146, 486-496. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.022

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 [notifiée sous le numéro C(2015) 1756] Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE. , Pub. L. No. 32015D0495, 078 OJ L (2015).

Décision d'exécution (UE) 2018/840 de la Commission du 5 juin 2018 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 et abrogeant la décision d'exécution (UE) 2015/495 de la Commission [notifiée sous le numéro C(2018) 3362]. , Pub. L. No. 32018D0840, 141 OJ L (2018).

Denys, S. (2004). Biodégradation des solvants chlorés en conditions naturelles : Mécanismes et caractérisation. Synthèse bibliographique. Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable. Ineris.

Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. , Pub. L. No. 31998L0083, OJ L 330 (1998).

Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. , (2000).

Directive 2008/105/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau, modifiant et abrogeant les directives du Conseil 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/280/CEE et modifiant la directive 2000/60/CE. , (2008).

Directive 2013/39/UE du Parlement européen et du Conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE. , (2013).

Diviš, P., Machat, J., Szkandera, R., & Docekalova, H. (2012). In situ measurement of bioavailable metal concentrations at the downstream on the Morava river using tranplanted mosses and DGT technique. International Journal of Environmental Research, 6(1), 87-94.

Donner, E., Kosjek, T., Qualmann, S., Kusk, K. O., Heath, E., Revitt, D. M., … Andersen, H. R. (2013). Ecotoxicity of carbamazepine and its UV photolysis transformation products. Science of The Total Environment, 443, 870-876. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.059

Dougherty, J. A., Swarzenski, P. W., Dinicola, R. S., & Reinhard, M. (2010). Occurrence of Herbicides and Pharmaceutical and Personal Care Products in Surface Water and Groundwater around Liberty Bay, Puget Sound, Washington. Journal of Environmental Quality, 39(4), 1173-1180. https://doi.org/10.2134/jeq2009.0189

Du, B., Haddad, S. P., Luek, A., Scott, W. C., Saari, G. N., Kristofco, L. A., … Brooks, B. W. (2014). Bioaccumulation and trophic dilution of human pharmaceuticals across trophic positions of an effluent-dependent wadeable stream. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 369(1656), 20140058-20140058. https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0058

Du, Bowen, Haddad, S. P., Scott, W. C., Chambliss, C. K., & Brooks, B. W. (2015). Pharmaceutical bioaccumulation by periphyton and snails in an effluent-dependent stream during an extreme drought. Chemosphere, 119, 927-934. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.044

Eau France. (2020a). Base de données sur la qualité des eaux de surface. Consulté à l'adresse http://www.naiades.eaufrance.fr/

Eau France. (2020b). La biodiversité des milieux aquatiques. Consulté à l'adresse https://www.eaufrance.fr/la-biodiversite-des-milieux-aquatiques

Ebele, A. J., Abou-Elwafa Abdallah, M., & Harrad, S. (2017). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. Emerging Contaminants, 3(1), 1-16. https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004

EPTB de la Vienne. (2020a). Sous bassins—Etablissement Public Territorial du Bassin de la Vienne. Consulté à l'adresse http://www.eptb-vienne.fr/-Sous-bassins-.html

EPTB de la Vienne. (2020b). Territoire d'intervention—Etablissement Public Territorial du Bassin de la Vienne. Consulté à l'adresse http://www.eptb-vienne.fr/-Territoire-d-intervention-.html

Eriksson, J., Svanfelt, J., & Kronberg, L. (2010). A Photochemical Study of Diclofenac and Its Major Transformation Products. Photochemistry and Photobiology, 86(3), 528-532. https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2009.00703.x

Escher, B. I., & Fenner, K. (2011). Recent Advances in Environmental Risk Assessment of Transformation Products. Environmental Science & Technology, 45(9), 3835-3847. https://doi.org/10.1021/es1030799

European Chemicals Agency. (2008). Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.10 : Characterisation of dose [concentration]-response for environment.

European Chemicals Bureau. (2003). Technical guidance document on risk assessment in support of the commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances Commission Regulation (EC) No 1488/94 on risk assessment for existing substances directive 98/8/EC of the European Parliament and of the council concerning the placing of biocidal products on the market.

Fabbri, E., & Franzellitti, S. (2016). Human pharmaceuticals in the marine environment : Focus on exposure and biological effects in animal species. Environmental Toxicology and Chemistry, 35(4), 799-812. https://doi.org/10.1002/etc.3131

Fernandes, G., Aparicio, V. C., Bastos, M. C., De Gerónimo, E., Labanowski, J., Prestes, O. D., … dos Santos, D. R. (2019). Indiscriminate use of glyphosate impregnates river epilithic biofilms in southern Brazil. Science of The Total Environment, 651, 1377-1387. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.292

Fernandes, G., Bastos, M. C., de Vargas, J. P. R., Le Guet, T., Clasen, B., & dos Santos, D. R. (2020). The use of epilithic biofilms as bioaccumulators of pesticides and pharmaceuticals in aquatic environments. Ecotoxicology. https://doi.org/10.1007/s10646-020-02259-4

Fernández, C., González-Doncel, M., Pro, J., Carbonell, G., & Tarazona, J. V. (2010). Occurrence of pharmaceutically active compounds in surface waters of the henares-jarama-tajo river system (madrid, spain) and a potential risk characterization. Science of The Total Environment, 408(3), 543-551. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.009

Filby, A. L., Neuparth, T., Thorpe, K. L., Owen, R., Galloway, T. S., & Tyler, C. R. (2007). Health Impacts of Estrogens in the Environment, Considering Complex Mixture Effects. Environmental Health Perspectives, 115(12), 1704-1710. https://doi.org/10.1289/ehp.10443

Flemming, H.-C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. Nature Reviews Microbiology, 8(9), 623-633. https://doi.org/10.1038/nrmicro2415

Furst, S. M., Sukhai, P., McClelland, R. A., & Uetrecht, J. P. (1995). Covalent binding of carbamazepine oxidative metabolites to neutrophils. Drug Metabolism and Disposition, 23(5), 590-594.

Furst, Sylvia M., & Uetrecht, J. P. (1995). The effect of carbamazepine and its reactive metabolite, 9-acridine carboxaldehyde, on immune cell function in vitro. International Journal of Immunopharmacology, 17(5), 445-452. https://doi.org/10.1016/0192-0561(95)00019-X

Gabet-Giraud, V., Miège, C., Jacquet, R., & Coquery, M. (2014). Impact of wastewater treatment plants on receiving surface waters and a tentative risk evaluation : The case of estrogens and beta blockers. Environmental Science and Pollution Research, 21(3), 1708-1722. https://doi.org/10.1007/s11356-013-2037-7

García-Galán, M. J., González Blanco, S., López Roldán, R., Díaz-Cruz, S., & Barceló, D. (2012). Ecotoxicity evaluation and removal of sulfonamides and their acetylated metabolites during conventional wastewater treatment. Science of The Total Environment, 437, 403-412. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.08.038

Garrison, A. W., Pope, J. D., & Allen, F. R. (1976). Analysis of organic compounds in domestic wastewater. In Analysis of Organic Pollutants in Water (Keith, C. H., p. 517-566). Michigan, USA: Ann Arbor Science.

Gauthier, H., Yargeau, V., & Cooper, D. G. (2010). Biodegradation of pharmaceuticals by Rhodococcus rhodochrous and Aspergillus niger by co-metabolism. Science of The Total Environment, 408(7), 1701-1706. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.12.012

Gaw, S., Thomas, K. V., & Hutchinson, T. H. (2014). Sources, impacts and trends of pharmaceuticals in the marine and coastal environment. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 369(1656), 20130572. https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0572

Gilroy, È. A. M., Balakrishnan, V. K., Solomon, K. R., Sverko, E., & Sibley, P. K. (2012). Behaviour of pharmaceuticals in spiked lake sediments – Effects and interactions with benthic invertebrates. Chemosphere, 86(6), 578-584. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.10.022

Glassmeyer, S. T., Furlong, E. T., Kolpin, D. W., Cahill, J. D., Zaugg, S. D., Werner, S. L., … Kryak, D. D. (2005). Transport of Chemical and Microbial Compounds from Known Wastewater Discharges : Potential for Use as Indicators of Human Fecal Contamination. Environmental Science & Technology, 39(14), 5157-5169. https://doi.org/10.1021/es048120k

Göbel, A., McArdell, C. S., Joss, A., Siegrist, H., & Giger, W. (2007). Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. Science of The Total Environment, 372(2–3), 361-371. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.07.039

Godlewska, K., Stepnowski, P., & Paszkiewicz, M. (2020). Pollutant analysis using passive samplers : Principles, sorbents, calibration and applications. A review. Environmental Chemistry Letters. https://doi.org/10.1007/s10311-020-01079-6

Gonzalez, J.-L., Bouchoucha, M., Chiffoleau, J.-F., & Andral, B. (2012). Expérimentation RINBIO 2011. Suivi de la cinétique de contamination chimique de moules (Mytillus galloprovincialis). (p. 109). Ifremer.

Gonzalez, J.-L., & Foan, L. (2015). Evaluation de la contamination des eaux : Comparaison des mesures par échantillonnage passif (DGT, POCIS, SBSE) et des mesures dans le biote—Etat de l'art et bilan des données disponibles.

Gozlan, I., Rotstein, A., & Avisar, D. (2013). Amoxicillin-degradation products formed under controlled environmental conditions : Identification and determination in the aquatic environment. Chemosphere, 91(7), 985-992. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.095

Gröning, J., Held, C., Garten, C., Claußnitzer, U., Kaschabek, S. R., & Schlömann, M. (2007). Transformation of diclofenac by the indigenous microflora of river sediments and identification of a major intermediate. Chemosphere, 69(4), 509-516. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.03.037

Gros, M., Petrović, M., & Barceló, D. (2007). Wastewater treatment plants as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the Ebro river basin (northeast Spain). Environmental Toxicology and Chemistry, 26(8), 1553–1562.

Guibal, R., Lissalde, S., Brizard, Y., & Guibaud, G. (2018). Semi-continuous pharmaceutical and human tracer monitoring by POCIS sampling at the watershed-scale in an agricultural rural headwater river. Journal of Hazardous Materials, 360, 106-114. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.106

Gurr, C. J., & Reinhard, M. (2006). Harnessing Natural Attenuation of pharmaceuticals and hormones in rivers. Environmental Science & Technology, 40, 2872-2876.

Haap, T., Triebskorn, R., & Köhler, H.-R. (2008). Acute effects of diclofenac and DMSO to Daphnia magna : Immobilisation and hsp70-induction. Chemosphere, 73(3), 353-359. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.05.062

Han, E. J., & Lee, D. S. (2017). Significance of metabolites in the environmental risk assessment of pharmaceuticals consumed by human. Science of The Total Environment, 592, 600-607. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.044

Hao, C., Lissemore, L., Nguyen, B., Kleywegt, S., Yang, P., & Solomon, K. (2006). Determination of pharmaceuticals in environmental waters by liquid chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 384(2), 505-513. https://doi.org/10.1007/s00216-005-0199-y

Hargus, S. J., Amouzedeh, H. R., Pumford, N. R., Myers, T. G., McCoy, S. C., & Pohl, L. R. (1994). Metabolic Activation and Immunochemical Localization of Liver Protein Adducts of the Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Diclofenac. Chemical Research in Toxicology, 7(4), 575-582. https://doi.org/10.1021/tx00040a014

Hartmann, J., Bartels, P., Mau, U., Witter, M., Tümpling, W. v., Hofmann, J., & Nietzschmann, E. (2008). Degradation of the drug diclofenac in water by sonolysis in presence of catalysts. Chemosphere, 70(3), 453-461. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.06.063

Heberer, Th., Reddersen, K., & Mechlinski, A. (2002). From municipal sewage to drinking water: Fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment in urban areas. Water Science and Technology, 46(3), 81-88.

Hermes, N., Jewell, K. S., Wick, A., & Ternes, T. A. (2018). Quantification of more than 150 micropollutants including transformation products in aqueous samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using scheduled multiple reaction monitoring. Journal of Chromatography A, 1531, 64-73. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.11.020

Heye, K., Becker, D., Lütke Eversloh, C., Durmaz, V., Ternes, T. A., Oetken, M., & Oehlmann, J. (2016). Effects of carbamazepine and two of its metabolites on the non-biting midge Chironomus riparius in a sediment full life cycle toxicity test. Water Research, 98, 19-27. https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.071

Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., & Kratz, K.-L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. Science of The Total Environment, 225(1), 109-118. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00337-4

Hirte, K., Seiwert, B., Schüürmann, G., & Reemtsma, T. (2016). New hydrolysis products of the beta-lactam antibiotic amoxicillin, their pH-dependent formation and search in municipal wastewater. Water Research, 88, 880-888. https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.028

Huerta, B., Jakimska, A., Gros, M., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D. (2013). Analysis of multi-class pharmaceuticals in fish tissues by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1288, 63-72. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.03.001

Huerta, B., Margiotta-Casaluci, L., Rodríguez-Mozaz, S., Scholze, M., Winter, M. J., Barceló, D., & Sumpter, J. P. (2016). Anti-anxiety drugs and fish behavior: Establishing the link between internal concentrations of oxazepam and behavioral effects. Environmental Toxicology and Chemistry, 35(11), 2782-2790. https://doi.org/10.1002/etc.3448

Huerta, B., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D. (2012). Pharmaceuticals in biota in the aquatic environment: Analytical methods and environmental implications. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 404(9), 2611-2624. https://doi.org/10.1007/s00216-012-6144-y

Huerta, B., Rodriguez-Mozaz, S., Nannou, C., Nakis, L., Ruhí, A., Acuña, V., … Barcelo, D. (2016). Determination of a broad spectrum of pharmaceuticals and endocrine disruptors in biofilm from a waste water treatment plant-impacted river. Science of The Total Environment, 540, 241-249. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.049

IQVIA Institute. (2019). The Global Use of Medicine in 2019 and Outlook to 2023—Forecasts and Areas to Watch.

Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Parrella, A., Previtera, L., & Rubino, M. (2005). Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. Science of The Total Environment, 348(1), 93-101. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.12.068

Jacomini, A. E., de Camargo, P. B., Avelar, W. E. P., & Bonato, P. S. (2011). Assessment of Ametryn Contamination in River Water, River Sediment, and Mollusk Bivalves in São Paulo State, Brazil. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 60(3), 452-461. https://doi.org/10.1007/s00244-010-9552-z

Jelić, A., Gros, M., Petrović, M., Ginebreda, A., & Barceló, D. (2012). Occurrence and Elimination of Pharmaceuticals During Conventional Wastewater Treatment. In The Handbook of Environmental Chemistry: Vol. 19. Emerging and Priority Pollutants in Rivers (p. 1-23). Springer, Berlin, Heidelberg.

Jeon, J., Kurth, D., & Hollender, J. (2013). Biotransformation Pathways of Biocides and Pharmaceuticals in Freshwater Crustaceans Based on Structure Elucidation of Metabolites Using High Resolution Mass Spectrometry. Chemical Research in Toxicology, 26(3), 313-324. https://doi.org/10.1021/tx300457f

Jia, Y., Wang, L., Qu, Z., & Yang, Z. (2018). Distribution, contamination and accumulation of heavy metals in water, sediments, and freshwater shellfish from Liuyang River, Southern China. Environmental Science and Pollution Research, 25(7), 7012-7020. https://doi.org/10.1007/s11356-017-1068-x

Jjemba, P. K. (2006). Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. Ecotoxicology and Environmental Safety, 63(1), 113-130. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.11.011

Jones, H. S., Trollope, H. T., Hutchinson, T. H., Panter, G. H., & Chipman, J. K. (2009). Assessment of an ibuprofen metabolism by zebrafish larvae, using liquid chromatography–mass spectrometry (LC–MS). Toxicology, 262(1), 14-15. https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.04.014

Jones, L., Ronan, J., McHugh, B., & Regan, F. (2019). Passive sampling of polar emerging contaminants in Irish catchments. Water Science and Technology, 79(2), 218-230. https://doi.org/10.2166/wst.2019.021

Jones, O. A. H., Voulvoulis, N., & Lester, J. N. (2002). Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. Water Research, 36(20), 5013-5022. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00227-0

Joss, A., Keller, E., Alder, A. C., Göbel, A., McArdell, C. S., Ternes, T., & Siegrist, H. (2005). Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. Water Research, 39(14), 3139-3152. https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.05.031

Ju, C., & Uetrecht, J. P. (1999). Detection of 2-Hydroxyiminostilbene in the Urine of Patients Taking Carbamazepine and Its Oxidation to a Reactive Iminoquinone Intermediate. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 288(1), 51-56.

Jurado, A., López-Serna, R., Vázquez-Suné, E., Carrera, J., Pujades, E., Petrovic, M., & Barceló, D. (2014). Occurrence of carbamazepine and five metabolites in an urban aquifer. Chemosphere, 115, 47-53. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.014

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M., & Guwy, A. J. (2008a). The effect of signal suppression and mobile phase composition on the simultaneous analysis of multiple classes of acidic/neutral pharmaceuticals and personal care products in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–negative electrospray tandem mass spectrometry. Talanta, 74(5), 1299-1312. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.08.037

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M., & Guwy, A. J. (2008b). The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. Water Research, 42(13), 3498-3518. https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.04.026

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M., & Guwy, A. J. (2009). The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. Water Research, 43(2), 363-380. https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.047

Khetan, S. K., & Collins, T. J. (2007). Human Pharmaceuticals in the Aquatic Environment : A Challenge to Green Chemistry. Chemical Reviews, 107(6), 2319-2364. https://doi.org/10.1021/cr020441w

Kim, S. D., Cho, J., Kim, I. S., Vanderford, B. J., & Snyder, S. A. (2007). Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. Water Research, 41(5), 1013-1021. https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.034

Klosterhaus, S. L., Grace, R., Hamilton, M. C., & Yee, D. (2013). Method validation and reconnaissance of pharmaceuticals, personal care products, and alkylphenols in surface waters, sediments, and mussels in an urban estuary. Environment International, 54, 92-99. https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.01.009

Koba, O., Grabicova, K., Cerveny, D., Turek, J., Kolarova, J., Randak, T., … Grabic, R. (2018). Transport of pharmaceuticals and their metabolites between water and sediments as a further potential exposure for aquatic organisms. Journal of Hazardous Materials, 342, 401-407. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.08.039

Kolodziej, E. P., Harter, T., & Sedlak, D. L. (2004). Dairy Wastewater, Aquaculture, and Spawning Fish as Sources of Steroid Hormones in the Aquatic Environment. Environmental Science & Technology, 38(23), 6377-6384. https://doi.org/10.1021/es049585d

Kookana, R. S., Shareef, A., Fernandes, M. B., Hoare, S., Gaylard, S., & Kumar, A. (2013). Bioconcentration of triclosan and methyl-triclosan in marine mussels (Mytilus galloprovincialis) under laboratory conditions and in metropolitan waters of Gulf St Vincent, South Australia. Marine Pollution Bulletin, 74(1), 66-72. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.07.030

Kosjek, T., Andersen, H. R., Kompare, B., Ledin, A., & Heath, E. (2009). Fate of Carbamazepine during Water Treatment. Environmental Science & Technology, 43(16), 6256-6261. https://doi.org/10.1021/es900070h

Kovarova, J., Marsalek, P., Blahova, J., Jurcikova, J., Kasikova, B., & Svobodova, Z. (2012). Occurrence of Perfluoroalkyl Substances in Fish and Water from the Svitava and Svratka Rivers, Czech Republic. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 88(3), 456-460. https://doi.org/10.1007/s00128-011-0484-8

Kreuzinger, N., Clara, M., Strenn, B., & Kroiss, H. (2004). Relevance of the sludge retention time (SRT) as design criteria for wastewater treatment plants for the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals from wastewater. Water Science and Technology, 50(5), 149-156. https://doi.org/10.2166/wst.2004.0322

Kümmerer, K. (2004). Pharmaceuticals in the Environment : Sources, Fate, Effects and Risks (Second Edition). Springer.

Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. Chemosphere, 75(4), 417-434. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086

Kunkel, U., & Radke, M. (2008). Biodegradation of Acidic Pharmaceuticals in Bed Sediments : Insight from a Laboratory Experiment. Environmental Science & Technology, 42(19), 7273-7279. https://doi.org/10.1021/es801562j

Kunkel, U., & Radke, M. (2012). Fate of pharmaceuticals in rivers : Deriving a benchmark dataset at favorable attenuation conditions. Water Research, 46(17), 5551-5565. https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.07.033

Kuster, M., López de Alda, M. J., Hernando, M. D., Petrovic, M., Martín-Alonso, J., & Barceló, D. (2008). Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). Journal of Hydrology, 358(1), 112-123. https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2008.05.030

Lagesson, A. (2018). Fish on drugs : Behaviour modifying contaminants in aquatic ecosystems. Consulté à l'adresse http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:umu:diva-151138

Lahti, M., Brozinski, J.-M., Jylhä, A., Kronberg, L., & Oikari, A. (2011). Uptake from water, biotransformation, and biliary excretion of pharmaceuticals by rainbow trout. Environmental Toxicology and Chemistry, 30(6), 1403-1411. https://doi.org/10.1002/etc.501

Lam, M. W., & Mabury, S. A. (2005). Photodegradation of the pharmaceuticals atorvastatin, carbamazepine, levofloxacin, and sulfamethoxazole in natural waters. Aquatic Sciences, 67(2), 177-188. https://doi.org/10.1007/s00027-004-0768-8

Langford, K., & Thomas, K. V. (2011). Input of selected human pharmaceutical metabolites into the Norwegian aquatic environment. Journal of Environmental Monitoring, 13(2), 416-421. https://doi.org/10.1039/C0EM00342E

Lapworth, D. J., Baran, N., Stuart, M. E., & Ward, R. S. (2012). Emerging organic contaminants in groundwater : A review of sources, fate and occurrence. Environmental Pollution, 163, 287-303. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.12.034

Larcher, S., & Yargeau, V. (2011). Biodegradation of sulfamethoxazole by individual and mixed bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology, 91(1), 211-218. https://doi.org/10.1007/s00253-011-3257-8

Laurent, E. (2013). Évaluation de l'état de contamination des bassins versants par les résidus de médicaments : Utilisation des biofilms épilithiques comme marqueur d'imprégnation du milieu. Université de Poitiers.

Lebart, L., Piron, M., & Morineau, A. (2006). Statistique exploratoire multidimensionnelle. Paris: Dunod.

LEEM. (2013). Les entreprises du médicament en France. Bilan économique—Edition 2013.

LEEM. (2020). Bilan économique des Entreprises du Médicament—Edition 2020.

Li, H., Helm, P. A., & Metcalfe, C. D. (2009). Sampling in the Great Lakes for pharmaceuticals, personal care products, and endocrine-disrupting substances using the passive polar organic chemical integrative sampler. Environmental Toxicology and Chemistry, 29(4), 751-762. https://doi.org/10.1002/etc.104

Li, Z., Maier, M. P., & Radke, M. (2014). Screening for pharmaceutical transformation products formed in river sediment by combining ultrahigh performance liquid chromatography/high resolution mass spectrometry with a rapid data-processing method. Analytica Chimica Acta, 810, 61-70. https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.12.012

Liang, X., Chen, B., Nie, X., Shi, Z., Huang, X., & Li, X. (2013). The distribution and partitioning of common antibiotics in water and sediment of the Pearl River Estuary, South China. Chemosphere, 92(11), 1410-1416. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.044

Liebig, M., Fernandez, Á. A., Blübaum-Gronau, E., Boxall, A., Brinke, M., Carbonell, G., … Duis, K. (2010). Environmental risk assessment of ivermectin : A case study. Integrated Environmental Assessment and Management, 6(S1), 567-587. https://doi.org/10.1002/ieam.96

Lienert, J., Buerki, T., & Escher, B. I. (2007). Reducing micropollutants with source control : Substance flow analysis of 212 pharmaceuticals in faeces and urine. Water Science and Technology, 56(5), 87-96. https://doi.org/10.2166/wst.2007.560

Lin, A. Y.-C., Yu, T.-H., & Lin, C.-F. (2008). Pharmaceutical contamination in residential, industrial, and agricultural waste streams : Risk to aqueous environments in Taiwan. Chemosphere, 74(1), 131-141. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.08.027

Lindqvist, N., Tuhkanen, T., & Kronberg, L. (2005). Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. Water Research, 39(11), 2219-2228. https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.04.003

Lindsley, C. W. (2018). New 2017 Data and Statistics for Pharmaceutical Products. ACS Chemical Neuroscience, 9(7), 1518-1519. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.8b00320

Liu, R., Zhou, J. L., & Wilding, A. (2004). Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and steroids in water by solid-phase extraction–gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1022(1), 179-189. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.09.035

Loi n° 64-1245 du 16 décembre 1964 relative au régime et à la répartition des eaux et à la lutte contre leur pollution. , (1964).

Loi n° 92-3 du 3 janvier 1992 sur l'eau. , (1992).

Loi n° 2006-1772 du 30 décembre 2006 sur l'eau et les milieux aquatiques. , (2006).

Loos, R., Gawlik, B. M., Locoro, G., Rimaviciute, E., Contini, S., & Bidoglio, G. (2009). EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters. Environmental Pollution, 157(2), 561-568. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.09.020

López-Serna, R., Petrović, M., & Barceló, D. (2012a). Direct analysis of pharmaceuticals, their metabolites and transformation products in environmental waters using on-line TurboFlow™ chromatography–liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1252, 115-129. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.06.078

López-Serna, R., Petrović, M., & Barceló, D. (2012b). Occurrence and distribution of multi-class pharmaceuticals and their active metabolites and transformation products in the Ebro River basin (NE Spain). Science of The Total Environment, 440, 280-289. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.027

Lorenzi, V., Choe, R., & Schlenk, D. (2016). Effects of environmental exposure to diazepam on the reproductive behavior of fathead minnow, Pimephales promelas. Environmental Toxicology, 31(5), 561-568. https://doi.org/10.1002/tox.22069

Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J., … Wang, X. C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. Science of The Total Environment, 473–474, 619-641. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.065

MacLeod, S. L., McClure, E. L., & Wong, C. (2007). Laboratory calibration and field deployment of the polar organic chemical integrative sampler for pharmaceuticals and personal care products in wastewater and surface water. Environmental Toxicology and Chemistry, 26(12), 2517-2529. https://doi.org/10.1897/07-238.1

Managaki, S., Murata, A., Takada, H., Tuyen, B. C., & Chiem, N. H. (2007). Distribution of Macrolides, Sulfonamides, and Trimethoprim in Tropical Waters : Ubiquitous Occurrence of Veterinary Antibiotics in the Mekong Delta. Environmental Science & Technology, 41(23), 8004-8010. https://doi.org/10.1021/es0709021

Mao, F., Liu, X., Wu, K., Zhou, C., & Si, Y. (2018). Biodegradation of sulfonamides by Shewanella oneidensis MR-1 and Shewanella sp. Strain MR-4. Biodegradation, 29(2), 129-140. https://doi.org/10.1007/s10532-017-9818-5

Margot, J., Magnet, A., Thonney, D., Chèvre, N., Alencastro, D., Felippe, L., & Rossi, L. (2011). Traitement des micropolluants dans les eaux usées—Rapport final sur les essais pilotes à la STEP de Vidy (Lausanne).

Martin Ruel, S., Esperanza, M., Choubert, J.-M., Valor, I., Budzinski, H., & Coquery, M. (2010). On-site evaluation of the efficiency of conventional and advanced secondary processes for the removal of 60 organic micropollutants. Water Science and Technology, 62(12), 2970-2978. https://doi.org/10.2166/wst.2010.989

Martínez Bueno, M. J., Herrera, S., Munaron, D., Boillot, C., Fenet, H., Chiron, S., & Gómez, E. (2016). POCIS passive samplers as a monitoring tool for pharmaceutical residues and their transformation products in marine environment. Environmental Science and Pollution Research, 23(6), 5019-5029. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3796-5

Martínez-Morcillo, S., Rodríguez-Gil, J. L., Fernández-Rubio, J., Rodríguez-Mozaz, S., Míguez-Santiyán, M. P., Valdes, M. E., … Valcárcel, Y. (2020). Presence of pharmaceutical compounds, levels of biochemical biomarkers in seafood tissues and risk assessment for human health : Results from a case study in North-Western Spain. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 223(1), 10-21. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.10.011

Matongo, S., Birungi, G., Moodley, B., & Ndungu, P. (2015). Occurrence of selected pharmaceuticals in water and sediment of Umgeni River, KwaZulu-Natal, South Africa. Environmental Science and Pollution Research, 22(13), 10298-10308. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4217-0

Mazellier, P., Fuster, L., Budzinski, H., Garric, J., Couteau, J., & Aït-Aïssa, S. (2018). Projet Seine-Aval 5 CRAPPSE «Contamination et RéActivité de Pesticides et de Pharmaceutiques dans l'estuaire de SeinE».

Miao, X.-S., & Metcalfe, C. D. (2003). Determination of Carbamazepine and Its Metabolites in Aqueous Samples Using Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry. Analytical Chemistry, 75(15), 3731-3738. https://doi.org/10.1021/ac030082k

Miao, X.-S., Yang, J.-J., & Metcalfe, C. D. (2005). Carbamazepine and Its Metabolites in Wastewater and in Biosolids in a Municipal Wastewater Treatment Plant. Environmental Science & Technology, 39(19), 7469-7475. https://doi.org/10.1021/es050261e

Miège, C., Choubert, J.-M., Ribeiro, L., Eusebe, M., & Coquery, M. (2009). Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants. Conception of a database and first results. Environmental Pollution, 157, 1721-1726. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.045

Miège, Cécile, Mazzella, N., Allan, I., Dulio, V., Smedes, F., Tixier, C., … Vrana, B. (2015). Position paper on passive sampling techniques for the monitoring of contaminants in the aquatic environment – Achievements to date and perspectives. Trends in Environmental Analytical Chemistry, 8, 20-26. https://doi.org/10.1016/j.teac.2015.07.001

Ministère des affaires sociales et de la santé. (2016). Bilan de la qualité de l'eau au robinet du consommateur vis-à-vis des pesticides en 2014.

Ministère des solidarités et de la santé. (2020). Base de données publique des médicaments. Consulté à l'adresse http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/index.php

Mompelat, S., Le Bot, B., & Thomas, O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. Environment International, 35(5), 803-814. https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.10.008

Monteiro, S. C., & Boxall, A. B. A. (2010). Occurrence and Fate of Human Pharmaceuticals in the Environment. In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Vol. 202. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer, New York.

Morin, N., Camilleri, J., Cren-Olivé, C., Coquery, M., & Miège, C. (2013). Determination of uptake kinetics and sampling rates for 56 organic micropollutants using "pharmaceutical" POCIS. Talanta, 109, 61-73. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.01.058

Morin, N., Miège, C., Coquery, M., & Randon, J. (2012). Chemical calibration, performance, validation and applications of the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in aquatic environments. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 36, 144-175. https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.01.007

Nakada, N., Kiri, K., Shinohara, H., Harada, A., Kuroda, K., Takizawa, S., & Takada, H. (2008). Evaluation of Pharmaceuticals and Personal Care Products as Water-soluble Molecular Markers of Sewage. Environmental Science & Technology, 42(17), 6347-6353. https://doi.org/10.1021/es7030856

Nassef, M., Kim, S. G., Seki, M., Kang, I. J., Hano, T., Shimasaki, Y., & Oshima, Y. (2010). In ovo nanoinjection of triclosan, diclofenac and carbamazepine affects embryonic development of medaka fish (Oryzias latipes). Chemosphere, 79(9), 966-973. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.002

Noblet, J. A., Smith, L. A., & Suffet, I. H. (Mel). (1996). Influence of Natural Dissolved Organic Matter, Temperature, and Mixing on the Abiotic Hydrolysis of Triazine and Organophosphate Pesticides. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44(11), 3685-3693. https://doi.org/10.1021/jf960315r

Oaks, J. L., Gilbert, M., Virani, M. Z., Watson, R. T., Meteyer, C. U., Rideout, B. A., … Ahmed Khan, A. (2004). Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. Nature, 427(6975), 630-633. https://doi.org/10.1038/nature02317

OCDE. (2019a). Panorama de la santé 2019 Les indicateurs de l'OCDE. Editions OCDE, Paris. https://doi.org/10.1787/5f5b6833-fr

OCDE. (2019b). Pharmaceutical Residues in Freshwater : Hazards and Policy Responses.

OCDE. (2020). OECD (Q)SAR Toolbox v.4.4.1. Example for predicting Skin Sensitization of a mixture with known components.

OMS. (2015). Antibiotic Resistance : Multi—Country Public Awareness Survey.

Ort, C., Lawrence, M. G., Reungoat, J., & Mueller, J. F. (2010). Sampling for PPCPs in Wastewater Systems : Comparison of Different Sampling Modes and Optimization Strategies. Environmental Science & Technology, 44(16), 6289-6296. https://doi.org/10.1021/es100778d

Packer, J. L., Werner, J. J., Latch, D. E., McNeill, K., & Arnold, W. A. (2003). Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment : Naproxen, diclofenac, clofibric acid, and ibuprofen. Aquatic Sciences, 65(4), 342-351. https://doi.org/10.1007/s00027-003-0671-8

Paíga, P., Santos, L. H. M. L. M., Ramos, S., Jorge, S., Silva, J. G., & Delerue-Matos, C. (2016). Presence of pharmaceuticals in the Lis river (Portugal) : Sources, fate and seasonal variation. Science of The Total Environment, 573, 164-177. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.089

Paje, M., Kuhlicke, U., Winkler, M., & Neu, T. (2002). Inhibition of lotic biofilms by Diclofenac. Applied Microbiology and Biotechnology, 59(4), 488-492. https://doi.org/10.1007/s00253-002-1042-4

Pal, A., Gin, K. Y.-H., Lin, A. Y.-C., & Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources : Review of recent occurrences, sources, fate and effects. Science of The Total Environment, 408(24), 6062-6069. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.09.026

Peng, X., Yu, Y., Tang, C., Tan, J., Huang, Q., & Wang, Z. (2008). Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China. Science of The Total Environment, 397(1), 158-166. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.02.059

Pereira, A., Silva, L., Laranjeiro, C., Lino, C., & Pena, A. (2020). Selected Pharmaceuticals in Different Aquatic Compartments : Part II—Toxicity and Environmental Risk Assessment. Molecules, 25(8), 1796. https://doi.org/10.3390/molecules25081796

Pérez-Parada, A., Agüera, A., Gómez-Ramos, M. del M., García-Reyes, J. F., Heinzen, H., & Fernández-Alba, A. R. (2011). Behavior of amoxicillin in wastewater and river water : Identification of its main transformation products by liquid chromatography/electrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 25(6), 731-742. https://doi.org/10.1002/rcm.4902

Petrovic, M., Solé, M., Alda, M. J. L. D., & Barceló, D. (2002). Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments : Integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. Environmental Toxicology and Chemistry, 21(10), 2146-2156. https://doi.org/10.1002/etc.5620211018

Plan micropolluants 2. (2016). Plan micropolluants 2016—2021 pour préserver la qualité des eaux et la biodiversité. Ministère de l'environnement, de l'énergie et de la mer. Ministère des affaires sociales et de la santé. Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt.

PNRM. (2011). Plan national sur les résidus de médicaments dans les eaux. Ministère de l'écologie, du développement durable, des transports et du logement. Ministère du travail, de l'emploi et de la santé.

Poiger, T., Buser, H.-R., & Müller, M. D. (2001). Photodegradation of the pharmaceutical drug diclofenac in a lake : Pathway, field measurements, and mathematical modeling. Environmental Toxicology and Chemistry, 20(2), 256–263.

Poirier-Larabie, S., Segura, P. A., & Gagnon, C. (2016). Degradation of the pharmaceuticals diclofenac and sulfamethoxazole and their transformation products under controlled environmental conditions. Science of The Total Environment, 557-558, 257-267. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.057

Pomies, M. (2013). Etude et modélisation dynamique de l'élimination de micropolluants prioritaires et émergents au sein du procédé à boues activées. Université de Montpellier 1.

Poulier, G., Lissalde, S., Charriau, A., Buzier, R., Mazzella, N., & Guibaud, G. (2018). L'échantillonnage passif pour le suivi réglementaire de la contamination en pesticides des eaux de surface : Intérêt et limites. Techniques Sciences Méthodes, (11), 83-104. https://doi.org/10.1051/tsm/201811083

Poulier, Gaëlle, Lissalde, S., Charriau, A., Buzier, R., Delmas, F., Gery, K., … Mazzella, N. (2014). Can POCIS be used in Water Framework Directive (2000/60/EC) monitoring networks? A study focusing on pesticides in a French agricultural watershed. Science of The Total Environment, 497-498, 282-292. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.001

Qin, L.-T., Chen, Y.-H., Zhang, X., Mo, L.-Y., Zeng, H.-H., & Liang, Y.-P. (2018). QSAR prediction of additive and non-additive mixture toxicities of antibiotics and pesticide. Chemosphere, 198, 122-129. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.142

Radjenović, J., Petrović, M., & Barceló, 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, 43(3), 831-841. https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.11.043

Rehman, M. S. U., Rashid, N., Ashfaq, M., Saif, A., Ahmad, N., & Han, J.-I. (2015). Global risk of pharmaceutical contamination from highly populated developing countries. Chemosphere, 138, 1045-1055. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.02.036

Revellin, C., Hartmann, A., Solanas, S., & Topp, E. (2018). Long-Term Exposure of Agricultural Soil to Veterinary Antibiotics Changes the Population Structure of Symbiotic Nitrogen-Fixing Rhizobacteria Occupying Nodules of Soybeans (Glycine max). Applied and Environmental Microbiology, 84(9). https://doi.org/10.1128/AEM.00109-18

Rheinheimer dos Santos, D., Monteiro de Castro Lima, J. A., Paranhos Rosa de Vargas, J., Camotti Bastos, M., Santanna dos Santos, M. A., Mondamert, L., & Labanowski, J. (2020). Pesticide bioaccumulation in epilithic biofilms as a biomarker of agricultural activities in a representative watershed. Environmental Monitoring and Assessment, 192(6), 381. https://doi.org/10.1007/s10661-020-08264-8

Rogers, H. R. (1996). Sources, behaviour and fate of organic contaminants during sewage treatment and in sewage sludges. Science of The Total Environment, 185(1), 3-26. https://doi.org/10.1016/0048-9697(96)05039-5

Romaní, A. M., Guasch, H., & Balaguer, M. D. (2016). Aquatic Biofilms : Ecology, Water Quality and Wastewater Treatment. Caister Academic Press.

Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J. A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M. J., … Fernández-Alba, A. R. (2010). Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. Water Research, 44(2), 578-588. https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.07.004

Røyset, O., Rosseland, B. O., Kristensen, T., Kroglund, F., Garmo, Ø. A., & Steinnes, E. (2005). Diffusive Gradients in Thin Films Sampler Predicts Stress in Brown Trout (Salmo trutta L.) Exposed to Aluminum in Acid Fresh Waters. Environmental Science & Technology, 39(4), 1167-1174. https://doi.org/10.1021/es049538l

SAGE Thouet. (2020). Le bassin versant du SAGE Thouet—Le SAGE Thouet. Consulté à l'adresse https://www.sagethouet.fr/le-bassin-versant.html

Salgado, R., Marques, R., Noronha, J. P., Carvalho, G., Oehmen, A., & Reis, M. A. M. (2012). Assessing the removal of pharmaceuticals and personal care products in a full-scale activated sludge plant. Environmental Science and Pollution Research, 19(5), 1818-1827. https://doi.org/10.1007/s11356-011-0693-z

Santé publique France. (2020). Géodes—Géo données en santé publique. Consulté à l'adresse https://geodes.santepubliquefrance.fr

Scheurell, M., Franke, S., Shah, R. M., & Hühnerfuss, H. (2009). Occurrence of diclofenac and its metabolites in surface water and effluent samples from Karachi, Pakistan. Chemosphere, 77(6), 870-876. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07.066

Schmitt-Jansen, M., Bartels, P., Adler, N., & Altenburger, R. (2007). Phytotoxicity assessment of diclofenac and its phototransformation products. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 387(4), 1389-1396. https://doi.org/10.1007/s00216-006-0825-3

Schulze, T., Weiss, S., Schymanski, E., von der Ohe, P. C., Schmitt-Jansen, M., Altenburger, R., … Brack, W. (2010). Identification of a phytotoxic photo-transformation product of diclofenac using effect-directed analysis. Environmental Pollution, 158(5), 1461-1466. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.12.032

Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H., & Negele, R. D. (2004). Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac : Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. Aquatic Toxicology, 68(2), 141-150. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.014

Sermet, C., & Pichetti, S. (2012). Une prescription sous influence(s). Apres-demain, 22(2), 25-27.

Serra-Compte, A., Corcoll, N., Huerta, B., Rodríguez-Mozaz, S., Sabater, S., Barceló, D., & Álvarez-Muñoz, D. (2018). Fluvial biofilms exposed to desiccation and pharmaceutical pollution : New insights using metabolomics. Science of The Total Environment, 618, 1382-1388. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.258

Sheiner, L. B., & Steimer, J.-L. (2000). Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling in Drug Development. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 40(1), 67-95. https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.40.1.67

Shen, S., Marchick, M. R., Davis, M. R., Doss, G. A., & Pohl, L. R. (1999). Metabolic Activation of Diclofenac by Human Cytochrome P450 3A4 : Role of 5-Hydroxydiclofenac. Chemical Research in Toxicology, 12(2), 214-222. https://doi.org/10.1021/tx9802365

Shiraishi, Y., Tachibana, K., Hirai, T., & Komasawa, I. (2001). A Novel Desulfurization Process for Fuel Oils Based on the Formation and Subsequent Precipitation of S-Alkylsulfonium Salts. 5. Denitrogenation Reactivity of Basic and Neutral Nitrogen Compounds. Industrial & Engineering Chemistry Research, 40(22), 4919-4924. https://doi.org/10.1021/ie0104565

Silva, B. F. da, Jelic, A., López-Serna, R., Mozeto, A. A., Petrovic, M., & Barceló, D. (2011). Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. Chemosphere, 85(8), 1331-1339. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.051

Soulier, C., Coureau, C., & Togola, A. (2016). Environmental forensics in groundwater coupling passive sampling and high resolution mass spectrometry for screening. Science of The Total Environment, 563-564, 845-854. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.056

Sousa, R., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2008). Ecology of the invasive Asian clam Corbicula fluminea (Müller, 1774) in aquatic ecosystems : An overview. Annales de Limnologie - International Journal of Limnology, 44(2), 85-94. https://doi.org/10.1051/limn:2008017

Spongberg, A. L., & Witter, J. D. (2008). Pharmaceutical compounds in the wastewater process stream in Northwest Ohio. Science of The Total Environment, 397(1), 148-157. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.02.042

Stierlin, H., & Faigle, J. W. (1979). Biotransformation of diclofenac sodium (Voltaren) in animals and in man. II. Quantitative determination of the unchanged drug and principal phenolic metabolites, in urine and bile. Xenobiotica, 9(10), 611-621.

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. Toxicology Letters, 131(1), 137-143. https://doi.org/10.1016/S0378-4274(02)00049-8

Stülten, D., Zühlke, S., Lamshöft, M., & Spiteller, M. (2008). Occurrence of diclofenac and selected metabolites in sewage effluents. Science of The Total Environment, 405(1), 310-316. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.05.036

Sumpter, J. P., & Johnson, A. C. (2005). Lessons from Endocrine Disruption and Their Application to Other Issues Concerning Trace Organics in the Aquatic Environment. Environmental Science & Technology, 39(12), 4321-4332. https://doi.org/10.1021/es048504a

Syndicat mixte des vallées du Clain Sud. (2020). Données, cartes, contexte – Clain Sud. Consulté à l'adresse https://www.clainsud.fr/nos-rivieres-territoire-geologie/

Tadkaew, N., Hai, F. I., McDonald, J. A., Khan, S. J., & Nghiem, L. D. (2011). Removal of trace organics by MBR treatment : The role of molecular properties. Water Research, 45(8), 2439-2451. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.01.023

Tamtam, F., Le Bot, B., Dinh, T., Mompelat, S., Eurin, J., Chevreuil, M., … Ayrault, S. (2011). A 50-year record of quinolone and sulphonamide antimicrobial agents in Seine River sediments. Journal of Soils and Sediments, 11(5), 852-859. https://doi.org/10.1007/s11368-011-0364-1

Ternes, T. A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. Water Research, 32(11), 3245-3260. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00099-2

Ternes, T. A., Herrmann, N., Bonerz, M., Knacker, T., Siegrist, H., & Joss, A. (2004). A rapid method to measure the solid–water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge. Water Research, 38(19), 4075-4084. https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.07.015

Ternes, T. A., Joss, A., & Siegrist, H. (2004). Peer Reviewed : Scrutinizing Pharmaceuticals and Personal Care Products in Wastewater Treatment. Environmental Science & Technology, 38(20), 392A-399A. https://doi.org/10.1021/es040639t

Thorne, P. S. (2007). Environmental health impacts of concentrated animal feeding operations : Anticipating hazards—Searching for solutions. Environmental Health Perspectives, 115, 296-297. https://doi.org/10.1289/ehp.8831

Tissier, C., Morvan, C., Bocquené, G., Grossel, H., James, A., & Marchand, M. (2005). Les substances prioritaires de la Directive cadre sur l'eau (DCE). Fiches de synthèse.

Topp, E., Chapman, R., Devers-Lamrani, M., Hartmann, A., Marti, R., Martin-Laurent, F., … Sumarah, M. (2013). Accelerated Biodegradation of Veterinary Antibiotics in Agricultural Soil following Long-Term Exposure, and Isolation of a Sulfamethazine-degrading Microbacterium sp. Journal of Environmental Quality, 42(1), 173-178. https://doi.org/10.2134/jeq2012.0162

Topp, E., Monteiro, S. C., Beck, A., Coelho, B. B., Boxall, A. B. A., Duenk, P. W., … Metcalfe, C. D. (2008). Runoff of pharmaceuticals and personal care products following application of biosolids to an agricultural field. Science of The Total Environment, 396(1), 52-59. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.02.011

Triebskorn, R., Casper, H., Heyd, A., Eikemper, R., Köhler, H.-R., & Schwaiger, J. (2004). Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac : Part II. Cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquatic Toxicology, 68(2), 151-166. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.015

Tunkel, J., Howard, P. H., Boethling, R. S., Stiteler, W., & Loonen, H. (2000). Predicting ready biodegradability in the Japanese Ministry of International Trade and Industry test. Environmental Toxicology and Chemistry, 19(10), 2478–2485.

Tyler, C. R., & Jobling, S. (2008). Roach, Sex, and Gender-Bending Chemicals : The Feminization of Wild Fish in English Rivers. BioScience, 58(11), 1051-1059. https://doi.org/10.1641/B581108

US-EPA. (2012). Sustainable Futures / P2 Framework Manual 2012 EPA-748-B12-001 5. Estimating Physical / Chemical and Environmental Fate Properties with EPI Suite™.

Valdés, M. E., Amé, M. V., Bistoni, M. de los A., & Wunderlin, D. A. (2014). Occurrence and bioaccumulation of pharmaceuticals in a fish species inhabiting the Suquía River basin (Córdoba, Argentina). Science of The Total Environment, 472(Supplement C), 389-396. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.10.124

Van den Brandhof, E.-J., & Montforts, M. (2010). Fish embryo toxicity of carbamazepine, diclofenac and metoprolol. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73(8), 1862-1866. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.08.031

Vanderford, B. J., & Snyder, S. A. (2006). Analysis of Pharmaceuticals in Water by Isotope Dilution Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. Environmental Science & Technology, 40(23), 7312-7320. https://doi.org/10.1021/es0613198

Varga, M., Dobor, J., Helenkár, A., Jurecska, L., Yao, J., & Záray, G. (2010). Investigation of acidic pharmaceuticals in river water and sediment by microwave-assisted extraction and gas chromatography–mass spectrometry. Microchemical Journal, 95(2), 353-358. https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.02.010

Vercraene-Eairmal, M., Lauga, B., Saint Laurent, S., Mazzella, N., Boutry, S., Simon, M., … Duran, R. (2010). Diuron biotransformation and its effects on biofilm bacterial community structure. Chemosphere, 81(7), 837-843. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.014

Verlicchi, P., Al Aukidy, M., & Zambello, E. (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, 123-155. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028

Verlicchi, Paola (Éd.). (2018). Hospital Wastewaters : Characteristics, Management, Treatment and Environmental Risks. https://doi.org/10.1007/978-3-319-62178-4

Vermeirssen, E. L. M., Körner, O., Schönenberger, R., & Burkhardt-Holm, P. (2005). Characterization of Environmental Estrogens in River Water Using a Three Pronged Approach : Active and Passive Water Sampling and the Analysis of Accumulated Estrogens in the Bile of Caged Fish. Environmental Science & Technology, 39(21), 8191-8198. https://doi.org/10.1021/es050818q

Vernouillet, G., Eullaffroy, P., Lajeunesse, A., Blaise, C., Gagné, F., & Juneau, P. (2010). Toxic effects and bioaccumulation of carbamazepine evaluated by biomarkers measured in organisms of different trophic levels. Chemosphere, 80(9), 1062-1068. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.05.010

Vidal-Liñán, L., Bellas, J., Campillo, J. A., & Beiras, R. (2010). Integrated use of antioxidant enzymes in mussels, Mytilus galloprovincialis, for monitoring pollution in highly productive coastal areas of Galicia (NW Spain). Chemosphere, 78(3), 265-272. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.10.060

Vieno, N., & Sillanpää, M. (2014). Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant—A review. Environment International, 69, 28-39. https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.03.021

Waiser, M. J., Swerhone, G. D. W., Roy, J., Tumber, V., & Lawrence, J. R. (2016). Effects of erythromycin, trimethoprim and clindamycin on attached microbial communities from an effluent dominated prairie stream. Ecotoxicology and Environmental Safety, 132, 31-39. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.05.026

Walgren, J. L., Mitchell, M. D., & Thompson, D. C. (2005). Role of Metabolism in Drug-Induced Idiosyncratic Hepatotoxicity. Critical Reviews in Toxicology, 35(4), 325-361. https://doi.org/10.1080/10408440590935620

Wang, C., Shi, H., Adams, C. D., Gamagedara, S., Stayton, I., Timmons, T., & Ma, Y. (2011). Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Water Research, 45(4), 1818-1828. https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.11.043

Wang, D., Ning, Q., Dong, J., Brooks, B. W., & You, J. (2020). Predicting mixture toxicity and antibiotic resistance of fluoroquinolones and their photodegradation products in Escherichia coli. Environmental Pollution, 262, 114275. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114275

Wantzen, K., Boisneau, C., & Richard, N. (2015). Fonctionnement écologique de la Loire : Une étude isotopique sur les bases alimentaires des réseaux trophiques "Stable isotope analysis Loire, SIAL" Rapport scientifique du projet. Université de Tours / Région Centre.

Watkinson, A. J., Murby, E. J., Kolpin, D. W., & Costanzo, S. D. (2009). The occurrence of antibiotics in an urban watershed : From wastewater to drinking water. Science of The Total Environment, 407(8), 2711-2723. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.059

Weigt, S., Huebler, N., Strecker, R., Braunbeck, T., & Broschard, T. H. (2011). Zebrafish (Danio rerio) embryos as a model for testing proteratogens. Toxicology, 281(1), 25-36. https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.01.004

Wesenberg, D., Kyriakides, I., & Agathos, S. N. (2003). White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. Biotechnology Advances, 22(1), 161-187. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.08.011

Wielogórska, E., Elliott, C. T., Danaher, M., Chevallier, O., & Connolly, L. (2015). Validation of an ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for detection and quantitation of 19 endocrine disruptors in milk. Food Control, 48, 48-55. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.001

Wiesenberg-Boettcher, I., Pfeilschifter, J., Schweizer, A., Sallmann, A., & Wenk, P. (1991). Pharmacological properties of five diclofenac metabolites identified in human plasma. Agents and Actions, 34(1), 135-137. https://doi.org/10.1007/BF01993259

Wilkinson, J. L., Hooda, P. S., Barker, J., Barton, S., & Swinden, J. (2016). Ecotoxic pharmaceuticals, personal care products, and other emerging contaminants : A review of environmental, receptor-mediated, developmental, and epigenetic toxicity with discussion of proposed toxicity to humans. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 46(4), 336-381. https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1096876

Wilkinson, J. L., Hooda, P. S., Swinden, J., Barker, J., & Barton, S. (2017). Spatial distribution of organic contaminants in three rivers of Southern England bound to suspended particulate material and dissolved in water. Science of The Total Environment, 593-594, 487-497. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.167

Wilkinson, J. L., Hooda, P. S., Swinden, J., Barker, J., & Barton, S. (2018). Spatial (bio)accumulation of pharmaceuticals, illicit drugs, plasticisers, perfluorinated compounds and metabolites in river sediment, aquatic plants and benthic organisms. Environmental Pollution, 234, 864-875. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.090

Wright, D. F. B., Winter, H. R., & Duffull, S. B. (2011). Understanding the time course of pharmacological effect: A PKPD approach. British Journal of Clinical Pharmacology, 71(6), 815-823. https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.03925.x

Writer, J. H., Barber, L. B., Ryan, J. N., & Bradley, P. M. (2011). Biodegradation and Attenuation of Steroidal Hormones and Alkylphenols by Stream Biofilms and Sediments. Environmental Science & Technology, 45(10), 4370-4376. https://doi.org/10.1021/es2000134

Wu, C., Spongberg, A. L., & Witter, J. D. (2008). Use of solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous determination of various pharmaceuticals in surface water. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 88(14), 1033-1048. https://doi.org/10.1080/03067310802491800

Xie, H., Hao, H., Xu, N., Liang, X., Gao, D., Xu, Y., … Wong, M. (2019). Pharmaceuticals and personal care products in water, sediments, aquatic organisms, and fish feeds in the Pearl River Delta: Occurrence, distribution, potential sources, and health risk assessment. Science of The Total Environment, 659, 230-239. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.222

Xie, Z., Lu, G., Liu, J., Yan, Z., Ma, B., Zhang, Z., & Chen, W. (2015). Occurrence, bioaccumulation, and trophic magnification of pharmaceutically active compounds in Taihu Lake, China. Chemosphere, 138, 140-147. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.05.086

Xu, W., Zhang, G., Zou, S., Li, X., & Liu, Y. (2007). Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. Environmental Pollution, 145(3), 672-679. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.05.038

Yamamoto, H., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y., Honda, Y., Tamura, I., … Sekizawa, J. (2009). Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. Water Research, 43(2), 351-362. https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.039

Yang, J.-F., Ying, G.-G., Zhao, J.-L., Tao, R., Su, H.-C., & Chen, F. (2010). Simultaneous determination of four classes of antibiotics in sediments of the Pearl Rivers using RRLC–MS/MS. Science of The Total Environment, 408(16), 3424-3432. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.049

Yu, J. T., Bouwer, E. J., & Coelhan, M. (2006). Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. Agricultural Water Management, 86(1), 72-80. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2006.06.015

Zhang, H., Xie, H., Chen, J., & Zhang, S. (2015). Prediction of Hydrolysis Pathways and Kinetics for Antibiotics under Environmental pH Conditions: A Quantum Chemical Study on Cephradine. Environmental Science & Technology, 49(3), 1552-1558. https://doi.org/10.1021/es505383b

Zhang, L., Dong, D., Hua, X., & Guo, Z. (2018). Inhibitory effects of extracellular polymeric substances on ofloxacin sorption by natural biofilms. Science of The Total Environment, 625, 178-184. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.271

Zhang, S., Zhang, Q., Darisaw, S., Ehie, O., & Wang, G. (2007). Simultaneous quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Mississippi river water, in New Orleans, Louisiana, USA. Chemosphere, 66(6), 1057-1069. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.06.067

Zhang, W.-W., Wen, Y.-Y., Niu, Z.-L., Yin, K., Xu, D.-X., & Chen, L.-X. (2012). Isolation and characterization of sulfonamide-degrading bacteria Escherichia sp. HS21 and Acinetobacter sp. HS51. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28(2), 447-452. https://doi.org/10.1007/s11274-011-0834-z

Zhang, X.-X., Zhang, T., & Fang, H. H. P. (2009). Antibiotic resistance genes in water environment. Applied Microbiology and Biotechnology, 82(3), 397-414. https://doi.org/10.1007/s00253-008-1829-z

Zhang, Ya-nan, Zhao, J., Zhou, Y., Qu, J., Chen, J., Li, C., … Peijnenburg, W. J. G. M. (2019). Combined effects of dissolved organic matter, pH, ionic strength and halides on photodegradation of oxytetracycline in simulated estuarine waters. Environmental Science: Processes & Impacts, 21(1), 155-162. https://doi.org/10.1039/C8EM00473K

Zhang, Yongjun, Geißen, S.-U., & Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. Chemosphere, 73(8), 1151-1161. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.086

Zhang, Z., Hibberd, A., & Zhou, J. L. (2008). Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling. Analytica Chimica Acta, 607(1), 37-44. https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.024

Zhang, Z. L., & Zhou, J. L. (2007). Simultaneous determination of various pharmaceutical compounds in water by solid-phase extraction–liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1154(1), 205-213. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.105

Zhao, X., & Metcalfe, C. D. (2008). Characterizing and Compensating for Matrix Effects Using Atmospheric Pressure Chemical Ionization Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry: Analysis of Neutral Pharmaceuticals in Municipal Wastewater. Analytical Chemistry, 80(6), 2010-2017. https://doi.org/10.1021/ac701633m

Zhou, D. S., Chan, E., Duan, W., Huang, M., & Chen, Y.-Z. (2005). Drug Bioactivation Covalent Binding to Target Proteins and Toxicity Relevance. Drug Metabolism Reviews, 37(1), 41-213. https://doi.org/10.1081/DMR-200028812

Zhou, L.-J., Ying, G.-G., Zhao, J.-L., Yang, J.-F., Wang, L., Yang, B., & Liu, S. (2011). Trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in the sediments of the Yellow River, Hai River and Liao River in northern China. Environmental Pollution, 159(7), 1877-1885. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.03.034

Annexes

Annexe I : Campagne de suivi temporel de la contamination des biofilms épilithiques – données brutes

BIOFILM (ng g^{-1})

Clain Amont

	CBZ	3OH-CBZ	CBZ-epox	Trans-CBZ	Dibenz	Acrid	DCF	OH-DCF	Benz	AMX	AMX-diketo	AMX-pen	ATZ	DEA
18/1/2018	2,05 ± 0,56	0,57 ± 0,19	2,40 ± 0,98	<LoQ	<LoD	0,51 ± 0,18	20,96 ± 2,88	20,04 ± 3,54	408,78 ± 15,42	3,54 ± 1,88	<LoQ	3,48 ± 1,82	1,23 ± 0,66	1,32 ± 0,72
15/2/2018	3,99 ± 0,38	2,18 ± 0,32	1,88 ± 0,46	2,82 ± 0,10	<LoD	5,07 ± 0,50	1,50 ± 1,20	24,04 ± 0,18	236,22 ± 7,29	11,92 ± 1,60	<LoD	8,80 ± 0,06	7,91 ± 3,95	7,19 ± 1,20
14/3/2018	1,80 ± 0,68	<LoQ	1,94 ± 1,31	<LoQ	<LoD	1,47 ± 0,63	4,02 ± 0,26	<LoQ	376,77 ± 1,47	3,12 ± 1,26	<LoQ	3,66 ± 3,30	0,84 ± 0,52	1,40 ± 0,68
24/7/2018	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoD	0,45 ± 0,14	39,24 ± 0,56	<LoQ	692,16 ± 85,17	<LoQ	<LoQ	<LoQ	14,03 ± 1,08	1,91 ± 0,03
24/8/2018	8,92 ± 0,30	5,99 ± 0,52	7,26 ± 0,26	7,03 ± 0,24	<LoQ	9,96 ± 0,49	18,38 ± 0,52	26,82 ± 6,92	27,24 ± 0,93	<LoQ	<LoQ	17,38 ± 0,42	5,70 ± 0,39	8,43 ± 2,08
20/9/2018	7,60 ± 0,46	4,91 ± 0,16	6,62 ± 0,08	6,55 ± 0,28	<LoQ	7,66 ± 0,42	11,59 ± 1,76	<LoQ	<LoD	<LoQ	13,88 ± 7,32	15,20 ± 0,56	29,95 ± 0,12	8,88 ± 0,85
18/10/2018	3,05 ± 0,54	1,54 ± 1,01	1,74 ± 0,34	<LoQ	<LoQ	2,22 ± 0,50	11,69 ± 6,28	13,16 ± 2,76	<LoD	<LoD	<LoD	7,98 ± 0,96	7,96 ± 1,01	8,12 ± 0,12
14/11/2018	0,06 ± 0,06	<LoD	<LoQ	0,27 ± 0,06	<LoD	0,08 ± 0,04	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoQ	28,41 ± 2,12	6,96 ± 0,13
12/12/2018	5,71 ± 0,26	3,63 ± 0,13	3,25 ± 0,80	3,35 ± 0,52	<LoD	5,76 0,30	<LoD	<LoQ	<LoD	<LoD	<LoQ	11,40 ± 0,68	1,14 ± 1,41	3,96 ± 0,18
1er quartile	1,99	1,70	1,91	2,82	11,05*	0,51	7,81	18,32	236,22	3,33	13,88	5,82	1,23	1,91
Minimum	0,06	0,57	1,74	0,27	11,05*	0,08	1,50	13,16	27,24	3,12	13,88	3,48	0,84	1,32
Médiane	3,52	2,91	2,40	3,35	11,05*	2,22	11,69	22,04	376,77	3,54	13,88	8,80	7,91	6,96
Maximum	8,92	5,99	7,26	7,03	11,05*	9,96	39,24	26,82	692,16	11,92	13,88	17,38	29,95	8,88
3ème quartile	6,18	4,59	4,94	6,55	11,05*	5,76	19,67	24,74	408,78	7,73	13,88	13,30	14,03	8,12
Moyenne	4,15	3,14	3,58	4,00	11,05*	3,69	15,34	21,02	348,23	6,19	13,88	9,70	10,80	5,35

*Cette valeur correspond à la LoQ/2

Clain Aval

	CBZ	3OH-CBZ	CBZ-epox	Trans-CBZ	Dibenz	Acrid	DCF	OH-DCF	Benz	AMX	AMX-diketo	AMX-pen	ATZ	DEA
18/1/2018	3,87 ±0,07	2,06 ± 0,81	<LoQ	1,34 ± 0,43	<LoD	0,87 ± 0,75	27,02 ± 1,86	<LoQ	852,72 ± 117,03	<LoD	<LoQ	4,88 ± 2,44	<LoQ	1,56 ± 1,59
15/2/2018	0,57 ± 0,80	0,87 ± 0,10	<LoQ	0,76 ± 0,20	<LoD	3,18 ± 0,40	13,42 ± 2,66	18,76 ± 1,96	558,60 ± 60,54	<LoD	<LoQ	4,66 ± 4,06	<LoQ	0,82 ± 0,06
14/3/2018	1,95 ± 0,61	1,32 ± 0,48	<LoQ	1,91 ± 1,20	<LoD	2,88 ± 1,59	11,52 ± 9,20	14,60 ± 5,96	620,55 ± 35,88	<LoQ	<LoQ	11,22 ± 0,10	<LoD	0,52 ± 0,56
24/7/2018	4,76 ± 1,11	<LoD	1,13 ± 0,07	5,49 ± 1,74	<LoD	<LoD	71,44 ± 13,22	<LoD	<LoD	<LoD	<LoQ	5,08 ± 2,06	9,57 ± 1,46	9,78 ± 1,51
24/8/2018	11,16 ± 1,09	5,32 ± 0,73	0,84 ± 0,15	6,05 ± 0,80	<LoD	2,48 ± 2,19	47,40 ± 3,24	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	8,76 ± 1,20	8,07 ± 1,07	10,72 ± 2,18
20/9/2018	26,78 ± 2,87	11,34 ± 1,63	6,98 ± 0,50	12,98 ± 0,45	<LoQ	49,91 ± 18,70	234,16 ± 36,30	<LoQ	609,18 ± 218,46	<LoQ	<LoQ	8,52 ± 3,42	1,59 ± 0,00	1,62 ± 1,76
18/10/2018	10,44 ± 1,49	2,77 ± 1,05	0,64 ± 0,49	6,74 ± 0,56	<LoD	<LoQ	139,36 ± 56,70	<LoD	409,32 ± 12,09	<LoD	<LoQ	7,12 ± 2,32	8,93 ± 0,59	9,84 ± 0,47
14/11/2018	21,13 ± 4,41	7,93 ± 2,24	3,80 ± 0,51	12,12 ± 0,92	<LoD	<LoQ	n.d.	n.d.	n.d.	<LoQ	<LoD	<LoD	3,46 ± 2,03	5,11 ± 1,78
12/12/2018	13,59 ± 0,37	3,60 ± 2,40	1,00 ± 1,03	6,56 ± 1,58	<LoQ	<LoQ	447,30 ± 413,10	n.d.	n.d.	<LoQ	<LoQ	10,02 ± 1,24	17,00 ± 0,85	17,07 ± 1,53
1er quartile	3,87	1,88	0,88	1,91	15,56*	2,48	23,62	15,64	558,60	15,52*	7,14*	5,03	4,61	1,56
Minimum	0,57	0,87	0,64	0,76	15,56*	0,87	11,52	14,60	409,32	15,52*	7,14*	4,66	1,59	0,52
Médiane	10,44	3,19	1,07	6,05	15,56*	2,88	59,42	16,68	609,18	15,52*	7,14*	7,82	8,50	5,11
Maximum	26,78	11,34	6,98	12,98	15,56*	49,91	447,32	18,76	852,72	15,52*	7,14*	11,22	17,00	17,07
3ème quartile	13,59	5,97	3,13	6,74	15,56*	3,18	163,06	17,72	620,55	15,52*	7,14*	9,08	9,41	9,84
Moyenne	10,47	4,40	2,40	5,99	15,56*	11,86	123,96	16,68	610,07	15,52*	7,14*	7,53	8,10	6,34

*Cette valeur correspond à la LoQ/2

Chitré														
	CBZ	**3OH-CBZ**	**CBZ-epox**	**Trans-CBZ**	**Dibenz**	**Acrid**	**DCF**	**OH-DCF**	**Benz**	**AMX**	**AMX-diketo**	**AMX-pen**	**ATZ**	**DEA**
5/4/2018	14,70 ± 0,79	5,74 ± 1,21	6,01 ± 1,19	8,74 ± 0,66	<LoD	8,26 ± 1,32	1,40 ± 0,26	39,00 ± 0,06	3027,72 ± 320,79	<LoQ	<LoD	26,48 ±5,86	4,01 ± 4,46	14,81 ± 2,77
4/5/2018	19,21 ± 0,67	13,13 ± 0,45	14,88 ± 0,29	17,41 ± 1,34	<LoQ	21,97 ± 1,41	20,02 ± 5,78	61,86 ± 0,36	3299,40 ± 20,34	43,94 ± 7,58	27,54 ± 3,84	44,20 ± 1,18	38,55 ± 5,26	7,05 ± 1,79
30/5/2018	15,88 ± 1,12	10,32 ± 0,66	13,41 ± 0,20	14,00 ± 0,06	<LoQ	13,44 ± 3,32	75,04 ± 3,58	92,52 ± 4,90	4847,07 ± 254,28	29,36 ± 8,20	40,82 ± 15,72	17,00 ± 4,12	8,21 ± 1,87	10,40 ± 1,92
28/6/2018	<LoQ	4,40 ± 1,37	3,10 ± 0,52	<LoQ	78,57 ± 11,46	5,29 ± 2,87	37,42 ± 16,30	41,22 ± 25,38	4388,19 ± 218,01	26,54 ± 2,12	26,32 ± 3,10	21,96 ± 5,82	13,52 ± 1,41	25,05 ± 2,42
25/7/2018	7,41 ± 0,04	4,55 ± 0,64	8,72 ± 4,91	7,95 ± 1,72	<LoD	7,01 ± 0,37	54,30 ± 15,16	35,02 ± 12,72	3830,58 ± 760,89	<LoQ	50,66 ± 45,74	5,28 ± 0,82	27,52 ± 3,28	5,23 ± 4,32
1er quartile	12,88	4,55	6,01	8,54	78,57	7,01	20,02	39,00	3299,40	27,95	27,24	17,00	8,21	7,05
Minimum	7,41	4,40	3,10	7,95	78,57	5,29	1,40	35,02	3027,72	26,54	26,32	5,28	4,01	5,23
Médiane	15,29	5,74	8,72	11,37	78,57	8,26	37,42	41,22	3830,58	29,36	34,18	21,96	13,52	10,40
Maximum	19,21	13,13	14,88	17,41	78,57	21,97	75,04	92,52	4847,07	43,94	50,66	44,20	38,55	25,05
3ème quartile	16,71	10,32	13,41	14,85	78,57	13,44	54,30	61,86	4388,19	36,65	43,28	26,48	27,52	14,81
Moyenne	14,30	7,63	9,22	12,03	78,57	11,19	37,64	53,92	3878,59	33,28	36,34	22,98	18,36	12,51

POCIS (ng L^{-1})

Clain Amont												
	CBZ	**3OH-CBZ**	**CBZ-epox**	**Trans-CBZ**	**Dibenz**	**Acrid**	**DCF**	**OH-DCF**	**Benz**	**AMX**	**AMX-diketo**	**AMX-pen**
18/1/2018	9,5 ± 0,0	0,8 ± 0,0	1,2 ± 0,0	2,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	11,7	3,3 ± 1,6	6,3 ± 0,2	<LoQ	<LoQ	<LoD
15/2/2018	1,8 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,5 ± 0,4	3,4 ± 0,8	0,9 ± 0,9	18,3 ± 0,2	<LoD	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0
14/3/2018	0,3 ± 0,4	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,3	0,2 ± 0,2	0,5 ± 0,3	0,6 ± 0,1	1,0 ± 0,9	9,1 ± 1,2	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1
24/8/2018	7,5 ± 4,7	0,8 ± 0,1	1,5 ± 0,0	1,7 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,7 ± 0,0	22,4 ± 3,3	55,0 ± 7,1	1,4 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	<LoD
20/9/2018	20,8 ± 29,4	2,8 ± 0,0	4,5 ± 0,0	4,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	2,6 ± 0,0	33,3 ± 4,0	50,3 ± 2,1	2,6 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,4 ± 0,3
18/10/2018	4,3 ± 1,1	0,7 ± 0,2	1,2 ± 0,0	2,9 ± 0,0	<LoD	0,5 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,9 ± 1,2	1,6 ± 0,3	<LoQ	0,2 ± 0,2	<LoQ
14/11/2018	4,9 ± 2,3	0,6 ± 0,0	1,5 ± 0,2	3,7 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,6 ± 0,2	0,6	1,3 ± 0,1	1,7 ± 0,5	<LoQ	<LoQ	0,5 ± 0,0
12/12/2018	2,0 ± 0,3	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,2	1,4 ± 0,3	0,2 ± 0,0	0,9 ± 0,1	3,1	2,2 ± 1,3	1,6 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,3	0,5 ± 0,0
1er quartile	1,9	0,3	0,3	1,2	0,1	0,5	0,6	1,0	1,6	0,2	0,2	0,2
Minimum	0,3	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,9	1,4	0,1	0,1	0,2
Médiane	4,6	0,6	1,2	2,0	0,2	0,6	3,2	1,8	2,1	0,3	0,2	0,4
Maximum	20,8	2,8	4,5	4,6	0,7	2,6	33,3	55,0	18,3	1,0	0,8	0,5
3ème quartile	8,0	0,8	1,5	3,1	0,2	0,7	14,4	15,1	7,0	0,5	0,3	0,5
Moyenne	6,4	0,8	1,3	2,2	0,2	0,8	9,4	14,4	5,3	0,4	0,3	0,4

Clain Aval												
	CBZ	**3OH-CBZ**	**CBZ-epox**	**Trans-CBZ**	**Dibenz**	**Acrid**	**DCF**	**OH-DCF**	**Benz**	**AMX**	**AMX-diketo**	**AMX-pen**
18/1/2018	10,3	8,7 ± 1,4	18,2	10,9 ± 1,3	<LoQ	0,1 ± 0,0	15,8	6,4	5,4	2,2 ± 0,3	2,1 ± 0,2	<LoQ
15/2/2018	158,3 ± 24,2	11,5 ± 0,3	221,8 ± 9,7	18,9 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,8 ± 0,1	135,5 ± 1,0	267,8 ± 13,8	101,1 ± 2,7	3,0 ± 0,1	2,8 ± 0,4	0,2 ± 0,0
14/3/2018	99,7 ± 24,9	15,8 ± 2,0	101,3 ± 0,1	26,8 ± 0,9	0,1 ± 0,0	0,4 ± 0,1	97,7 ± 4,5	128,4 ± 40,7	55,8 ± 5,6	3,5 ± 0,3	3,4 ± 0,0	0,1 ± 0,0
24/8/2018	33,3 ± 5,1	16,4 ± 0,1	54,3 ± 0,1	33,4 ± 1,8	0,3 ± 0,0	0,6 ± 0,6	52,5 ± 2,7	24,9 ± 0,1	16,3 ± 2,6	1,2 ± 0,3	1,2 ± 0,7	0,3 ± 0,0
10/9/2018	82,9 ± 21,3	23,0 ± 14,3	89,6 ± 10,9	46,2 ± 7,5	<LoQ	0,6 ± 0,2	68,0 ± 0,2	13,1 ± 4,7	58,2 ± 3,9	4,4 ± 0,7	3,8 ± 0,3	0,3 ± 0,0
18/10/2018	30,9 ± 7,1	41,7 ± 14,3	38,2 ± 8,1	16,1 ± 3,7	<LoQ	0,9 ± 0,3	34,1 ± 2,4	116,2 ± 11,5	16,8 ± 0,6	0,5 ± 0,1	0,1 ± 0,1	<LoQ
14/11/2018	15,7 ± 13,3	20,3 ± 14,4	15,3 ± 9,1	4,8 ± 2,3	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,4	14,0 ± 3,6	80,8 ± 13,6	10,6 ± 0,4	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,2	0,5 ± 0,2
12/12/2018	44,1 ± 3,7	18,9 ± 3,7	48,9 ± 7,1	34,2 ± 5,7	<LoQ	0,6 ± 0,0	12,9 ± 5,7	17,6 ± 0,4	20,6 ± 2,2	2,8 ± 0,3	2,6 ± 1,0	<LoD
1er quartile	27,1	14,7	33,2	14,8	0,2	0,4	15,4	16,5	14,8	1,1	1,2	0,2
Minimum	10,3	8,7	15,3	4,8	0,1	0,1	12,9	6,4	5,4	0,5	0,1	0,1
Médiane	38,7	17,7	51,6	22,9	0,2	0,6	43,3	52,8	18,7	2,5	2,4	0,3
Maximum	158,3	41,7	221,8	46,2	0,4	0,9	135,5	267,8	101,1	4,4	3,8	0,5
3ème quartile	87,1	20,9	92,6	33,6	0,3	0,7	75,4	119,3	56,4	3,1	2,9	0,3
Moyenne	59,4	19,5	73,4	23,9	0,3	0,5	53,8	81,9	35,6	2,3	2,1	0,3

Chitré												
	CBZ	**3OH-CBZ**	**CBZ-epox**	**Trans-CBZ**	**Dibenz**	**Acrid**	**DCF**	**OH-DCF**	**Benz**	**AMX**	**AMX-diketo**	**AMX-pen**
30/5/2018	1,3 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,1 ± 0,0	3,2 ± 0,1	<LoQ	2,2 ± 0,1	1,3 ± 0,5	n.d.	n.d.	0,3	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,2
28/6/2018	2,1	1,8	1,7	3,1	0,5	2,0	0,6 ± 0,4	n.d.	n.d.	0,8	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,2
25/7/2018	2,0	0,5	0,3	2,3	<LoD	0,4	0,6 ± 0,6	n.d.	n.d.	<LoQ	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0,2
1er quartile	1,63	0,47	0,23	2,67	0,45	1,17	0,60	n.d.	n.d.	0,46	0,12	0,17
Minimum	1,25	0,42	0,13	2,26	0,45	0,36	0,58	n.d.	n.d.	0,33	0,09	0,12
Médiane	2,01	0,51	0,32	3,07	0,45	1,97	0,62	n.d.	n.d.	0,58	0,16	0,22
Maximum	2,14	1,84	1,74	3,23	0,45	2,19	1,26	n.d.	n.d.	0,83	0,30	0,29
3ème quartile	2,08	1,18	1,03	3,15	0,45	2,08	0,94	n.d.	n.d.	0,71	0,23	0,26
Moyenne	1,80	0,93	0,73	2,85	0,45	1,51	0,82	n.d.	n.d.	0,58	0,18	0,21

Annexe II : Campagne d'évaluation spatiale et multi-compartiments de la contamination des milieux aquatiques – données brutes

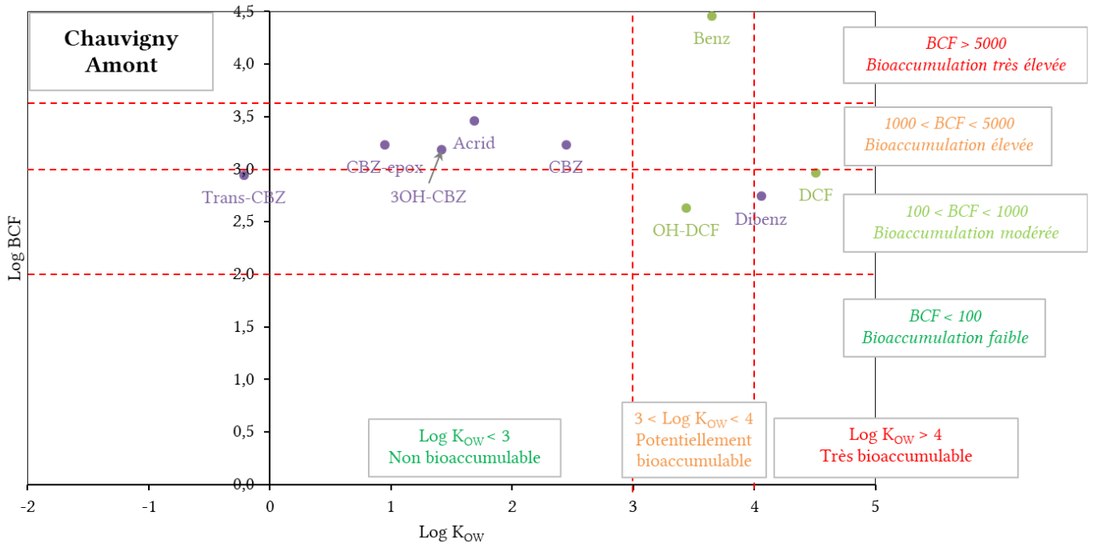
EAU (µg L^{-1})									
	CBZ	**3OH-CBZ**	**CBZ-epox**	**Trans-CBZ**	**Dibenz**	**Acrid**	**DCF**	**OH-DCF**	**Benz**
Chauvigny Amont	0,53 ± 0,01	0,16 ± 0,06	0,33 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,42 ± 0,02	0,32 ± 0,02	0,09 ± 0,00	0,24 ± 0,01	0,05 ± 0,02
Chauvigny Aval	0,28 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,14 ± 0,00	<LoQ	0,16 ± 0,02	0,14 ± 0,00	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,17 ± 0,08
Chitré	n.d.	0,30 ± 0,01	0,33 ± 0,03	n.d.	n.d.	n.d.	0,28 ± 0,02	0,26 ± 0,03	n.d.
Châtellerault Amont	0,59 ± 0,07	0,30 ± 0,05	0,33 ± 0,02	n.d.	0,69 ± 0,05	0,47 ± 0,08	0,43 ± 0,02	0,52 ± 0,06	n.d.
Châtellerault Aval	0,74 ± 0,03	0,27 ± 0,03	0,37 ± 0,03	0,30 ± 0,00	0,62 ± 0,05	0,65 ± 0,01	0,23 ± 0,05	0,27 ± 0,11	0,78 ± 0,04
Saint-Benoit	0,59 ± 0,07	0,30 ± 0,05	0,33 ± 0,02	n.d.	0,69 ± 0,05	0,47 ± 0,08	0,43 ± 0,02	0,52 ± 0,06	n.d.
Chasseneuil	0,56 ± 0,04	0,22 ± 0,00	0,27 ± 0,00	0,19 ± 0,00	0,30 ± 0,03	0,35 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,05 ± 0,00
Airvault	0,38 ± 0,03	0,14 ± 0,01	0,24 ± 0,00	0,17 ± 0,01	0,35 ± 0,03	0,30 ± 0,01	0,13 ± 0,11	0,23 ± 0,04	0,02 ± 0,03
Thouars Amont	0,46 ± 0,02	0,18 ± 0,00	0,26 ± 0,01	0,14 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,32 ± 0,01	0,09 ± 0,04	0,10 ± 0,00	0,21 ± 0,02
Thouars Aval	0,57 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,40 ± 0,00	0,27 ± 0,02	0,41 ± 0,03	0,49 ± 0,02	0,07 ± 0,00	0,16 ± 0,01	0,09 ± 0,03
1er quartile	0,46	0,16	0,26	0,17	0,30	0,32	0,09	0,16	0,05
Minimum	0,28	0,08	0,14	0,14	0,16	0,14	0,07	0,10	0,02
Médiane	0,56	0,25	0,33	0,19	0,41	0,35	0,12	0,24	0,09
Maximum	0,74	0,32	0,40	0,30	0,69	0,65	0,43	0,52	0,78
3ème quartile	0,59	0,30	0,33	0,25	0,62	0,47	0,27	0,27	0,19
Moyenne	0,52	0,23	0,30	0,21	0,43	0,39	0,20	0,26	0,20

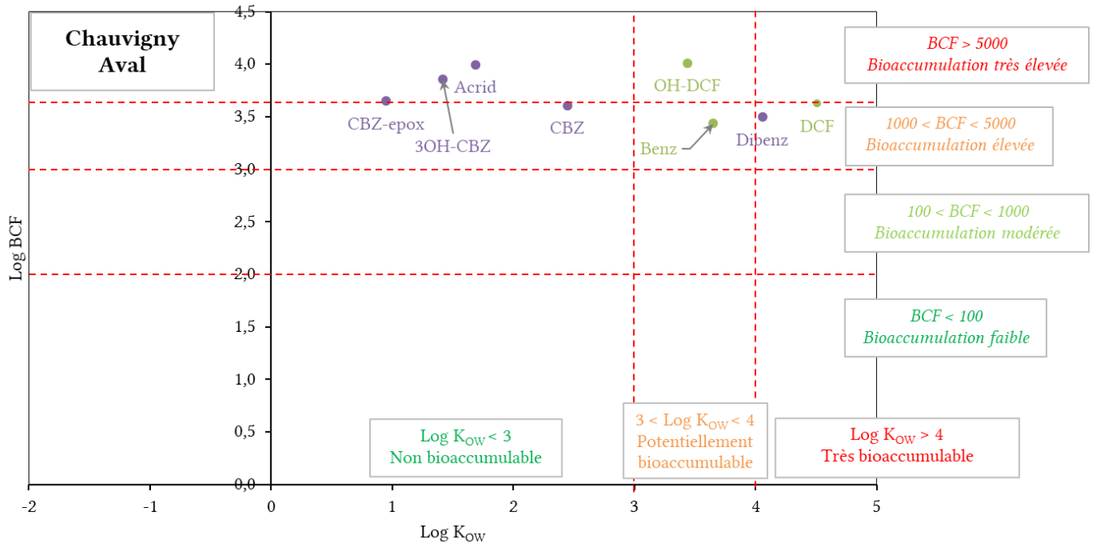
BIOFILM (ng g^{-1})									
	CBZ	**3OH-CBZ**	**CBZ-epox**	**Trans-CBZ**	**Dibenz**	**Acrid**	**DCF**	**OH-DCF**	**Benz**
Chauvigny Amont	945 ± 21	324 ± 11	531 ± 58	385 ± 52	1738 ± 145	729 ± 33	364 ± 159	698 ± 35	2636 ± 156
Chauvigny Aval	728 ± 12	236 ± 34	359 ± 48	269 ± 9	966 ± 121	498 ± 18	307 ± 90	92 ± 38	2497 ± 323
Chitré	463 ± 16	141 ± 3	254 ± 57	211 ± 29	1087 ± 64	339 ± 7	49 ± 39	282 ± 62	3063 ± 154
Châtellerault Amont	684 ± 35	400 ± 46	152 ± 6	252 ± 10	1197 ± 29	495 ± 18	195 ± 60	148 ± 77	n.d.
Châtellerault Aval	1095 ± 28	258 ± 9	417 ± 21	24 ± 4	1907 ± 90	877 ± 33	64 ± 26	309 ± 162	4734 ± 117
Saint-Benoit	638 ± 61	293 ± 18	216 ± 31	n.d.	3101 ± 119	992 ± 22	514 ± 368	803 ± 77	n.d.
Chasseneuil	521 ± 37	302 ± 47	229 ± 21	n.d.	2097 ± 199	763 ± 69	411 ± 166	820 ± 41	n.d.
Airvault	483 ± 20	164 ± 69	272 ± 22	128 ± 49	853 ± 49	362 ± 14	78 ± 28	<LoQ	658 ± 771
Thouars Amont	675 ± 4	230 ± 26	312 ± 15	176 ± 13	1368 ± 150	467 ± 17	259 ± 4	62 ± 62	638 ± 62
Thouars Aval	985 ± 21	454 ± 55	548 ± 42	623 ± 51	3032 ± 36	1077 ± 25	1238 ± 40	1754 ± 87	842 ± 185
1er quartile	550	232	236	164	1115	474	108	148	750
Minimum	463	141	152	24	853	339	49	62	638
Médiane	680	276	292	231	1553	614	283	309	2497
Maximum	1095	454	548	623	3101	1077	1238	1754	4734
3ème quartile	891	319	403	298	2050	848	399	803	2849
Moyenne	722	280	329	259	1735	660	348	552	2153

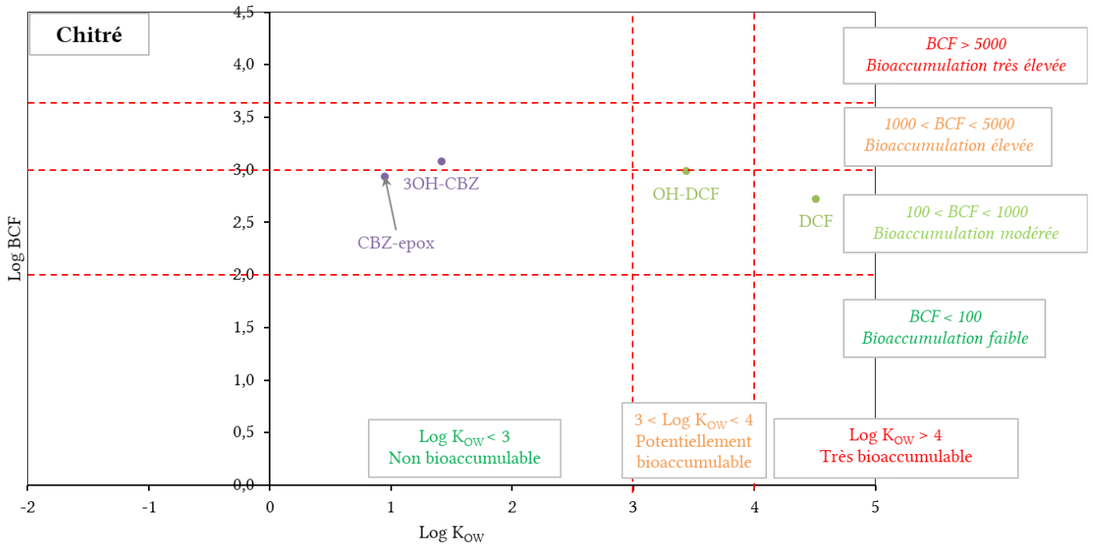
SEDIMENT (ng g^{-1})									
	CBZ	**3OH-CBZ**	**CBZ-epox**	**Trans-CBZ**	**Dibenz**	**Acrid**	**DCF**	**OH-DCF**	**Benz**
Chauvigny Amont	128 ± 9	55 ± 4	141 ± 7	41 ± 4	102 ± 3	105 ± 3	21 ± 26	5 ± 4	269 ± 38
Chauvigny Aval	149 ± 7	78 ± 3	129 ± 5	61 ± 9	146 ± 8	129 ± 6	14 ± 16	35 ± 10	122 ± 101
Chitré	163 ± 2	55 ± 6	99 ± 15	68 ± 2	161 ± 6	105 ± 1	47 ± 7	126 ± 2	96 ± 100
Châtellerault Amont	121 ± 3	30 ± 4	150 ± 20	7 ± 2	98 ± 2	54 ± 1	3 ± 1	16 ± 11	171 ± 29
Châtellerault Aval	224 ± 1	89 ± 4	150 ± 12	113 ± 3	231 ± 21	200 ± 7	92 ± 44	184 ± 41	878 ± 33
Saint-Benoit	134 ± 22	32 ± 1	94 ± 8	31 ± 4	139 ± 2	111 ± 2	10 ± 11	24 ± 9	82 ± 33
Chasseneuil	37 ± 14	16 ± 4	9 ± 7	n.d.	48 ± 8	25 ± 6	174 ± 10	343 ± 41	n.d.
Airvault	82 ± 2	22 ± 5	50 ± 11	19 ± 11	62 ± 1	44 ± 3	23 ± 12	46 ± 7	124 ± 77
Thouars Amont	59 ± 14	33 ± 2	61 ± 10	52 ± 4	107 ± 4	74 ± 1	22 ± 27	73 ± 26	124 ± 5
Thouars Aval	91 ± 9	66 ± 7	115 ± 15	122 ± 0	185 ± 21	127 ± 0	101 ± 18	179 ± 20	195 ± 103
1er quartile	84	31	69	31	99	59	16	27	122
Minimum	37	16	9	7	48	25	3	5	82
Médiane	124	44	107	52	123	105	23	60	124
Maximum	224	89	150	122	231	200	174	343	878
3ème quartile	145	63	138	68	157	123	81	166	195
Moyenne	119	48	100	57	128	98	51	103	229

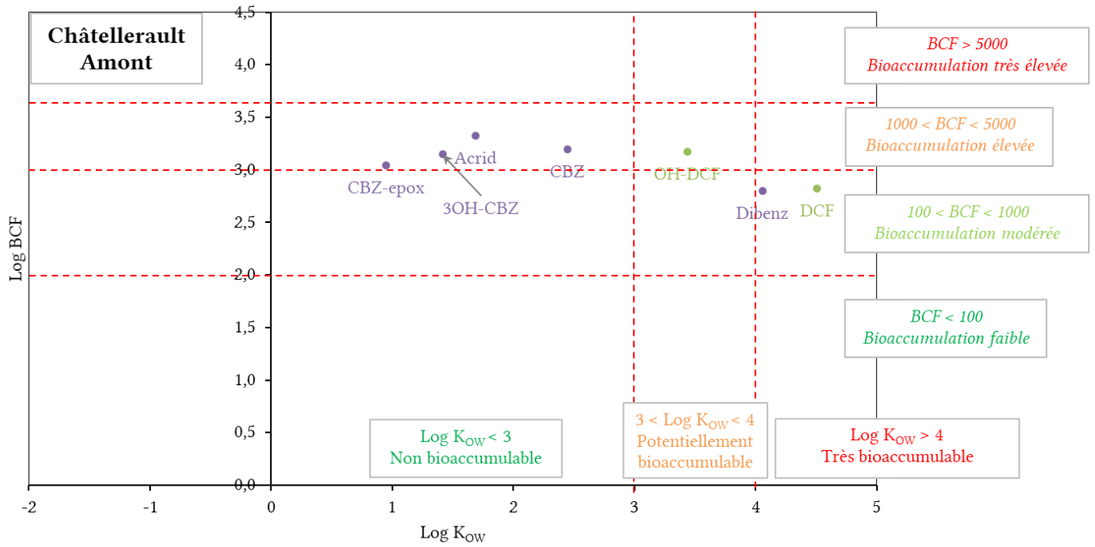
CORBICULES (ng g^{-1})									
	CBZ	**3OH-CBZ**	**CBZ-epox**	**Trans-CBZ**	**Dibenz**	**Acrid**	**DCF**	**OH-DCF**	**Benz**
Chauvigny Amont	911 ± 6	239 ± 124	552 ± 68	172 ± 2	229 ± 8	922 ± 13	81 ± 61	104 ± 83	1380 ± 229
Chauvigny Aval	1106 ± 133	536 ± 8	623 ± 12	335 ± 45	499 ± 3	1383 ± 33	484 ± 73	1327 ± 398	457 ± 359
Chitré	870 ± 93	357 ± 179	286 ± 333	284 ± 26	409 ± 10	809 ± 10	149 ± 57	254 ± 49	1311 ± 51
Châtellerault Amont	917 ± 71	412 ± 309	358 ± 279	341 ± 21	434 ± 3	984 ± 42	282 ± 44	763 ± 48	639 ± 65
Châtellerault Aval	1809 ± 176	1120 ± 70	1148 ± 66	728 ± 1	964 ± 117	2149 ± 248	1359 ± 237	2856 ± 178	4264 ± 179
Saint-Benoit	593 ± 20	141 ± 33	267 ± 206	136 ± 28	271 ± 4	418 ± 17	116 ± 19	534 ± 2	151 ± 53
Chasseneuil	1346 ± 33	804 ± 32	725 ± 21	620 ± 39	730 ± 10	1652 ± 18	961 ± 68	2329 ± 147	204 ± 203
Airvault	510 ± 7	73 ± 7	179 ± 25	12 ± 14	157 ± 24	200 ± 17	154 ± 144	502 ± 72	392 ± 421
Thouars Amont	752 ± 37	610 ± 43	599 ± 23	473 ± 12	504 ± 13	1129 ± 19	784 ± 176	1759 ± 257	364 ± 343
Thouars Aval	809 ± 19	440 ± 12	413 ± 25	354 ± 24	487 ± 19	1011 ± 27	559 ± 23	1060 ± 150	1153 ± 567
1er quartile	766	268	304	200	305	837	150	510	371
Minimum	510	73	179	12	157	200	81	104	151
Médiane	890	426	483	338	460	997	383	912	548
Maximum	1809	1120	1148	728	964	2149	1359	2856	4264
3ème quartile	1058	592	617	443	503	1320	728	1651	1272
Moyenne	962	473	515	345	468	1066	493	1149	1032

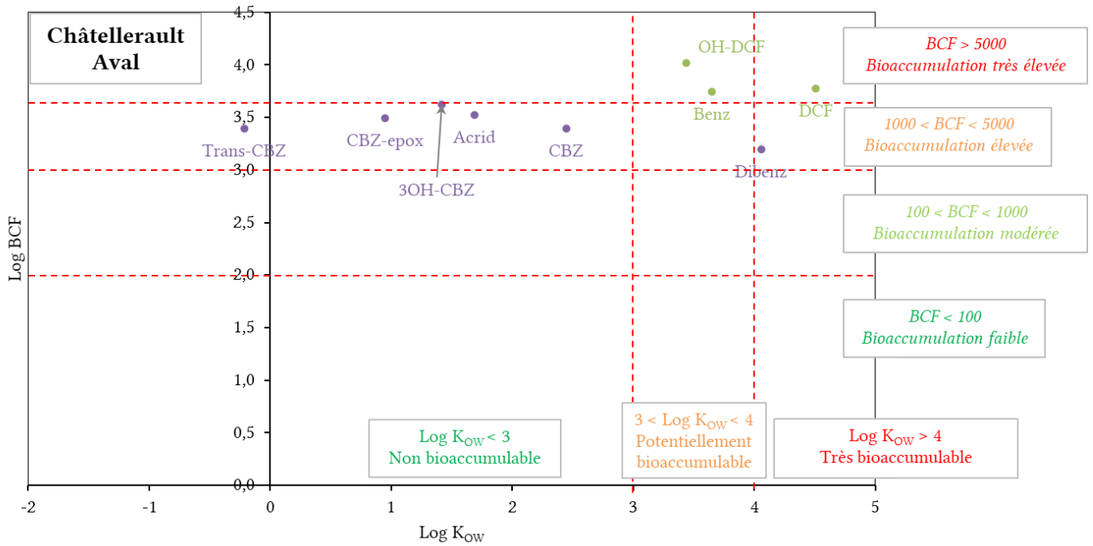
Corbicules

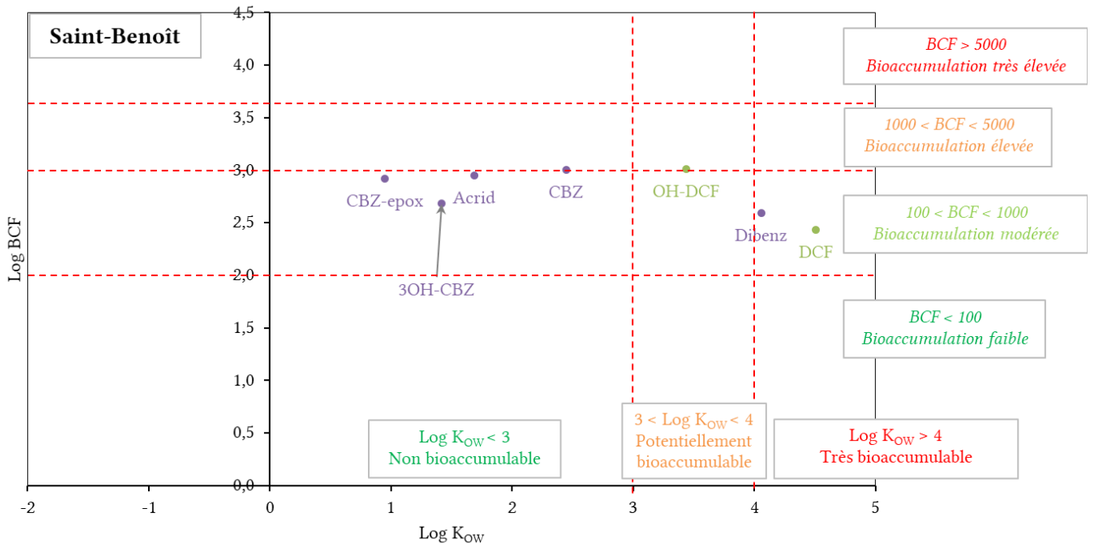

Chauvigny Amont
Benz
Acrid
CBZ-epox
CBZ
Trans-CBZ
3OH-CBZ
OH-DCF
Dibenz
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log KOW < 3
Non bioaccumulable
3 < Log KOW < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log KOW > 4
Très bioaccumulable
Log BCF
Log KOW

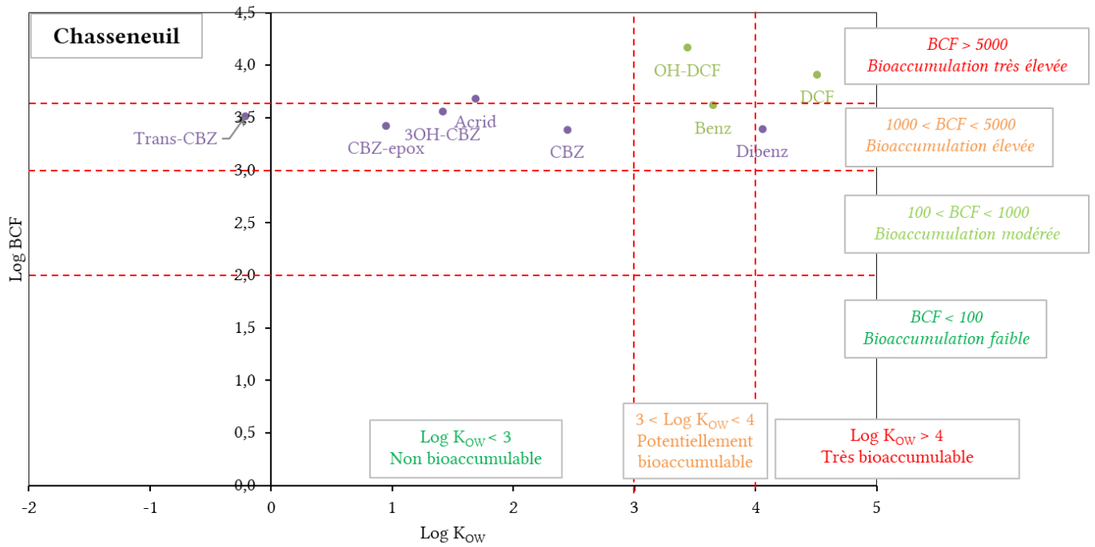

Chauvigny Aval
Acrid
OH-DCF
CBZ-epox
3OH-CBZ
CBZ
Benz
Dibenz
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log KOW < 3
Non bioaccumulable
3 < Log KOW < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log KOW > 4
Très bioaccumulable
Log BCF
Log KOW

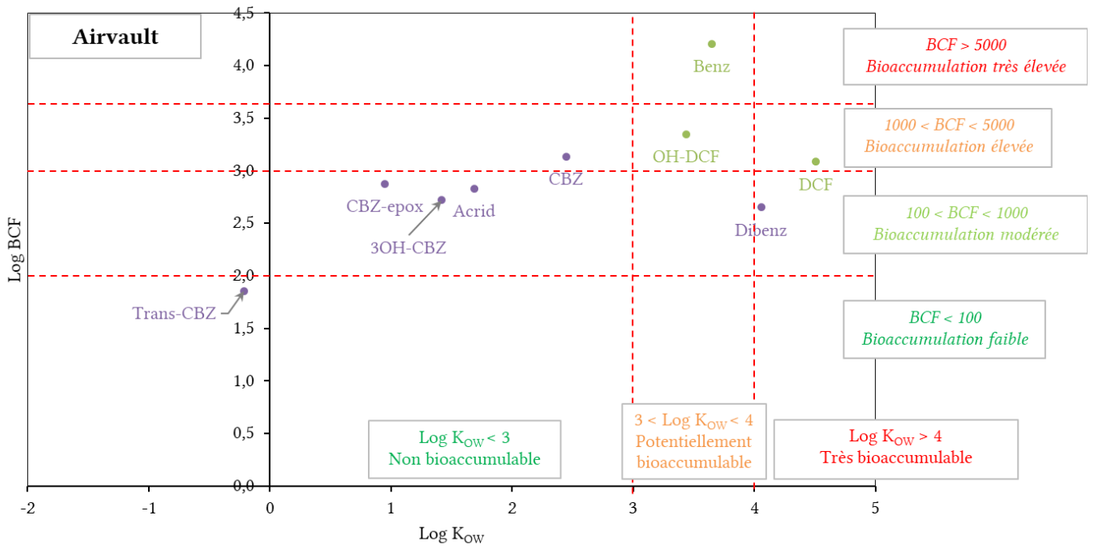

Chitré
3OH-CBZ
CBZ-epox
OH-DCF
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log KOW < 3
Non bioaccumulable
3 < Log KOW < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log KOW > 4
Très bioaccumulable
Log BCF
Log KOW

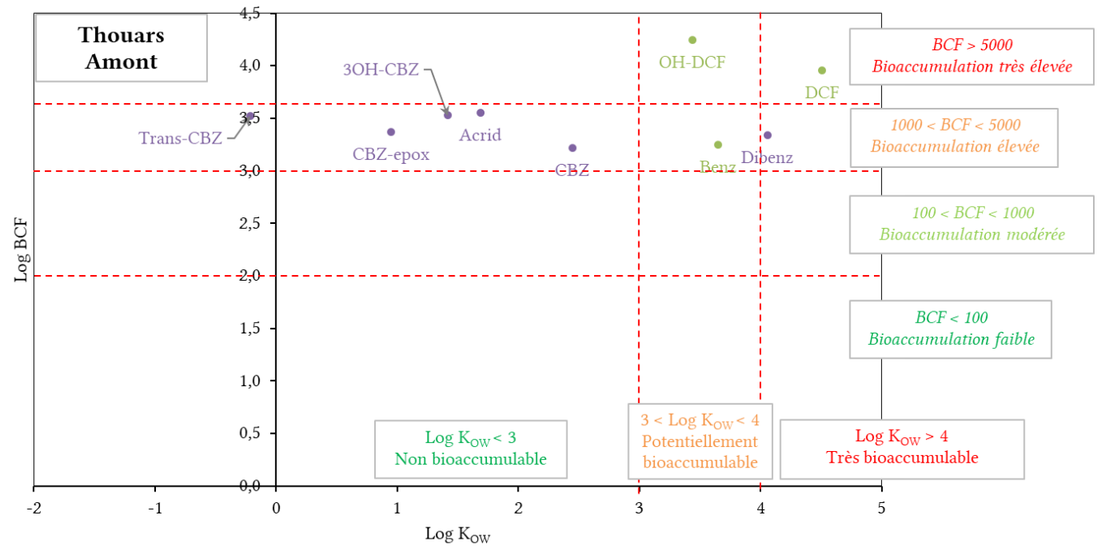

Châtellerault Amont
Acrid
CBZ-epox
3OH-CBZ
CBZ
OH-DCF
Dibenz
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log KOW < 3
Non bioaccumulable
3 < Log KOW < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log KOW > 4
Très bioaccumulable
Log BCF
Log KOW

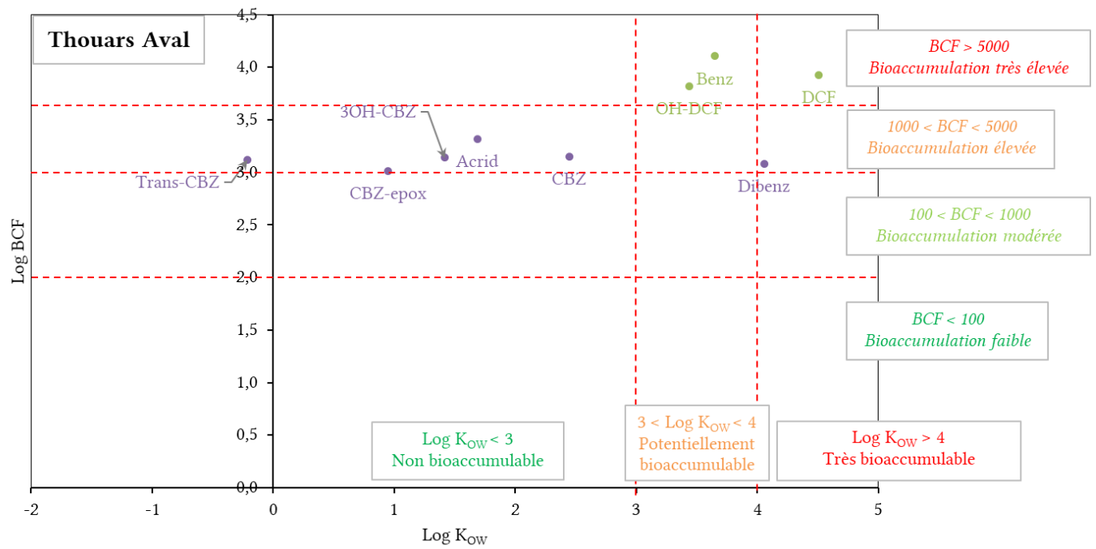

Châtellerault Aval
Log BCF
Log K_{OW}
Trans-CBZ
CBZ-epox
Acrid
3OH-CBZ
CBZ
OH-DCF
Benz
DCF
Dibenz
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable


Saint-Benoît
Log BCF
Log K_{OW}
CBZ-epox
Acrid
3OH-CBZ
CBZ
OH-DCF
Dibenz
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable

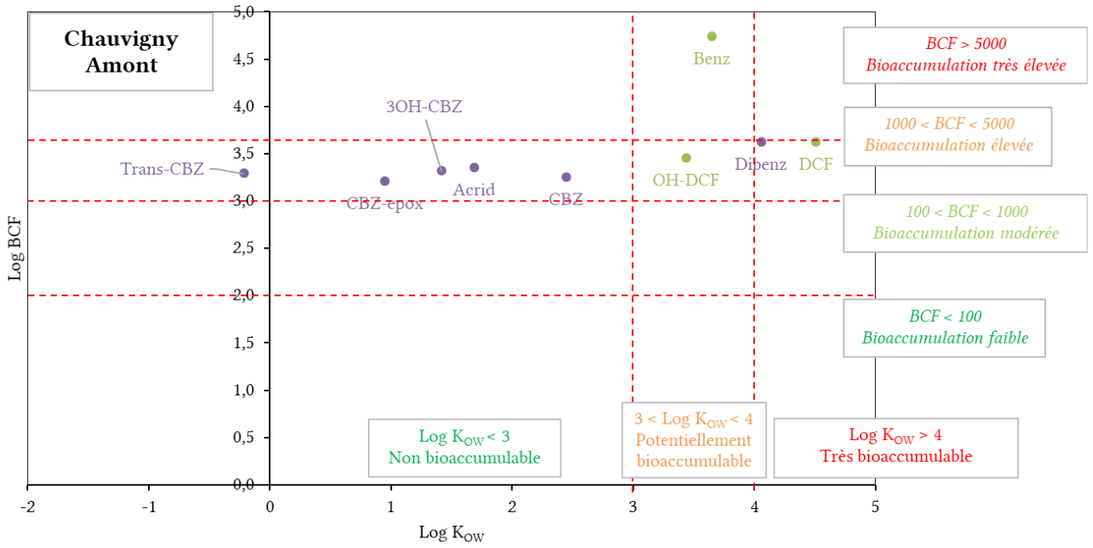

Chasseneuil
Log BCF
Log K_{OW}
Trans-CBZ
CBZ-epox
3OH-CBZ
Acrid
CBZ
OH-DCF
Benz
Dibenz
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable

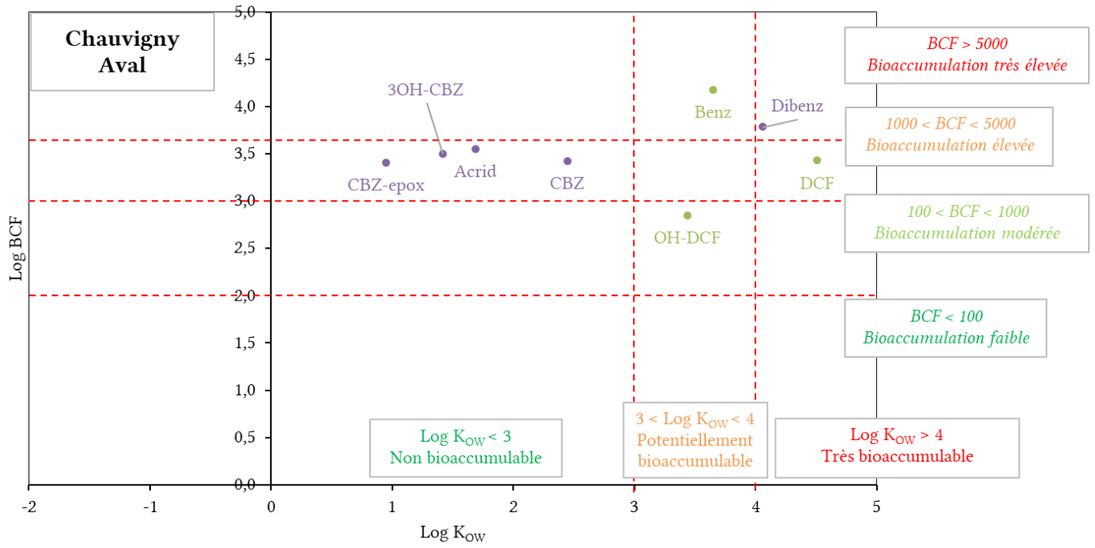

Airvault
Log BCF
Log K_{OW}
Benz
OH-DCF
DCF
CBZ
CBZ-epox
Acrid
3OH-CBZ
Dibenz
Trans-CBZ
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable

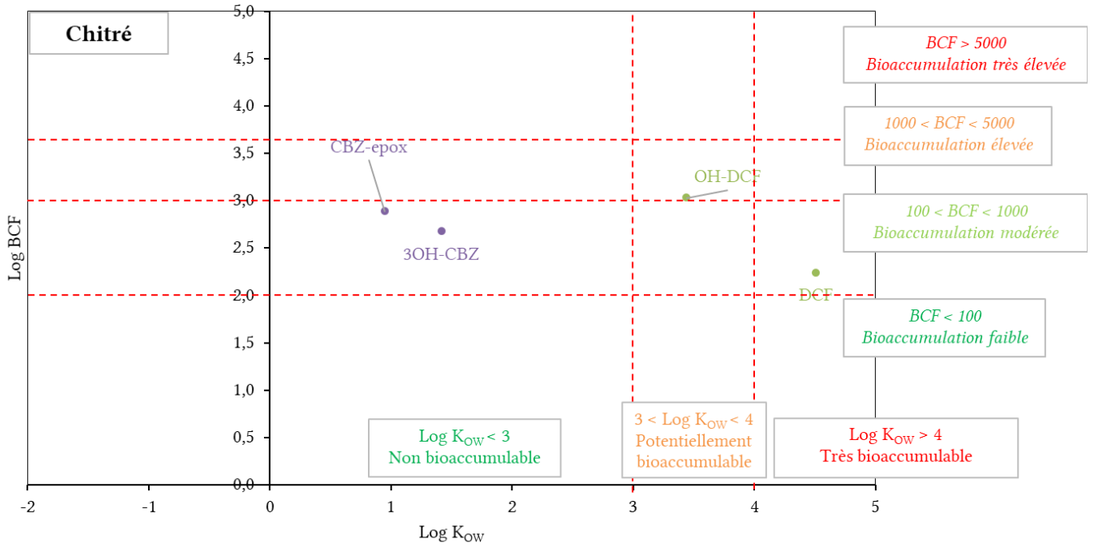

Thouars Amont
Log BCF
Log K_{OW}
3OH-CBZ
OH-DCF
DCF
Trans-CBZ
Acrid
CBZ-epox
CBZ
Benz
Dibenz
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable

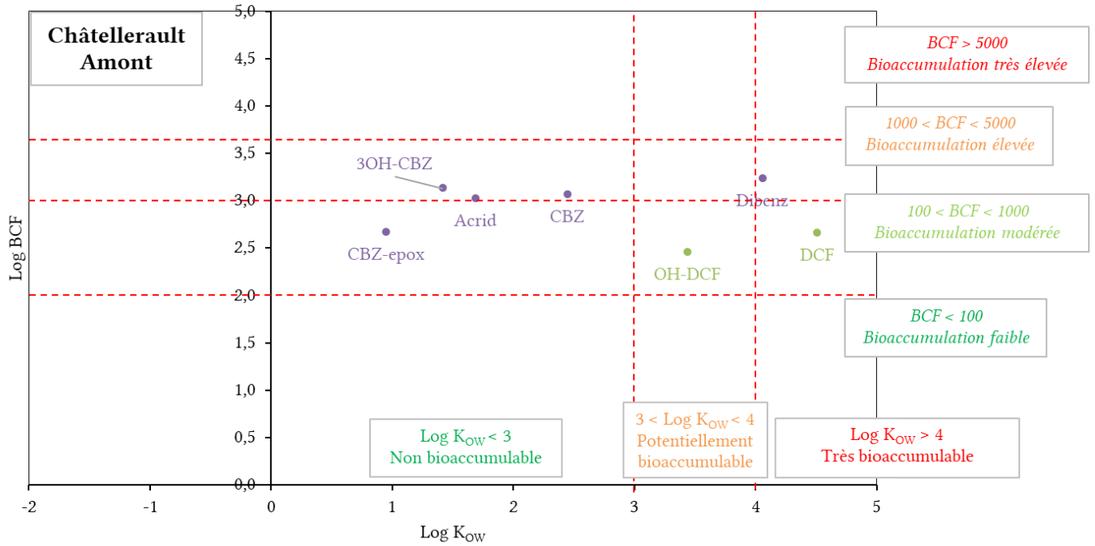

Thouars Aval
Log BCF
Log K_{OW}
Benz
DCF
OH-DCF
3OH-CBZ
Acrid
Trans-CBZ
CBZ-epox
CBZ
Dibenz
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable

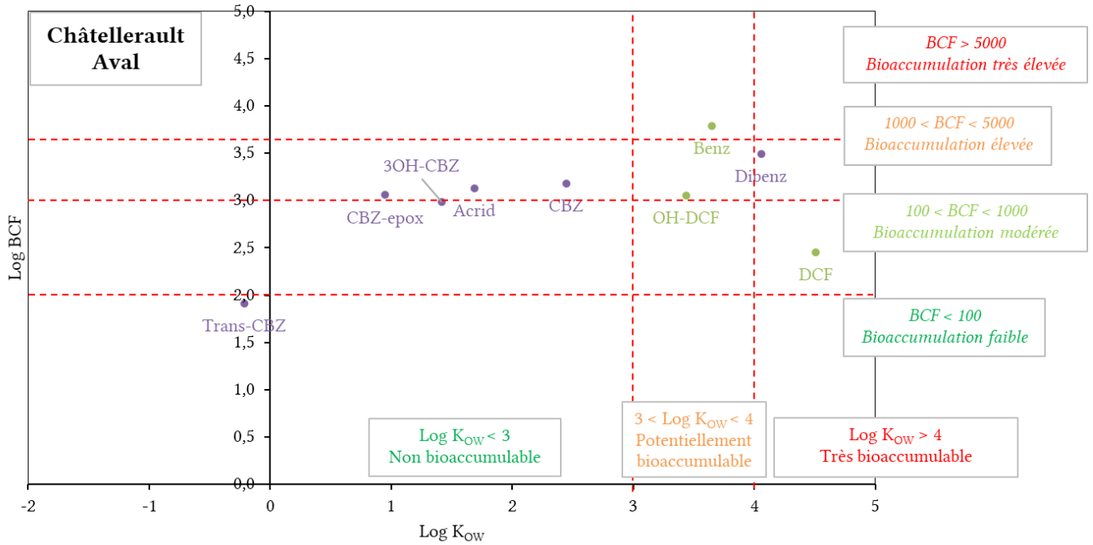
Biofilm

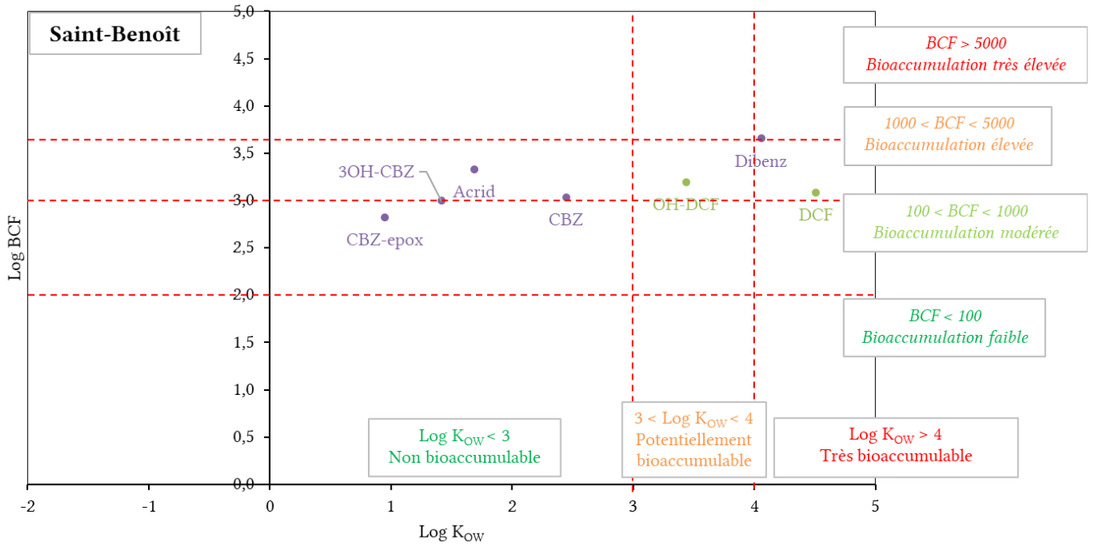

Chauvigny Amont
Log BCF
Log K_{OW}
Trans-CBZ
3OH-CBZ
CBZ-epox
Acrid
CBZ
Benz
OH-DCF
Dibenz
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable

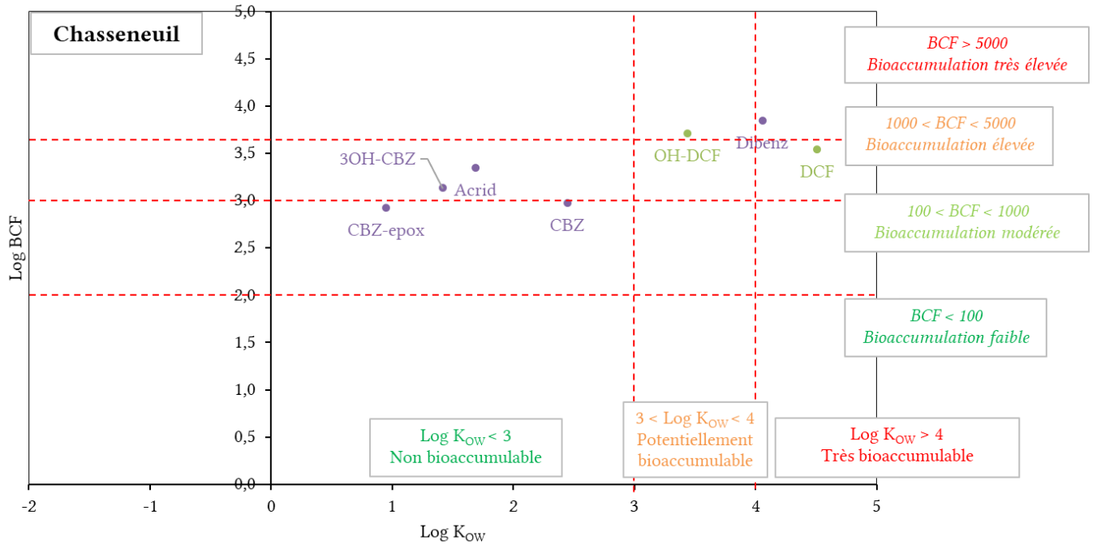

Chauvigny Aval
Log BCF
Log K_{OW}
3OH-CBZ
CBZ-epox
Acrid
CBZ
Benz
Dibenz
OH-DCF
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable

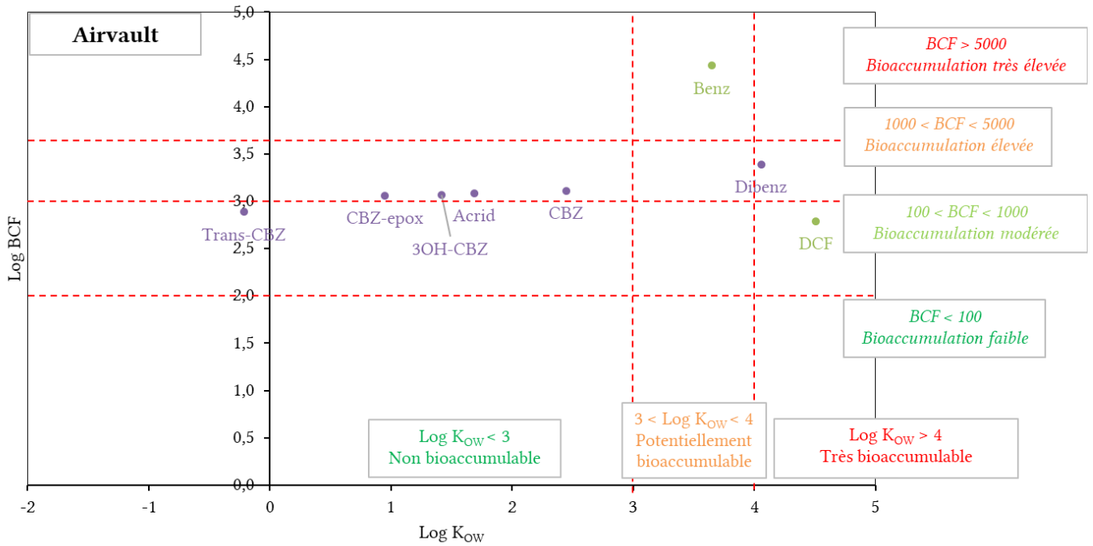

Chitré
Log BCF
Log K_{OW}
CBZ-epox
3OH-CBZ
OH-DCF
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable

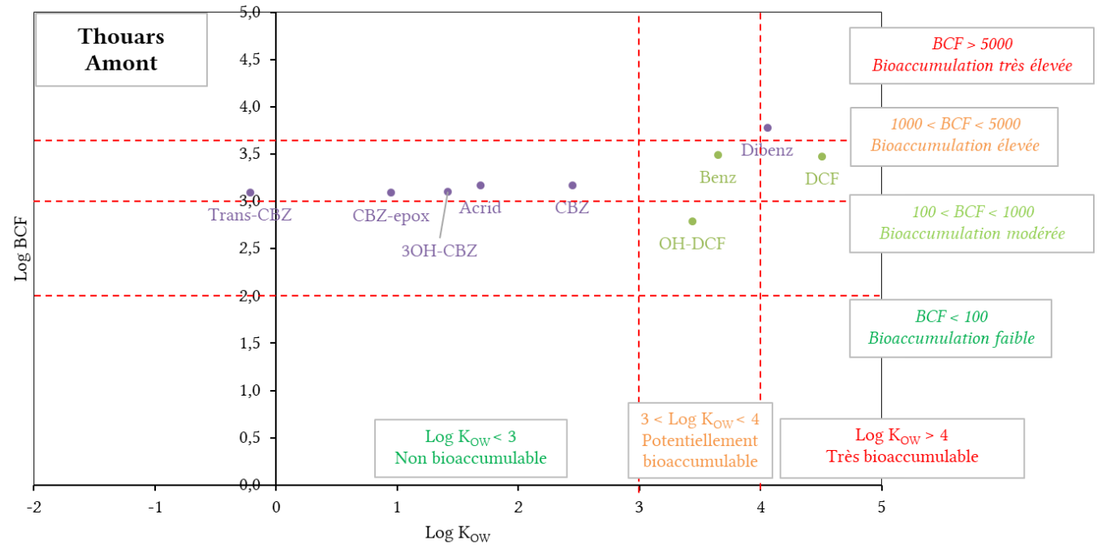

Châtellerault Amont
Log BCF
Log K_{OW}
3OH-CBZ
Acrid
CBZ
CBZ-epox
Dibenz
OH-DCF
DCF
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable

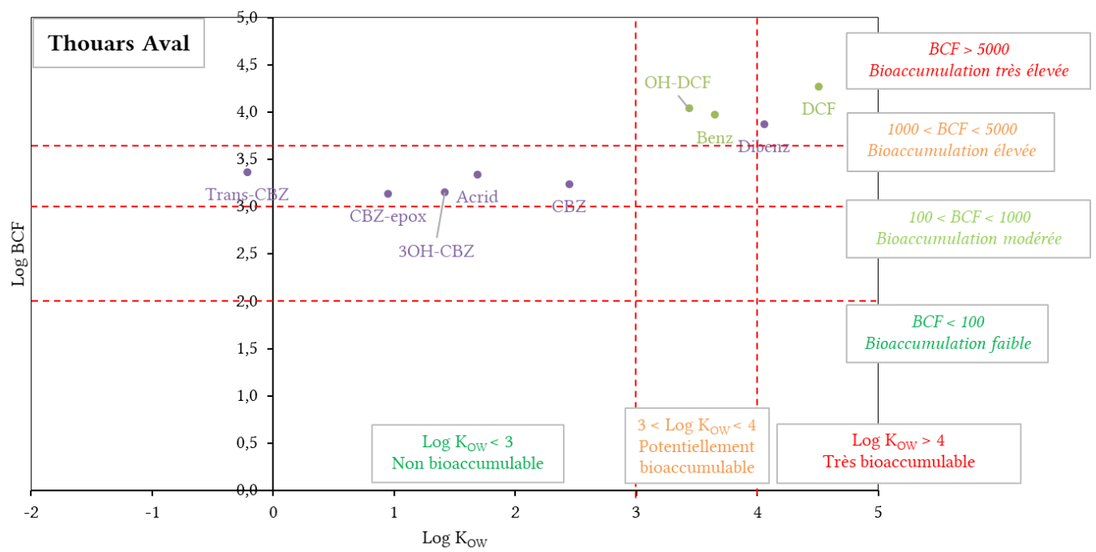

Châtellerault Aval
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K$_{OW}$ < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K$_{OW}$ < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K$_{OW}$ > 4
Très bioaccumulable
3OH-CBZ
CBZ-epox
Acrid
CBZ
Trans-CBZ
Benz
Dibenz
OH-DCF
DCF
Log BCF
Log K$_{OW}$


Saint-Benoît
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K$_{OW}$ < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K$_{OW}$ < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K$_{OW}$ > 4
Très bioaccumulable
3OH-CBZ
Acrid
CBZ-epox
CBZ
OH-DCF
Dibenz
DCF
Log BCF
Log K$_{OW}$

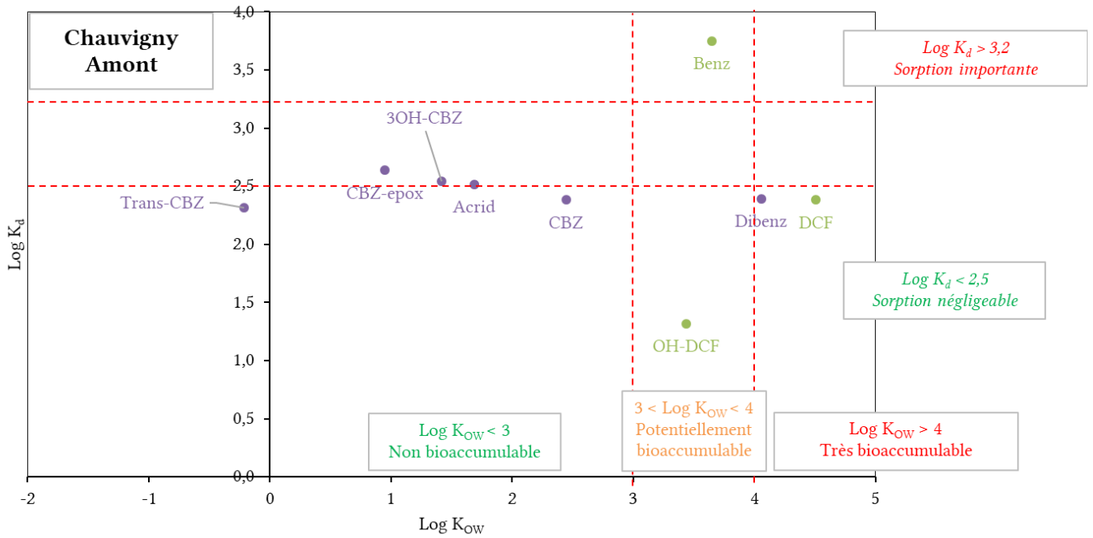

Chasseneuil
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K$_{OW}$ < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K$_{OW}$ < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K$_{OW}$ > 4
Très bioaccumulable
3OH-CBZ
Acrid
CBZ-epox
CBZ
OH-DCF
Dibenz
DCF
Log BCF
Log K$_{OW}$

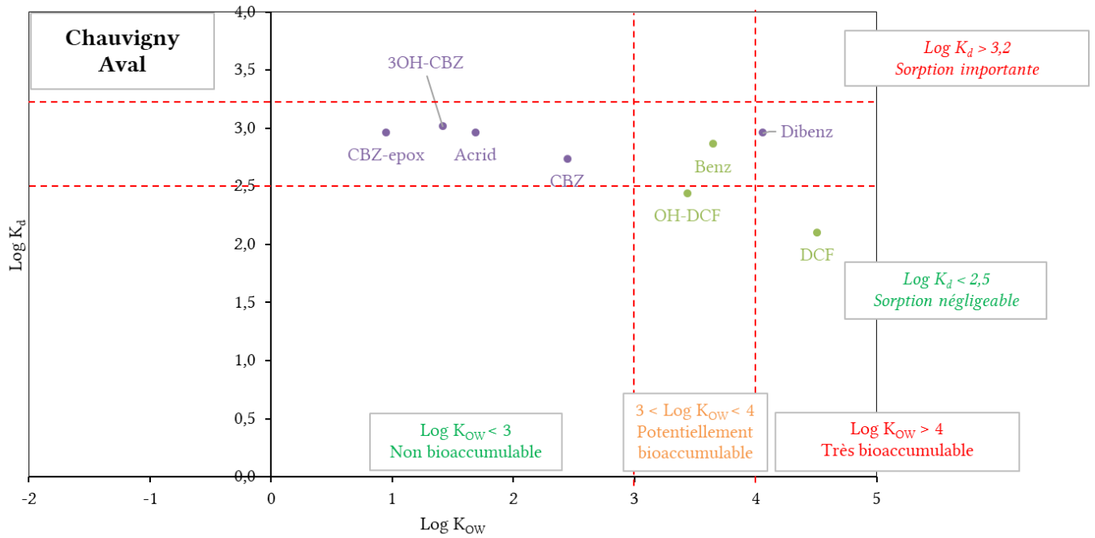

Airvault
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable
Benz
Dibenz
DCF
Trans-CBZ
CBZ-epox
Acrid
3OH-CBZ
CBZ
Log BCF
Log K_{OW}

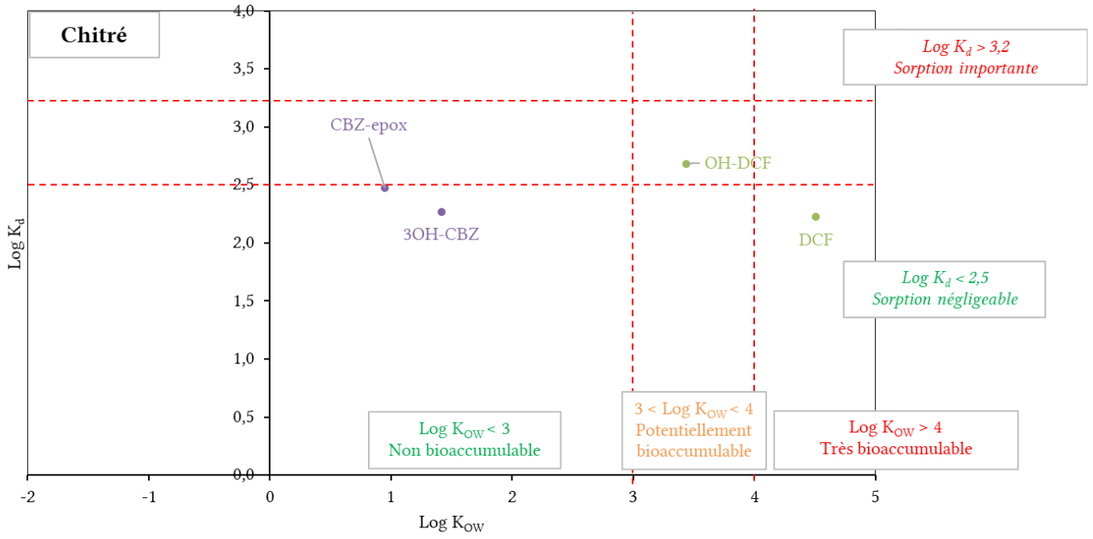

Thouars Amont
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable
Dibenz
Benz
DCF
OH-DCF
Trans-CBZ
CBZ-epox
Acrid
3OH-CBZ
CBZ
Log BCF
Log K_{OW}

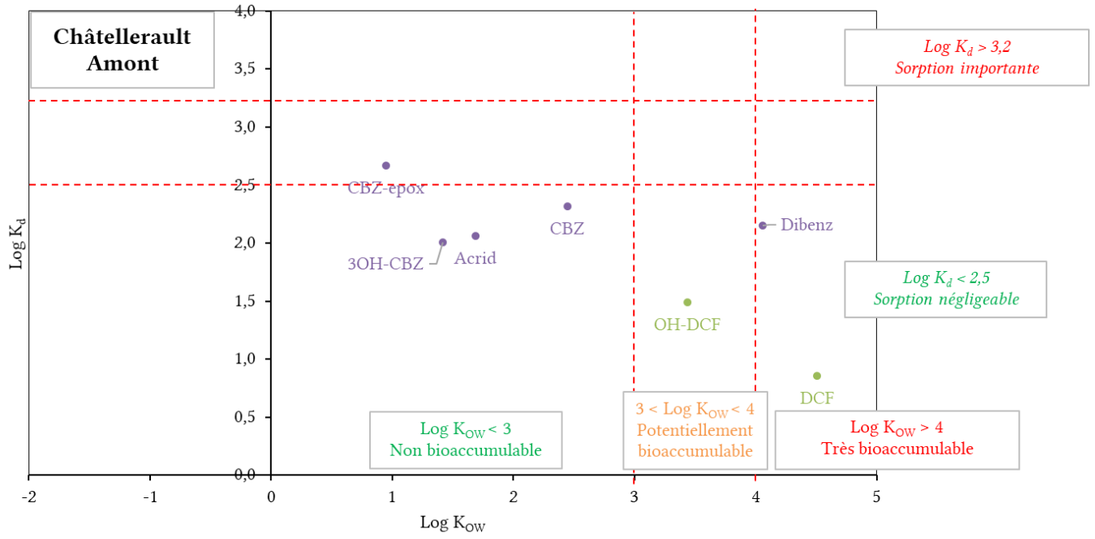

Thouars Aval
BCF > 5000
Bioaccumulation très élevée
1000 < BCF < 5000
Bioaccumulation élevée
100 < BCF < 1000
Bioaccumulation modérée
BCF < 100
Bioaccumulation faible
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable
OH-DCF
DCF
Benz
Dibenz
Trans-CBZ
CBZ-epox
Acrid
3OH-CBZ
CBZ
Log BCF
Log K_{OW}

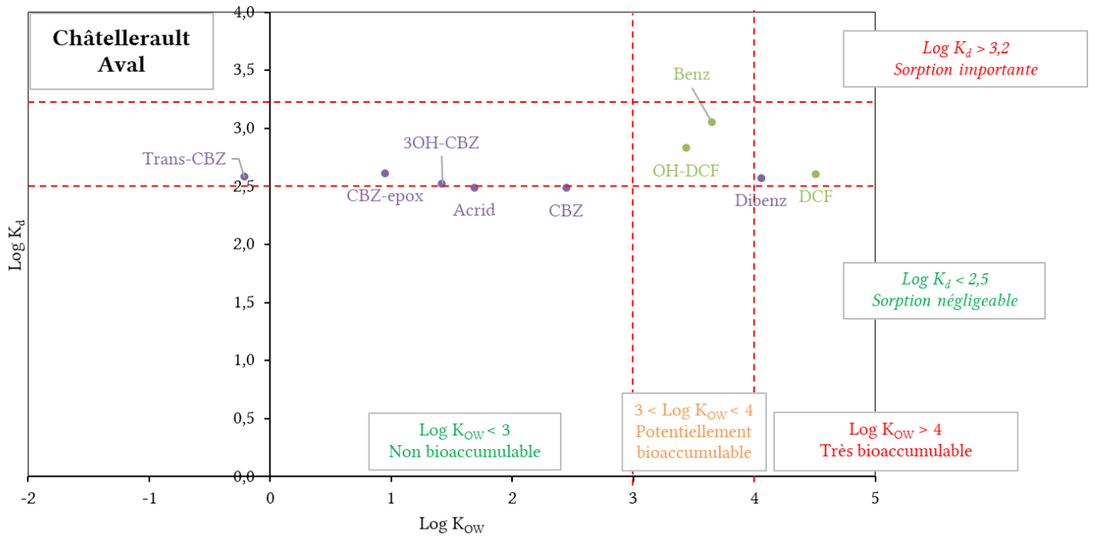
Sédiment (Log K_d = f(Log K_{OW}))

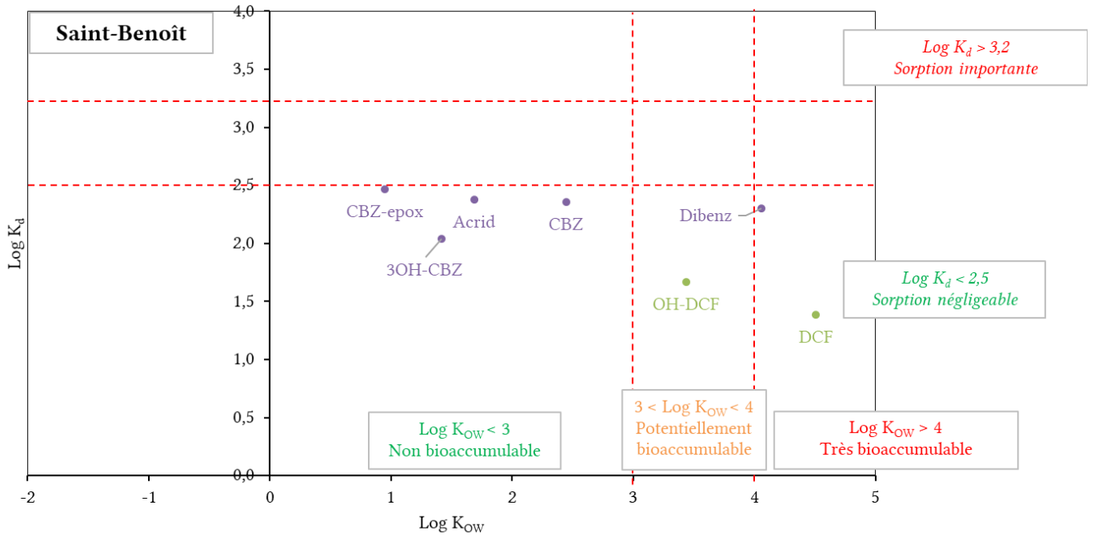


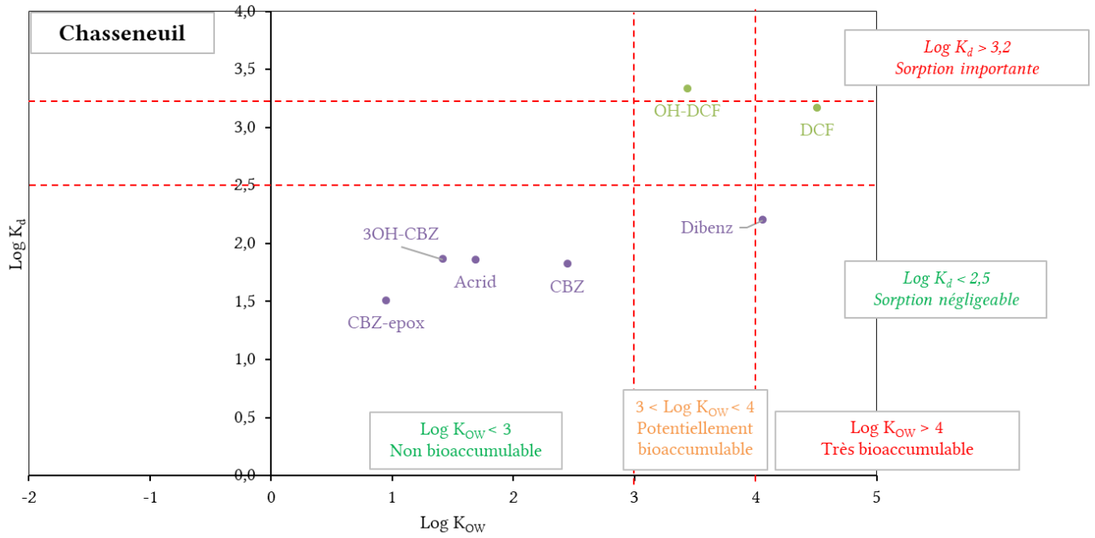


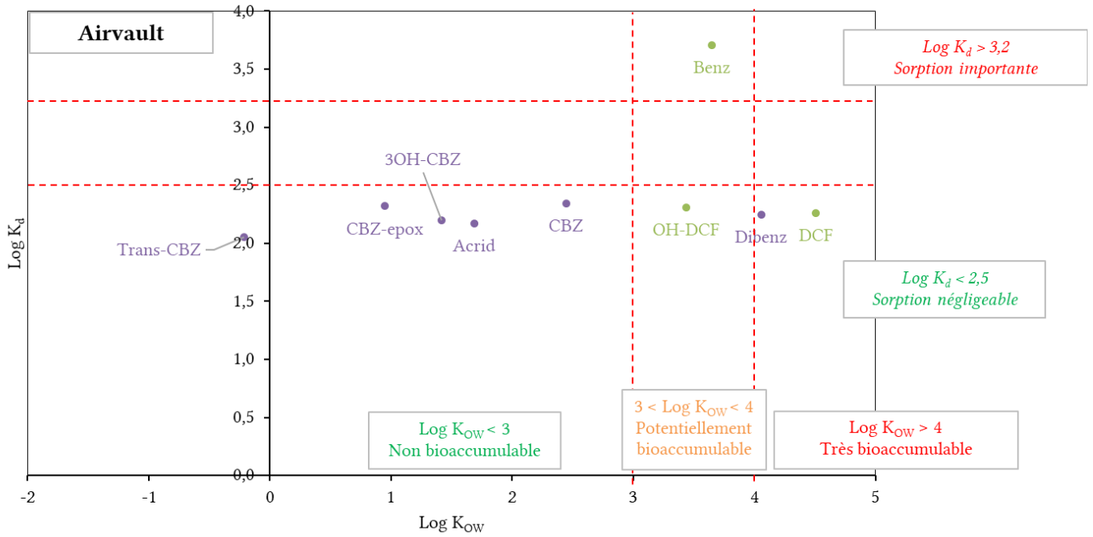


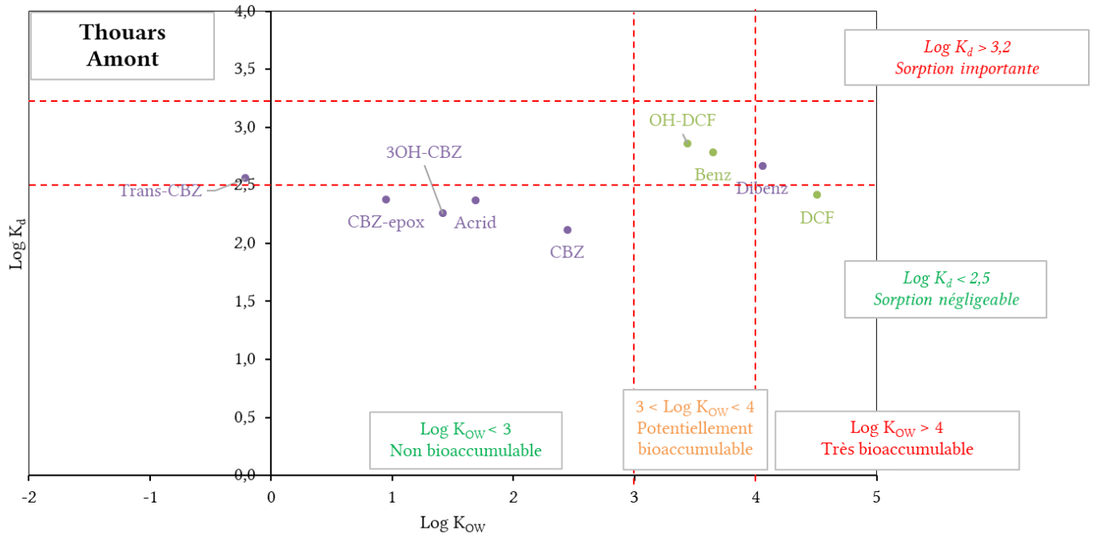


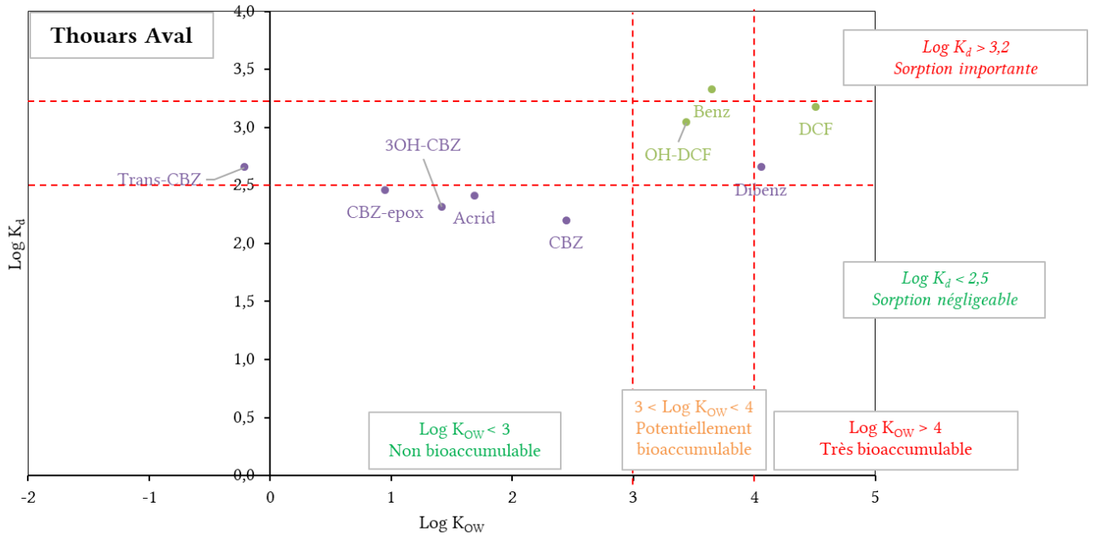

Châtellerault Aval
Log K_d > 3,2
Sorption importante
Log K_d < 2,5
Sorption négligeable
Benz
3OH-CBZ
Trans-CBZ
OH-DCF
CBZ-epox
Acrid
CBZ
Dibenz
DCF
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable
Log K_d
Log K_{OW}


Saint-Benoît
Log K_d > 3,2
Sorption importante
Log K_d < 2,5
Sorption négligeable
CBZ-epox
Acrid
CBZ
3OH-CBZ
Dibenz
OH-DCF
DCF
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable
Log K_d
Log K_{OW}


Chasseneuil
Log K_d > 3,2
Sorption importante
Log K_d < 2,5
Sorption négligeable
OH-DCF
DCF
Dibenz
3OH-CBZ
Acrid
CBZ
CBZ-epox
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable
Log K_d
Log K_{OW}


Airvault
Log K_d > 3,2
Sorption importante
Log K_d < 2,5
Sorption négligeable
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable
Benz
3OH-CBZ
CBZ-epox
Acrid
CBZ
Trans-CBZ
OH-DCF
Dibenz
DCF
Log K_d
Log K_{OW}


Thouars Amont
Log K_d > 3,2
Sorption importante
Log K_d < 2,5
Sorption négligeable
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable
OH-DCF
Benz
Dibenz
DCF
3OH-CBZ
Trans-CBZ
CBZ-epox
Acrid
CBZ
Log K_d
Log K_{OW}


Thouars Aval
Log K_d > 3,2
Sorption importante
Log K_d < 2,5
Sorption négligeable
Log K_{OW} < 3
Non bioaccumulable
3 < Log K_{OW} < 4
Potentiellement bioaccumulable
Log K_{OW} > 4
Très bioaccumulable
Benz
DCF
OH-DCF
3OH-CBZ
Trans-CBZ
Dibenz
CBZ-epox
Acrid
CBZ
Log K_d
Log K_{OW}

Annexe IV : Article soumis dans Water Research

Pharmaceutical degradation products in rivers: the wholly predictable revelation

Hiba ZIND[a], Leslie MONDAMERT[a], Quentin BLANCART REMAURY[a], Alexis CLEON[a], Nathalie KARPEL VEL LEITNER[a], Jérôme LABANOWSKI*[a]

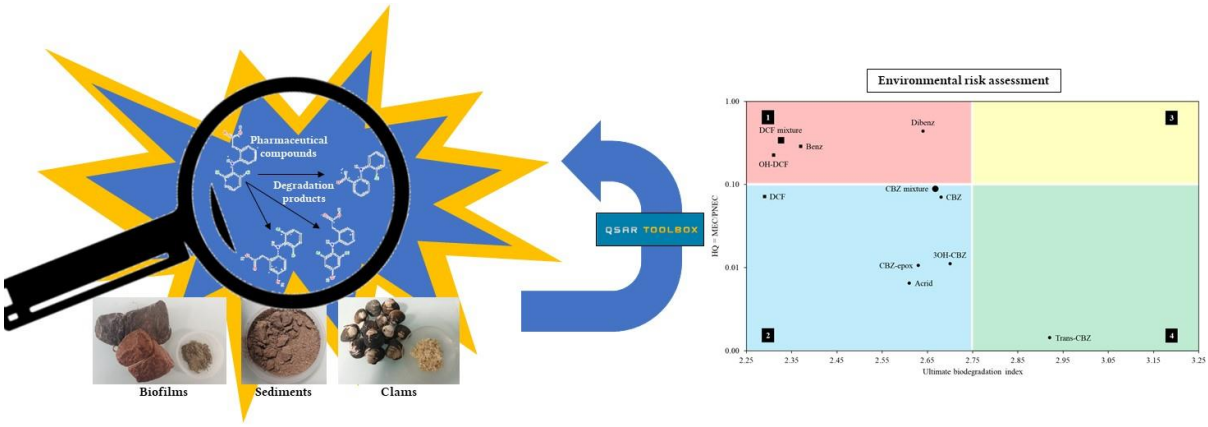
[a]Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers, UMR CNRS 7285, University of Poitiers, France

*Corresponding author: jerome.labanowski@univ-poitiers.fr

Abstract

With questions emerging on the presence and risks associated with degradation products of organic contaminants in the aquatic environment, progress has been made in terms of monitoring and regulation of pesticide metabolites. However, less interest is shown for pharmaceutical residues, although their pseudo-persistence and adverse effects on non-target organisms are proven. This study provides original knowledge about the contamination of rivers (water, sediments, biofilms, clams) by pharmaceutical degradation products, as well as a preliminary environmental risk assessment. Results show that degradation products are present in all studied compartments, with mean concentrations up to 0.52 µg L^{-1} in water, 229 ng g^{-1} in sediments, 2153 ng g^{-1} in biofilms, and 1149 ng g^{-1} in clams. In general, diclofenac and its degradation products were found to be more toxic than carbamazepine and its degradation products to three aquatic species representing green algae, invertebrates, and fish. The environmental risk assessment showed that hydroxydiclofenac, 2-[(2-chlorophenyl)-amino]-benzaldehyde and dibenzazepine present a greater risk than other studied compounds for aquatic organisms. In addition, the risk associated with a mixture of diclofenac and its related degradation products has been found to be greater than that of the compounds considered individually.

Graphical abstract



Keywords

Pharmaceuticals, degradation products, ecotoxicity, risk assessment, rivers

Highlights

- Pharmaceutical degradation products are found in several aquatic compartments.
- Levels of degradation products are comparable with those of their parent compounds.
- By-products have similar or greater risk than pharmaceuticals in water and sediment.
- Some mixtures have a greater risk than pharmaceuticals considered individually.

1. Introduction

Pharmaceuticals enter into rivers mainly through wastewater discharge (wastewater treatment plants – WWTPs or septic tanks) and, to a lesser extent, from livestock (Daughton & Ternes, 1999; Fent *et al.*, 2006). These compounds are found not only as active molecules (i.e. parent compounds), but also as metabolites and biotic (microbial activity) or abiotic (hydrolysis, photolysis, redox reactions) degradation products (Patel *et al.*, 2019). To date, no regulation relating to the quality of natural waters includes pharmaceutical residues. However, six molecules or families of molecules (17-alpha-ethinylestradiol, 17-beta-estradiol,

estrone, macrolide antibiotics, amoxicillin, ciprofloxacin) are included on the Watch list of substances for Union-wide monitoring established in 2018 by Implementing Decision (EU) 2018/840 (European Commission, 2018).

Pharmaceuticals are biologically active compounds selected for their specific actions on the human or animal organism. Therefore, an exposure outside the medical or veterinary setting may lead to unwanted effects (toxic or disruptive effects) on living organisms. Many studies have already reported developmental disorders in frog tadpoles (Foster *et al.*, 2010), fish feminization (Petrovic *et al.*, 2002), changes in diversity and abundance of microbial communities (Liebig *et al.*, 2010), *etc.* related to the exposure to pharmaceutical residues (at concentrations ranging from ng L^{-1} to µg L^{-1}) *via* the aquatic environment. In the long term, all these effects could have major consequences on biodiversity and water use (bathing, drinking water resources) in relation to human health: e.g. exposure to endocrine disruptor effects or resistant pathogenic microorganisms (Amarasiri *et al.*, 2020; Gonsioroski *et al.*, 2020).

While the presence of pharmaceutical compounds in natural waters has been demonstrated since the 1980s (Patel *et al.*, 2019), many studies report an accumulation of these contaminants in other aquatic compartments (Kümmerer, 2004). Thus, sediments can accumulate pharmaceutical compounds or their degradation products (Li *et al.*, 2014; Tamtam *et al.*, 2011) but also favor microbial degradation processes (Kunkel & Radke, 2008). Several studies have reported significant accumulation of pharmaceuticals in benthic organisms: river biofilms (Aubertheau *et al.*, 2017; Huerta *et al.*, 2016) and invertebrates (Burket *et al.*, 2019; de Solla *et al.*, 2016; Du *et al.*, 2015; Xie *et al.*, 2019), as well as in fish (Brooks *et al.*, 2005; Huerta *et al.*, 2013; Xie *et al.*, 2019). Only aquatic plants seem not to accumulate these compounds, or only weakly (Wilkinson *et al.*, 2018). Such a widespread presence of pharmaceuticals makes it evident that metabolites and transformation products of pharmaceutical residues could also be present in many of these compartments. The issue is all the more important because

metabolites and transformation products can exhibit toxicity to living organisms, which can be lower, similar, or even higher than the parent compounds (Bleeker *et al.*, 1999; Bort *et al.*, 1999; Bourgeois & Wad, 1984; Schulze *et al.*, 2010). However, the risks associated with these degradation products, as well as their presence in the environment, are still very little studied due to their very large number and the absence of analytical standards for their quantification.

Questioning relating to the presence of organic contaminants degradation products in natural waters and drinking water are emerging more and more worldwide. This is largely due to the knowledge gained on pesticide metabolites and their incidence on health. In France, the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES) has recently conducted a study to assess the relevance of implementing quality guidelines and regulations for pesticide metabolites in water intended for human consumption (ANSES, 2019). Therefore, an evaluation of the relevance of also including degradation products of pharmaceuticals in the monitoring of water quality seems necessary. The issue of risk assessment is today very important because of the rise of all sorts of emerging pollutants that form an "environmental soup" of a multitude of compounds, in large majority at low concentrations. Indeed, it has been shown that organic pollutants may have unpredictable biochemical interactions when mixed together, leading to different effects of what might be observed when evaluating the toxicity of a single molecule (Filby *et al.*, 2007; Sumpter & Johnson, 2005).

The present work draws up a first assessment of the contamination of the aquatic environment by pharmaceutical degradation products. Thus, two "iconic" pharmaceutical compounds (carbamazepine – CBZ and diclofenac – DCF) and eight of their associated degradation products (metabolites or transformation products) were quantified in water, sediments, biofilms, and clams (*Corbicula fluminea*) from rivers of Western France. Then, the QSAR toolbox (OECD & European Chemicals Agency, 2020) was used to predict the missing toxicity data for these compounds considered individually or in mixtures. This allowed a first

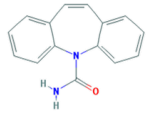
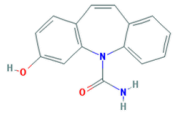
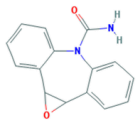
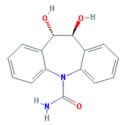
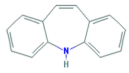
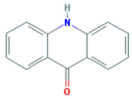
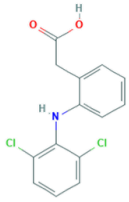
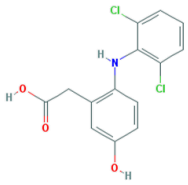
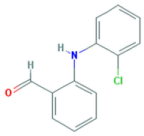
environmental risk assessment in French waters and sediments and then to open the discussion about the relevance of considering pharmaceutical degradation products for future guidelines and regulations.

2. Material and methods

2.1. Target compounds

Carbamazepine, Diclofenac, and the degradation products considered in this work are presented in Table 1. Analytical grade standards of CBZ, 3OH-CBZ, CBZ-epox, Dibenz, Acrid, DCF, 4'OH-DCF and 5OH-DCF were purchased from Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germany), while standards of Trans-CBZ and Benz were purchased from Santa Cruz Biotechnology (Heidelberg, Germany) and Synchem UG & Co. KG (Altenburg, Germany), respectively. Individual stock solutions were prepared in LC-MS grade methanol (Carlo Erba Reagents, Val de Reuil, France) at 200 mg L^{-1} and stored at -20 °C.

Table 1: Properties of selected compounds

Compound	Class	CAS number	pKa*	Log K_{OW}*	Chemical structure
Carbamazepine (CBZ)	**Parent compound**	298-46-4	16.00	2.45	
3-Hydroxycarbamazepine (3OH-CBZ)	Metabolite	68011-67-6	9.10	1.42	
10,11-Epoxycarbamazepine (CBZ-epox)	Metabolite	36507-30-9	16.00	0.95	
10,11-dihydro-10,11-trans-dihydroxycarbamazepine (Trans-CBZ)	Metabolite	58955-93-4	12.20	-0.21	
Dibenzazepine (Dibenz)	Metabolite + WWTP degradation product	256-96-2	19.50	4.06	
Acridone (Acrid)	Metabolite + WWTP degradation product	578-95-0	0.32	1.69	
Diclofenac (DCF)	Parent compound	15307-86-5	4.05	4.51	
4'-Hydroxydiclofenac (4'OH-DCF)	Metabolite	64118-84-9	3.76	3.70	
5-Hydroxydiclofenac (5OH-DCF)	Metabolite	69002-84-2	3.81	3.18	
2-[(2-chlorophenyl)-amino]-benzaldehyde (Benz)	Photodegradation product	71758-44-6	8.18	3.65	

*Values predicted by the QSAR Toolbox (version 4.4)

2.2. Study area and sampling strategy

Sampling campaigns were conducted in September 2018 on three rivers (Vienne, Clain, and Thouet) located in the same part of Western France (North of the Vienne and South of the Deux-Sèvres French departments) (Figure 1). Their watersheds present close rural/urban occupation, agricultural/socio-economic activities, and hydro-climatic conditions. They are typical of this part of France.

Ten sampling sites were selected based on their location: upstream or downstream from urban areas (Figure 1). On each site, a sampling area of 20 m^2 was prospected to collect the different samples. Thus, 2 L of water were grab sampled in a high-density polyethylene (PEHD) bottle. Biofilms were collected from ten rocks chosen randomly at a depth of 50 to 100 cm. For that, rock surface was scrapped with a clean toothbrush and ultrapure water (Milli-Q IQ 7000, Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Bulk sample of surface sediment was collected as a composite sample, with a shovel, by pooling three samples at each location, and sieved on site to < 2 mm. Approximately 100 clams (*C. fluminea*) with a size > 16 mm were collected by hand. All samples were transferred to clean PEHD bottles and stored in a cool box until the end of the sampling day.

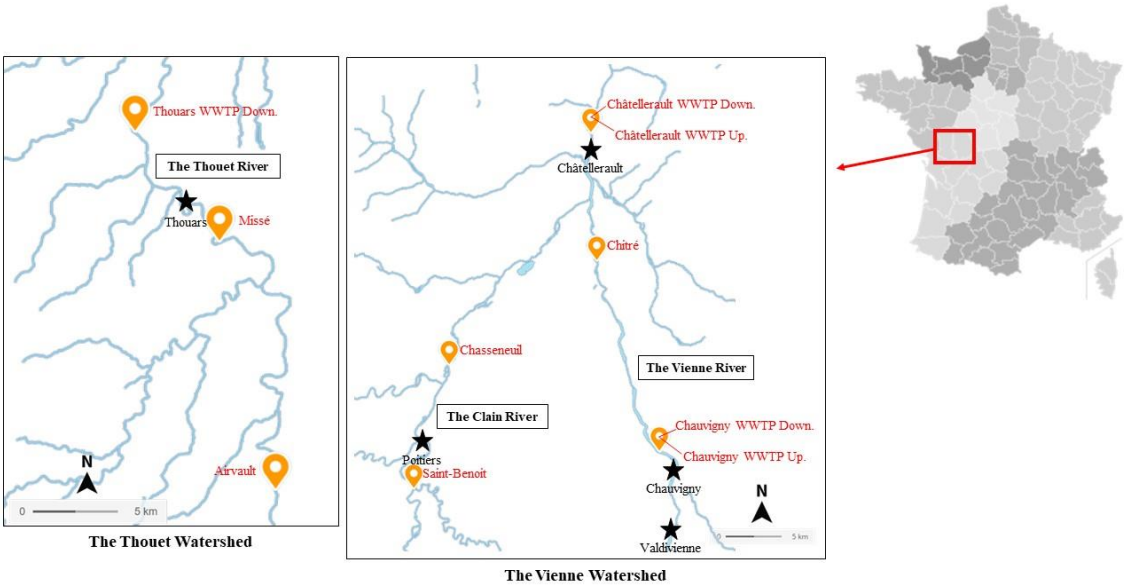


Figure 1: Sampling sites; Up. = upstream, Down. = downstream

2.3. Extraction of target compounds

Target analytes were extracted from solid matrices (i.e. biofilms, sediments and clams) using pressurized liquid extraction (PLE) (ASE 350, Thermo Scientific Inc., Waltham, USA) followed by solid phase extraction (SPE) (Autotrace 150, Thermo Scientific Inc., Waltham, USA). The method developed by Aubertheau *et al.* (2017) was used for biofilms and sediments, while the method developed by Alvarez-Muñoz *et al.* (2015) was adapted for *C. fluminea*. Tables SI-1 and SI-2 summarize the conditions used by matrix. For each sample, two extraction cells were prepared. Each of the two obtained extracts was diluted with ultrapure water to 500 mL for biofilms and *C. fluminea*, and to 1 L for sediments, and loaded on two SPE cartridges. Then, the four obtained extracts were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen at 30 °C (TurboVap LV, Biotage AB, Uppsala, Sweden). Finally, they were each recovered in methanol/water (10/90; v/v) spiked with increasing concentrations of a standards mixture (final concentrations of 0, 0.02, 0.05 and 0.1 mg L^{-1}) for standard addition quantification.

Recoveries were determined by spiking each matrix with all analytes to a concentration of 400 ng g^{-1} dry weight and allowing it to dry overnight in the dark at room temperature, before performing extraction and analysis. This procedure was repeated three times. Recoveries were between 19-123 % for biofilms, 30-190 % for sediments, and 37-142 % for clams (see Table SI-3).

Water samples were filtered through a 0.45 µm PVDF membrane (Durapore, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) before SPE extraction of compounds. Table SI-4 shows the extraction conditions. Samples were each loaded on four cartridges, and the four obtained extracts underwent evaporation and restitution with the same conditions as solid matrices.

2.4. Quantification of target compounds

Compounds were separated using ultra high performance liquid chromatography (UHPLC) (UltiMate 3000, Thermo Scientific Inc., Waltham, USA) on an Acquity UPLC BEH C18 column (2.1 x 100 mm, 1.7 µm; Waters Corporation, Milford, USA) kept at 30 °C. A flow rate of 0.4 mL min^{-1} was used with a mobile phase composed of water and methanol, both acidified with 0.1 % formic acid. A gradient ranging from 10 % to 99 % of methanol in 13 min was applied.

The UHPLC system was coupled with a hybrid quadrupole – time-of-flight (Q-ToF) mass spectrometer (Impact HD QTOF, Bruker GmbH, Champs sur Marne, France) equipped with an electrospray ion source (ESI) and operated in broadband collision-induced dissociation (bbCID) mode. The mass range was from 150 to 500 m/z, the capillary tension was set to 2700 V, the dry gas flow rate was 4.0 L min^{-1}, and the dry temperature 250 °C. Table SI-5 lists the retention times and the exact ionized masses used for identifying all compounds. 4′OH-DCF and 5OH-DCF were subsequently grouped together as "OH-DCF" due to poor chromatographic separation.

Quantification by standard addition was chosen to normalise for matrix effects. In addition, the analytical method's performance was assessed *via* linearity, limits of detection and quantification, repeatability and reproducibility, according to the French AFNOR XP T90-210 standard (AFNOR, 1999). All limits of detection and quantification are summarized in Table SI-6.

2.5. Degradation products ecotoxicity

2.5.1. Prediction of ecotoxicity data

Ecotoxicity data of pharmaceutical metabolites or transformation products are often rare or even not available at all. For this reason, the OECD Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) Toolbox (version 4.4) was used to generate environmental toxicity

endpoints by trend analysis. The results obtained for the individual molecules were also used for the prediction of the acute toxicity of a mixture of parent molecule and its associated degradation products, respecting the molar fractions observed from the average concentrations measured in the studied waters. For the two mixtures considered (CBZ and its degradation products; DCF and its degradation products), it appears that the compounds exhibit different modes of action according to the acute aquatic toxicity classification by Verhaar (Modified), the ECOSAR classification for aquatic toxicity, and the acute aquatic toxicity modes of action classification by OASIS. Consequently, QSAR calculations were performed considering an independent modes of action approach.

2.5.2. Environmental risk assessment

The lowest of the estimated ecotoxicity values concerning *Pseudokirchneriella subcapitata* (green algae, EC_{50}, growth rate, 96 h), *Daphnia magna* (invertebrate, LC_{50}, mortality, 48 h) and *Pimephales promelas* (fish, LC_{50}, mortality, 96 h) was used to calculate the predicted no effect concentration in water ($PNEC_{water}$). According to the European Chemicals Agency (ECHA) guidelines (European Chemicals Agency, 2008), an assessment factor of 1000 was applied because at least one short-term LC_{50} or EC_{50} from each of three trophic levels were available. Then, the hazard quotient (HQ) was calculated by dividing the maximal environmental concentration (MEC) measured in water by the calculated $PNEC_{water}$. When the HQ is less than 0.1, the concerned compound does not present any risk for aquatic organisms. An HQ between 0.1 and 1 indicates a medium risk, while a value above 1 means that the studied molecule exhibits a high risk for the aquatic ecosystem (Straub, 2002).

For the sediment, no ecotoxicity parameter could be predicted by the QSAR Toolbox. Therefore, the equilibrium partitioning method (EPM), described in the European Chemicals Bureau technical guidance document (European Chemicals Bureau, 2003), was used to derive a $PNEC_{sediment}$ from the $PNEC_{water}$. Thus, $\mathbf{PNEC_{sediment}} = \left(\mathbf{0.783} + \mathbf{0.0217} * \mathbf{K_{OC}}\right) * \mathbf{PNEC_{water}}$

where $\mathbf{K_{OC}}$ represents the organic carbon/water partition coefficient, hence giving an indication on the ability of a compound to be adsorbed on the organic matter of the sediment. Indeed, a Log K_{OC} greater than 3 indicates potentially significant adsorption on the sediment (Tissier *et al.*, 2005). As for the calculation of the HQ, a correction was applied to the MEC, expressed in mass of dry matter, to consider the sediment/water balance. For this, a dry matter content of 1 % was considered.

3. Results and discussion

3.1. Occurrence of pharmaceutical degradation products in rivers

All the studied degradation products and their parent compounds were found in all samples from the three rivers. This finding highlights the huge occurrence of pharmaceutical degradation products in the aquatic environment. Figure 2 and Figure 3 show the mean concentrations (± standard deviation) of DCF and CBZ with their associated degradation products in waters, biofilms, sediments, and clams (N.B.: full data are presented in Table SI-7).

For the CBZ family, the mean concentrations in water range from 0.18 ± 0.09 µg L^{-1} for Trans-CBZ to 0.52 ± 0.13 µg L^{-1} for CBZ. In biofilms, concentrations are between 258 ± 181 ng g^{-1} for Trans-CBZ and 1735 ± 811 ng g^{-1} for Dibenz. In sediments, concentrations are between 48 ± 25 ng g^{-1} for 3OH-CBZ and 128 ± 56 ng g^{-1} for Dibenz. Finally, in clams, levels range from 345 ± 218 ng g^{-1} for Trans-CBZ to 1066 ± 566 ng g^{-1} for Acrid. These results show that the mean concentrations of Dibenz are higher than those of CBZ in most matrices. Acrid is also found at levels close to those of CBZ. The other products are generally less concentrated. It is worth noting that CBZ and its degradation products are generally present at higher concentrations than DCF and its degradation products in water and sediments, while DCF and its degradation products are more accumulated than CBZ and its degradation products in biofilms (especially Benz) and clams. For the DCF family, the data show that degradation

products are more concentrated than the parent compound. Thus, the mean concentrations in waters range from 0.19 ± 0.27 µg L^{-1} for Benz to 0.26 ± 0.15 µg L^{-1} for OH-DCF. In biofilms, the levels vary from 348 ± 349 ng g^{-1} for DCF to 2153 ± 1532 ng g^{-1} for Benz. In sediments, concentrations range from 51 ± 55 ng g^{-1} for DCF to 229 ± 250 ng g^{-1} for Benz. Finally, in clams, concentrations are between 493 ± 428 ng g^{-1} for DCF and 1149 ± 916 ng g^{-1} for OH-DCF.

In waters, CBZ concentrations are close to the levels determined by Koba *et al.* (2018) in a Czech pond used for the tertiary treatment of wastewater effluent (290 – 560 ng L^{-1}), but higher than the concentrations measured by Du *et al.* (2014) in a watercourse impacted by WWTP releases in central Texas, United States (370 ± 14 ng L^{-1}). DCF levels are of the same order of magnitude as those determined by Koba *et al.* (2018) (22 – 870 ng L^{-1}), or by Wilkinson *et al.* (2017) in three rivers of southern England (<0.96 – 253 ng L^{-1}), but higher than those measured by Du *et al.* (2014) (86 ± 55 ng L^{-1}). Then, in biofilms, the levels of CBZ are higher than those measured by Aubertheau *et al.* (2017) in the Vienne River. For example, at the downstream site of the Châtellerault WWTP, the CBZ concentration in this study is 1095 ± 28 ng g^{-1}, while in the study by Aubertheau *et al.* (2017) it was 583.5 ng g^{-1}. Likewise for the DCF concentration, which amounts to 64 ± 26 ng g^{-1} at the downstream site of the Châtellerault WWTP in this study, and to 37.2 ng g^{-1} in the study by Aubertheau *et al.* (2017). In addition, CBZ was not detected in clams from Taihu Lake in China (Xie *et al.*, 2015), and DCF concentrations (1.41 – 5.42 ng g^{-1}) were lower than those measured in this study (493 ± 428 ng g^{-1}). Finally, in sediments, Koba *et al.* (2018) determined much lower levels of CBZ (5.1 – 16 ng g^{-1}) and DCF (2.6 – 30 ng g^{-1}). Degradation products are much less studied than their related parent pharmaceuticals. Stülten *et al.* (2008) detected 4'OH-DCF and 5OH-DCF in WWTP effluents in Germany, at concentrations higher than the levels measured in this study, up to 0.71 µg L^{-1} and 0.45 µg L^{-1}, respectively. In their study of a Canadian river, Miao & Metcalfe (2003) did not detect 3OH-CBZ or CBZ-epox in any sample, but determined

concentrations of Trans-CBZ of 2.2 ± 0.3 ng L^{-1}, much lower than those measured in this study. Koba *et al.* (2018) detected CBZ-epox and Trans-CBZ in a lagoon water at concentrations up to 71 ng L^{-1} (lower than in this study) and 490 ng L^{-1} (higher than in this study), respectively, and in the sediment at concentrations lower than the limit of quantification. Finally, Aubertheau *et al.* (2017) detected CBZ-epox in the Vienne River biofilms with a maximal concentration estimated at 5.3 ng g^{-1} which is lower than those determined in this study.

The distributions observed for the different compartments can be explained by several parameters/conditions which probably interact between them:

i) *Presence/distribution of the parent compound and its degradation products in water.* The contamination of sediments, biofilms, and clams is dependent on the compounds carried by water. However, the composition of water can change rapidly while that of solid matrices is constrained by desorption kinetics. Thus, the data of water composition show significant difference in the distribution of compounds compared to the other matrices, especially for DCF (N.B.: sediments and biofilms are characterized by a huge presence of Benz in comparison with water). The differences are less significant for CBZ and its degradation compounds – especially between water and sediment – but some compounds (like Dibenz) may have significant variations in distributions.

ii) *Partitioning.* This is an important property of molecules which is generally linked to their hydrophobicity (Log K_{OW}). Thus, the significant presence of DCF and its degradation products in benthic organisms (biofilms, clams) is consistent with their high octanol/water partition coefficients (Log K_{OW}). Those compounds are therefore more hydrophobic than CBZ and its degradation products which exhibit higher levels in water and sediments. Dibenz presents an exception (Log K_{OW} = 4.06) and this is reflected in its high accumulation in biofilms.

iii) *Formation of degradation products.* Phototransformation is the main pathway of degradation for DCF in the environment (Boreen *et al.*, 2003), and it takes place rapidly ($t_{1/2}$ = 9.6 ± 1.2 h (Poirier-Larabie *et al.*, 2016)), with Benz identified as the most stable product (Eriksson *et al.*, 2010). This could explain the low proportion of DCF compared to its degradation products. It is worth noting that Benz is more abundant in matrices exposed to sunlight (biofilms, sediments) than in clams' flesh. CBZ, on the other hand, is known to be persistent in the environment (Loos *et al.*, 2009). This compound is one of the least degraded/eliminated in wastewater treatment processes (~ 32.7 % (Luo *et al.*, 2014)), but leads to the formation of Dibenz and Acrid (Kosjek *et al.*, 2009). These properties may explain the similarity between the distributions.

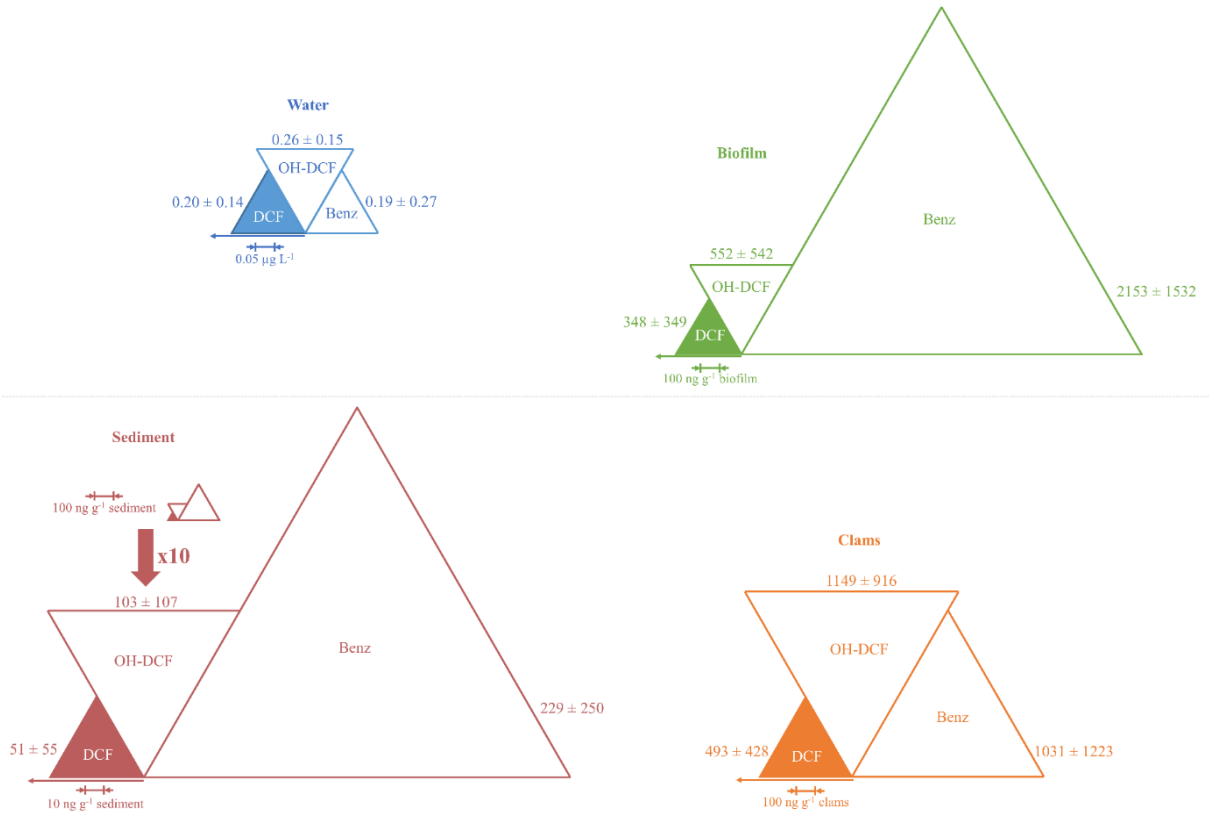


Figure 2: Mean levels (± standard deviation) of DCF and its associated degradation products in the compartments of interest, along the three studied rivers. The coloured triangle represents the parent compound. The length of the side with the arrow is proportional to the average concentration value of the three rivers

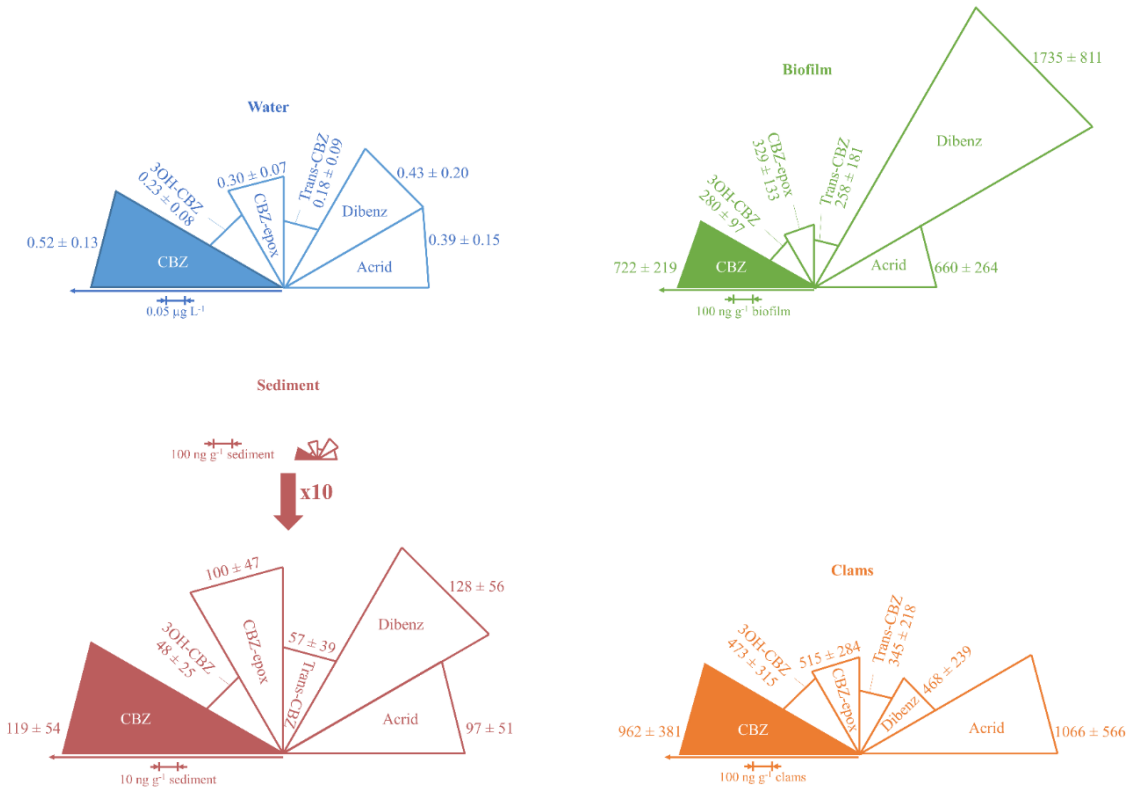


Figure 3: Mean levels of CBZ (± standard deviation) and its associated degradation products in the compartments of interest, along the three studied rivers. The coloured triangle represents the parent compound. The length of the side with the arrow is proportional to the average concentration value of the three rivers

3.2. Ecotoxicity of individual compounds

Ecotoxicity of pharmaceutical degradation products was assessed for three different aquatic trophic levels: algae (*Pseudokirchneriella subcapitata*), invertebrates (*Daphnia magna*) and fish (*Pimephales promelas*) (Figure 4). Values obtained from the QSAR Toolbox highlight that DCF and its degradation products (Benz and OH-DCF) have similar toxicities towards green algae (EC_{50} ~ 6.01 mg L^{-1}). For Daphnia, OH-DCF (LC_{50} = 2.3 mg L^{-1}) is found to be about 40 times more toxic than DCF (LC_{50} = 80.1 mg L^{-1}), while an abnormally high EC_{50} value was found for Benz (2.88 10^{15} mg L^{-1}) demonstrating the actual limitations of QSAR models to predict the toxicity of all compounds for all organisms (Boxall *et al.*, 2004). Benz is 4 times more toxic (LC_{50} = 2.71 mg L^{-1}) for *P. promelas* than its parent compound (LC_{50} = 11.2 mg L^{-1}), while OH-DCF has the same toxicity than DCF (LC_{50} = 10.7 mg L^{-1}).

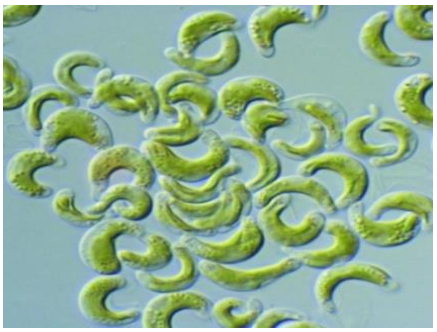
In the CBZ family, Dibenz stands out from all the other compounds, being the most toxic for the three studied species. The other degradation products exhibit toxicities that are slightly

higher, of the same order of magnitude or lower than that of the parent compound. Hence, for green algae, 3OH-CBZ is as toxic as CBZ (EC_{50} ~ 19.55 mg L^{-1}), while the other compounds are 10 to 70 times less toxic. Likewise, for *P. promelas*, CBZ-epox exhibits an LC_{50} value of the same order of magnitude as the parent compound (~ 44.7 mg L^{-1}), while the other degradation products are 3 to 6 times less toxic. On the other hand, for daphnia, 3OH-CBZ and CBZ-epox (LC_{50} ~ 36.5 mg L^{-1}) are about 3 times more toxic than CBZ, Acrid is as toxic (LC_{50} ~ 105.45 mg L^{-1}) and Trans-CBZ 65 times less toxic.

All these results are in agreement with the study of Pereira *et al.* (2020). Indeed, in their systematic review on the experimental and estimated toxicity of selected pharmaceuticals in different aquatic compartments, these authors found that DCF and its metabolite 4OH-DCF have similar toxicities to invertebrates and fish. In addition, they highlighted the higher toxicities of anti-inflammatory drugs, including DCF, as compared to antiepileptics such as CBZ. However, results differ regarding the most sensitive species. Indeed, while in our study results show that green algae is the most sensitive, followed by fish and daphnia, Pereira *et al.* (2020) observed that the most sensitive species were fish, followed by invertebrates and algae. Nevertheless, their observation was explained by the fact that part of the experimental data for fish was obtained through cell line or tissue testing, making it difficult to extrapolate the values to the entire organism.

	EC_{50} (mg L^{-1}) Growth rate t = 96 h
DCF	6
OH-DCF	3.42
Benz	8.62
Mixture	5.63

CBZ	10.4
3OH-CBZ	28.7
CBZ-epox	107
Trans-CBZ	707
Dibenz	5.29
Acrid	278
Mixture	37

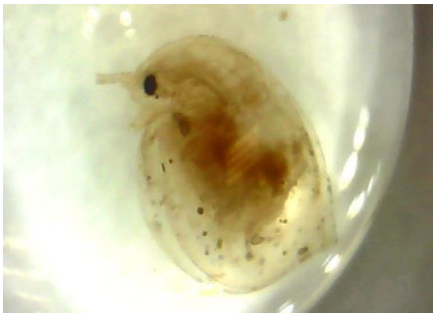


Pseudokirchneriella subcapitata

	EC_{50} (mg L^{-1}) Growth inhibition t = 72 h
ATZ	0.14
DEA	1.96
DIA	1.7
DEDIA	22.8
OH-ATZ	0.26
Aniline	17

	LC_{50} (mg L^{-1}) Mortality t = 48 h
DCF	80.1
OH-DCF	2.3
Benz	2.88E+15
Mixture	1710000

CBZ	111
3OH-CBZ	35.4
CBZ-epox	37.6
Trans-CBZ	7110
Dibenz	1.58
Acrid	99.9
Mixture	40.8



Daphnia magna

	LC_{50} (mg L^{-1}) Mortality t = 48 h
ATZ	6.9
DEA	97.3
DIA	152
DEDIA	464
OH-ATZ	3.41
Aniline	0.08

	LC_{50} (mg L^{-1}) Mortality t = 96 h
DCF	11.2
OH-DCF	10.7
Benz	2.71
Mixture	6.67

CBZ	37.3
3OH-CBZ	120
CBZ-epox	52.1
Trans-CBZ	206
Dibenz	3.27
Acrid	233
Mixture	41.5

Pimephales promelas

	LC_{50} (mg L^{-1}) Mortality t = 96 h
ATZ	4.1
DEA	15.6
DIA	28
DEDIA	120
OH-ATZ	19.5
Aniline	32

Figure 4: Ecotoxicity of targeted compounds and mixtures with respect to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. The lowest toxicity endpoints are highlighted in red, and the highest in green, indicating the most and the least toxic product from each studied family towards each species

3.3. Ecotoxicity of mixtures

QSAR predictions were also used to assess the ecotoxicity of mixtures (including parent compound and its corresponding degradation products) since field data revealed their simultaneous presence in water and benthic organisms (biofilms, clams). Figure 4 also reports the predicted toxicities of mixtures of parent compounds with their associated degradation products.

The results show that the toxicity values of DCF or CBZ and their degradation products mixtures are overall in the middle range of the individual values predicted for the compounds. Thus, for *Pimephales promelas*, the mixture of CBZ and degradation products (LC_{50} = 41.5 mg L^{-1}) is approximately 12 times less toxic than Dibenz alone (LC_{50} = 3.27 mg L^{-1}). However, the mixture is 3 to 5 times more toxic than the other degradation products, when considered individually. According to the QSAR model, the toxicity of the mixture is lower than the individual toxicity of the parent compound CBZ for *Pimephales promelas* (41.5 mg L^{-1} *versus* 37.3 mg L^{-1}) and especially for the algae *P. subcapitata* (37 mg L^{-1} *versus* 10.4 mg L^{-1}). On the contrary, the model predicts a higher toxicity of the mixture for daphnids. This highlights the importance of completing the experimental ecotoxicological data to confirm the mixture effect and hence the interest of considering degradation products along with their associated parent pharmaceutical compounds in the assessment of ecological risks. It is now known that the effects resulting from the exposure to a mixture of organic contaminants can be very different from the observations when evaluating the toxicity of a single compound, as it was already demonstrated for endocrine disruptors for example (Filby *et al.*, 2007; Sumpter & Johnson, 2005). Until now, few studies have been interested in this mixture effect with many pharmaceutical compounds, and even less with degradation products. Cleuvers (2003) showed that a mixture of CBZ and a lipid lowering agent, clofibric acid, exhibited a higher toxicity than the single compounds at the same concentration during immobilization tests of *D.*

magna. The same author (Cleuvers, 2004) observed acute toxicity of a mixture of anti-inflammatories including DCF, at lower concentrations than for the individual chemicals.

Wang *et al.* (2020) were the first to develop a QSAR model to predict mixture ecotoxicities of fluoroquinolone antibiotics with their photodegradation products for *Escherichia coli*. Their results showed that the mixture toxicity of fluoroquinolones derivatives is a concentration addition of their individual toxicity. Qin *et al.* (2018) developed a QSAR model to predict acute mixture ecotoxicities of two antibiotics and four pesticides towards *Aliivibrio fischeri*. The 45 studied mixtures exhibited additive, synergistic, and antagonistic effects. The authors also showed that, compared to traditional concentration additive and independent action models, their QSAR model better predicted mixture toxicities.

3.4. Comparison with pesticide degradation products

Ecotoxicity values were also predicted for a common pesticide (atrazine – ATZ) and some of its main degradation products (desethylatrazine – DEA, deisopropylatrazine – DIA, desethyldeisopropylatrazine – DEDIA, hydroxyatrazine – OH-ATZ, and aniline) to compare with CBZ, DCF and their degradation products (Figure 4). Atrazine was banned in France in 2001 but is still found in waters and river sediments. Moreover, ATZ and its metabolite DEA are frequently responsible for the downgrading of surface waters or groundwater quality. The comparison with ATZ and its metabolites shows that although DCF and CBZ are less toxic to the three species of interest than this pesticide, their degradation products exhibit EC_{50} and LC_{50} values broadly comparable to those of ATZ metabolites.

In France, the presence of pesticide residues and their metabolites in waters is regulated by European Directive 98/83/EC (European Council, 1998) relating to the quality of waters intended for human consumption. This text sets quality limits at 0.1 µg L^{-1} per individual substance and 0.5 µg L^{-1} for the sum. Water quality controls are increasingly revealing situations where regulatory quality limits are exceeded for metabolites. Thus, the French Directorate General of Health approached the ANSES to define a methodology for identifying

relevant metabolites (ANSES, 2019). Considering the possible effects of certain pharmaceutical degradation products, this approach should be transposed to identify only relevant degradation products for human and/or environmental health.

3.5. Risk assessment of target compounds in the studied rivers

A methodology was developed to associate both ecotoxicity and persistence data to assess the risk related to the presence of pharmaceutical degradation products in the sampled rivers. Therefore, $PNEC_{water}$ were calculated from the predicted ecotoxicity endpoints for each individual compound as well as for mixtures, then HQs were obtained by dividing the MEC observed in waters during this study by the $PNEC_{water}$ (N.B.: the MEC of a mixture is expressed as the mass of the parent molecule and corresponds to the sum of the MECs of the individual compounds). Persistence was evaluated with the ultimate biodegradation index obtained with the EPISUITE Biowin3 Survey Model included in the QSAR Toolbox (Environmental Protection Agency, 2012). It should be noted that in this case, only biodegradation is considered in the persistence, while other processes (hydrolysis, photolysis, *etc.*) may also transform/degrade the compounds. For mixtures, the ultimate biodegradation index was obtained by calculating the weighted average of the indexes of the constituents of each mixture. Biodegradation indexes vary between 2.25 and 2.75 for the CBZ and DCF degradation compounds, which means half-life of a few weeks to a few months, with the exception of Trans-CBZ (between 2.75 and 3.25) that presents a slightly faster biodegradation than the other molecules.

Figure 5 provides a classification of compounds according to their associated risk (HQ) for the studied rivers and their biodegradation index. Target compounds can be divided in 4 groups: (1) “compounds already worrying” regarding their persistence and their high concentrations: OH-DCF, Benz and Dibenz. These compounds have an HQ lower than 1 (~ qualified as medium risk for aquatic organisms) and thus represent concern relative to the other studied compounds. The same applies for the notion of persistence in water; (2) “compounds to watch

out for" because of their persistence in the dissolved phase. These molecules could become of concern if their levels tend to increase: DCF, CBZ, 3OH-CBZ, CBZ-epox and Acrid. (3) "compounds to watch out for" because of how far they have exceeded the $PNEC_{water}$: no compound identified in this study; and (4) "compounds not of concern" including compounds with a level of contamination below $PNEC_{water}$ (HQ < 0.1) and low persistence in dissolved phase: Trans-CBZ.

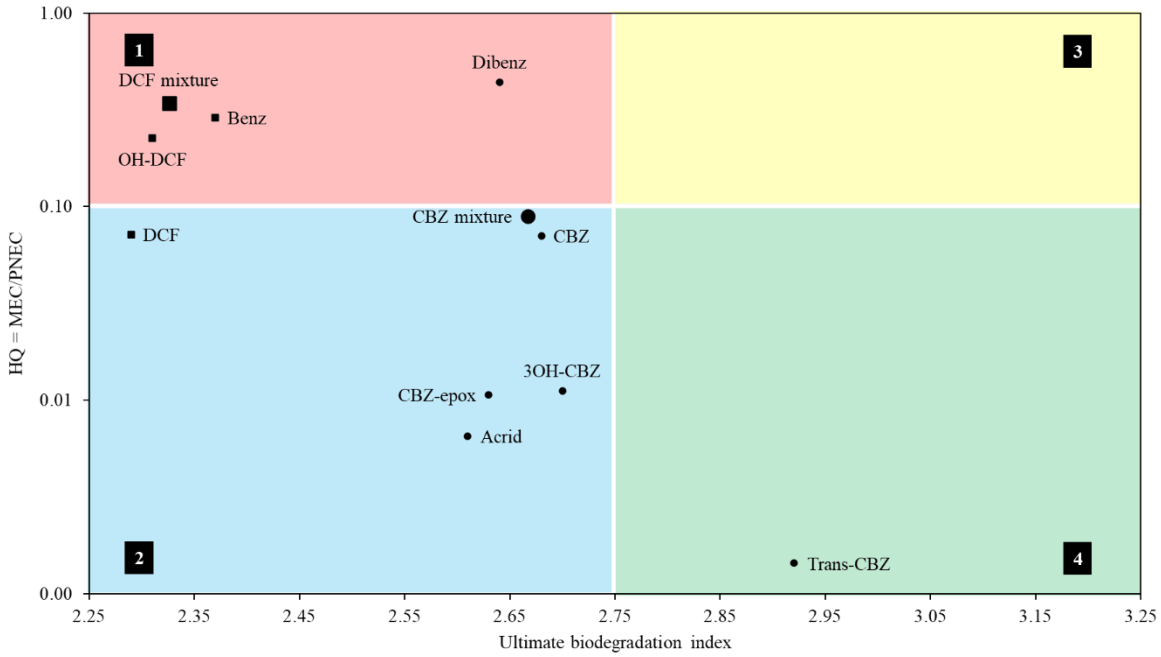


Figure 5: Highlighting problematic compounds in the waters of the Vienne, the Clain and the Thouet Rivers according to the associated risk (HQ) but also their level of persistence (ultimate biodegradation half-life) (inspired by Mazellier *et al.* (2018))

The same methodology was also involved to assess risk regarding the sediment compartment. $PNEC_{sediment}$ were derived from the $PNEC_{water}$ by the equilibrium partitioning method. The K_{OC} of a mixture is the weighted average of the K_{OC} values of its constituents. The data thus calculated, as well as the MEC values measured in the sediments of the three sampled rivers, were used to deduce the HQs of each compound with respect to benthic organisms. Figure 6 presents the classification of compounds according to their associated risk in the sediments of the studied rivers and their biodegradation index. Consequently, OH-DCF and Benz are classified as "compounds already worrying"; DCF, CBZ, 3OH-CBZ, CBZ-epox, and Dibenz are

“compounds to watch out for - group 2”; and Trans-CBZ is considered as a “compound not of concern”. Comparison between risks in water and sediments suggests that Dibenz is of higher concern for aquatic species than for benthic organisms. The rest of the compounds present the same risk in sediment and in water. In addition, the same behaviour is observed for the mixtures, in particular that of DCF and its degradation products which is of more concern than the parent compound alone.

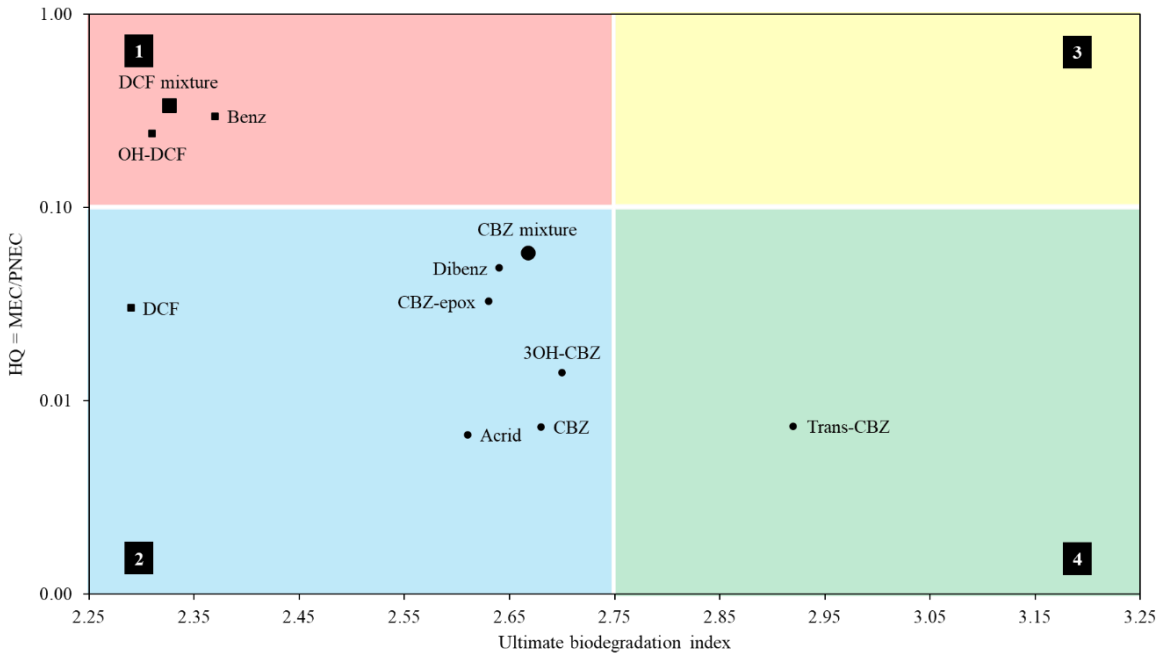


Figure 6: Highlighting problematic compounds in the sediments of the Vienne, the Clain and the Thouet Rivers according to the associated risk (HQ) but also their level of persistence (ultimate biodegradation half-life)

The results also show the importance of considering mixtures and not only the parent compounds, as illustrated by the case of DCF. Indeed, this compound – considered individually – does not seem to represent a risk (i.e. group 2, Figures 5 and 6), while its mixture with its degradation products is already worrying for the aquatic environment because of their persistence and their high levels. However, this remark is not fully generalized since CBZ alone and its mixture with degradation products show the same level of risk. This finding suggests that it would be necessary to only identify compounds for which it is relevant.

4. Conclusion

Unsurprisingly, pharmaceutical degradation products have been found in waters, sediments, biofilms, and clams of the studied rivers, obviously in varying concentrations, but in all samples. This widespread distribution and occurrence presumably requires special attention, at least as much as the presence of pesticide metabolites. Indeed, the use of QSAR models made it possible to address the lack of experimental ecotoxicological data and to highlight that some of CBZ or DCF degradation products could be more toxic than their parent compounds for aquatic species. Thus, OH-DCF, Benz and Dibenz could represent a risk for aquatic wildlife because of their relatively high hazard quotients and their relatively slow biodegradation.

The large number of possible degradation products and the possibility of individual toxicity also raises questions about a “cocktail effect”. Indeed, compounds may have unpredictable biochemical interactions when considered in a mixture, resulting in different (cumulative or not) effects than individual molecules. As shown by QSAR predictions of mixtures, it appears that the risk for the aquatic environment is higher when one considers DCF along with its degradation products. Nevertheless, our results also show that this is not generalizable for all parent compounds, e.g. CBZ. Consequently, it is urgent to identify only relevant degradation products – as is done for pesticides – to better prioritize risk assessment. These findings also show that an approach based on the life cycle of pharmaceuticals, combining several policy sectors oriented on the source, use, and end-of-life of these products, is required to effectively deal with these contaminants in the environment across their life cycle.

Acknowledgements

The authors acknowledge financial support from the European Union (ERDF) and "Région Nouvelle Aquitaine". The authors thank Engineer Maha AL BADANY for her technical support and valuable contribution to this work.

References

AFNOR. (1999). XP T90-210 Qualité de l'eau—Protocole d'évaluation d'une méthode alternative d'analyse physico-chimique quantitative par rapport à une méthode de référence.

Alvarez-Muñoz, D., Huerta, B., Fernandez-Tejedor, M., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D. (2015). Multi-residue method for the analysis of pharmaceuticals and some of their metabolites in bivalves. Talanta, 136, 174–182. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.12.035

Amarasiri, M., Sano, D., & Suzuki, S. (2020). Understanding human health risks caused by antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG) in water environments: Current knowledge and questions to be answered. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 50(19), 2016–2059. https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1692611

ANSES. (2019). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation de la pertinence des métabolites de pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine.

Aubertheau, E., Stalder, T., Mondamert, L., Ploy, M.-C., Dagot, C., & Labanowski, J. (2017). Impact of wastewater treatment plant discharge on the contamination of river biofilms by pharmaceuticals and antibiotic resistance. Science of The Total Environment, 579, 1387–1398. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.136

Bleeker, E. A. J., Van Der Geest, H. G., Klamer, H. J. C., De Voogt, P., Wind, E., & Kraak, M. H. S. (1999). Toxic and Genotoxic Effects of Azaarenes: Isomers and Metabolites. Polycyclic Aromatic Compounds, 13(3), 191–203. https://doi.org/10.1080/10406639908020563

Boreen, A. L., Arnold, W. A., & McNeill, K. (2003). Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment: A review. Aquatic Sciences, 65, 320–341. https://doi.org/10.1007/s00027-003-0672-7

Bort, R., Ponsoda, X., Jover, R., Gómez-Lechón, M. J., & Castell, J. V. (1999). Diclofenac toxicity to hepatocytes: A role for drug metabolism in cell toxicity. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 288(1), 65–72.

Bourgeois, B. F. D., & Wad, N. (1984). Individual and combined antiepileptic and neurotoxic activity of carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide in mice. The Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics, 231(2), 411–415.

Boxall, A. B. A., Sinclair, C. J., Fenner, K., Kolpin, D., & Maund, S. J. (2004). Peer Reviewed: When Synthetic Chemicals Degrade in the Environment. Environmental Science & Technology, 38(19), 368A-375A. https://doi.org/10.1021/es040624v

Brooks, B. W., Chambliss, C. K., Stanley, J. K., Ramirez, A., Banks, K. E., Johnson, R. D., & Lewis, R. J. (2005). Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. Environmental Toxicology and Chemistry, 24(2), 464–469. https://doi.org/10.1897/04-081R.1

Burket, S. R., White, M., Ramirez, A. J., Stanley, J. K., Banks, K. E., Waller, W. T., Chambliss, C. K., & Brooks, B. W. (2019). Corbicula fluminea rapidly accumulate pharmaceuticals from an effluent dependent urban stream. Chemosphere, 224, 873–883. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.014

Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. Toxicology Letters, 142(3), 185–194. https://doi.org/10.1016/S0378-4274(03)00068-7

Cleuvers, M. (2004). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. Ecotoxicology and Environmental Safety, 59(3), 309–315. https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00141-6

Daughton C G, & Ternes T A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? Environmental Health Perspectives, 107(suppl 6), 907–938. https://doi.org/10.1289/ehp.99107s6907

de Solla, S. R., Gilroy, È. A. M., Klinck, J. S., King, L. E., McInnis, R., Struger, J., Backus, S. M., & Gillis, P. L. (2016). Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products in the unionid mussel Lasmigona costata in a river receiving wastewater effluent. Chemosphere, 146, 486–496. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.022

Du, B., Haddad, S. P., Luek, A., Scott, W. C., Saari, G. N., Kristofco, L. A., Connors, K. A., Rash, C., Rasmussen, J. B., Chambliss, C. K., & Brooks, B. W. (2014). Bioaccumulation and trophic dilution of human pharmaceuticals across trophic positions of an effluent-dependent wadeable stream. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 369(1656), 20140058–20140058. https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0058

Du, Bowen, Haddad, S. P., Scott, W. C., Chambliss, C. K., & Brooks, B. W. (2015). Pharmaceutical bioaccumulation by periphyton and snails in an effluent-dependent stream during an extreme drought. Chemosphere, 119, 927–934. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.044

Environmental Protection Agency. (2012). Sustainable Futures / P2 Framework Manual 2012 EPA-748-B12-001 5. Estimating Physical / Chemical and Environmental Fate Properties with EPI SuiteTM.

Eriksson, J., Svanfelt, J., & Kronberg, L. (2010). A Photochemical Study of Diclofenac and Its Major Transformation Products. Photochemistry and Photobiology, 86(3), 528–532. https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2009.00703.x

European Chemicals Agency. (2008). Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.10: Characterisation of dose [concentration]-response for environment.

European Chemicals Bureau. (2003). Technical guidance document on risk assessment in support of the commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances Commission Regulation (EC) No 1488/94 on risk assessment for existing substances directive 98/8/EC of the European Parliament and of the council concerning the placing of biocidal products on the market.

European Commission. Commission Implementing Decision (EU) 2018/840 of 5 June 2018 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council and repealing Commission Implementing Decision (EU) 2015/495 (notified under document C(2018) 3362). , Pub. L. No. 32018D0840, 141 OJ L (2018).

European Council. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. , Pub. L. No. 31998L0083, OJ L 330 (1998).

Fent, K., Weston, A. A., & Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. Aquatic Toxicology, 76(2), 122–159. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009

Filby, A. L., Neuparth, T., Thorpe, K. L., Owen, R., Galloway, T. S., & Tyler, C. R. (2007). Health Impacts of Estrogens in the Environment, Considering Complex Mixture Effects. Environmental Health Perspectives, 115(12), 1704–1710. https://doi.org/10.1289/ehp.10443

Foster, H. R., Burton, G. A., Basu, N., & Werner, E. E. (2010). Chronic Exposure to Fluoxetine (Prozac) Causes Developmental Delays in Rana pipiens Larvae. Environmental Toxicology and Chemistry, 29(12), 2845–2850. https://doi.org/10.1002/etc.345

Gonsioroski, A., Mourikes, V. E., & Flaws, J. A. (2020). Endocrine Disruptors in Water and Their Effects on the Reproductive System. International Journal of Molecular Sciences, 21(6). https://doi.org/10.3390/ijms21061929

Huerta, B., Jakimska, A., Gros, M., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D. (2013). Analysis of multi-class pharmaceuticals in fish tissues by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1288, 63–72. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.03.001

Huerta, B., Rodriguez-Mozaz, S., Nannou, C., Nakis, L., Ruhí, A., Acuña, V., Sabater, S., & Barcelo, D. (2016). Determination of a broad spectrum of pharmaceuticals and endocrine disruptors in biofilm from a waste water treatment plant-impacted river. Science of The Total Environment, 540, 241–249. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.049

Koba, O., Grabicova, K., Cerveny, D., Turek, J., Kolarova, J., Randak, T., Zlabek, V., & Grabic, R. (2018). Transport of pharmaceuticals and their metabolites between water and sediments as a further potential exposure for aquatic organisms. Journal of Hazardous Materials, 342, 401–407. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.08.039

Kosjek, T., Andersen, H. R., Kompare, B., Ledin, A., & Heath, E. (2009). Fate of Carbamazepine during Water Treatment. Environmental Science & Technology, 43(16), 6256–6261. https://doi.org/10.1021/es900070h

Kümmerer, K. (2004). Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks (Second Edition). Springer.

Kunkel, U., & Radke, M. (2008). Biodegradation of Acidic Pharmaceuticals in Bed Sediments: Insight from a Laboratory Experiment. Environmental Science & Technology, 42(19), 7273–7279. https://doi.org/10.1021/es801562j

Li, Z., Maier, M. P., & Radke, M. (2014). Screening for pharmaceutical transformation products formed in river sediment by combining ultrahigh performance liquid chromatography/high resolution mass spectrometry with a rapid data-processing method. Analytica Chimica Acta, 810, 61–70. https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.12.012

Liebig, M., Fernandez, Á. A., Blübaum-Gronau, E., Boxall, A., Brinke, M., Carbonell, G., Egeler, P., Fenner, K., Fernandez, C., Fink, G., Garric, J., Halling-Sørensen, B., Knacker, T., Krogh, K. A., Küster, A., Löffler, D., Cots, M. A. P., Pope, L., Prasse, C., Römbke, J., Rönnefahrt, I., Schneider, M. K., Schweitzer, N., Tarazona, J. V., Ternes, T. A., Traunspurger, W., Wehrhan, A., & Duis, K. (2010). Environmental risk assessment of ivermectin: A case study. Integrated Environmental Assessment and Management, 6(S1), 567–587. https://doi.org/10.1002/ieam.96

Loos, R., Gawlik, B. M., Locoro, G., Rimaviciute, E., Contini, S., & Bidoglio, G. (2009). EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters. Environmental Pollution, 157(2), 561–568. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.09.020

Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J., Liang, S., & Wang, X. C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. Science of The Total Environment, 473–474, 619–641. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.065

Mazellier, P., Fuster, L., Budzinski, H., Garric, J., Couteau, J., & Aït-Aïssa, S. (2018). Projet Seine-Aval 5 CRAPPSE «Contamination et RéActivité de Pesticides et de Pharmaceutiques dans l'estuaire de SeinE».

Miao, X.-S., & Metcalfe, C. D. (2003). Determination of Carbamazepine and Its Metabolites in Aqueous Samples Using Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry. Analytical Chemistry, 75(15), 3731–3738. https://doi.org/10.1021/ac030082k

OECD, & European Chemicals Agency. (2020). QSAR Toolbox. Retrieved from QSAR Toolbox website: https://qsartoolbox.org/

Patel, M., Kumar, R., Kishor, K., Mlsna, T., Pittman, C. U., & Mohan, D. (2019). Pharmaceuticals of Emerging Concern in Aquatic Systems: Chemistry, Occurrence, Effects, and Removal Methods. Chemical Reviews, 119(6), 3510–3673. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00299

Pereira, A., Silva, L., Laranjeiro, C., Lino, C., & Pena, A. (2020). Selected Pharmaceuticals in Different Aquatic Compartments: Part II—Toxicity and Environmental Risk Assessment. Molecules, 25(8), 1796. https://doi.org/10.3390/molecules25081796

Petrovic, M., Solé, M., Alda, M. J. L. D., & Barceló, D. (2002). Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: Integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. Environmental Toxicology and Chemistry, 21(10), 2146–2156. https://doi.org/10.1002/etc.5620211018

Poirier-Larabie, S., Segura, P. A., & Gagnon, C. (2016). Degradation of the pharmaceuticals diclofenac and sulfamethoxazole and their transformation products under controlled environmental conditions. Science of The Total Environment, 557–558, 257–267. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.057

Qin, L.-T., Chen, Y.-H., Zhang, X., Mo, L.-Y., Zeng, H.-H., & Liang, Y.-P. (2018). QSAR prediction of additive and non-additive mixture toxicities of antibiotics and pesticide. Chemosphere, 198, 122–129. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.142

Schulze, T., Weiss, S., Schymanski, E., von der Ohe, P. C., Schmitt-Jansen, M., Altenburger, R., Streck, G., & Brack, W. (2010). Identification of a phytotoxic photo-transformation product of diclofenac using effect-directed analysis. Environmental Pollution, 158(5), 1461–1466. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.12.032

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. Toxicology Letters, 131(1), 137–143. https://doi.org/10.1016/S0378-4274(02)00049-8

Stülten, D., Zühlke, S., Lamshöft, M., & Spiteller, M. (2008). Occurrence of diclofenac and selected metabolites in sewage effluents. Science of The Total Environment, 405(1), 310–316. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.05.036

Sumpter, J. P., & Johnson, A. C. (2005). Lessons from Endocrine Disruption and Their Application to Other Issues Concerning Trace Organics in the Aquatic Environment. Environmental Science & Technology, 39(12), 4321–4332. https://doi.org/10.1021/es048504a

Tamtam, F., Le Bot, B., Dinh, T., Mompelat, S., Eurin, J., Chevreuil, M., Bonté, P., Mouchel, J.-M., & Ayrault, S. (2011). A 50-year record of quinolone and sulphonamide antimicrobial agents in Seine River sediments. Journal of Soils and Sediments, 11(5), 852–859. https://doi.org/10.1007/s11368-011-0364-1

Tissier, C., Morvan, C., Bocquené, G., Grossel, H., James, A., & Marchand, M. (2005). Les substances prioritaires de la Directive cadre sur l'eau (DCE). Fiches de synthèse.

Wang, D., Ning, Q., Dong, J., Brooks, B. W., & You, J. (2020). Predicting mixture toxicity and antibiotic resistance of fluoroquinolones and their photodegradation products in Escherichia coli. Environmental Pollution, 262, 114275. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114275

Wilkinson, J. L., Hooda, P. S., Swinden, J., Barker, J., & Barton, S. (2017). Spatial distribution of organic contaminants in three rivers of Southern England bound to suspended particulate material and dissolved in water. Science of The Total Environment, 593–594, 487–497. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.167

Wilkinson, J. L., Hooda, P. S., Swinden, J., Barker, J., & Barton, S. (2018). Spatial (bio)accumulation of pharmaceuticals, illicit drugs, plasticisers, perfluorinated compounds and metabolites in river sediment, aquatic plants and benthic organisms. Environmental Pollution, 234, 864–875. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.090

Xie, H., Hao, H., Xu, N., Liang, X., Gao, D., Xu, Y., Gao, Y., Tao, H., & Wong, M. (2019). Pharmaceuticals and personal care products in water, sediments, aquatic organisms, and fish feeds in the Pearl River Delta: Occurrence, distribution, potential sources, and health risk assessment. Science of The Total Environment, 659, 230–239. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.222

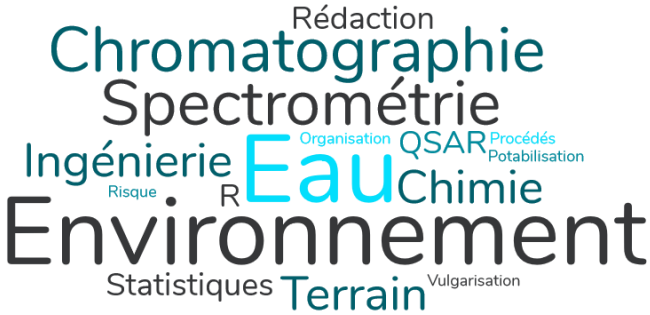
Xie, Z., Lu, G., Liu, J., Yan, Z., Ma, B., Zhang, Z., & Chen, W. (2015). Occurrence, bioaccumulation, and trophic magnification of pharmaceutically active compounds in Taihu Lake, China. Chemosphere, 138, 140–147. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.05.086

Annexe V : *Curriculum vitae*

Hiba Zind

Ingénieur traitement des eaux
Doctorante en chimie environnementale

hiba.zind@protonmail.com



Expériences professionnelles

Décembre 2017 – décembre 2020
Institut de chimie des milieux et matériaux de Poitiers, UMR CNRS 7285, Université de Poitiers
Doctorante. Titre de la thèse : « Etat d'imprégnation de différents compartiments du milieu aquatique par des résidus de médicaments et leurs produits de dégradation. »

Septembre 2018 – mai 2019
Institut universitaire de technologie de Poitiers, site de Châtellerault
Enseignante vacataire. Encadrement d'étudiants en 1ère année de DUT mesures physiques en travaux pratiques de chimie (36 heures).

Avril 2017 – septembre 2017
Toulouse biotechnology institute (ex-LISBP), UMR INRA 792 et UMR CNRS 5504, INSA Toulouse
Stage de fin d'études. Titre du mémoire : « Digestion anaérobie de boues : évaluation des performances d'élimination des micropolluants. »

Juillet 2016 – septembre 2016
Water engineering & technology Co., Liban
Stage assistant-ingénieur en bureau d'études. Maintenance et dimensionnement d'installations privées d'adoucissement, de filtration membranaire, et de traitement des eaux usées.

Juillet 2015
Khoury contracting Co., Liban
Stage ouvrier sur le chantier du barrage de Boqaata.

Formation

2017 – 2020
Doctorat en chimie. Chimie physique, théorique, analytique.
Université de Poitiers, France

2016 – 2017
Master 2 en chimie. Qualité et traitement de l'eau.
Université de Poitiers, France

2014 – 2017
Diplôme d'ingénieur en eau et génie civil. Traitement des eaux et des nuisances.
Ecole nationale supérieure d'ingénieurs de Poitiers, France

Langues

Anglais (professionnel et universitaire) ; arabe (bilingue)

Annexe VI : Valorisation de la thèse

Articles scientifiques

- Article soumis dans une revue avec comité de lecture :

Zind, H., Mondamert, L., Blancart Remaury, Q., Cleon, A., Karpel Vel Leitner, N., & Labanowski, J. Pharmaceutical degradation products in rivers: the wholly predictable revelation. (Article soumis dans Water Research). Chapitres 2 et 3

- Recueil de congrès :

Zind, H., Al Badany, M., Matviichuk, O., Paranhos Rosa de Vargas, J., Blancart Remaury, Q., Karpel Vel Leitner, N., Mondamert, L., & Labanowski, J. **2020**. Occurrence des produits de dégradation de médicaments dans les biofilms de deux cours d'eau français. 24ème édition des Journées informations eaux – Poitiers, France. Chapitre 1

Communications orales

Zind, H., Al Badany, M., Matviichuk, O., Paranhos Rosa de Vargas, J., Blancart Remaury, Q., Karpel Vel Leitner, N., Mondamert, L., & Labanowski, J. (**Octobre 2020**). Occurrence des produits de dégradation de médicaments dans les biofilms de deux cours d'eau français. 24ème édition des Journées informations eaux – Poitiers, France. (Congrès virtuel)

Zind, H., Al Badany, M., Matviichuk, O., Paranhos Rosa de Vargas, J., Karpel Vel Leitner, N., Mondamert, L., & Labanowski, J. (**Février 2020**). Distribution de résidus de médicaments et de leurs produits de dégradation associés dans différents compartiments d'un milieu aquatique. 13ème congrès international du GRUTTEE – Rennes, France.

Zind, H., Al Badany, M., Matviichuk, O., Paranhos Rosa de Vargas, J., Karpel Vel Leitner, N., Mondamert, L., & Labanowski, J. (**Décembre 2019**). Distribution of selected pharmaceutical residues and their related degradation products in different aquatic compartments. 20th European meeting on environmental chemistry – Lodz, Pologne. (Prix de la meilleure communication orale (jeunes chercheurs))

Résumé

Alors que des progrès ont été réalisés en termes de surveillance et de régulation de nombreux contaminants organiques dans le milieu aquatique, la présence et les risques associés à leurs produits de dégradation suscitent désormais beaucoup d'interrogations. Notamment, peu d'intérêt a été porté aux résidus de médicaments, bien que leur présence et leurs effets néfastes sur les organismes non-ciblés soient avérés. Ce travail apporte des éléments de réponse quant à la contamination de rivières par des produits de dégradation de médicaments (carbamazépine, diclofénac et amoxicilline), ainsi qu'une première évaluation des risques environnementaux associés.

L'étude de biofilms épilithiques a montré que la contamination n'est pas entièrement régie par les propriétés physico-chimiques des composés ou les régimes hydrologiques des cours d'eau. Par ailleurs, la géographie ainsi que les physico-chimies respectives peuvent expliquer certaines des différences observées entre les rivières étudiées (la Vienne et le Clain). De plus, les rejets de stations de traitement des eaux usées (STEU) jouent un rôle important dans l'enrichissement du milieu en certains composés. La comparaison avec les échantillonneurs passifs intégratifs (POCIS) a révélé la complémentarité ainsi que l'importance des deux types d'échantillonnage (biofilms, POCIS) pour une surveillance plus globale de la qualité du milieu.

Ce travail a aussi démontré que des produits de dégradation de médicaments sont présents dans tous les compartiments du milieu aquatique étudiés (i.e. eaux, sédiments, biofilms, *Corbicula fluminea*), avec des concentrations et des distributions variables qui dépendent de la nature du compartiment, du cours d'eau où l'échantillonnage a été effectué ainsi que de la localisation du site d'échantillonnage par rapport à des zones de rejets (ville ou STEU).

Une approche écotoxicologique par QSAR a mis en évidence que le diclofénac et ses produits de dégradation sont plus toxiques que la carbamazépine et ses produits de dégradation pour trois espèces types, représentant les algues vertes, les invertébrés et les poissons. Une évaluation des risques environnementaux (quotient de risque) a montré que l'hydroxydiclofénac, la 2-[(2-chlorophényl)-amine]-benzaldéhyde et la dibenzazépine présentent un risque plus élevé que les autres composés étudiés pour les différents organismes aquatiques. De plus, le risque associé à un mélange de diclofénac et de ses produits de dégradation associés s'avère supérieur à celui des composés considérés individuellement.

Mots-clés : médicaments, produits de dégradation, rivières, sédiments, biofilms, corbicules, écotoxicité, évaluation des risques

Abstract

With progress being made in terms of monitoring and regulation of many organic contaminants in the aquatic environment, the presence and risks associated with their degradation products are now raising many questions. Particularly, little interest has been paid to pharmaceutical residues, although their presence and harmful effects on non-target organisms have been proven. This work provides answers on the contamination of rivers by pharmaceutical degradation products (carbamazepine, diclofenac and amoxicillin), as well as a first assessment of the associated environmental risks.

The study of epilithic biofilms has shown that the contamination is not entirely governed by the physicochemical properties of the compounds or the hydrological regimes of the rivers. In addition, the geography as well as the respective physicochemical properties can explain some of the differences observed between the studied rivers (the Vienne and the Clain). Furthermore, discharges from wastewater treatment plants (WWTPs) play an important role in the enrichment of the environment in certain compounds. The comparison with integrative passive samplers (POCIS) revealed the complementarity as well as the importance of the two types of sampling (biofilms, POCIS) for a more global monitoring of the quality of the environment.

This work has also shown that pharmaceutical degradation products are present in all the studied compartments of the aquatic environment (i.e. waters, sediments, biofilms, *Corbicula fluminea*), with variable concentrations and distributions which depend on the nature of the compartment, the watercourse where the sampling was carried out as well as the location of the sampling site in relation to discharge areas (city or WWTP).

An ecotoxicological approach by QSAR showed that diclofenac and its degradation products are more toxic than carbamazepine and its degradation products for three typical species, representing green algae, invertebrates, and fish. An environmental risk assessment (hazard quotient) showed that hydroxydiclofenac, 2-[(2-chlorophenyl)-amino]-benzaldehyde and dibenzazepine pose a higher risk than the other studied compounds for different aquatic organisms. In addition, the risk associated with a mixture of diclofenac and its related degradation products is found to be greater than that of compounds considered individually.

Keywords: pharmaceuticals, degradation products, rivers, sediments, biofilms, clams, ecotoxicity, risk assessment