



HAL
open science

Impact environnemental des médicaments à usage humain sur le milieu récepteur : évaluation de l'exposition et des effets pour les écosystèmes d'eau douce

Jean-Philippe Besse

► **To cite this version:**

Jean-Philippe Besse. Impact environnemental des médicaments à usage humain sur le milieu récepteur : évaluation de l'exposition et des effets pour les écosystèmes d'eau douce. Ecotoxicologie. Université Paul Verlaine - Metz, 2010. Français. NNT : 2010METZ023S . tel-01752937

HAL Id: tel-01752937

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752937v1>

Submitted on 29 Mar 2018

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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THESE DE DOCTORAT

Présentée devant
l'Université de METZ – UFR SCI.F.A.

Pour l'obtention du Diplôme de Doctorat
Spécialité Toxicologie de l'Environnement

par
Jean-Philippe BESSE

**Impact environnemental des médicaments à usage
humain sur le milieu récepteur :
évaluation de l'exposition et des effets biologiques
pour les écosystèmes d'eau douce**

Soutenue le 02 mars 2010

Composition du Jury

Mme. **Paule VASSEUR**, Professeur, **Université de Metz**.....**Directrice de thèse**
Mme. **Jeanne GARRIC**, Directrice de recherche, **Cemagref Lyon**.....**Codirectrice de thèse**
Mme. **Nathalie CHEVRE**, Chargée de recherche, **Université de Lausanne**.....**Rapporteur**
M. **Jean-Marie HAGUENOER**, Professeur émérite, **Université de Lille**.....**Rapporteur**
M. **Jean-Pierre CRAVEDI**, Directeur de recherche, **INRA Toulouse**.....**Examineur**
M. **Jérôme GUITTON**, Professeur, **Université de Lyon**.....**Examineur**
M. **Thomas PELTE**, Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée & Corse.....**Membre invité**

THESE DE DOCTORAT

Présentée devant
l'Université de METZ – UFR SCI.F.A.

Pour l'obtention du Diplôme de Doctorat
Spécialité Toxicologie de l'Environnement

par
Jean-Philippe BESSE

**Impact environnemental des médicaments à usage
humain sur le milieu récepteur :
évaluation de l'exposition et des effets biologiques
pour les écosystèmes d'eau douce**

Soutenue le 2 mars 2010

Composition du Jury

Mme. **Paule VASSEUR**, Professeur, **Université de Metz**.....**Directrice de thèse**
Mme. **Jeanne GARRIC**, Directrice de recherche, **Cemagref Lyon**.....**Codirectrice de thèse**
Mme. **Nathalie CHEVRE**, Chargée de recherche, **Université de Lausanne**.....**Rapporteur**
M. **Jean-Marie HAGUENOER**, Professeur émérite, **Université de Lille**.....**Rapporteur**
M. **Jean-Pierre CRAVEDI**, Directeur de recherche, **INRA Toulouse**.....**Examineur**
M. **Jérôme GUITTON**, Professeur, **Université de Lyon**.....**Examineur**
M. **Thomas PELTE**, Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée & Corse.....**Membre invité**

Résumé

Un nombre important de molécules pharmaceutiques sont consommées en France et peuvent contaminer le compartiment aquatique (eaux de surface, eaux souterraines, eaux potables) ; ce qui a conduit les gestionnaires et le public à s'interroger sur la présence et l'impact de ces substances dans l'environnement. Cette interrogation s'inscrit dans un contexte plus général de préservation de l'environnement et des ressources en eau. Ainsi au niveau Français, le second Plan National Santé Environnement (PNSE2) intègre désormais une action spécifique pour les médicaments visant à « *améliorer la connaissance et réduire les risques liés aux rejets de médicaments dans l'environnement, en engageant dès le mois de juillet 2009 les travaux en vue de l'élaboration d'un plan d'action national ...* ».

Compte du nombre important de molécules consommées en France, il est nécessaire, avant d'établir un protocole de surveillance des milieux, d'établir une liste de molécules prioritaires à surveiller. Le travail présenté ici s'est donc attaché à proposer une liste pertinente de molécules à rechercher dans les eaux de surface, en tenant compte des concentrations attendues dans l'environnement et des effets biologiques sur les organismes aquatiques. L'approche présentée ici s'est focalisée sur la contamination des eaux de surface *via* la consommation des médicaments par la population Française. Les autres sources ponctuelles de contamination, comme les usines de fabrication ou de conditionnement n'ont pas été évaluées. Par ailleurs, le travail de priorisation a été effectué pour les médicaments à usage humain et ne concerne pas les médicaments vétérinaires.

Plusieurs méthodologies ont été mises en place, en fonction des substances médicamenteuses évaluées, mais également en fonction de la disponibilité des données. Au final, 300 molécules parentes couvrant majorité des classes thérapeutiques et chimiques utilisées, ainsi qu'une cinquantaine de métabolites humains ont été évalués et des listes de molécules prioritaires justifiables du point de vue scientifique et de l'état actuel des connaissances ont pu être définies.

De plus, d'une manière plus générale, ce travail a permis de dégager les conclusions suivantes :

Du point de vue de la toxicologie environnementale :

- il est nécessaire d'augmenter le jeu de données écotoxicologiques ;
- le risque principal associé aux rejets médicamenteux est un risque sur le long terme ;
- il est important de considérer la question de la contamination par les substances médicamenteuses sous l'angle des mélanges et de leurs effets associés à la présence des autres types de contaminants.

Du point de vue de la chimie environnementale :

- pour les médicaments à usage humain, les stations d'épuration urbaine restent le point d'entrée privilégié dans le milieu récepteur ;
- les usines de fabrication et/ou de conditionnement peuvent représenter des sources localisées de contamination ;
- les données concernant la rémanence et la dégradation des médicaments dans l'environnement sont limitées et un effort doit être réalisé sur ce point ;
- un effort doit également être porté sur la compréhension du comportement des médicaments dans l'environnement : sorption sur les matières en suspension, au sédiment et accumulation dans les organismes ;
- l'utilisation de données modélisées, notamment sur la présence et les niveaux de contamination dans l'environnement est une alternative intéressante et complémentaire aux mesures chimiques systématiques.

Du point de vue de la gestion du risque :

- il est nécessaire de limiter autant que possible la dissémination environnementale des médicaments, cette limitation pouvant passer par les mesures suivantes :
 - le développement d'une réglementation pour les produits de santé intégrant les considérations environnementales,
 - l'amélioration de l'information au niveau des professionnels de santé et des patients ;
 - une consommation raisonnée des produits de santé ;
 - l'amélioration des procédés de collecte et de traitement des eaux usées ;
 - le développement de la « chimie verte » au niveau industriel et la prise en compte des considérations environnementales dans l'élaboration de nouvelles molécules ;
- la bonne gestion de cette problématique passera par l'entente entre les différentes agences publiques et services responsables de la santé publique (AFSSAPS, AFSSA, hôpitaux), de l'environnement (AFSSET, Agences de l'Eau, DRIRE...) et par l'implication des industriels et des professionnels de santé en général (médecins et pharmaciens).

Remerciements

A **Paule VASSEUR**, à qui je dois un certain nombre de choses, entre autres mon premier travail en évaluation de risque et l'occasion de soutenir une thèse.

A **Jeanne GARRIC**, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Aux **membres du jury**, pour avoir accepté de juger ce travail, et pour s'être finalement mis d'accord sur une date de soutenance.

A **Anne CASTOT**, **Paul HOUETO**, **Alice ROULEAU**, **Dominique MASSET** et **Philippe CAVALIE** de l'AFSSAPS, pour leur précieuse collaboration, sans laquelle ce travail ne serait probablement pas allé très loin ; avec des remerciements spéciaux pour Paul HOUETO, pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

Au Professeur **François LOCHER**, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Lyon, pour m'avoir ouvert les portes du Centre de Documentation de la Pharmacie Centrale (CDIP).

A **Monique BOUCQUIN** et à tous les membres du CDIP.

A **Jean-François LATOUR** et **Laurence GILLES**, du Centre Léon Bérard, pour leur collaboration.

A **tous mes anciens collègues du Cemagref**, car chacun d'entre eux a (consciemment ou non) contribué à faire mûrir et à améliorer ce travail.

A **Olivier GEFARD**, parce que mine de rien, mon travail doit beaucoup à sa remarque d'il y a deux ans sur les flavonoïdes,

A **Benoît Ferrari**, pour avoir pris le temps de jeter un œil au manuscrit.

A **Marc Bray**, pour m'avoir donné un coup de main sur mes fichiers Excel.

A **Marc Babut**, pour avoir accepté les diverses prolongations sur mon premier CDD.

A **ma famille**, qui désespère de me voir trouver un emploi durable et bien payé.

A **Hélène**, pour me soutenir depuis 10 ans (ah, elle me dit que le mot exact est « supporter »)..

A **tous ceux** enfin, qui doivent veiller sur moi là-haut, merci.

A l'échéance de mes **allocations chômage**s, qui en ce début d'année 2006 m'a contraint à chercher activement du travail, et à envoyer à tout hasard une candidature spontanée au Cemagref de Lyon... comme quoi...

Au Professeur **Raphaël** « j'ai arrêté de boire » **MONS**, parce qu'il a réellement arrêté de boire¹.

A **Olivier** « 171 points, tu nous dois tous une bière » **ADAM**, futur chômeur, comme moi, parce qu'il m'a fait découvrir « Chez Papa ».

A **Marion GUST**, pour son amitié, l'intégrale des westerns de Clint Eastwood et parce que c'est une future chef d'UR.

A ma voisine de palier **Christelle LOPES**, parce qu'elle est bien bien grave.

A **Benoît XUEREB**, que tôt ou tard je contraindrai à me rendre mes 5 euros, tout ça à cause de sa stagiaire.

A **Vincent FELTEN**, que je suis allé voir chaque fois que je m'ennuyais dans mon travail, c'est-à-dire tous les jours et plusieurs fois par jours.

A **Renaud TUTUNDJIAN**, grand amateur de jeux et de boisson, qui malgré tout ça arrive à ne faire que 70 points au test.

A **Arnaud CHAUMOT**, mon ancien colloc, qui m'a fait comprendre que le terme « invertébré », tant usité en écotoxicologie, ne voulait rien dire ; mais dont je me méfie depuis qu'il a tenté de m'expliquer que c'était la même chose pour les poissons.

A **Julien JEAN**, pour l'hôtel de passe dans lequel il m'a fait dormir à Nîmes au congrès Knappé.

A **Hervé QUEAU**, même s'il ne sait pas manier l'éventail.

A la mère **LACAZE** (Emilie de son prénom), parce qu'elle fait des études à Limoges, et ça c'est la classe.

A **Emilie, Cyrielle et Rébecca** pour les parties de UNO.

En vrac, à tous ceux dont j'ai apprécié la compagnie pendant ce temps passé au Cemagref, **Claire, Patrice, Bernard, Bernard** (pas lui, l'autre), **Cécile, Edwige, Khedidja, Romain, Guillaume**, et **Béatrice**... et à tous ceux (mille excuses) que j'oublie

A mes sujets favoris en environnement, l'extraction, la HPLC et la phytoremédiation, que je n'ai **JAMAIS** eu l'occasion de bosser ; et aux médicaments, que je pensais enfin avoir laissé derrière moi en fuyant la fac de pharma de Limoges.

A Sophie Vouzelaud, Miss Limousin 2006, qui aurait dû gagner l'élection de Miss France cette année-là.

Et une spéciale dédicace :



¹ Ah... on me fait signe que non.

Sommaire

RESUME	5
REMERCIEMENTS	7
SOMMAIRE	9
LISTE DES DEFINITIONS	13
LISTE DES ABREVIATIONS	14
INDEX DES TABLEAUX	15
INDEX DES FIGURES	16
INDEX DES FIGURES	16
INDEX DES EQUATIONS	16
INTRODUCTION	17
1. Contexte	19
2. Rappels sur l'évaluation de risque	21
3. L'évaluation de risque pour les médicaments à usage humain	23
4. Cadre de la thèse	27
5. Matériel et méthodes	28
6. Organisation du manuscrit	31
ARTICLE DE SYNTHESE PARU DANS LES ACTUALITES PHARMACEUTIQUES	33
REVUE DES DIFFERENTES METHODOLOGIES UTILISEES POUR LA PRIORISATION OU L'EVALUATION DU RISQUE DES MEDICAMENTS A USAGE HUMAIN	45
REVUE ET DISCUSSION SUR LES DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES	69
1. Introduction	71
2. Données d'écotoxicité aiguë	71
3. Données d'écotoxicité chronique	75
4. Etudes basées sur l'utilisation de biomarqueurs	77
5. Etudes sur des mélanges de composés	77
6. Activité estrogénomimétique des molécules pharmaceutiques	78
7. Discussion	78
8. Conclusion	82
MISE EN PLACE D'UNE DEMARCHE DE PRIORISATION BASEE SUR LES QUOTIENTS DE RISQUE (PEC/PNEC)	83
1. Introduction	85
2. Article publié dans Human and Ecological Risk Assessment	86
3. Principaux résultats	118
4. Données additionnelles non présentées dans l'article	118
5. Discussion et perspectives	125
6. Conclusion	130

MISE EN PLACE D'UNE DEMARCHE DE PRIORISATION PRAGMATIQUE BASEE SUR L'EXPLOITATION DES DONNEES PHARMACOLOGIQUES	131
1. Introduction.....	133
2. Article publié dans Toxicology letters.....	134
3. Principaux résultats	155
4. Données additionnelles	155
5. Discussion	165
MEDICAMENTS A CARACTERE PERTURBATEUR ENDOCRINIEN : MOLECULES UTILISES EN THERAPEUTIQUE ENDOCRINE ANTICANCEREUSE.....	167
1. Introduction.....	169
2. Rappel sur les perturbateurs endocriniens.....	169
3. Evaluation préliminaire du risque lié aux molécules utilisées en thérapeutique endocrine anticancéreuse	171
4. Conclusion pour les molécules utilisées en thérapeutique endocrine.....	173
MEDICAMENTS A CARACTERE PERTURBATEUR ENDOCRINIEN : STEROÏDES SEXUELS NATURELS ET DE SYNTHESE	175
1. Introduction.....	177
2. Impact environnemental des estrogènes	177
3. Impact environnemental des androgènes	178
4. Impact environnemental des progestatifs.....	179
MOLECULES ANTICANCEREUSES CYTOTOXIQUES	193
1. Introduction.....	195
2. Evaluation de l'exposition pour les cytotoxiques	197
3. Evaluation du risque pour les cytotoxiques	197
4. Priorisation préliminaire	199
5. Discussion	203
DISCUSSION SUR LES DIFFERENTS PARAMETRES UTILISES POUR ESTIMER L'EXPOSITION ET LES EFFETS DES MEDICAMENTS SUR LES ECOSYSTEMES AQUATIQUES D'EAU DOUCE	205
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION.....	239
1. Etablissement de listes de molécules prioritaires.....	241
2. Evaluation du risque pour le milieu aquatique.....	241
3. Gestion du risque	245
4. Les médicaments à usage humain, des contaminants de l'environnement... parmi beaucoup d'autres	248
5. Conclusion.....	250
BIBLIOGRAPHIE.....	251
ANNEXES.....	267
ANNEXE A. Corrélation des données de consommation pour l'année 2004 entre les données nationales fournies par l'AFSSAPS et celles fournies par la CPAM.....	267

ANNEXE B. Evolution des consommations de médicaments entre les années 2004 et 2007	268
ANNEXE C. Corrélation entre les données nationales fournies par l'AFSSAPS et les données locales et régionales	273
ANNEXE D. Compilation de données sur les paramètres physico-chimiques et pharmacocinétiques pour les médicaments à usage humain.....	275
ANNEXE E. Informations prises en compte dans la démarche de priorisation pour les molécules additionnelles.....	279
ANNEXE F. Appendices de l'article paru dans Environmental Pollution	284
ANNEXE G. Données de consommation, de métabolisme et valeurs de PEC pour les cytotoxiques.	290
ANNEXE H. Substances médicamenteuses et apparentées non traitées dans le travail de thèse	300
ANNEXE I. Exemples de micropolluants mesurés en entrée et sortie de stations d'épuration urbaines.	302
INDEX.....	303

Liste des définitions

Anthropique : relatif à l'activité humaine. Qualifie tout élément provoqué directement ou indirectement par l'action de l'homme. Une pollution anthropique est le résultat des activités humaines.

Bioaccumulation : processus par lequel un composé chimique s'accumule dans un organisme vivant par diffusion passive, adsorption, transport actif, ou *via* la chaîne alimentaire.

Biodégradation : capacité d'une molécule à être dégradée dans l'environnement sous l'influence de processus biologiques.

Bioessai : évaluation de la toxicité d'une substance par l'observation en laboratoire de ses effets sur un organisme vivant.

Danger : propriété ou capacité intrinsèque d'une substance chimique à affecter de façon négative l'intégrité d'un individu.

Defined Daily Dose (DDD) : la DDD est définie comme « *la dose quotidienne recommandée pour le traitement d'un adulte dans l'indication principale du médicament* » ou comme « *la dose de médicament nécessaire pour une journée de traitement dans des conditions standardisées* ».

Effet (évaluation de) : estimation de la relation entre une dose ou un niveau d'exposition à une substance et le type, l'incidence et la sévérité de l'effet sur un organisme ou un ensemble d'organismes.

Exposition (évaluation de) : détermination des concentrations, ou détermination des émissions, du mouvement, de la transformation et/ou de la dégradation d'une substance dans le but d'estimer les concentrations auxquelles un individu, une communauté, ou un compartiment environnemental sont exposés ou susceptibles de l'être.

Médicament : d'après le code de la santé publique (1967), un médicament est défini comme « *toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques* ».

Milieu récepteur : lieu où sont déversées les eaux usées, épurées ou non épurées. Peut être une rivière, un lac, un étang, une nappe phréatique, la mer... Dans ce document, on entend principalement par milieu récepteur des eaux de surfaces (rivières).

Persistance : résistance aux conditions de dégradation biotique et abiotique dans l'environnement. La persistance d'une substance reflète non seulement son potentiel à atteindre les organismes sur une longue durée mais également sa capacité à atteindre le milieu aquatique et à être transportée sur de longues distances.

Risque : probabilité d'atteinte de l'intégrité d'un organisme, ou d'un groupe d'organismes, résultant de l'exposition à une substance ou à un groupe de substances chimiques données. Le risque environnemental lié à une substance chimique est généralement déterminé par le rapport d'une concentration d'exposition à une concentration sans effet.

Spécialité pharmaceutique : Une spécialité pharmaceutique est définie comme un « *médicament préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier et caractérisé par une dénomination spéciale* » (Art. L.5111-2 CSP).

Unité galénique : l'unité galénique d'un médicament est obtenue en multipliant le nombre de conditionnements vendus par la taille du conditionnement en comprimés ou millilitres de liquide (DREES 2006) *.

Unité standard : l'unité standard est obtenue en divisant le nombre d'unités galéniques vendues par un facteur de standardisation ; généralement, la plus petite « dose » commune de forme de produit telle que la cuillère à café, le comprimé, l'ampoule ou encore la capsule (DREES 2006) *.

* : aucune de ces deux unités ne permet de prendre en compte le dosage des médicaments ; par conséquent, un comprimé de 20 milligrammes et un de 40 milligrammes du même médicament sont comptabilisés de la même manière dans chacune de ces unités (DRESS 2006).

Liste des abréviations

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, anciennement Agence du médicament.

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien.

ATB : Antibiotique.

ATC : Anatomical Therapeutic Classification system, système international de classification des substances médicamenteuses en fonction de l'organe ou du système organique cible et des propriétés chimiques, thérapeutiques et pharmacologiques de la substance.

CE_x : Concentration effective pour x% (généralement 50%) des organismes tests considérés.

CL_x : Concentration létale pour x% des organismes tests considérés.

DDD : Defined Daily Dose.

Dow : Kow corrigé par le pKa pour les espèces ioniques.

EMEA : European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.

FDA : Food and Drug Administration.

IRS (ou ISRS) : Antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine.

Kow : Coefficient de partage octanol/eau, mesure l'hydrophobie d'une molécule.

pKa : Constante de dissociation d'une molécule.

LOEC : Lowest Observed Effect Concentration, plus petite concentration pour laquelle un effet (généralement toxique) est observé.

LOAEL : Lowest Observed Adverse Effect Level : plus petite concentration pour laquelle un effet secondaire (toxique) est observé.

LOEL : Lowest Observed Effect Level : plus petite concentration pour laquelle un effet (généralement un effet thérapeutique pour un médicament) est observé.

NOEC : No Observed Effect Concentration, plus petite concentration pour laquelle aucun effet (généralement toxique) n'est observé.

NOAEL : No Observed Adverse Effect Level : plus petite concentration pour laquelle aucun effet secondaire (toxique) n'est observé.

NOEL : No Observed Effect Level : plus petite concentration pour laquelle aucun effet (généralement un effet thérapeutique pour un médicament) n'est observé.

PEC : Predictive Environmental Concentration, concentration prédite dans l'environnement d'un composé.

PNEC : Predictive No Effect Concentration, concentration prédite sans effet d'un composé sur un organisme.

QSAR : Quantitative Structural-Activity Relationship.

STEP : Station de traitement et d'épuration des eaux usées.

TGD : Technical guidance document.

USEPA : United States Environmental Protection Agency.

Index des tableaux

Tableau 1 : Facteurs de sécurité utilisés par la procédure de le TGD Européen (TGD 2003) pour dériver les PNECaquatique.	25
Tableau 2 : Pharmacologie comparée des antidépresseurs de type ISRS.....	80
Tableau 3 : Quantités consommées, taux d'excrétion (Fexcreta) et valeurs de PEC pour les substances pharmaceutiques utilisées en France pour les années 2004 et 2007.....	119
Tableau 4 : Taux d'excrétion, activité pharmacologique et valeurs de PEC pour des métabolites d'intérêt.	123
Tableau 5 : Comparaison des concentrations prédites et réellement mesurées en entrée et sortie de STEP pour les β -bloquants.	124
Tableau 6 : Comparaison de valeurs de Vd et de Koc et Kd expérimentaux.....	128
Tableau 7 : Liste des composés prioritaires additionnels.....	158
Tableau 8 : Liste des métabolites humains prioritaires additionnels.....	164
Tableau 9 : Principales classes chimiques et molécules utilisées en thérapeutique endocrine en France, et quantités consommées en 2008.	170
Tableau 10 : Valeurs de PEC et principaux métabolites pour les molécules utilisées en thérapeutique endocrine.....	170
Tableau 11 : Concentrations en agents anticancéreux cytotoxiques mesurées dans divers échantillons environnementaux (effluents hospitaliers, entrée et sortie de STEP, et eaux de surface).....	196
Tableau 12 : Valeurs d'écotoxicité retrouvées pour les anticancéreux cytotoxiques.	196
Tableau 13 : Valeurs de PEC affinées par le métabolisme pour les anticancéreux traités dans la démarche de priorisation.....	198
Tableau 14 : Liste indicative des anticancéreux cytotoxiques à rechercher dans l'environnement et à évaluer pour leur écotoxicité.....	200
Tableau 15 : Perspectives et nécessité de programmes d'action, ordre de priorité proposé par l'Academie Nationale de Pharmacie.....	244
Tableau 16 : Actions possibles pour limiter la dissémination environnementale des médicaments.....	246
Tableau 17 : Evolution des quantités consommées et des PEC pour les médicaments entre les années 2004 et 2007.	269
Tableau 18 : Compilation de données pharmacocinétiques et physico-chimiques pour des médicaments à usage humain.....	276
Tableau 19 : Critères pris en considération dans la démarche de priorisation par expertise.	280
Tableau 20 : Quantités d'anticancéreux délivrées dans les officines de ville et les hôpitaux pour les années 2004 et 2008.	291
Tableau 21 : Evolution des consommations et des PEC pour les cytotoxiques entre les années 2004 et 2008.....	294
Tableau 22 : Données de métabolisme disponibles pour les anticancéreux cytotoxiques.	296
Tableau 23 : Quantités d'anticancéreux consommées au Centre Léon Bérard pour l'année 2005 et répartition en fonction du type d'hospitalisation.....	299
Tableau 24 : Liste non exhaustive de molécules recherchées et détectées dans des effluents de STEP urbaine.....	302

Index des figures

Figure 1 : Schéma simplifié des voies de contamination des eaux et des sols par les médicaments à usage humain.....	20
Figure 2 : Schéma de la procédure d'évaluation du risque environnemental de l'EMEA (EMEA 2006) pour les substances pharmaceutiques à usage humain.	24
Figure 3 : Valeurs d'écotoxicité aiguë des composés pharmaceutiques sur les organismes aquatiques.....	72
Figure 4 : Valeurs d'écotoxicité chronique des composés pharmaceutiques sur les organismes aquatiques.	74
Figure 5 : Comparaison des valeurs de toxicité chronique sublétales (valeurs de NOEC et de LOEC) pour les β -bloquants et les IRS.....	80
Figure 6 : Comparaison des concentrations prédites et mesurées en entrée de STEP.....	124
Figure 7 : Projection des variables V_d , Log Kow, Log Dow à pH 7 et 8, et Koc à pH 7 sur les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales.....	128
Figure 8 : Schéma simplifié de la démarche de priorisation utilisée.....	133
Figure 9 : Circuit des molécules anticancéreuses depuis leur délivrance jusqu'à leur rejet dans le milieu récepteur.	202
Figure 10 : Corrélation entre les données de consommation de la CPAM et de l'afssaps pour l'année 2004.....	267
Figure 11 : Corrélation des données locales de la CPAM (année 2005) et des données nationales de l'AFSSAPS (année 2004) pour 28 molécules pour les ventes à l'officine.....	273
Figure 12 : Corrélation des données locales d'Alliance-Santé (année 2004) et des données nationales de l'AFSSAPS (année 2004) pour 19 molécules et pour les ventes à l'officine..	274

Index des équations

Équation 1 : Calcul préliminaire de PEC dans la phase I de l'EMEA.	25
Équation 2 : Calcul de PEC de phase 2 « affinée » tenant compte de la métabolisation, de l'élimination dans les STEP et de la dilution dans les eaux de surface pour une substance considérée.....	25
Équation 3 : Calcul des concentrations prédites dans les eaux de surface pour les substances pharmaceutiques.....	28

Chapitre 1.

Introduction

1. Contexte	19
1.1. Problématique	19
1.2. Voies d'entrée des médicaments dans l'environnement.....	19
1.3. La réponse des pouvoirs publics.....	21
2. Rappels sur l'évaluation de risque	21
2.1. Définitions.....	21
2.2. Principales méthodologies d'évaluation de risque.....	22
2.3. Intérêts et limites de l'évaluation de risque.....	23
3. L'évaluation de risque pour les médicaments à usage humain	23
3.1. Méthodologies existantes	23
3.2. Paramètres à prendre en compte pour l'évaluation du risque des médicaments.....	26
4. Cadre de la thèse	27
5. Matériel et méthodes	28
5.1. Evaluation de l'exposition	28
5.2. Evaluation de l'effet, utilisation des données écotoxicologiques.....	30
5.3. Utilisation des données pharmacologiques et physico-chimiques	30
6. Organisation du manuscrit	31

1. Contexte

1.1. Problématique

Depuis les années 80 et grâce, notamment, aux progrès de l'analyse physico-chimique, de nombreuses molécules pharmaceutiques ont été détectées dans l'environnement ; et leur présence dans les effluents et les boues de stations d'épuration urbaines, le milieu aquatique et les sols, a été établie à l'échelle mondiale. La première mise en évidence de la présence de médicaments dans les eaux remonte à 1976 (Hignite et Aznaroff 1977, cité par Académie Nationale de Pharmacie 2008). De nombreux travaux ont depuis lors confirmé l'ubiquité des substances médicamenteuses dans les eaux de surface et les eaux souterraines (Miège et al. 2006 ; Paxeus et al. 2004 ; Boyd 2003 ; Golet et al. 2003 ; Metcalfe et al. 2003 ; Heberer et al. 2002 ; Kolpin et al. 2002 ; Ternes et al. 2001 ; Jones et al. 2001 ; Zuccato et al. 2000 ; Stumpf et al. 1999 ; Daughton et Ternes 1999 ; Halling-Sorensen et al. 1998 ; Ternes 1998 ; Buser et al. 1998), mais également dans le tissu de poissons (Ramirez et al. 2009 ; Brooks et al. 2005). Au début des années 2000, plus de 80 substances pharmaceutiques avaient ainsi été mesurées dans des effluents de stations d'épuration (STEP) et des eaux de surface (Heberer 2002).

Cet état de fait a donc amené à s'interroger sur l'impact possible des substances médicamenteuses sur les écosystèmes. Impact qui semble confirmé par :

- la présence dans les effluents de STEP et les milieux aquatiques de composés actifs sur le système endocrinien, et notamment la présence d'estrogènes comme l'éthinylestradiol, pouvant être à l'origine de la féminisation de populations de poissons (Purdom et al. 1994 ; Desbrow et al. 1998 ; Matthiessen et Gibbs 1998 ; Sonnenschein et Soto 1998 ; Tyler et al. 1998 ; Petrovic et al. 2002) ;
- plus récemment, l'observation du déclin de populations de vautours au Pakistan, relié à l'exposition indirecte de ces rapaces à un anti-inflammatoire bien connu : le diclofénac (Oaks et al. 2005).

En conséquence, l'intérêt et le nombre de travaux portant sur cette problématique se sont très fortement accrus ces dernières années (Christensen 1998, Schulman et al. 2002).

1.2. Voies d'entrée des médicaments dans l'environnement

Les médicaments peuvent atteindre et contaminer l'environnement de plusieurs manières. Concernant les médicaments à usage humain, la consommation des médicaments par la population pourrait représenter la principale source de contamination des milieux (Figure 1). Après administration, le médicament est absorbé, métabolisé et excrété, puis rejeté dans les eaux usées. Le résidu gagne ensuite les stations d'épuration urbaines qui n'en dégradent qu'une partie. Finalement, une fraction variable du médicament est rejetée par les effluents de STEP qui sont alors dilués dans les eaux de surface (rivières). Par ailleurs, lors du traitement dans les STEP, une partie du médicament peut s'adsorber sur les boues résiduelles et contaminer les sols après épandage de celles-ci.

Les effluents hospitaliers représentent une source particulière de contamination médicamenteuse et peuvent présenter un profil spécifique de contamination : antibiotiques, anti-infectieux, produits de contraste iodés et anticancéreux. Les effluents hospitaliers n'étant pas traités sur place, les substances pharmaceutiques se retrouvent dans les eaux usées de l'agglomération et gagnent les STEP urbaines, puis finalement les eaux de surface.

La voie d'entrée des médicaments vétérinaires est différente puisque ceux-ci peuvent être dispersés directement dans les écosystèmes (utilisation en aquaculture, traitement des animaux en champ...), soit les contaminer indirectement, par exemple *via* l'épandage de lisier contaminé.

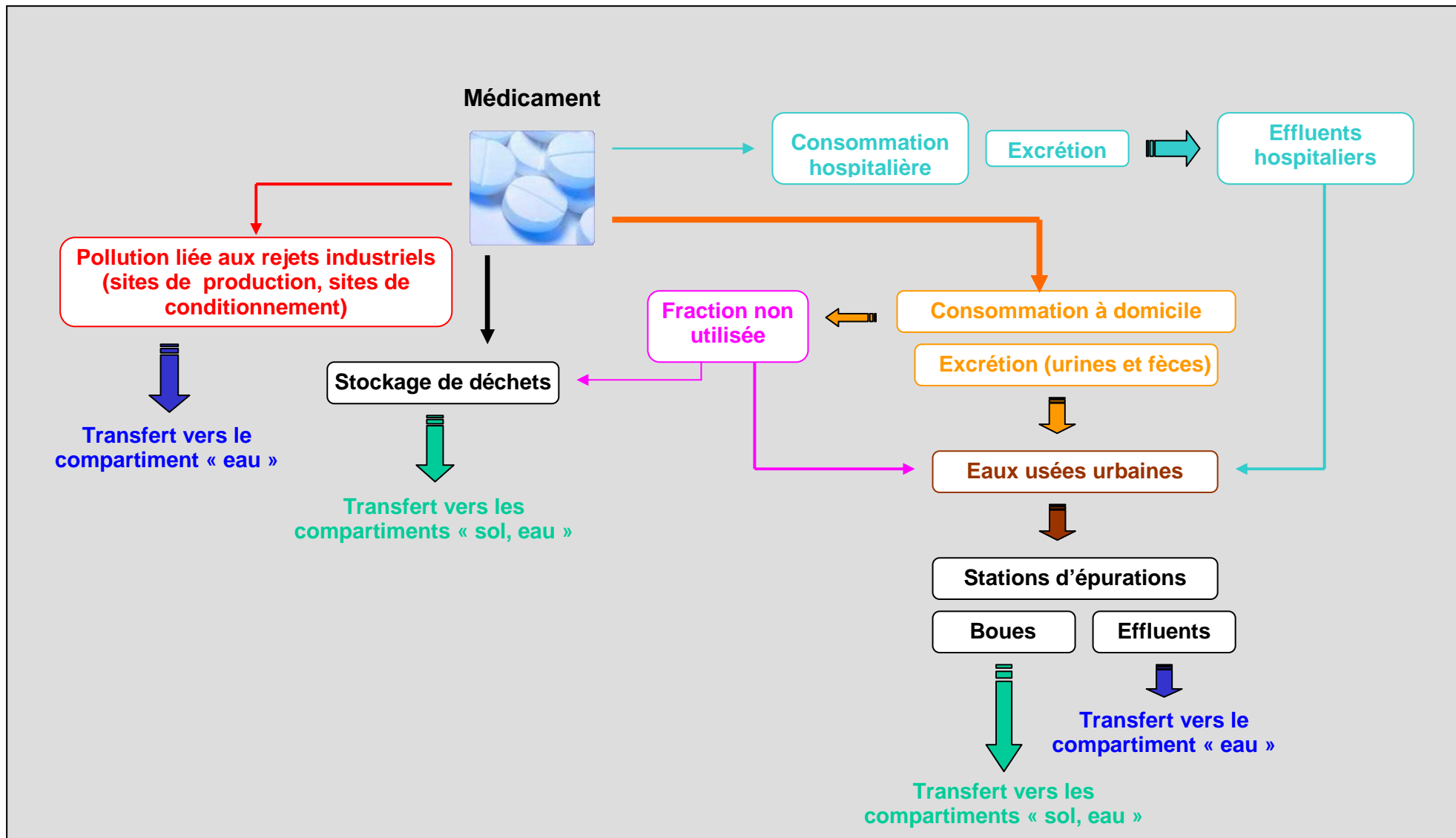


Figure 1 : Schéma simplifié des voies de contamination des eaux et des sols par les médicaments à usage humain.

Dans le cas des animaux d'élevage, les médicaments vétérinaires utilisés sont essentiellement des antibiotiques et des antiparasitaires, qui sont administrés avec la nourriture (Boxhall et al. 2003 ; Halling-Sørensen et al. 1998).

Enfin, une dernière voie de contamination des eaux, commune aux médicaments humains et vétérinaires, reste les rejets des usines de fabrication ou de conditionnement qui peuvent entraîner des pics de contamination localisés (Larsson et al. 2007) et affecter des organismes exposés (Carlsson et al. 2009 ; Gunnarsson et al. 2009).

1.3. La réponse des pouvoirs publics

Cette prise de conscience de la contamination environnementale par les rejets médicamenteux et de leurs effets potentiels, a conduit les Etats à définir et mettre en place des actions appropriées, au niveau législatif et scientifique. Ainsi, dans la continuité de ce qui existe aux Etats-Unis (FDA 1998), des travaux sont actuellement en cours au niveau Européen en vue de mettre en place des procédures d'évaluation du risque des nouvelles substances médicamenteuses à usage humain (EMA 2006) et vétérinaire (VICH 2000, 2004), cohérentes avec les procédures d'évaluation du risque des substances chimiques déjà existantes, et incluant le risque pour l'environnement, pour les écosystèmes aquatiques et terrestres. Par ailleurs, de nombreux programmes de recherche visant à évaluer la présence et les effets biologiques des rejets médicamenteux ont été mis en place ces 10 dernières années, avec notamment en Europe les programmes Rempharmwater, Erpharm, Poseidon, Norman ou Knappé.

Par ailleurs, la mise en œuvre au niveau Européen de la Directive Cadre sur l'Eau, bien que n'imposant pas actuellement d'objectif ou de norme de qualité pour ce type de molécules, conduit néanmoins les gestionnaires (Agences de l'Eau, AFSSA, DRASS...) et les utilisateurs de l'eau (industriels, traités d'eau) à s'interroger *a priori* sur les conséquences de cette contamination, en terme de contribution à la dégradation des écosystèmes aquatiques, voire d'atteinte à la santé humaine (Garric et Ferrari 2005). Le récent second Plan National Santé Environnement inclut désormais une action spécifique pour les médicaments visant à « *améliorer la connaissance et réduire les risques liés aux rejets de médicaments dans l'environnement, en engageant dès le mois de juillet 2009 les travaux en vue de l'élaboration d'un plan d'action national (...)* ».

Ainsi, et bien que depuis les années 98, le nombre de publications sur ce sujet, et plus particulièrement sur les niveaux de concentrations et le devenir de ces molécules dans les écosystèmes aquatiques et terrestres a largement augmenté (Ayscough et al. 2000 ; Kümmerer 2009a), de nombreuses incertitudes persistent quand à leur présence et leurs effets sur les écosystèmes aquatiques. Il s'avère donc nécessaire de conduire pour les médicaments, des démarches d'évaluation de risque, au même titre que pour les autres substances chimiques.

2. Rappels sur l'évaluation de risque

2.1. Définitions

Les activités humaines font peser différentes pressions (agriculture, industrie, transports...) sur l'environnement ; pressions qui peuvent conduire à une altération des écosystèmes, quelque soit le compartiment considéré : atmosphère, sol ou eau. Etant donné la prise de conscience et le développement croissants de ces pressions, il est devenu indispensable de les décrire, de les évaluer et de gérer leurs conséquences, c'est l'objet de l'évaluation environnementale (Calvet 2005).

Dans le cas des résidus médicamenteux ; il s'agit d'un risque environnemental pour les écosystèmes d'eaux douces, de nature chimique.

Le concept d'évaluation du risque environnemental pour les substances chimiques est sous-tendu par quelques définitions de base qui sont rappelées ici :

- Le *danger*, qui est la propriété ou la capacité intrinsèque d'une substance chimique à affecter de façon négative l'intégrité d'un individu.
- L'*évaluation de l'exposition*, qui est la détermination des concentrations (ou des émissions), de la mobilité, de la transformation et/ou de la dégradation d'une substance, dans le but d'estimer les concentrations auxquelles un individu, une communauté, ou un compartiment environnemental sont exposés ou susceptibles de l'être.
- L'*évaluation de l'effet*, qui concerne l'estimation, en laboratoire, de la relation entre une dose, ou un niveau d'exposition à une substance, et le type, l'incidence et la sévérité de l'effet sur une ou plusieurs espèces d'organismes.
- Enfin, le *risque* qui est défini comme étant la probabilité d'atteinte de l'intégrité d'une entité (individu, population, communauté ou écosystème), résultant de l'exposition à une substance ou à un groupe de substances chimiques données. Le risque environnemental lié à une substance chimique est généralement déterminé par le rapport d'une concentration d'exposition (PEC, concentration prédite dans l'environnement) à une concentration sans effet (PNEC, concentration prédite sans effet toxique).

2.2. Principales méthodologies d'évaluation de risque

L'évaluation du risque s'effectue par la détermination de quotients dits « quotients de risque », qui sont le rapport de la PEC sur la PNEC. Les valeurs de PEC sont déterminées sur la base de scénarios d'émission du contaminant dans le milieu récepteur, qui peuvent être réalistes ou de pire cas, c'est-à-dire maximisant les quantités attendues dans le milieu récepteur. Les valeurs de PNEC sont déterminées sur la base d'essais de toxicité réalisés en laboratoire, et sont le plus souvent obtenues selon l'une des deux méthodes suivantes :

- *Méthode des facteurs d'extrapolation* : c'est la méthode la plus classique pour dériver des PNEC. La concentration sans effet (NOEC) la plus faible mesurée sur la base de plusieurs essais impliquant des organismes appartenant à différents niveaux trophiques (algues, invertébrés, poissons) est divisée par des facteurs de sécurité dont la valeur dépend du nombre (niveaux trophiques évalués) et du type (données aiguës ou chroniques) de données disponibles. Plus les données sont nombreuses, plus ce facteur est faible (TGD 2003).
- *Méthode SSD (Species Sensitivity Differences)* : la SSD se focalise sur la distribution des sensibilités de plusieurs espèces test envers un toxique donné. Ces espèces sont censées représenter la communauté d'un écosystème donné (TGD 2003 ; Posthuma et al. 2002). Une série d'au moins 10 NOEC pour des espèces couvrant au moins 8 groupes taxonomiques est exprimée sous la forme d'une distribution statistique cumulée, de laquelle on extrait une valeur correspondant au 5^{ème} percentile : la HC₅ (Hazardous Concentration 5%) qui est la concentration du toxique affectant 5% des espèces testées (donc protégeant 95% des espèces), considérée comme protectrice pour les écosystèmes. La PNEC finale est ensuite calculée en divisant la HC₅ par un facteur de sécurité dépendant de plusieurs paramètres (nombre et représentativité des espèces, représentativité, méthodologie statistique employée...).

L'évaluation finale repose sur l'établissement d'un rapport PEC/PNEC (exposition / effet). Si ce rapport est supérieur à 1, la substance évaluée est considérée comme présentant un risque pour le milieu considéré ; les résultats obtenus pouvant être discutés en fonction des connaissances acquises, et/ou en fonction de mécanismes d'action toxiques particuliers (perturbation endocrinienne, génotoxicité...).

2.3. Intérêts et limites de l'évaluation de risque

Les démarches d'évaluation de risque, qui sont notamment utilisées dans les dossiers d'homologation pour les substances chimiques (cf. législation REACH), permettent de déterminer, sur la base des connaissances disponibles, des valeurs d'exposition acceptables pour l'environnement, et en cela peuvent contribuer à limiter, ou au moins à évaluer, les pressions subies par les écosystèmes. Dans la pratique, ces démarches d'évaluation du risque présentent trois limites majeures :

- l'évaluation de l'exposition est souvent sujette à des incertitudes liées au manque d'information, aux approximations qualitatives et quantitatives introduites dans les modèles utilisés, à la variabilité spatio-temporelle des rejets, elle-même liée à la variabilité des conditions hydriques et météorologiques ;
- l'évaluation de l'effet, est effectuée sur la base de tests standardisés en laboratoire, qui ne peuvent être représentatifs des conditions environnementales ;
- l'évaluation du risque proprement dite, qui ne concerne que des substances isolées, et qui donc ne prend pas en compte le risque associé à l'exposition à un mélange de contaminants.

3. L'évaluation de risque pour les médicaments à usage humain

3.1. Méthodologies existantes

Il existe à l'heure actuelle deux méthodes dédiées à l'évaluation de risque pour les médicaments à usage humain : la première a été mise en place par la FDA (FDA 1998), la seconde, plus récente, a été établie par l'Agence Européenne du Médicament (EMA 2006) ; les deux approches étant similaires. La démarche proposée par l'EMA, qui a servi de base à notre travail, se décompose en plusieurs phases (Figure 2).

Au premier niveau de la méthodologie (*Phase de pre-screening*), une estimation de l'exposition est réalisée selon un scénario de pire cas, basé sur la dose journalière maximale pour un médicament donné (Équation 1). A la différence des évaluations de risque traditionnelles pour les molécules chimiques (TGD 2003), la première étape du processus repose ici sur la comparaison avec une limite maximale considérée admissible pour le milieu récepteur ; cette démarche étant destinée à effectuer un premier criblage en fonction de l'exposition pour limiter le nombre de molécules à soumettre à une évaluation de risque détaillée. Les molécules pour lesquelles les PEC calculées sont inférieures à cette valeur seuil, fixée à 10 ng/l, sont considérées comme ne représentant pas un risque significatif pour l'environnement et sont exclues de toute démarche d'évaluation de risque ultérieure.

Cette valeur seuil peut cependant ne pas être prise en compte dans les deux cas suivants :

- molécules pouvant exercer des effets toxiques sur des organismes non-cibles à des concentrations inférieures à 10 ng/l ;
- molécules présentant un mécanisme d'action particulier. La procédure de l'EMA ne cite comme exemple que les perturbateurs endocriniens et ne propose pas de liste particulière ; la procédure donnant dans ce cas plus de poids à un avis d'expert qu'à la valeur limite.

Pour les molécules dont la PEC calculée est supérieure à 10 ng/l, une phase d'évaluation de risque proprement dite est réalisée (*phase de screening*). Des ratios PEC/PNEC sont calculés. Les valeurs de PNEC sont dérivées à partir des données écotoxicologiques chroniques disponibles (NOEC), établies dans la mesure du possible sur la base de tests standardisés selon les normes de l'OCDE.

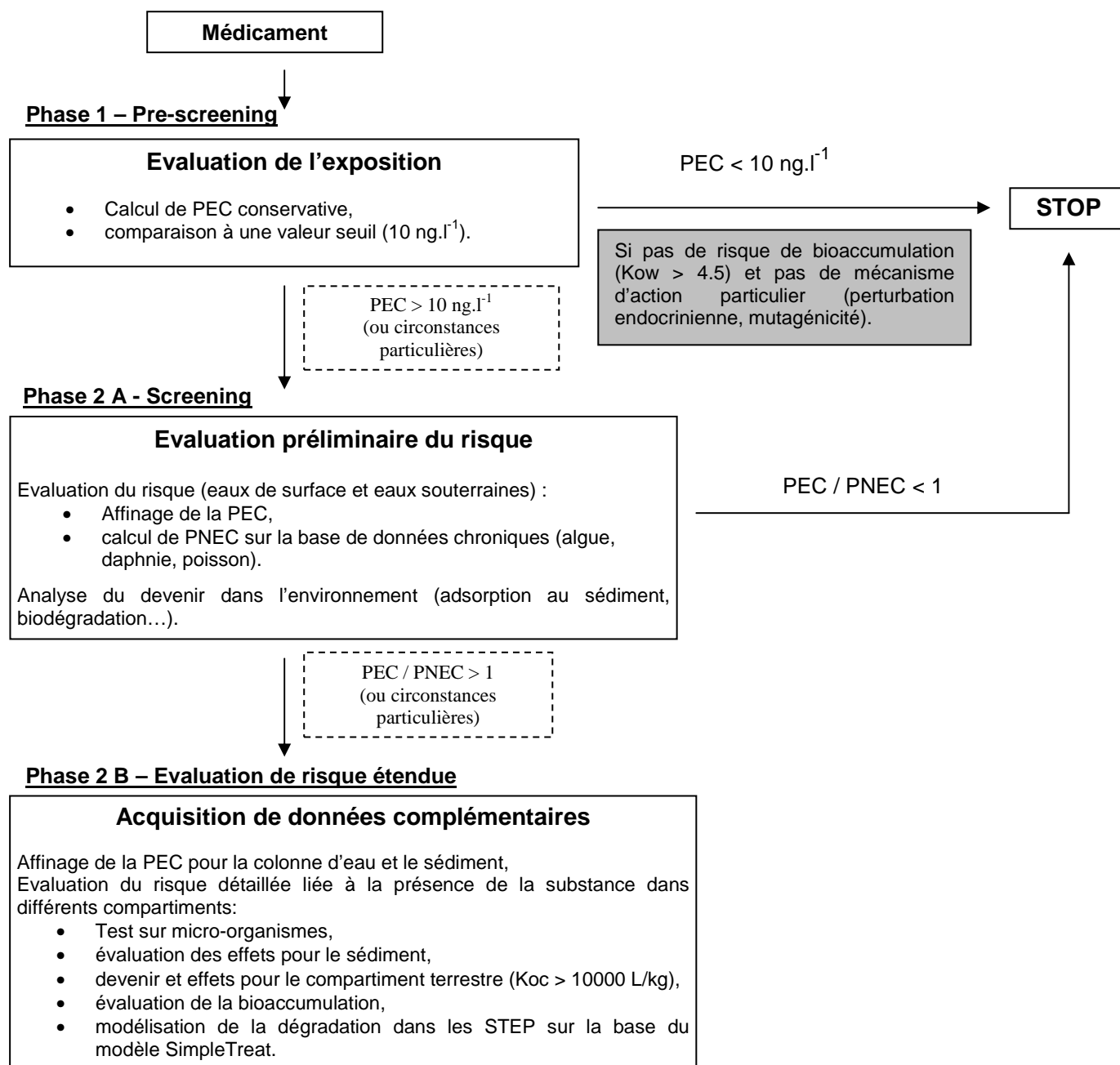


Figure 2 : Schéma de la procédure d'évaluation du risque environnemental de l'EMEA (EMEA 2006) pour les substances pharmaceutiques à usage humain.

(Modifié d'après Bound et Voulvoulis 2004).

$$PEC \text{ phase 1} = \frac{DOSE_{ai} \times F_{pen}}{WWinhab \times Dilution \times 100}$$

PECphase 1 : concentration prédite dans les eaux de surface (mg/l), phase 1 de l'approche EMEA.

DOSE_{ai} : dose journalière maximale du médicament consommée par habitant (mg/hab/jour).

F_{pen} : facteur de pénétration du médicament sur le marché (valeur fixée à 1% par défaut).

WWinhab : quantité d'eaux usées par jour et par habitant sur la zone considérée (l/hab/jour), valeur fixée par défaut à 200 litres/habitant/jour.

Dilution : Facteur de dilution du composé entre l'effluent de STEP et le milieu récepteur (fixé à 10 par défaut).

Équation 1 : Calcul préliminaire de PEC dans la phase I de l'EMEA.

$$PEC \text{ phase 2B} = \frac{Dose_{ai} \times F_{excreta} \times F_{step} \times F_{pen}}{WWinhab \times Factor \times Dilution \times 100}$$

F_{excreta} : fraction excrétée de la substance active (permet de tenir compte de la métabolisation du composé).

DOSE_{ai} : dose journalière maximale du médicament consommée par habitant (mg/hab/jour).

F_{step} : fraction du composé émis dans l'eau de surface à partir de la STEP (permet de tenir compte de la dégradation du composé dans les STEP).

Factor : facteur d'adsorption à la matière en suspension.

F_{pen} : facteur de pénétration sur le marché.

Dilution : Facteur de dilution du composé entre l'effluent de STEP et le milieu récepteur (fixé à 10 par défaut).

Équation 2 : Calcul de PEC de phase 2 « affinée » tenant compte de la métabolisation, de l'élimination dans les STEP et de la dilution dans les eaux de surface pour une substance considérée.

Données disponibles	Facteur de sécurité
au moins une CE(L) ₅₀ aiguë pour chacun des trois niveaux trophique du « base set » (algue, daphnie, poisson)	1000
une NOEC long terme (poisson ou daphnie)	100
deux NOEC long terme pour deux niveaux trophiques différents (algue et/ou daphnie et/ou poisson)	50
NOEC long terme pour au moins trois espèces représentant les trois niveaux trophiques (habituellement algue, daphnie, poisson)	10

Tableau 1 : Facteurs de sécurité utilisés par la procédure de le TGD Européen (TGD 2003) pour dériver les PNECaquatique.

En gras et grisé sont indiqués le facteur et les données requises par la procédure de l'EMEA 2006.

Ces valeurs de NOEC sont ensuite assorties d'un facteur de sécurité tenant compte des incertitudes existant dans l'extrapolation de données de laboratoire à la réalité environnementale (TGD 2003). Le Tableau 1 reprend les critères et les valeurs des facteurs de sécurité recommandés par le TGD. La procédure révisée de l'EMEA (EMEA 2006) ne prend plus en compte que les données écotoxicologiques chroniques et propose de ne dériver de PNEC que lorsque 3 valeurs de NOEC pour trois niveaux trophiques différents sont connues. Des quotients PEC/PNEC sont donc déterminés ; si le rapport est supérieur à 1 (ou supérieur à 0.1 dans le cas de tests mettant en jeu des micro-organismes), la substance évaluée est considérée comme présentant un risque pour le milieu, et une évaluation étendue du risque est réalisée (Phase 2B).

Dans cette ultime phase, un nouveau calcul de PEC est proposé qui tient compte de la consommation des médicaments, de leur métabolisation dans l'organisme, de la dégradation dans les STEP et de l'adsorption sur les matières en suspension (Équation 2). Une évaluation du risque étendue est réalisée, intégrant le risque pour le sédiment aquatique, les effets spécifiques sur les micro-organismes, et le risque pour le compartiment terrestre.

Finalement, si le risque ne peut-être exclu, des mesures peuvent être prises pour indiquer que le médicament peut présenter un risque environnemental, comme par exemple un étiquetage spécifique informant les consommateurs. Ces mesures visent à limiter le rejet dans l'environnement ; il ne semble pas y avoir à l'heure actuelle de contrainte plus forte pour les médicaments potentiellement à risque pour l'environnement.

3.2. Paramètres à prendre en compte pour l'évaluation du risque des médicaments

Comme pour les autres substances chimiques, plusieurs paramètres, dont certains leurs sont spécifiques, sont à prendre en considération dans l'évaluation du risque environnemental des substances pharmaceutiques. Concernant l'évaluation de l'exposition (i.e. des quantités de médicaments pouvant atteindre et contaminer les milieux récepteurs), les points suivants sont à prendre en compte :

- les différentes sources de contamination : rejets de STEP urbaine, rejets hospitaliers (Kümmerer and Helmers 1997 ; 2000), rejets liés aux activités industrielles pharmaceutiques (Larsson et al. 2007) ;
- les quantités consommées de médicaments, pouvant être spécifique à une zone géographique donnée et une période donnée ;
- le métabolisme humain, paramètre spécifique aux médicaments : une fois le médicament absorbé dans l'organisme, il subit toute une série de processus métaboliques visant à son inactivation et à son excrétion de l'organisme ; ces processus peuvent conduire à une diminution des quantités atteignant l'environnement, mais également à la formation de nouvelles molécules à prendre en compte (Kümmerer 2009a ; Besse et al. 2008 ; Huschek et al. 2004) ;
- la dégradation des médicaments dans les STEP (urbaines ou industrielles), qui contribue à limiter les rejets dans le milieu récepteur. Cette dégradation varie, quantitativement et qualitativement, en fonction du type de traitement, de la taille de la STEP ou encore de la saison ;
- enfin, il faut prendre en compte le comportement de la molécule dans l'environnement (sorption au sédiment), sa sensibilité aux différents phénomènes de dégradation biotiques (biodégradation) et abiotiques (photodégradation, hydrolyse...), ou au contraire sa rémanence dans l'environnement.

Concernant l'évaluation des effets, plusieurs paramètres sont également à considérer :

- le risque de toxicité aiguë, se traduisant généralement par une mortalité rapide des organismes exposés au contaminant ;

- le risque de toxicité chronique, généralement associé à des concentrations faibles en polluant, et qui provoquent des effets nocifs, létaux ou sub-létaux, sur le long terme ;
- la question de la sensibilité des organismes exposés : la toxicité d'un contaminant pouvant varier non seulement en fonction des concentrations d'exposition mais également en fonction de l'organisme considéré (espèce, âge, sexe...) ;
- les différences physiologiques entre l'homme et les organismes aquatiques, posant la question de la possibilité de prévoir les effets sur les écosystèmes à partir des effets observés sur l'être humain ;
- le problème des mélanges de polluants : les écosystèmes étant exposés à plusieurs centaines de contaminants, que ce soit les médicaments (plusieurs centaines de molécules sont utilisées en France) ou les autres substances chimiques, il est important de considérer les effets cumulés de ces contaminants.

4. Cadre de la thèse

La France se place, en terme de chiffre d'affaires généré, comme le 4^{ème} consommateur mondial, après les Etats-Unis, l'Allemagne et le Japon (Académie Nationale de Pharmacie 2008) ; mais en tête des pays Européens en terme d'unités consommées : 1500 « unités standard » consommées par habitant et par année, alors que la moyenne Européenne est de 990 (DREES 2006). En conséquence, la problématique des rejets médicamenteux revêt une importance particulière en France. Pourtant, à l'inverse d'autres pays Européens, du Canada et des Etats-Unis, peu de données sont actuellement disponibles en France sur l'occurrence des substances médicamenteuses dans les rejets urbains et les écosystèmes récepteurs ; de ce fait, il s'avère impossible de conduire au plan local des évaluations pertinentes du risque environnemental.

La mise en œuvre d'un programme permettant de répondre à l'exigence de surveillance des substances pharmaceutiques dans les milieux récepteurs se heurte donc, même dans un contexte géographique limité, à la grande diversité des molécules pharmaceutiques distribuées sur une aire géographique donnée, associée à des difficultés analytiques certaines, compte tenu des faibles concentrations attendues dans les milieux récepteurs, et de la complexité des matrices analysées (effluents de stations d'épuration en particulier). Une approche de priorisation des molécules à intégrer dans un programme de surveillance s'avère donc nécessaire pour élaborer un programme d'analyses réaliste, tant au plan financier que méthodologique.

A cet effet, un programme d'étude se voulant cohérent avec la démarche d'évaluation du risque proposé dans la procédure de l'EMEA, a été mis en place entre le Cemagref de Lyon et l'Agence Rhône-Méditerranée et Corse en 2006. Ce programme d'étude avait pour objet :

- d'une part, de proposer une liste de médicaments « prioritaires » à rechercher dans différents milieux sources potentiels (rejets urbains, boues de station d'épuration) et les milieux récepteurs (eaux de surface) ; sur la base d'une évaluation des quantités rejetées dans les milieux, *via* des voies d'exposition définies (rejets de STEP par exemple pour les médicaments humains), et d'une évaluation des effets pour les écosystèmes aquatiques.
- d'autre part, de définir et mettre en place les moyens nécessaires à la mise en œuvre des campagnes d'analyses, enfin de réaliser ces campagnes et de confronter les résultats mesurés à la liste proposée initialement. La mise en œuvre de cette méthodologie au plan local sur la région Lyonnaise pouvant si possible être par la suite généralisée à d'autres situations géographiques.

La thèse présentée ici est le résultat de la démarche de priorisation effectuée pour la Région Rhône-Alpes, travail qui s'est achevé en 2007 (Besse et Garric 2007).

Ce document propose une synthèse de la réflexion et des méthodologies qui ont été mises en place afin de fournir une liste pertinente de substances médicamenteuses à rechercher dans les milieux récepteurs ; ainsi qu'une discussion des résultats obtenus et de la problématique liée à la présence de résidus médicamenteux dans les eaux usées et les eaux douces. De plus, sur la base de données récemment acquises, nous présentons dans ce travail de nouveaux résultats qui viennent compléter ceux déjà produits et enrichir la réflexion sur la question des rejets médicamenteux.

Remarques importantes :

- *Le travail réalisé ici traite des médicaments à usage humain, et ne porte pas sur les médicaments vétérinaires ; pour une réflexion sur l'évaluation du risque lié à ces molécules, on pourra se reporter à Boxhall et al. (2003) et Capleton et al. (2006).*
- *Ce travail porte uniquement sur le risque environnemental pour les écosystèmes aquatiques et ne s'intéresse donc pas au risque sanitaire lié à la présence de traces de médicaments dans les eaux potables.*

5. Matériel et méthodes

Pour définir une liste de molécules prioritaires, et bien que notre approche ait évolué au cours du temps, le point de départ a été la méthodologie d'évaluation de risque définie par l'EMA (EMA 2006). Le travail présenté ici s'est donc focalisé sur deux axes principaux : évaluation des concentrations en substances médicamenteuses présentes dans les eaux de surface d'une part, et évaluation de leurs effets biologiques et/ou toxiques sur les organismes aquatiques d'autre part.

5.1. Evaluation de l'exposition

5.1.1 Modèle utilisé

L'Équation 3 ci-dessous donne le mode de calcul de PEC pour les eaux de surface pour une molécule donnée, que nous avons utilisé dans notre démarche de priorisation. Cette équation est dérivée et modifiée à partir de la méthodologie EMA 2006.

$$PEC = \frac{amount \times F_{excreta} \times F_{step}}{WW_{inhab} \times hab \times Dilution \times 365}$$

PEC : concentration prédite d'une molécule pharmaceutique dans le milieu aquatique (eaux de surface).

amount : quantité consommée d'un molécule active sur une année sur une zone géographique donnée (en mg).

F_{excreta} : fraction excrétée de la substance active (permet de tenir compte du métabolisme du composé).

F_{stp} : fraction du composé émis dans l'eau de surface à partir de la STEP (permet de tenir compte de la dégradation du composé dans les STEPs).

hab : nombres d'habitants en France.

WW_{inhab} : quantité d'eaux usées par jour et par habitant sur la zone considérée (l/hab/jour).

Dilution : Facteur de dilution du composé entre l'effluent de STEP et le milieu récepteur (fixé à 10 par défaut).

Équation 3 : Calcul des concentrations prédites dans les eaux de surface pour les substances pharmaceutiques.

5.1.2. Données de consommation

Dans cette approche quantitative, la quantité consommée d'une molécule sur un temps donné (généralement une année) et pour une zone géographique définie, est utilisée comme valeur centrale du modèle : l'hypothèse de départ est que plus une molécule est consommée, plus elle est à même de se retrouver dans l'environnement en quantités importantes, et donc de représenter un risque pour les organismes non cibles. La recherche et la collecte des données de consommation ont donc été la première étape mise en oeuvre dans ce travail.

Trois niveaux géographiques ont été envisagés pour la récupération des données de consommation : national, régional et local (au niveau d'une agglomération). Différents contacts ont été pris, et en fonction de la disponibilité des données et des possibilités de partage de chaque organisme contacté, les données suivantes ont pu être récupérées :

Niveau national

- Données de consommation fournies par l'AFSSAPS pour l'année 2004 (AFSSAPS 2006), et pour certaines molécules (anticancéreux cytotoxiques et hormonaux) pour l'année 2008 (AFSSAPS 2009). Ces données, provenant de la base de données TAXE, compilent de manière exhaustive tous les médicaments (sous forme de spécialités pharmaceutiques) consommés sur une année au niveau national. Elles intègrent à la fois les produits délivrés sur prescription médicale et ceux qui sont en vente libre, ce qui permet de couvrir l'ensemble des molécules utilisées en France.
- Données de consommation de la CPAM. Ces données sont établies sur la base des ventes des spécialités pharmaceutiques remboursées, et couvrent les années 2002 à 2007 (Medicam 2009). Ces données sont incomplètes par rapport aux précédentes car elles ne prennent en compte que les médicaments remboursés, et les seuls remboursements effectués par la CPAM, excluant les autres organismes payeurs.

NB : Une même molécule peut exister sous plusieurs spécialités pharmaceutiques et dénominations différentes. Une spécialité pharmaceutique est définie comme « un médicament préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier et caractérisé par une dénomination spéciale » (Art. L.5111-2 CSP). Une même molécule peut donc être vendue sous différentes formes, en fonction du dosage, de la forme galénique et/ou du producteur. Ainsi, l'amoxicilline qui est un antibiotique très largement utilisé, est présente sous près de 200 spécialités différentes, entre les différents laboratoires qui la commercialisent, les différentes formes (comprimés, solutions buvables ou injectables), les différents dosages et les différents conditionnements (nombre de comprimés ou de doses).

Niveau régional

Pour avoir une image de la consommation au niveau de la région Rhône-Alpes, les répartiteurs pharmaceutiques (organismes auprès desquels se fournissent les officines de ville) ont été contactés. On dénombre trois répartiteurs principaux, chacun couvrant une part de marché variable en fonction de la région considérée. Les données pouvant être fournies par les répartiteurs sont incomplètes par rapport aux données de l'AFSSAPS car toutes les spécialités pharmaceutiques ne sont pas prises en compte, et notamment une part importante des médicaments génériques et spécialités pouvant être délivrées sans ordonnance, et pour lesquels les officines peuvent se fournir directement auprès des laboratoires producteurs.

Sur les trois répartiteurs contactés, deux ont donné un accord de principe sur la récupération des données de consommation des médicaments, ce qui ne représente qu'une part du marché total au niveau régional (entre 60 et 80% des parts de marché). Finalement seul un des trois répartiteurs contacté nous a transmis des données de consommation.

Niveau local

Enfin, pour compléter cette étude, et identifier un éventuel profil de consommation particulier, des organismes locaux ont été contactés et les données suivantes récupérées :

- Données de consommation fournies par la CPAM de Lyon. Ces données reprennent les 100 spécialités pharmaceutiques remboursées les plus délivrées à l'officine en 2005. Ces données sont donc limitées par rapport à celles fournies par l'AFSSAPS, mais également par rapport aux données CPAM nationales puisque que pour une molécule donnée, toutes les spécialités ne sont pas représentées.
- Données du Centre Léon-Bérard (CLB). Le CLB, centre régional de lutte contre le cancer, est un établissement de soins spécialisé en cancérologie. Les données de consommation fournies par le CLB couvrent l'ensemble des molécules antinéoplasiques et anti-infectieuses utilisées dans ce centre pour l'année 2005.

5.2. Evaluation de l'effet, utilisation des données écotoxicologiques

Dans un premier temps, et en concordance avec la méthodologie de l'EMA, l'évaluation de l'effet s'est faite par le calcul de valeurs de PNEC. Pour ce faire, les données écotoxicologiques aiguës et chroniques disponibles ont été collectées de manière exhaustive dans la littérature scientifique (www.scopus.com) et dans la littérature « grise » (études et rapports d'organismes spécifiques). L'ensemble de ces données a été compilé dans une base de données. Une revue et une discussion sur les données écotoxicologiques est également présentée dans le chapitre 3 de ce manuscrit.

5.3. Utilisation des données pharmacologiques et physico-chimiques

Les données pharmacologiques, susceptibles d'apporter des informations importantes dans le cadre de notre travail, se rapportant aux propriétés pharmacodynamiques (pour l'évaluation des effets) et pharmacocinétiques (pour l'évaluation de l'exposition), ainsi que des données physico-chimiques pour les médicaments ont été revues et collectées pour chacune des molécules évaluée dans ce travail.

Les bases de données suivantes ont été consultées : la Banque Claude Bernard (BCB), mise à jour de manière mensuelle avec notamment des données provenant des dossiers d'AMM (<http://www.resip.fr>) ; le site Thériaque (www.theriaque.org), les bases de données BIAM (www.biam2.org), rxlist (www.rxlist.com) et drugs.com (www.drugs.com) ; ainsi que la banque de données Micromedex Drugdex® databank (Thomson Micromedex), grâce à la collaboration du Centre d'information et de documentation (CDIP) des hospices civils de Lyon.

Les sites suivants ont également été consultés : les sites pharmacorama (www.pharmacorama.com) et pharmacomédicale (www.pharmacomedicale.org) ; l'index ATC (www.whooc.no/atcddd) et le site de l'Agence Internationale pour la recherche sur le cancer (www.iarc.fr). Pour les médicaments anticancéreux, le site de la BC cancer agency a été spécifiquement utilisé (www.bccancer.bc.ca). Enfin, les bases de données HSDB (<http://www.toxnet.nlm.nih.gov/>), et ChemIDplus (<http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/>), non spécifiques aux substances pharmaceutiques, ont également été consultées.

Par ailleurs, les ouvrages suivants ont employés : le « Martindale » *Complete Drug Reference* (Martindale 2002) ; le « Goodman & Gilman's » *The Pharmacological Basis of Therapeutic* (Hardman et al. 1996), le Merck Index (Merck 2001), le « Dorosz » *Guide pratique des médicaments* (Dorosz 2007) ; l'ouvrage « *Pharmacologie : Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques* » (Schorderet 1998) ; et enfin l'ouvrage « *Pharmacologie, les médicaments* » (Allain 2000).

6. Organisation du manuscrit

Le manuscrit est divisé en plusieurs chapitres qui correspondent à l'évolution du questionnement et des approches choisies pour évaluer le risque lié aux médicaments à usage humain et bâtir des listes de molécules prioritaires. Il s'agit d'une thèse sur articles (et sur chapitre d'ouvrage) dont chacun des chapitres se focalise sur un aspect spécifique de la question de l'évaluation du risque des médicaments :

Après la première partie introductive, nous proposons une revue des méthodologies existantes d'évaluation de risque pour les médicaments ainsi qu'une revue sur les données écotoxicologiques. Les chapitres suivants se focalisent sur l'aspect « priorisation » à proprement parler, et traitent séparément des différentes classes pharmaceutiques : les médicaments présentant une activité sur les fonctions de reproduction, en raison de leur caractère perturbateur endocrinien, et les médicaments anticancéreux cytotoxiques, en raison de leur action sur le développement cellulaire et leurs propriétés mutagènes et carcinogènes, étant traités à part des autres composés. Les derniers chapitres sont eux consacrés à la discussion sur l'évaluation et la gestion du risque liées à la présence des médicaments dans les eaux douces. Les différentes parties du manuscrit sont détaillées ci-dessous :

Le premier chapitre introductif est dédié à la présentation du contexte, de la problématique de la thèse, au matériel et méthodes utilisés, et présente l'organisation du manuscrit. A ce chapitre est joint un article paru dans une revue Française et qui présente une synthèse de la problématique des rejets de médicaments dans l'environnement : *Le rejet des substances pharmaceutiques dans le milieu aquatique. Présence, impact, gestion du risque. 2007. Les actualités pharmaceutiques 463, pp 9-19*. Cet article a reçu le 2^{ème} prix en santé publique, décerné lors du Prix Editorial 2007 du Syndicat National de la Presse Médicale.

Le second chapitre propose une revue des différentes méthodologies utilisées pour la priorisation ou l'évaluation du risque des médicaments à usage humain. Cette revue est présentée sous la forme d'un extrait de chapitre d'ouvrage à paraître : *Besse J.P. and Garric J. Environmental risk assessment and prioritization strategies for human pharmaceuticals, review and discussion. in B. Roig and E. Touraud (Eds). Pharmaceutical in the Environment: current knowledge and need assessment to reduce presence and impact. IWA Publishing, à paraître*.

Le chapitre 3 traite et discute de la revue des données écotoxicologiques pour les substances pharmaceutiques (autres que les anticancéreux et les molécules utilisées à caractère perturbateur endocrinien).

Le chapitre 4 présente une première approche appliquée à la priorisation des médicaments à usage humain. Cette méthodologie, basée sur l'utilisation des quotients de risque, a été appliquée aux molécules médicamenteuses autres que les anticancéreux cytotoxiques et les molécules utilisées en thérapeutique endocrine. Ce travail a fait l'objet d'un article publié : *Besse J.P., Kausch-Barreto C. and Garric J. Exposure assessment of pharmaceuticals and their metabolites in the aquatic environment. Application to the French situation and preliminary prioritization. 2008. Human and Ecological Risk Assessment 14 (4), pp 665-695*.

Dans le chapitre 5, une seconde méthode de priorisation, appliquée aux mêmes molécules est présentée et discutée. Il s'agit d'une approche de type « expert », basée sur l'utilisation conjointe de données écotoxicologiques, pharmacologiques et physico-chimiques. L'article correspondant à ce travail est le suivant : *Besse J.P. and Garric J. Human pharmaceuticals in surface waters. Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. 2008. Toxicology Letters 176 (2), pp. 104-123*.

Les chapitres 6 et 7, traitent des molécules utilisées en thérapeutique endocrine (donc pouvant être assimilées à des perturbateurs endocriniens). Le chapitre 6 introduit la problématique des perturbateurs endocriniens et traite spécifiquement des molécules utilisées en thérapeutique endocrine anticancéreuse (hormones, antihormones et apparentés).

Le chapitre 7 s'intéresse aux hormones sexuelles (naturelles et synthétiques) et se focalise plus particulièrement sur l'évaluation de l'exposition et du danger pour les progestatifs, molécules encore très peu étudiées. Cette étude sur les progestatifs a fait l'objet d'un article publié : *Besse J.P. and Garric J. Progestagens for human use, exposure and hazard assessment for the aquatic environment. Environmental Pollution 157, pp 3485-3494.*

Le chapitre 8 traite des molécules anticancéreuses de type cytotoxique. Dans ce chapitre, nous proposons une évaluation générale de l'exposition et des effets biologiques de ces composés pour le milieu aquatique.

Le chapitre 9, sous la forme d'un second extrait du chapitre d'ouvrage présenté plus haut (cf. chapitre 2), propose une discussion des méthodologies et des paramètres utilisés pour évaluer l'exposition et les effets des médicaments à usage humain dans le milieu aquatique.

Enfin, le chapitre 10 correspond aux perspectives concernant l'évaluation et la gestion du risque environnemental lié aux médicaments à usage humain, et replace cette problématique dans le contexte plus large de la contamination des eaux de surface liée aux activités humaines.

Article de synthèse paru dans les Actualités Pharmaceutiques

Le rejet des substances pharmaceutiques dans le milieu aquatique : présence, impact et gestion du risque

Jean-Philippe Besse
Pharmacien, chargé d'études,
Unité biologie des écosystèmes
aquatiques, CEMAGREF,
groupement de Lyon (69)

L'interrogation sur la présence et l'impact de substances médicamenteuses dans l'environnement s'inscrit dans un contexte de préservation de l'environnement et des ressources en eau.

L'impact des substances pharmaceutiques sur les écosystèmes en général pourrait avoir des conséquences importantes : un article récemment publié dans la revue *Nature* a relié la diminution drastique de populations de vautours du Pakistan à l'accumulation dans leur organisme de résidus d'un anti-inflammatoire bien connu, le diclofénac.

Les administrations et les gestionnaires ont donc commencé à « s'interroger a priori sur les conséquences de cette contamination, en terme de contribution à la dégradation des écosystèmes aquatiques, voire de la santé humaine » (Garric et Ferrari, 2004).

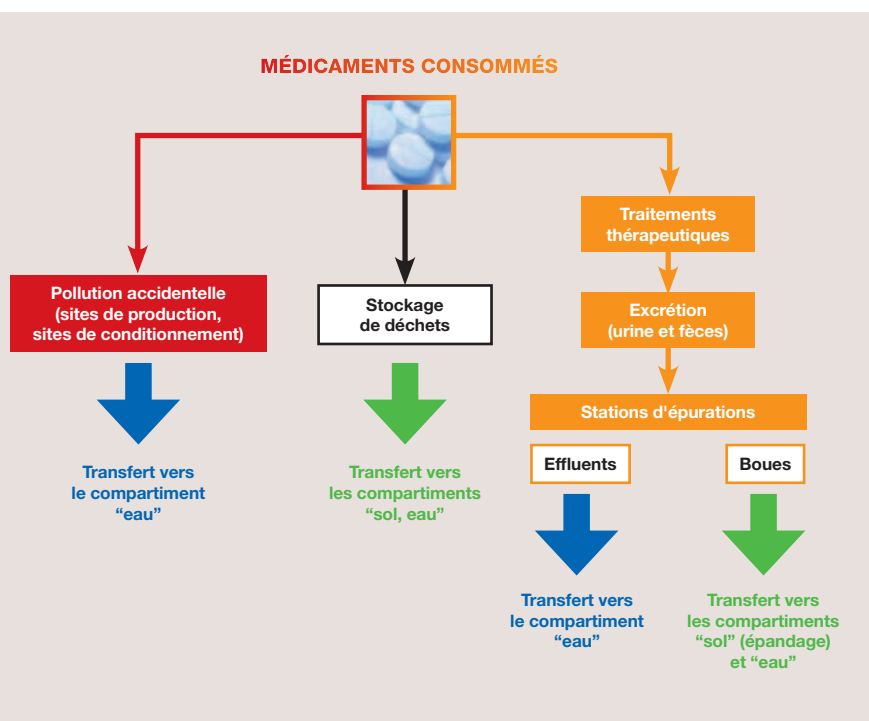
Ainsi, au niveau français, le Plan national santé environnement (PNSE) intègre dans son action 11, qui vise à limiter la pollution des eaux, une directive qui concerne les médicaments : « [...] des campagnes d'analyses seront conduites par les agences de l'eau à partir de 2005, permettant de mesurer puis d'évaluer les risques liés à la présence des substances médicamenteuses humaines et vétérinaires, [...] et des agents infectieux

non conventionnels dans les eaux, en particulier celles destinées à la consommation humaine. »

Si les agences de l'eau sont en première ligne pour la gestion de ce risque, d'autres organismes publics chargés de la santé, et notamment la Drass et l'Afssa, développent des projets d'études visant à évaluer la présence de substances pharmaceutiques dans les eaux de boisson pour, à terme, déterminer s'il existe un risque pour la santé ou non.

Au niveau européen, l'Agence européenne d'évaluation des médicaments (EMA) met en place et discute des procédures réglementaires visant à évaluer le risque lié aux substances médicamenteuses humaines (EMA 2006) et vétérinaires (VICH 2000, 2004) dans les différents compartiments de l'environnement (eaux de surface, eaux potables, sols). Enfin, plusieurs projets européens sont en cours de développement pour étudier la présence, le devenir et les effets des médicaments dans le milieu aquatique comme, par exemple, les projets RempharmWater et ERApharm.

• Figure 1 : Différentes voies d'entrée des médicaments dans l'environnement.



Les sources de rejets pour les médicaments dans l'environnement

On peut distinguer deux sources principales de contamination des milieux pour les médicaments à usage humain :

– la contamination des milieux *via* la consommation de médicaments ;

– la contamination directe des eaux par les rejets d'usines de fabrication ou de conditionnement (figure 1).

La consommation des médicaments au niveau de la population pourrait représenter la principale source de contamination des milieux. En France, la consommation des médicaments est très importante et, pour certaines molécules, peut représenter des tonnages conséquents.

Après administration, une fraction variable du médicament est absorbée, métabolisée et excrétée, puis rejetée dans les eaux usées. Le médicament gagne ensuite les stations de traitement et d'épuration des eaux usées (STEP) où il peut être dégradé en partie. Les traitements

dans les STEP ne permettant pas l'élimination de la totalité de la molécule, elle est finalement rejetée dans les effluents de STEP qui sont dilués dans les eaux de surface (rivières). Par ailleurs, lors du traitement dans les STEP, une partie du médicament peut s'adsorber sur les boues résiduelles et contaminer les sols après épandage de ces boues (figure 1).

Les effluents hospitaliers sont une source particulière de contamination médicamenteuse et peuvent présenter un profil spécifique de contamination : antibiotiques, anti-infectieux, produits de contraste et anticancéreux. Les effluents hospitaliers n'étant pas traités sur place, les substances pharmaceutiques se retrouvent également dans les eaux usées et gagnent les STEP et finalement les eaux de surface.

Une dernière source de pollution est à envisager : les rejets des usines de fabrication ou de conditionnement des médicaments qui pourraient entraîner des pics de contamination localisés ; cette voie d'entrée dans le milieu reste à évaluer.

Les médicaments à usage vétérinaire pénètrent dans le milieu par des voies différentes que les médicaments à usage humain :

- soit par contamination directe des eaux *via* les élevages piscicoles,
- soit de manière indirecte lors du lessivage par les eaux de pluie des sols contaminés par des élevages intensifs.

Les produits concernés dans ce cas sont essentiellement des antibiotiques, des antiparasitaires et des promoteurs de croissance.

De faibles niveaux de concentration dans les eaux

Un certain nombre d'études ont mis en évidence la présence de médicaments à usage humain dans les eaux

Quelques chiffres

D'après les données de l'Afssaps pour l'année 2004 (Afssaps 2006), au moins une dizaine de molécules sont consommées à plus de 100 tonnes par an :

- la diosmine et la troxérutine (flavonoïdes) ;
- la carbocistéine et l'acétylcystéine (mucolytiques) ;
- mais aussi des analgésiques et des anti-inflammatoires comme le paracétamol, l'aspirine et l'ibuprofène, ou encore des molécules comme l'amoxicilline (pénicilline) ou l'acide valproïque (anticonvulsivant).

Par ailleurs, au moins une centaine de molécules appartenant à des classes thérapeutiques diverses (fibrates, statines, benzodiazépines, bêtabloquants, antidépresseurs sérotoninergiques...) sont consommées à plus d'une tonne par an.



• Station d'épuration, installation de traitement à boues activées.

de surface, principalement *via* les effluents des stations d'épuration urbaines.

Les concentrations sont faibles : de l'ordre de quelques dizaines de ng/L dans les eaux de surface et de quelques centaines de ng/L dans les effluents de STEP.

Jusqu'à présent, seule une trentaine de molécules ont été recherchées et détectées dans l'environnement et plus particulièrement :

- des bêtabloquants (propranolol, métoprolol),
- des analgésiques et des anti-inflammatoires (paracétamol, acide salicylique, ibuprofène, naproxène, diclofénac),
- des fibrates (bézafibrate, acides clofibrique et fénofibrique),
- des antibiotiques (amoxicilline, sulfaméthoxazole, triméthoprime, doxycycline, érythromycine, ofloxacine),
- la carbamazépine,
- des hormones stéroïdes et notamment l'éthinylestradiol utilisé en contraception orale.

On retrouve également certains agents anticancéreux comme l'ifosfamide à des concentrations très faibles, de l'ordre de quelques ng/L.

Les médicaments peuvent également parvenir jusque dans les eaux potables et les nappes phréatiques. Les concentrations sont généralement très faibles, de l'ordre du ng/L.

Finalement, assez peu de molécules ont pour le moment été recherchées dans l'environnement, ceci étant en partie lié à la difficulté de développer de nouvelles méthodes analytiques pour doser les médicaments dans les milieux récepteurs.

Le tableau 1 (page 12) reprend quelques niveaux de concentrations relevées dans les effluents et les eaux de surface dans différents pays européens autres que la France.

Les valeurs les plus importantes sont observées pour les anti-inflammatoires, les hypolipémiants et le paracétamol, ce qui semble correspondre avec les tonnages de consommation de ces molécules. Il faut cependant considérer le fait que les concentrations

Tableau 1 : Niveaux de concentration en substances pharmaceutiques dans des effluents de station d'épuration (STEP) et des eaux de surface dans divers pays européens

Molécule	Classe thérapeutique	Concentration mesurée (ng/L)	Échantillon	Lieu	Références
Furosémide	diurétique	585 ^b	effluent de STEP	Italie	Zuccato et al., 2005
		67,2 ^a	rivière Po		
		254,7	rivière Lambro		
Propranolol	β-bloquant	215 ^b	aval de STEP	Royaume-Uni	Ashton et al., 2004
Métoprolol		29 ^a		Suède	Bendz et al., 2005
		70 ^a	aval de STEP		
		190	effluent de STEP		
Sulfaméthoxazole	antibiotique	45 ^a	eau de surface	Allemagne	Ternes, 1998
		ND	rivière Po	Italie	Zuccato et al., 2005
		30 ^a	effluent de STEP	Allemagne	Hirsch et al., 1999
		70 ^a	rivière Elbe	Allemagne	Wiegel et al., 1998
Ibuprofène	anti-inflammatoire	40	rivière Saale	Allemagne	
		826 ^a	aval de STEP	Royaume-Uni	Ashton et al., 2004
		13 ^a	rivière Po	Italie	Zuccato et al., 2005
Diclofénac		20	rivière Lambro		
		40 ^a	Elbe	Allemagne	Wiegel et al., 1998
		50	rivière Saale		
Bézafibrate	hypolipémiant	150 ^b	Rhin	Allemagne	Ternes, 1998
		70 ^a	rivière Elbe	Allemagne	Wiegel et al., 1998
		350 ^b	eau de surface	Allemagne	Ternes, 1998
Clarithromycine	antibiotique	260 ^a	eau de surface	Allemagne	Hirsch et al., 1999
		30 ^a	rivière Elbe	Allemagne	Wiegel et al., 1998
		40	rivière Saale		

Les concentrations sont exprimées en ng/L. a : Concentrations maximales observées. b : Médiane des concentrations observées.

détectées dans l'environnement dépendent aussi des caractéristiques et des performances des traitements dans les STEP qui peuvent être variables (type de traitement, saison...).

À l'inverse d'autres pays européens, du Canada et des États-Unis, très peu de données sont actuellement disponibles en France sur la présence des médicaments dans les milieux aquatiques. Certaines zones, et notamment les zones situées à proximité immédiate de rejets de stations d'épuration, pourraient être contaminées de manière importante : une étude récente (Budzinski et Togola, 2006) rapporte des concentrations importantes en divers anti-inflammatoires au niveau de la calanque de Cortiou (région marseillaise), à une distance de 300 mètres en aval d'une STEP : 7 µg/L pour le kétoprofène et 2 µg/L pour le naproxène, et jusqu'à 250 µg/L pour le paracétamol.

Dans le cas du paracétamol, cette très forte concentration serait liée à l'absence de traitement biologique dans la station d'épuration.

Une étude réalisée à Lyon (Miège et al., 2006) rapporte des concentrations en divers bêtabloquants en sortie de STEP comprises entre 20 et 800 ng/L en fonction des composés (bisoprolol, métoprolol et propranolol) et de la période de prélèvement.

Estimation des concentrations en substances médicamenteuses dans les eaux françaises

En France, un nombre très important de molécules pharmaceutiques (plusieurs centaines) est utilisé à des tonnages divers ; ainsi un nombre important de molécules est susceptible de provoquer une contamination des eaux. D'un point de vue pratique, il n'est pas possible de rechercher et de doser l'ensemble des molécules dans l'environnement. Il est donc nécessaire, dans un premier temps, d'estimer les concentrations théoriques attendues dans le milieu.

L'EMA propose une méthodologie pour estimer les concentrations attendues dans l'environnement basée sur une équation simple, qui tient compte des quantités consommées, de la fraction excrétée et du taux de dégradation de la molécule dans les stations d'épuration (EMA 2006). La figure 2 résume les paramètres dont il faut tenir compte. L'estimation des concentrations entrant dans le milieu doit donc tenir compte de la fraction excrétée sous forme active d'un médicament.

Dans cette démarche, afin de ne pas oublier de molécules potentiellement dangereuses pour l'environnement, il faut aussi tenir compte des métabolites, dont certains sont actifs et peuvent être excrétés en proportions comparables ou supérieures à celles du composé parent.

Une fois le médicament absorbé par l'organisme, il est métabolisé suivant les réactions de phase I (réactions d'oxydation) et de phase II (conjugaisons). Les processus de phase I peuvent générer la formation de métabolites actifs qu'il faut donc prendre en compte.

On peut citer comme exemples :

- la norfluoxétine pour la fluoxétine,
 - le diacétolol pour l'acébutolol,
 - le norpropoxyphène pour le dextropropoxyphène.
- De manière plus inattendue, il faut également considérer les métabolites conjugués de phase II, bien que ces derniers soient inactifs chez l'homme. Il a été montré dans le cas des estrogènes que les métabolites glucuroconjugés pouvaient être déconjugés dans les eaux usées.

Dans ces effluents urbains, les bactéries *Escherichia coli* en forte concentration libèrent une enzyme β-glucuronidase qui clive la liaison ester du conjugué et permet la régénération du composé parent (figure 2). Ce phénomène ne s'appliquerait pas aux autres conjugués et notamment au sulfoconjugués qui seraient plus persistants dans l'environnement.

Par ailleurs, l'innocuité d'un métabolite inactif du point de vue pharmacologique sur des organismes aquatiques n'étant pas évidente, cela entraîne une incertitude sur le risque que peuvent représenter ces métabolites pour l'environnement. Il convient donc également de les prendre en considération lorsqu'ils sont excrétés de manière

importante, ce qui est le cas de l'acétylsulfaméthoxazole (métabolite du sulfaméthoxazole) et des métabolites de l'ibuprofène carboxy et hydroxy-ibuprofène.

Enfin, avant d'être rejeté dans les eaux de surface, le médicament et ses métabolites peuvent être éliminés en partie dans les STEP selon des taux d'abattement variables en fonction de la molécule, ces dernières données sont encore limitées pour le moment.

L'impact des médicaments sur l'environnement

Concrètement, on ne sait encore que peu de choses des effets réels des médicaments sur les organismes aquatiques. Certaines classes de médicaments sont cependant identifiées comme présentant un risque pour les écosystèmes.

Les antibiotiques

Les antibiotiques et notamment l'amoxicilline, de par leur activité antibactérienne, sont très toxiques envers les algues bleues (qui sont des cyanobactéries). Les antibiotiques de la classe des macrolides présentent quand à eux une toxicité importante envers les algues vertes.

Les diverses classes d'antibiotiques pourraient présenter un risque pour les communautés algales et, par conséquent, sur d'autres organismes dépendant de ces algues.

Par ailleurs, la présence de résidus d'antibiotiques dans l'environnement pose la question plus vaste de la sélection de souches bactériennes résistantes. Divers projets au niveau national et européen commencent à s'intéresser à cette problématique.

Les estrogènes et les progestatifs

Les estrogènes naturels et synthétiques et notamment le 17- α -éthynylestradiol (EE2) sont une classe de substances pour lesquelles le risque pour les organismes aquatiques est avéré.

L'EE2 est capable d'induire des modifications dans le développement et le comportement sexuels pour des concentrations très faibles : féminisation de poissons mâles pour des concentrations d'exposition de 3 ng/L par exemple.

L'EE2 est l'une des rares molécules clairement identifiée comme polluant à risque et qui a déjà fait l'objet de nombreuses études.

Curieusement, très peu de données sont disponibles sur les effets et les concentrations dans les eaux des progestatifs ; pourtant, en France, pas moins de 18 molécules différentes (noréthistérone, lévonorgestrel, drospirénone...) sont utilisées dans la contraception ou pour le traitement hormonal substitutif (THS). Les résidus de ces molécules pourraient donc se retrouver en faibles concentrations dans l'environnement et entraîner des effets sur les fonctions et les comportements de reproduction des organismes aquatiques.

Ces atteintes des fonctions de reproduction peuvent conduire à une diminution, voire à la disparition de certaines populations d'organismes aquatiques.

Les anticancéreux

Le risque lié aux anticancéreux n'est pas encore défini mais ce sont des molécules très actives. Jusqu'à présent, elles ne sont que peu détectées dans les eaux de surface, mais elles sont potentiellement dangereuses pour l'environnement de par leur propriétés carcinogènes, mutagènes et génotoxiques particulières.

Évaluation du risque posé par les médicaments

Méthodologie

Le risque d'une molécule est défini par deux variables :

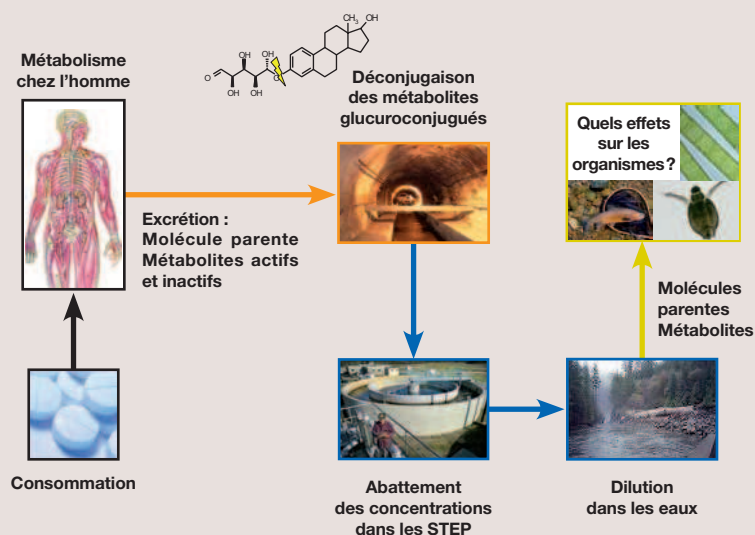
- l'exposition (concentration de la molécule dans le milieu considéré),
- l'effet (potentiel toxique de la molécule sur un ou plusieurs organismes).

La réglementation proposée par l'EMEA (EMEA 2006) propose d'évaluer le risque des médicaments selon une approche classique d'un point de vue écotoxicologique. Il s'agit de déterminer :

- d'une part, la concentration attendue dans l'environnement pour une molécule (PEC : concentration environnementale estimée) ;
- d'autre part, la concentration sans effet toxique pour les espèces les plus sensibles (PNEC : concentration prédite sans effet) et de faire un quotient des deux valeurs (rapport PEC/PNEC).

• Figure 2 : Devenir des médicaments depuis leur administration jusqu'à leur rejet dans l'environnement.

Une fois administré, le médicament est métabolisé, puis excrété. Dans les eaux usées, les métabolites glucuroconjugés peuvent être déconjugés. Une partie des médicaments et de leurs métabolites est dégradée dans les stations d'épuration, mais une fraction parvient au milieu aquatique, où elle peut exercer des effets sur les organismes.





© Camagré/FR. Mons

• Exposition d'invertébrés à la fluoxétine.

La valeur de ce quotient permet d'estimer le risque d'une molécule sur un écosystème ; on considère généralement qu'un quotient de risque d'une valeur inférieure à 1 indique un risque limité pour l'environnement. C'est la méthode communément appliquée pour les polluants environnementaux au niveau européen (TGD 2003).

Cette méthode se heurte cependant à deux obstacles dans le cas des médicaments :

– le premier concerne la donnée d'exposition dont nous avons vu plus haut qu'elle intègre un nombre important de variables ;

– le second concerne le manque de données d'effet sur les organismes aquatiques : les essais sont parfois longs et coûteux à mettre en place, et compte tenu du nombre élevé de molécules pharmaceutiques, il n'est pas possible de réaliser des essais standardisés de laboratoire sur toutes les molécules.

Une démarche préliminaire de sélection de molécules pharmaceutiques prioritaires est donc nécessaire afin de savoir quelles molécules chercher et où les chercher.

La démarche d'évaluation du risque pour une molécule tient également compte des notions de persistance dans l'environnement, de biodégradabilité et de bioaccumulation dans l'environnement. La problématique sur les médicaments étant encore récente, ces données sont encore très limitées.

La question des mélanges

La démarche d'évaluation du risque décrite au-dessus permet de rendre compte d'un risque pour une molécule donnée mais pas pour un ensemble de molécules susceptibles d'interagir entre elles. Or, si compte tenu des niveaux de concentration des médicaments dans l'environnement, le risque semble être limité si l'on considère les molécules de manière séparée, le problème de toxicité à long terme lié au mélange des substances pharmaceutiques ne peut être exclu.

Ce problème se pose à deux niveaux :

– risque d'additivité, voire de synergie d'action pour des médicaments appartenant aux mêmes classes thérapeutiques et chimiques ;

– interaction possible de molécules diverses entre elles.

L'additivité des effets a été montrée pour les AINS et les bêtabloquants dans des essais de laboratoire. Ainsi, pour des concentrations d'exposition identiques, les effets toxiques du mélange peuvent être plus importants que ceux d'une molécule considérée seule.

Le risque d'interaction médicamenteuse est également à considérer, interaction entre différentes molécules pharmaceutiques (risque bien connu chez l'homme), mais également entre médicaments et autres polluants environnementaux. De faibles concentrations de médicaments pourraient agir de manière indirecte, c'est-à-dire en perturbant l'homéostasie des organismes et en les rendant plus sensibles à d'autres polluants environnementaux (pesticides, hydrocarbures, métaux) ou à des agents infectieux.

La place des données pharmacologiques dans l'évaluation du risque

Afin de faciliter l'évaluation du risque des médicaments, de mieux évaluer leur toxicité et leur comportement dans l'environnement, plusieurs auteurs (Seiler, 2002 ; Lange et Dietrich, 2002 ; Jjemba, 2006) ont discuté de la possible utilisation des données pharmacologiques et de leur adaptation à la problématique environnementale.

Les propriétés pharmacodynamiques, les mécanismes d'action et les concentrations plasmatiques thérapeutiques d'un composé pharmaceutique sont des données connues (par les dossiers d'AMM entre autres). Il est donc intéressant d'essayer d'extrapoler ces données provenant d'études sur les mammifères sur les espèces aquatiques. Cependant, il faut considérer le fait que les effets pharmacologiques recherchés chez l'homme peuvent parfois entraîner des effets totalement différents chez d'autres organismes et notamment chez les organismes aquatiques. De même, des effets négligeables ou considérés comme tels chez l'homme pourraient avoir des conséquences significatives chez d'autres organismes.

Les prostaglandines jouent un rôle dans l'inflammation chez l'homme tandis que chez les oiseaux, elles contribuent au processus de calcification de la coquille des œufs ; chez le poisson, les prostaglandines sont également impliquées dans les phénomènes de reproduction.

La fluvoxamine, inhibiteur de la recapture de la sérotonine, induit la parturition chez un mollusque bivalve *Sphaerium striatum*, la sérotonine étant impliquée chez ces organismes dans les fonctions de reproduction.

Les mécanismes d'action et les effets secondaires sont donc susceptibles de différer entre les mammifères et les autres organismes, et notamment les invertébrés. Dans d'autres cas pourtant, ces mécanismes d'action et effets sont comparables : Schwaiger et al. (2004) ont montré que le diclofénac (AINS de type aryl-carboxylique) cause chez le poisson des atteintes rénales comparables à celles observées chez des mammifères ou des humains.

Par ailleurs, les données de pharmacocinétique pourraient potentiellement contribuer à prévoir le comportement des molécules dans l'environnement. Il existe de nombreux paramètres qui évaluent le comportement des médicaments dans l'organisme : la biodisponibilité, la demi-vie d'élimination (temps de résidence du composé dans l'organisme humain), le taux de fixation aux protéines plasmatiques, le volume apparent de distribution... Ces paramètres étant influencés par les mêmes caractéristiques que les paramètres qui décrivent le comportement d'une molécule dans l'environnement (lipophilie, caractère acido-basique, pH, pKa...), ils peuvent être mis en parallèle par analogie.

Une étude récente (Williams et al., 2006) établit une corrélation entre le volume apparent de distribution Vd et le coefficient de partition Kd. Le Vd est le volume virtuel qui estime la distribution d'une molécule dans l'organisme et le Kd mesure la capacité d'adsorption d'une molécule sur une phase solide. Un Vd élevé indique que la molécule se distribue largement dans les différents organes ou se lie de manière importante aux tissus et un Kd important indique que le composé s'adsorbe de manière importante au sédiment des rivières ou aux matières en suspension dans les eaux. Le Kd étant un paramètre difficile à mesurer, le Vd permettrait donc d'en estimer une valeur cohérente, les résultats de cette étude devant être confirmés.

La prise en compte de l'environnement du point de vue réglementaire, une législation naissante

Le cadre réglementaire proposé par l'EMA pour l'évaluation du risque environnemental des médicaments répond à l'amendement de l'article 8(3) de la directive européenne 2001/83/EC qui stipule que « l'évaluation du

risque potentiel pour l'environnement d'un médicament doit être considérée, son impact sur l'environnement évalué, et que des mesures spécifiques doivent être prises pour limiter un tel impact ».

Les industriels sont désormais tenus d'évaluer le risque environnemental. Cette réglementation s'applique à toutes les molécules pour lesquelles les demandes d'AMM sont postérieures au 20 novembre 2005.

Cette réglementation s'applique également à toutes les molécules déjà autorisées pour lesquelles une modification majeure d'AMM est demandée : variations de type II selon la législation (modification d'indication ou de posologie par exemple), si cette modification conduit à une augmentation significative de l'exposition environnementale par le médicament.

Les vitamines, électrolytes, acides aminés, peptides, protéines, carbohydrates et lipides, ainsi que les vaccins sont exemptés de cette réglementation.

Important !

Bien que l'impact environnemental soit désormais pris en compte dans le dossier d'AMM, il n'est pas encore considéré comme un critère de refus de l'autorisation de mise sur le marché (EMA 2006).

Quelles mesures pour limiter l'impact environnemental ?

Il apparaît évidemment très difficile de limiter l'usage d'un médicament, au vu des bénéfices qu'il apporte pour la santé des malades, même si celui-ci présente un risque pour l'environnement.

La réglementation de l'EMA propose donc dans un premier temps des mesures destinées à limiter l'exposition environnementale quand ce risque ne peut être exclu.

L'EMA recommande de faire figurer une indication des risques potentiels pour l'environnement sur le conditionnement, la notice ou les RCP, accompagnée de précautions d'utilisation engageant les patients et les professionnels de santé à mieux stocker les médicaments ainsi qu'à mieux gérer les déchets.

Pour le moment, aucune mesure plus contraignante n'est envisagée dans la réglementation de l'EMA.

Concernant la gestion de ce risque au niveau des structures hospitalières, la mise en place de traitements des effluents directement sur le site serait un réel progrès. Ceci nécessitant un investissement important pour l'hôpital, il semble d'abord nécessaire d'évaluer l'impact des effluents hospitaliers sur l'environnement proche avant l'arrivée aux STEP, en déterminant les quantités de médicaments rejetées, et en évaluant la toxicité et la mutagénicité des effluents.

Les stations d'épuration des eaux représentant la dernière barrière entre les eaux usées et le rejet dans les rivières, des efforts devraient être mis en œuvre afin d'améliorer les traitements et la qualité des eaux rejetées. Cependant, ces stations doivent également gérer le traitement de nombreux autres polluants, et il ne sera pas possible de se reposer sur ces seules structures pour limiter les rejets de substances pharmaceutiques dans le milieu aquatique.

Conclusion

La contamination des milieux aquatiques par les médicaments est une préoccupation encore récente et il y a, pour le moment, plus de questions posées que de véritables réponses. Si cette interrogation ne doit pas conduire à un alarmisme hors de propos, il est

pourtant justifié de s'intéresser à cette problématique et il existe désormais un cadre réglementaire qui prend en compte l'impact environnemental des rejets de médicaments et qui vise à diminuer les quantités rejetées dans l'environnement.

De nombreuses interrogations subsistent quand à l'impact réel des substances pharmaceutiques humaines et vétérinaires sur les écosystèmes mais également sur la santé humaine. Beaucoup d'efforts doivent être fournis, tant au niveau de l'évaluation du risque par les environnementalistes (pour l'évaluation des effets) qu'au niveau de sa prise en charge et de sa gestion par les administrations.

D'un point de vue scientifique, cette problématique est très intéressante dans la mesure où elle permet d'établir un lien entre toxicologie et écotoxicologie : l'utilisation

Pour en savoir plus

- Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps). Communication personnelle. 2006.
- Andreozzi R, Caprio V, Ciniglia C, De Champdore M, Lo Giudice R, Marotta R, Zuccato E. Antibiotics in the environment: occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin. *Environmental Science and Technology*. 2004; 38(24): 6832-8.
- Ashton D, Hilton M, Thomas KV. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *The Science of the Total Environment*. 2004; 333: 167-84.
- Ayscough NJ, Fawell J, Franklin G, Young W. Review of human pharmaceuticals in the environment. R&D. Technical report P390. Water Research Centre, Environment Agency, R&D Dissemination Centre, WRC Franklin Road Swindon UK. 2000.
- Bendz D, Paxeus NA, Ginn TR, Loge FJ. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Høje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials*. 2005; 122: 195-204.
- Besse JP, Garric J. Établissement d'une liste de substances pharmaceutiques prioritaires pour les eaux de surface. Rapport pour l'Agence de l'eau Rhône-Méditerranée et Corse. Données non-publiées.
- Boxall ABA, Fogg LA, Kay P, Blackwell PA, Pemberton EJ, Croxford A. Prioritisation of veterinary medicines in the UK environment. *Toxicology Letters*. 2003; 142(3): 207-18.
- Budzinski H, Togola A. Présence des résidus de médicaments dans les différents compartiments du milieu aquatique. *Environnement Risques et Santé*. 2006; 5: 248-52.
- Capleton AC, Courage C, Rumsby P, Holmes P, Stutt E, Boxall ABA, Levy LS. Prioritising veterinary medicines according to their potential indirect human exposure and toxicity profile. *Toxicology Letters*. 2006; 163(3): 213-23.
- Cha YI, Kim SH, Solnica-Krezel L, Dubois RN. Cyclooxygenase-1 signaling is required for vascular tube formation during development. *Developmental Biology*. 2005; 282: 274-83.
- Cleuvers M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters*. 2003; 142(3): 185-94.
- D'Ascenzo G, Di Corcia A, Gentili A, Mancini R, Mastropasqua R, Nazzari M, Samperi R. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *The Science of the Total Environment*. 2003; 302: 199-209.
- EMEA. Note for guidance on environmental risk assessment of medicinal products for human use. Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/4447/00. Committee for proprietary medicinal products. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, London, UK. 2006.
- Fent K, Weston AA, Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*. 2006; 76(2): 122-59.
- Fong PP. Zebra mussel spawning is induced in low concentrations of putative serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs). *Journal of Experimental Zoology*. 1998; 280(3): 260-4.
- Fraysse B, Garric J. Prediction and experimental validation of acute toxicity of β -blockers in *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2005; 24(10): 2470-6.
- Garric J, Ferrai B. Les substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques : présence, comportement et impact. 2004; TSM 11: 47-58.
- Hirsch R, Ternes T, Haberer K, Kratz KL. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*. 1999; 225: 109-18.
- Holten-Lützhøft HC, Halling-Sørensen B, Jørgensen SE. Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 1999; 36(1): 1-6.
- Jjemba PK. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2006; 63(1): 113-30.
- Knacker T, Duis K, Ternes T, Fenner K, Escher B, Schmitt H, Römbke J, Garric J, Hutchinson T, Boxall ABA. The EU-project ERAPharm - Incentives for the further development of guidance documents? *Environmental Science and Pollution Research*. 2005; 12(2): 62-5.

des données pharmacologiques existantes (pharmacodynamiques et pharmacocinétiques) pourrait conduire à une meilleure compréhension des effets des médicaments sur les organismes aquatiques et de leur comportement dans l'environnement par exemple.

D'un point de vue public, il s'agit d'un problème complexe à traiter dans la mesure où il engage divers organismes, industriels et consommateurs dont les intérêts sont divergents. Si l'on se place d'un point de vue strictement environnemental, une diminution de la consommation de médicaments est une bonne chose (rappelons que la France est le pays européen où l'on en consomme le plus), mais ce type de réflexion ne peut être engagé par les professionnels qui s'occupent de l'environnement.

La question de la gestion du risque des médicaments

et notamment du point de vue de la réglementation et des mesures à appliquer doit être discutée de manière approfondie par les différents intéressés des secteurs de l'environnement et de la santé : agences publiques et services responsables de la santé publique (EMEA, Afssaps, Afssa, hôpitaux), de l'environnement (Afsset, Agences de l'eau, Drass, Drire...), d'une part, industriels et professionnels de santé (médecins et pharmaciens), d'autre part. ■

Jean-Philippe Besse

Pharmacien, chargé d'études

Unité biologie des écosystèmes aquatiques

CEMAGREF, groupement de Lyon (69)

besse@lyon.cemagref.fr

- Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US Streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ. Science and Technology*. 2002; 36: 1202-11.
- Kolodziej EP, Gray JL, Sedlak DL. Quantification of steroid hormones with pheromonal properties in municipal wastewater effluent. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2003; 22(11): 2622-9.
- Lange R, Dietrich D. Environmental risk assessment of pharmaceutical drug substances--conceptual considerations. *Toxicology Letters*. 2002; 131(1-2): 97-104.
- Lundholm CE. DDE-induced eggshell thinning in birds: effects of *p,p'*-DDE on the calcium and prostaglandin metabolism of the eggshell gland. *Comp. Biochem. Phys.* 1997; C118(2): 113-28.
- Mathiessen P, Gibbs P. Critical appraisal of the evidence for the tributyltin-mediated endocrine disruption in molluscs. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 1998; 17: 37-43.
- Mercure F, Van Der Kraak G. Mechanisms of action of free arachidonic acid on ovarian steroid production in the goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1996; 102: 130-40.
- Miège C, Favier M, Brosse C, Canler JP, Coquery M. Occurrence of betablockers in effluents of wastewater treatment plants from the Lyon area (France) and risk assessment for the downstream rivers. *Talanta*. 2006; 70(4): 739-44.
- Mills LJ, Chichester C. Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? *Science of the Total Environment*. 2005; 343(1-3): 1-34.
- Parrott JL, Blunt BR. Life-cycle exposure of fathead minnows (*Pimephales promelas*) to an ethinylestradiol concentration below 1 ng/L reduces egg fertilization success and demasculinizes males. *Environmental Toxicology*. 2005; 20(2): 131-41.
- Oaks JL, Gilbert M, Virani MZ, Watson RT, Meteyer CU, Rideout BA, Shivaprasad HL, Ahmed S, Chaudhry MJ, Arshad M and al. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*. 2004; 427(6975): 630-3.
- Schwaiger J, Ferling H, Mallow U, Wintermayr H, Negele RD. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*. 2004; 68(2): 141-50.
- Seiler JP. Pharmacodynamic activity of drugs and ecotoxicology-can the two be connected? *Toxicology Letters*. 2002; 131(1-2): 105-15.
- Sonnenschein C, Soto AM. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 1998; 65: 143-50.
- Ternes TA, Kreckel P, Mueller J. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Science of the Total Environment*. 1999; 225: 91-9.
- Ternes TA. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*. 1998; 32: 3245-60.
- TGD Technical Guidance Document. Technical Guidance Document in support of Council Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) 1488/94 on risk assessment for existing substances. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg. 2003.
- VICH. Environmental impact assessment for veterinary medicinal products Phase I. CVMP/ VICH/592/98-final. 2000.
- VICH. VICH Topic GL 38 (Environmental impact assessments (EIAs) for veterinary medicinal products (VMPs) - Phase II (CVMP/ VICH/790/03-Final). 2004.
- Wiegel S, Aulinger A, Brockmeyer R, Harms H, Löffler J, Reincke H, Schmidt R, Wanke A. Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries. *Chemosphere*. 2004; 57(2): 107-26.
- Williams M, Saison CLA, Williams DB, Kookana RS. Can aquatic distribution of human pharmaceuticals be related to pharmacological data? *Chemosphere*. 2006; (65): 2253-9.
- Zuccato E, Castiglioni S, Fanelli R. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*. 2005; 122(3): 205-9.

Remerciements

L'auteur remercie le Dr Jeanne Garric, directrice de recherche au CEMAGREF (groupement de Lyon), ainsi que le Dr Christine Barreto ainsi que toute l'équipe du Centre de documentation et d'information pharmaceutique (CDIP) de la Pharmacie centrale des hôpitaux de Lyon pour leur accueil et leur aide. Enfin, l'auteur remercie Julien Jean, interne des hôpitaux de Lyon, pour la relecture et ses commentaires.

Rejet des substances pharmaceutiques dans le milieu aquatique, ce qu'il faut retenir

L'impact des substances pharmaceutiques sur les écosystèmes en général pourrait avoir des conséquences importantes et s'inscrit dans un contexte de préservation de l'environnement et des ressources en eau.

Le Plan national santé environnement intègre dans son action 11, qui vise à limiter la pollution des eaux, une directive qui concerne les médicaments.

L'Agence européenne d'évaluation des médicaments met en place et discute des procédures réglementaires visant à évaluer le risque lié aux substances médicamenteuses humaines et vétérinaires dans les différents compartiments de l'environnement.

Deux sources principales de contamination des milieux pour les médicaments à usage humain :

- la contamination des milieux *via* la consommation de médicaments ;
- la contamination directe des eaux par les rejets d'usines de fabrication ou de conditionnement.

La consommation des médicaments au niveau de la population pourrait représenter la principale source de contamination des milieux.

Les effluents hospitaliers sont une source particulière de contamination médicamenteuse et peuvent présenter un profil spécifique de contamination : antibiotiques, anti-infectieux, produits de contraste et anticancéreux.

Les rejets des usines de fabrication ou de conditionnement des médicaments pourraient entraîner des pics de contamination localisés.

Les médicaments à usage vétérinaire pénètrent dans le milieu par des voies différentes que celles empruntées par les médicaments à usage humain :

- soit par contamination directe des eaux *via* les élevages piscicoles,
- soit de manière indirecte lors du lessivage par les eaux de pluie des sols contaminés par des élevages intensifs.

Les produits concernés dans ce cas sont essentiellement des antibiotiques, des anti-parasitaires et des promoteurs de croissance.

Des études ont mis en évidence la présence de médicaments à usage humain dans les eaux de surface, principalement *via* les effluents des stations d'épuration urbaines. Les concentrations sont faibles : de l'ordre de quelques dizaines de ng/L dans les eaux de surface et de quelques centaines de ng/L dans les effluents de STEP.

Les médicaments peuvent parvenir jusque dans les eaux potables et les nappes phréatiques. Les concentrations sont généralement très faibles, de l'ordre du ng/L.

Les antibiotiques pourraient représenter un risque pour les communautés algales et, par conséquent, sur d'autres organismes dépendant de ces algues. La présence de résidus d'antibiotiques dans l'environnement

pose aussi la question plus vaste de la sélection de souches bactériennes résistantes.

Les estrogènes naturels et synthétiques (notamment l'éthinylestradiol) représentent un risque avéré pour les organismes aquatiques : les atteintes des fonctions de reproduction peuvent conduire à une diminution, voire à la disparition de certaines populations d'organismes aquatiques.

Les anticancéreux ne sont que peu détectés jusqu'à présent dans les eaux de surface, mais sont potentiellement dangereux pour l'environnement de par leur propriétés carcinogènes, mutagènes et génotoxiques particulières.

Les industriels sont désormais tenus d'évaluer le risque environnemental. Cette réglementation s'applique :

- à toutes les molécules pour lesquelles les demandes d'AMM sont postérieures au 20 novembre 2005 ;



– à toutes les molécules déjà autorisées pour lesquelles une modification majeure d'AMM est demandée.

Bien que l'impact environnemental soit désormais pris en compte dans le dossier d'AMM, il ne peut pas être considéré comme un critère de refus de l'AMM.

Des mesures sont prises pour limiter l'impact environnemental :

– l'EMA recommande de faire figurer une indication des risques potentiels pour l'environnement sur le conditionnement, la notice ou les RCP, accompagnée de précau-

tions d'utilisation engageant les patients et les professionnels de santé à mieux stocker les médicaments ainsi qu'à mieux gérer les déchets ;

– au niveau des structures hospitalières, la mise en place de traitements des effluents directement sur le site serait un réel progrès ;

– les stations d'épuration des eaux représentant la dernière barrière entre les eaux usées et le rejet dans les rivières, des efforts devraient être mis en œuvre afin d'améliorer les traitements et la qualité des eaux rejetées.

QCM Questionnaire de connaissances médicales



1. Les traitements dans les STEP (stations de traitement et d'épuration des eaux usées) permettent l'élimination de la totalité des molécules médicamenteuses polluantes.

- A Vrai
B Faux

2. Les effluents hospitaliers sont une source particulière de contamination médicamenteuse et peuvent présenter un profil spécifique de contamination. Citez quatre classes de médicaments particulièrement impliqués.

3. Un certain nombre d'études ont mis en évidence la présence de médicaments à usage humain dans les eaux de surface à de faibles concentrations. De quel ordre sont-elles ?

- A De quelques ng/L
B De quelques dizaines de ng/L
C De quelques µg/L
D De quelques mg/L

4. Dans les effluents urbains, les bactéries *Escherichia coli* en forte concentration libèrent une enzyme β-glucuronidase qui clive la liaison ester du médicament conjugué et permet la régénération du composé parent.

- A Vrai
B Faux

5. Les diverses classes d'antibiotiques ne représentent aucun risque pour les algues.

- A Vrai
B Faux

6. Les estrogènes naturels et synthétiques et notamment le 17-α-éthinyloestradiol (EE2) sont une classe de substances pour lesquelles le risque pour les organismes aquatiques est avéré.

- A Vrai
B Faux

7. Les industriels ne sont actuellement pas tenus d'évaluer le risque environnemental.

- A Vrai
B Faux

8. L'impact environnemental est désormais pris en compte dans le dossier d'AMM. Cet impact :

- A ne peut pas être considéré comme un critère de refus de l'AMM
B peut être considéré comme un critère de refus de l'AMM

9. Les médicaments ne peuvent pas parvenir jusque dans les eaux potables et les nappes phréatiques.

- A Vrai
B Faux

10. La présence de résidus d'antibiotiques dans l'environnement pose la vaste question de la sélection de souches bactériennes résistantes.

- A Vrai
B Faux

Réponses

1. B : les industriels sont désormais tenus d'évaluer le risque environnemental. Cette réglementation s'applique à toutes les molécules pour lesquelles les demandes d'AMM sont postérieures au 20 novembre 2005.
2. Antibiotiques, anti-infectieux, produits de contraste et anticancéreux.
3. B
4. A
5. B : les diverses classes d'antibiotiques pourraient présenter un risque pour les communautés algales et, par conséquent, sur d'autres organismes dépendant de ces algues.
6. A : l'EE2 est capable d'induire des modifications dans le développement et le comportement sexuels pour des concentrations très faibles : feminitation de poissons mâles pour des concentrations d'exposition de 3 ng/L par exemple.
7. B : les industriels ne sont actuellement pas tenus d'évaluer le risque environnemental.
8. A
9. B : les concentrations sont généralement très faibles, de l'ordre du ng/L. A : divers projets au niveau national et européen commencent à s'intéresser à cette problématique.

Chapitre 2.

Revue des différentes méthodologies utilisées pour la priorisation ou l'évaluation du risque des médicaments à usage humain

Extrait de “Environmental risk assessment and prioritization strategies for human pharmaceuticals, review and discussion” (Version non définitive). In B. Roig and E. Touraud, Eds, Pharmaceutical in the Environment: current knowledge and need assessment to reduce presence and impact. IWA Publishing, à paraître.

En 2007, un projet de recherche baptisé Knappé (*Knowledge and Need Assessment on Pharmaceutical Products in Environmental waters*) a été mis en place. Ce projet, initié par l'Ecole des Mines d'Alès était financé par la Commission Européenne et soutenu par la Fédération Européenne de l'Industrie Pharmaceutique (EFPIA).

Ce projet portait sur l'identification, à partir des connaissances disponibles et des avancées scientifiques en cours, des actions prioritaires à mener dans le domaine scientifique (R&D), réglementaire et social pour limiter l'occurrence et l'impact des produits pharmaceutiques dans l'environnement. Les résultats de ce projet sont disponibles sur le site www.knappe.eu.org.

Dans le cadre de ce projet, nous avons réalisé un travail de synthèse bibliographique sur :

- d'une part, les différentes méthodes de priorisation et d'évaluation de risque mises en place dans différents pays au cours de ces dernières années,
- et d'autre part sur les différents paramètres utilisés pour évaluer l'exposition et les effets biologiques des substances pharmaceutiques dans les eaux de surface.

Cette synthèse a fait l'objet d'un « deliverable » dans le cadre du projet Knappé (Deliverable D-4.3. *Environmental typology of pharmaceutical products with regard to ERA procedure*). Ce travail a été ensuite revu et complété pour être intégré comme chapitre de livre dans un ouvrage à paraître : *Pharmaceutical in the Environment: current knowledge and need assessment to reduce presence and impact*. B. Roig et E. Touraud, Eds. IWA Publishing.

En introduction au travail de priorisation proprement dit, nous proposons ici la première partie de ce chapitre, consacrée à la revue des méthodes de priorisation et d'évaluation de risque environnemental pour les médicaments à usage humain.

Les travaux revus dans ce chapitre sont présentés par pays et selon un ordre chronologique ; les références des travaux ayant servi de base à cette revue sont les suivantes :

- Stuer-Lauridsen et al. 2000 pour le Danemark,
- Jones et al. 2002 et Hilton et al. 2003 pour l'Angleterre,
- Huschek et al. 2004 pour l'Allemagne,
- Zuccato et al. 2005 pour l'Italie,
- Carlsson et al. 2006a et le site www.janusinfo.se/environment pour la Suède,
- Jjemba 2006, Cooper et al. 2008 et Kostich et Lazorchak 2008 pour les Etats-Unis,
- Lienert et al. 2007 pour la Suisse,
- Besse et al. 2008, Besse et Garric 2008 et Jean 2008 pour la France.

NB : L'ensemble des références citées est listé avec le second extrait du livre, dans le chapitre 9.

1. Introduction

It is now recognized that pharmaceutical compounds reach the environment and can be considered as environmental contaminants. As a wide range of drugs including antibiotics, antiphlogistics, blood lipid-lowering agents, antiepileptics, β -blockers, hormones modulators and so on, have been found in the effluents and surface waters of several countries, there is a growing need to assess their environmental risk. Consequently, monitoring pharmaceuticals in the surface water and/or ground water is becoming mandatory.

Prior to implement any monitoring program in the aquatic environment, there is a need to rank pharmaceuticals according to their environmental relevance (i.e. their presence in the environment and their potential for ecotoxicological effects), because of the high number of molecules used as marketed human drugs. Indeed, it is not conceivable to search for all molecules in the environment and test all of them for ecotoxicity. Therefore, methodologies need to be developed to select for priority molecules. Priority molecules can be defined as molecules for which a monitoring strategy and eventually ecotoxicological assays are to be implemented. Similarly to the model used in the existing regulatory approaches for the assessment of the environmental risk of pharmaceuticals, the prioritization of pharmaceuticals can be based on risk quotients, as described in the current European Medicine Evaluation Agency (EMA 2006) guideline for environmental risk assessment (ERA) for pharmaceuticals. To build such risk ratios, PEC (predicted environmental concentration) and PNEC (predicted no effect concentration) values are required.

A number of studies have been conducted in the ten past years, with regard to environmental risk assessment (ERA) and/or strategies to prioritize pharmaceuticals. Determination of the exposure is quite similar in all studies but the assessment of the effect differs from a study to another: as a consequence of the lack of the ecotoxicological data, a number of works have focus on alternative ways to assess the biological effects of pharmaceuticals on non-target aquatic organisms; taking into account pharmacological data, quantitative structure relationships (QSARs), or even evolutionary conservation of molecular drug targets.

In this chapter we therefore propose to :

1. Draw an overview of works conducted in different countries with regard to ERA and/or prioritization of human pharmaceuticals.
2. Give an example of such a prioritization strategy, which uses ecotoxicological, but also human pharmacological and physico-chemical data.

3. Finally, discuss the different criteria used for the exposure and hazard assessment of pharmaceuticals, and notably parameters influencing the quantities of pharmaceuticals reaching the aquatic environment, and parameters used to assess their biological effects on aquatic species.

2. Review of environmental risk assessment and prioritization strategies for human pharmaceuticals in different countries:

For the last ten years, a number of risk assessment and/or prioritization strategies have been implemented in Europe and United-States. Here are presented the main works, by country and in chronological order.

2.1 Denmark

One of the first environmental risk assessment for human pharmaceuticals has been conducted in 2000 (Stuer-Lauridsen et al., 2000). The methodology was based on the use of risk ratios (Equation 1). PEC values were calculated using the EU draft guideline for medicinal products for human use (EU 1994), which was a preliminary version of the EMEA guideline. Risk ratios and PEC for surface water were calculated using Equation 2:

$$RCR = \frac{PEC_w}{PNEC} \quad \text{Equation 2}$$

$$PEC_w = \frac{A \times (100 - R)}{365 \times P \times V \times D \times 100} \quad \text{Equation 3}$$

RCR: Risk ratio. **PEC_w:** Predicted Environmental Concentrations for water. **PNEC:** Predicted No effect Concentration. **A :** amount used per year (kg). **R:** removal in wastewater treatment plants, (in percent, set to 0 as a worst case hypothesis). **P:** number of inhabitants. **V:** volume of wastewater per day per capita. **D:** dilution factor in the environment (a default factor of 10 was used).

The primary selection of molecules to assess was based on sales figures for human pharmaceuticals in Denmark, published by the Danish Medicine Agency. The 25 most used pharmaceuticals for the year 1997 were selected. Consumption data were given as Defined Daily Dose (DDD) for each active drug; where DDD is “the assumed average maintenance dose per day for a drug used for its main indication in adults” (www.whocc.no). The annual consumption for pharmaceuticals in weight units (kg) was then recalculated by multiplying

number of DDD with the respective DDD value for each pharmaceutical. Finally, a list of 20 molecules was chosen for the purpose of the risk assessment.

Calculated PECs for surface water were then compared to the threshold value of 1 ng.L⁻¹. All calculated PECs exceeded this cut-off value, meaning that risk could not be excluded for any of the compounds. Therefore, every of the considered pharmaceuticals had to be submitted to a refined assessment. All PEC values were between 1 and 100 ng.L⁻¹ and were within a factor of 2-5 of measured concentrations.

Risk ratios were calculated to assess the environmental risk, but the authors noticed that there was a lack of ecotoxicity data for pharmaceuticals, which precluded the calculation of risk quotients based on measured ecotoxicological values. Calculated risk ratios exceeded the cut-off value of one (indicating a risk) for ibuprofen, paracetamol and acetylsalicylic acid.

For a few compounds, estimated and experimental Kd values were available, and predicted concentrations in sewage sludge were calculated using equations 3, 4 and 5. Results showed large differences in such predicted concentrations, depending on the mode estimation of Kd: experimental, estimated with Kow, or estimated with Dow.

$$Kd = f_{oc} \times 0.41 \times Kow \quad \text{Equation 3}$$

$$Dow = \frac{Kow}{1 + 10^{pH - pKa}} \quad \text{Equation 4}$$

$$C_{sludge} = \frac{M_{act}}{Vw} = \frac{M_{act} \times (Kd + M_{sludge})}{Kd + M_{sludge}} \quad \text{Equation 5}$$

Kd : sorption coefficient (L.kg⁻¹). **f_{oc}** : fraction of organic carbon in sludge (default value = 0.35). **Dow** : Kow corrected for ionisable compounds. **C_{sludge}**: concentration of active substances sorbed on sludge. **M_{act}** : annual consumption of active compound. **Vw** : total annual wastewater in the considered country. **M_{sludge}** : annual sludge production.

Main conclusions of this work were that :

- Only partial set of data were available for pharmaceuticals.
- Measured concentrations were within a factor of 2-5 of the PECs.
- Calculation of PNEC was possible only for a few compounds due to limited ecotoxicological data.
- No toxicity data were available for the terrestrial compartment.

2.2 United Kingdom

Another aquatic environmental assessment of pharmaceuticals has been realised in England by Jones et al. (2002). This assessment was performed on the same basis as the one done by Stuer-Lauridsen et al. (2000) and used PEC/PNEC ratios.

PEC values for the 25 most consumed pharmaceuticals, in terms of DDD, were calculated using Equation 1 (EU 1994). PNEC values were calculated using available ecotoxicological data or modelled using the ECOSAR software (USEPA 2009). Risk ratios were greater than one (indicating a risk) only for 3 of the 25 selected pharmaceuticals: paracetamol, amoxicillin and mefenamic acid.

In addition to risk assessment, sludge concentrations were calculated as in Stuer-Lauridsen et al. (2000); and basic environmental modelling was performed with the determination of the Bioconcentration Factor (BCF) and removal rates and sludge sorption in wastewater treatment plants (STPs). These parameters were modelled using different software from the Estimation Program Interface (EPI) Suite from the USEPA (USEPA 2009).

Conclusions of this study were similar to those drawn by Stuer-Lauridsen et al (2000).

To assess the environmental risk for human pharmaceuticals, a report was commissioned from the UK Environment Agency. This report aimed at selecting some pharmaceuticals in order to conduct a targeted monitoring programme in a number of UK STPs and rivers. (Hilton et al., 2003). The selection methodology was determined by crossing different approaches: EU technical guidance on risk assessment (EU 1996), OSPAR dynamic system (OSPAR 2006; 2002) and literature review. This approach is displayed in figure 1 and summarized below:

1) *Calculation of risk ratios using EMEA guideline*, i.e. PEC and PNEC determination. Two lists of priority compounds were built using two different ways of calculation for PNEC values:

- determination of PNEC using therapeutic dose of the active substance ($PNEC_D = \text{therapeutic dose} / 1000$).
- determination of PNEC using a QSAR approach ($PNEC_T = \text{QSAR value} / 100$).

Table 1. Top ten substances identified by the prioritisation approaches following further screening (Hilton et al., 2003)

Therapeutic dose approach	QSAR/experimental approach
Aminophylline	Lofepamine
Beclamethasone	Dextropropoxyphene
Theophylline	Procyclidine
Paracetamol	Tramadol
Norethisterone	Paracetamol
Codeine	Clotrimazole
Furosemide	Thiridazine
Atenolol	Mebeverine
Bendroflumethiazide	Terbinafine
Chlorphenamine	Tamoxifen

PEC were calculated for the top 500 substances consumed in UK, using Equation 2. Data were taken from the British Pharmaceutical Industry and excluded sales to hospital and sales of over-the-counter (pharmaceuticals delivered without prescription) in outlets other than pharmacies and dispensing doctors.

2) *Effect assessment using the OSPAR PBT criterion.* In this system, each single substance is defined by three criteria: Persistence, Bioaccumulation and Toxicity (PBT), defined by physicochemical data. However, required data were available only for a few of the pharmaceuticals investigated.

The PBT index is part of the OSPAR (OSPAR 2006; 2002) dynamec system to assess the hazard of single substances in the following terms:

- Persistence: ability to resist degradation in the aquatic environment,
- Bioaccumulation: accumulation in adipose tissue of aquatic organisms,
- Toxicity: potential to poison aquatic organisms.

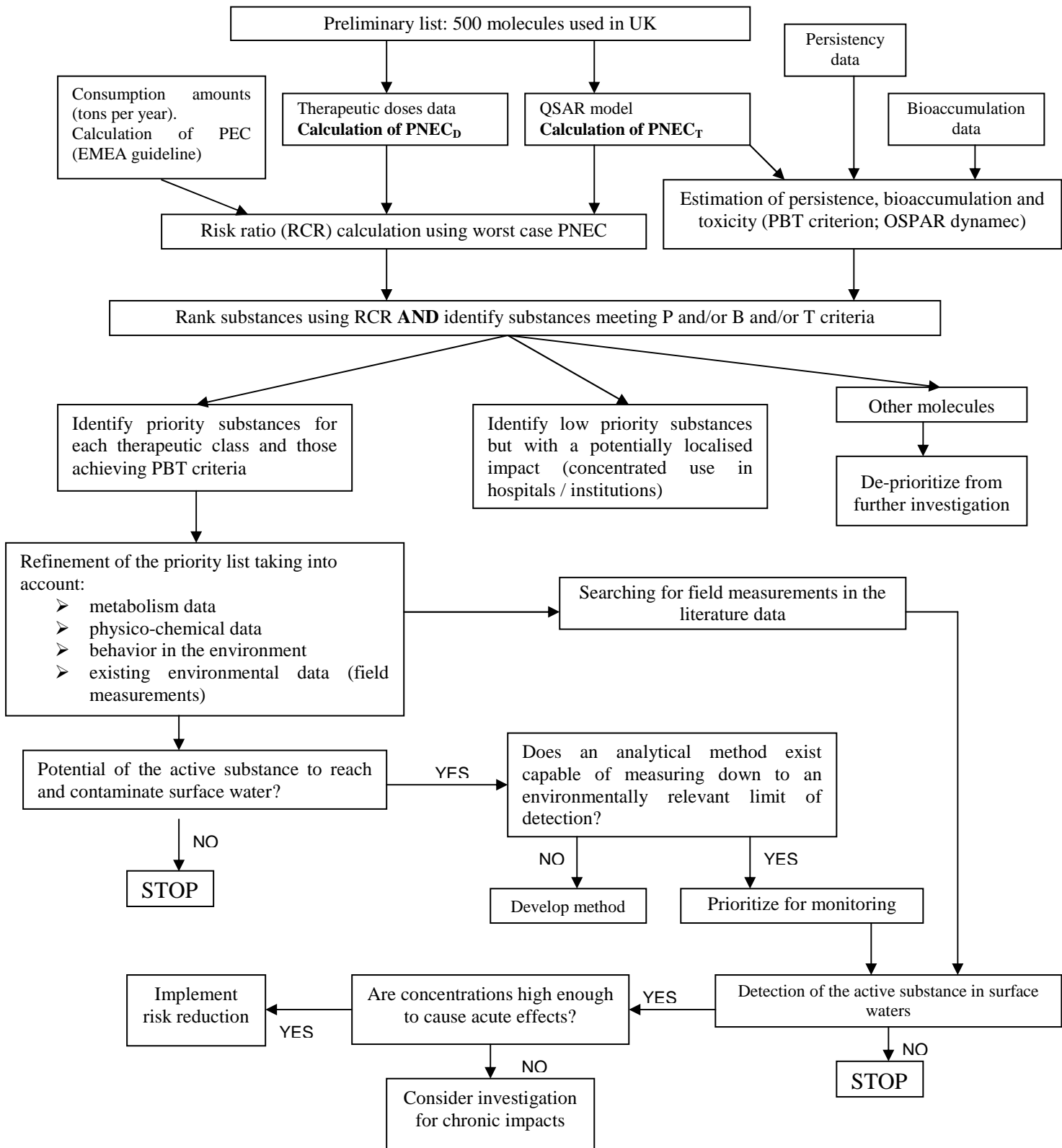


Figure 1: Tiered approach for selection of pharmaceuticals (Hilton et al., 2003).

3) *Review of literature data.* Existing data on occurrence of pharmaceutical substances and existence of analytical method or analytical feasibility were reviewed.

4) *Derivation of a list of compounds to be included in the monitoring programme according to the following factors:*

- Is the substance near the top of the priority list (Figure 1) ?
- Is the substance highlighted by PBT criteria ?
- Should substances across a range of different therapeutic classes be selected ?
- Has the substance been previously detected in either surface waters or STP effluents ?
- Is there a reliable analytical method available for the substance ?

As this work was directed toward environmental monitoring, it seems that analytical criteria have been determining in the choice of the final priority list: the final list (Table 2) only contains 2 of the 19 pharmaceuticals formerly selected on the basis of PEC/PNEC ratios and OSPAR criterion.

Table 2. *Pharmaceutical compounds selected for targeted monitoring (Hilton et al., 2003).*

Pharmaceutical compounds selected for targeted monitoring	
Trimethoprim	Erythromycin
Diclofenac	Dextropropoxyphene
Sulfamethoxazole	Lofepramine
Paracetamol	Tamoxifen
Mefenamic acid	Propranolol
Ibuprofen	

2.3 Germany

An extensive environmental risk assessment for the 111 highest-selling human drug substances (annual sales > 5000 kg) was conducted in Germany (Huschek et al., 2004). This ERA closely followed the EMEA's stepwise procedure. This procedure (EMEA 2003) is tiered in two main phases: exposure assessment, then fate and effect analysis (see Chapter 1 for details). Results at each step were discussed.

Phase I PECs were calculated using the following equation Equation 6.

$$PEC_{surfacewater} = \frac{DOSE_{ai} \times F_{pen}}{WW_{inhab} \times Dilution \times 100} \quad \text{Equation 6}$$

DOSE_{ai} : Maximum daily dose consumed per inhabitant ($mg.hab^{-1}.day^{-1}$). **F_{pen}** : Percentage of market penetration (default value = 1%). **WW_{inhab}** : Amount of wastewater per inhabitant per day ($l.hab^{-1}.day^{-1}$; default value = 200 l). **Dilution** : Dilution factor from STP to surface water (default value = 10).

Phase 2 PECs were refined accordingly with EMEA requirements, i.e. F_{pen} refinement (Equation 7), according to the 2003 version of the guideline; but also using actual annual sales of pharmaceuticals, as in previous¹ versions (Equation 2). As PEC calculation has been modified in the 2003 version in comparison with previous versions of the guideline, authors compared PEC values obtained with each way of calculation and differences were noticed.

$$F_{pen} = \frac{consumption \times 100}{DDD \times hab \times 365} \quad \text{Equation 7}$$

consumption: consumption of active substance ($mg.year^{-1}$). **DDD**: defined daily dose (average daily dose per inhabitant). **hab**: number of inhabitants.

As 2003 (and previous) version of the EMEA guideline did not take into account metabolism of pharmaceuticals, Huschek et al. choose to consider the fraction of pharmaceuticals excreted. They determined a PT_{index} (which is equivalent to the F_{excreta} from EMEA guideline of 2006) to establish refined PEC values. Authors quoted the fact that excretion rates are important to consider for PEC refinement. This study was the first to introduce the excreted fraction of pharmaceuticals for the exposure assessment.

PEC/PNEC ratios were also calculated. Differences were noticed depending on the way of calculation of PECs. Ratios above 1 were achieved for antibiotics ciprofloxacin and clarithromycin in each case, but only with the PEC refinement calculation of the 2003 version of the guideline for acetylsalicylic acid, paracetamol, povidone iodine and ethinylestradiol.

Conclusions of this study were that :

¹ Previous versions are EMEA 2001 and EMEA 2000. EU 1994 can also be considered as a draft version of EMEA guideline for human pharmaceuticals. EMEA 2006 is the version in current use.

- All of the 111 investigated molecules had PECs above the threshold value of $0.01 \mu\text{g.L}^{-1}$ (10 ng.L^{-1}), meaning that phase 2 environmental effect analysis should be performed for all substances with DDD values greater than 2 mg.
- Information on metabolism data should be considered for an initial risk assessment of potential risks of pharmaceuticals to the environment.
- Results showed that PEC values corrected by the PT_{index} (human metabolism) were comparable to STP effluent concentrations, except for active substances that metabolize and are biodegradable in STP.
- PNEC calculations were impaired by the lack of ecotoxicological data.

2.4 Italy

In Italy, an assessment of the contamination of the aquatic compartment by human pharmaceuticals was conducted in 2005 (Zuccato et al., 2005). This assessment, which is not strictly speaking an ERA, was tiered into three phases:

- Pre-selection of pharmaceuticals (prioritization),
- Sampling in STP and surface waters,
- Comparison of results from sampling campaign with theoretical prioritization.

The pre-selection was based on two main parameters: sales figures for pharmaceuticals (consumption amounts) and metabolism rate of the different compounds in the human body. Pharmaceuticals were ranked according to their predicted environmental loads, calculated by multiplying sales figures by the rate of metabolism in man (Equation 8). Only the excretion rates of pharmaceuticals as unchanged molecule were considered and metabolites were not taken into account. According to the authors, this approach gave a good estimation of the quantities of active molecules reaching the environment.

$$\text{Load} = \text{prescription amount} \times \text{excretion rate}$$

Equation 8

Load: predicted environmental load (tonnes). **Prescription amount:** sale figures (tonnes for year 2001). **Excretion rate:** excretion rate of pharmaceutical as unchanged molecule (%).

To this first set of molecules, selected on predicted environmental loads, the authors added molecules known to be persistent and also molecules with high activity and potential toxicity but with low environmental load such as estrogens and anti-cancer drugs.

Field measurements in STP effluents revealed that ofloxacin, furosemide, atenolol, hydrochlorothiazide, carbamazepine, ranitidine, ciprofloxacin, sulfamethoxazole and ibuprofen were found in the range of the hundred ng.L⁻¹.

Table 3: Comparison of concentrations of pharmaceuticals, detected in STP effluents and surface water (Zuccato et al., 2005).

Concentrations of pharmaceuticals detected in STP effluents and surface water (expressed in ng.L ⁻¹ , median value)					
STP effluents		Lambro river		Po river	
Ofloxacin	600	Ofloxacin	306	Ofloxacin	33
Furosemide	585	Furosemide	254	Lincomycin	32.5
Atenolol	466	Atenolol	241	Carbamazepine	23
Hydrochlorothiazide	439	hydrochlorothiazide	255	Atenolol	17
Carbamazepine	291	Carbamazepine	175	Ibuprofen	13
Ranitidine	288	Lincomycin	74	Spiramycin	10
Ciprofloxacin	251	Spiramycin	57	hydrochlorothiazide	4.5
Sulfamethoxazole	127	Bezafibrate	24	Furosemide	3.5
Ibuprofen	121	Ibuprofen	20	Erythromycin	3.2

Spiramycin, bezafibrate, erythromycin, lincomycin and clarithromycin were found in the ten ng.L⁻¹ range. Despite very high predicted environmental loads, amoxicillin had low concentrations in STP effluents, suggesting that this molecule was rapidly degraded in the environment.

In river waters (Po and Lambro rivers), concentrations were lower than in STP effluents with the exception of spiramycin, bezafibrate and lincomycin, for which concentrations were roughly the same. Table 3 displays the results for the molecules found in highest concentrations.

Other selected molecules, salbutamol, cyclophosphamide, omeprazole, methotrexate, ethinylestradiol, enalapril and diazepam were detected at very low concentrations (in the ng.L⁻¹ range) or were below detection limits.

2.5 Sweden

In December 2002, as part of the work of achieving national environmental goals, a report was commissioned from the Swedish Medical Products Agency. The report was to

include a risk assessment of environmental effects of pharmaceuticals based on their occurrence in the environment in relation to their current sales volumes (Carlsson et al., 2006). The selection of pharmaceuticals was based on the list of the 100 most sold pharmaceuticals, in terms of DDD, for the year 2002. Twenty-seven pharmaceuticals were finally selected using the following criterions:

- molecule occurring on the list of the 100 most sold pharmaceuticals,
- molecule reported as observed in the environment,
- molecule otherwise highlighted in the literature.

The risk assessment was then conducted as described in the EMEA guideline (EMEA 2003). However, for the calculation of PECs, the sold amount of pharmaceuticals was used as a measure of the factor “DOSE_{ai} x F_{pen}/100” (see Equation 6). It was assumed that the entire amount of each product sold was consumed, and that the predicted consumed amount was evenly distributed over the year and throughout the population, as in Jones et al. (2002). Refined PEC were calculated using STP removal rates calculated with the Simple Treat 3.1 modelling software (Struijs et al., 1991). Metabolism data were also taken into account, the fraction of parent compound excreted after metabolism was included in the calculation. Metabolites lacking environmental and/or ecotoxicity data were regarded as parent compound and added to this fraction. PNEC values were calculated in accordance with EMEA guideline and the European TGD (EU 2003) and finally risk ratios were calculated.

All risk quotients were below one, except for ethinylestradiol, estradiol, estriol and paracetamol. It is worth noting that except paracetamol, all the molecules displaying a risk quotient higher than one are steroid estrogens.

The main conclusions of this work were that:

- The acute risk linked to pharmaceuticals is negligible.
- The chronic risk cannot be ruled out.
- Ecotoxicological data are scarce.
- Risk assessment based on acute toxicity test do not adequately reflect the potential for long term exposure to sub-acute levels.
- The ecotoxic potency of a compound is to be taken into account at an early stage of the risk assessment, irrespective of the quantity released into the environment.

- Studies are to be directed toward bioaccumulation potential, indirect effects, and mixture effects.
-

More recently, a risk assessment has been implemented at a national scale in Sweden (www.janusinfo.se/environment). It aims to provide information for healthcare practitioners in order to reduce the residues of medicinal products in the ground, water and air. Pharmaceuticals are environmentally classified according to two criteria: environmental risk on one hand and environmental hazard, estimated by the PBT index (OSPAR 2006; 2002), on the other hand.

Environmental risk refers to acute toxicity for the aquatic environment. It is based on the ratio between predicted environmental concentration of the substance (PEC) and the highest concentration of the substance that does not have a harmful effect in the environment (PNEC).

Environmental hazard expresses the inherent environmentally damaging characteristics of the substance using the PBT (Persistence, Bioaccumulation, Toxicity) index. Each characteristic is assigned a numeric value (Table 4).

- Biodegradability is assessed based on criteria for ready biodegradation according to the OECD's test guidelines (test 301) or another equivalent test of biodegradability.
- Potential bioaccumulation is assessed according to the OECD based on the partition coefficient n-octanol/water, Log Kow, in which substances with log Kow >3 are judged to be potentially bioaccumulating (OECD test 107 or 117). If simulation or test data for bioaccumulation are available, these can be reported as an alternative.
- Toxicity for aquatic organisms is assessed based on the results of toxicity tests including three trophic levels; fish, Daphnia and algae (OECD test guidelines 203, 202 and 201, or equivalent). Data for the most sensitive organisms are used in the assessment, which is divided into four categories (Table 4).

In case of lack of data, a worst case scenario is applied, e.g. in the absence of bioaccumulation data the active substance is classified as potentially bioaccumulating.

Table 4. Parameters and cut-off values used in the environmental hazard assessment for pharmaceuticals classification (janusinfo.se/environment).

Parameter		cut-off value	Ranking Value
Toxicity	very high toxicity	LC/EC/IC ₅₀ < 1 mg/L	3
	high toxicity	1 < LC/EC/IC ₅₀ < 10 mg/L	2
	moderate toxicity	10 < LC/EC/IC ₅₀ < 100 mg/L	1
	low toxicity	LC/EC/IC ₅₀ > 100 mg/L	0
Bioaccumulation (potentially bioaccumulating)	yes	Log Kow > 3	3
	no	Log Kow < 3	0
Persistence (readily biodegradable)	yes	ND	3
	no	ND	0

Detailed assessment methodology can be found at www.janusinfo.se/environment and www.fass.se. Below is given an example of the proposed classification (Table 5).

Table 5. Example of pharmaceuticals classification (janusinfo.se/environment).

Substance	Environmental risk	Environmental hazard				Volume in DDD
		PBT	P	B	T	
Amoxicillin	moderate	6	3	0	3	1 187 403
Ceftriaxone	insignificant	3	3	0	0	7 322
Ciprofloxacin	cannot be excluded	5	3	0	2	563 660
Fluoxetine	low	6	3	0	3	3 214 933
Paracetamol	low	5	3	0	2	24 494 039
Propranolol	moderate	3	0	0	3	1 166 665

2.6 United states

Jjemba (2006) conducted a study on the excretion and ecotoxicity of pharmaceuticals in the aquatic environment. The author investigated the correlation between several pharmacokinetic parameters and the behaviour of pharmaceuticals in the environment. He also proposed a simple equation (Equation 9) to rank pharmaceuticals according to an ecotoxicity potential:

$$EP = \frac{T}{V \times NOEC} \quad \text{Equation 9}$$

EP: ecotoxic potential. **T:** overall residence time of the compound in the environment. **V:** concentration of the compound in the environment. **NOEC:** No Observable Effect Concentration.

Author suggests that the quantification of ecotoxicity should reflect an element of the overall residence time of the compound in question, its bioavailability to the organisms, and its concentration in the environment.

Time of residence is a main parameter of this model, but as no data were available at the moment for pharmaceuticals the author assumed a default value of 1 year (i.e. all year continuous discharge). For daphnids, preliminary results of this study indicate a high EP for ethinylestradiol and carbamazepine, and a low EP for diclofenac and ibuprofen.

In order to prioritize human pharmaceuticals, (Cooper et al., 2008) compiled extensive data (Table 6) in a free access database (PEIAR database). In this study, pharmaceuticals were ranked using five different combinations (Table 6) of physico-chemical, occurrence and toxicity data, to emphasize different risks.

Table 6. Data categories included in each of the five different rankings (Cooper et al., 2008).

Data	Ranking				
	ECOSAR	all available data	all available data without ECOSAR	Most available data	Emphasis on aquatic environment
Biological half-life		X	X		
Environmental half-life		X	X	X	X
Solubility		X	X		X
Kow		X	X		X
Mammal LD ₅₀ ^a		X	X		
Crustacean LD ₅₀ or LC ₅₀ ^a		X	X		X
Fish EC ₅₀ or LD ₅₀ ^a		X	X		X
Surface water concentration		X	X		X
Effluent Concentration		X	X		
2004 prescriptions dispensed		X	X	X	
ECOSAR	X	X		X	

^a : acute data

An additional component of the rankings was an uncertainty value, calculated for each pharmaceutical and taking into account rankings of pharmaceuticals in each individual category.

Ranking results and compiled data are available at www.chbr.noaa.gov/PEIAR/.

Another study (Kostich and Lazorchak, 2008) assessed the environmental exposure and potential biological effects for the 50 most dispensed pharmaceuticals in USA. The consumption masses for pharmaceuticals were indirectly calculated from dollar sales data. Concentrations reaching the environment were preliminary calculated as amount of Active Pharmaceutical Ingredient (API), using Equation 10. This equation takes into account metabolism inactivation (in the human body) and disposal of unused medicine (fraction wasted). For this last parameter, conservative arbitrary values were assumed: 15% for short-term therapy, 5% for long-term therapy and 33% for topical medicines.

$$\text{API activity} = (M \times (1 - F_i) \times (1 - F_w)) + (M \times F_w) \quad \text{Equation 10}$$

M: mass dispensed. *F_i*: fraction inactivated (by metabolism). *F_w*: fraction wasted.

PEC for wastewaters and biosolids were subsequently calculated with Equation 11 and 12, respectively assuming complete partitioning of raw wastewater API residues into the aqueous phase, and assuming complete partitioning of raw wastewater API residues to biosolids.

$$\text{PEC}_{\text{wastewater}} = \frac{\text{API activity introduced annually}}{\text{Annual wastewater volume}} \quad \text{Equation 11}$$

$$\text{PEC}_{\text{biosolids}} = \frac{\text{API activity introduced annually}}{\text{Annual biosolids volume}} \quad \text{Equation 12}$$

Potential biological effects of individual pharmaceuticals, were assessed for human exposure, non human exposure and for antimicrobial effects. The two latter methodologies are summarized below:

1) For non-human exposure, authors calculated a specific risk quotient (called “exposure multiple”) for each pharmaceutical. Such a quotient was expressed as the ratio between wastewater PEC and human peak freely dissolved plasma concentration of the pharmaceutical (Equation 13) and was based on the following assumptions:

- human plasma concentration can be used as a surrogate measure of cellular sensitivity (i.e. activity on non-target organisms).

- *via* passive equilibration, the concentration of pharmaceutical dissolved in the modelled organism's extracellular fluid would approach the concentration dissolved in wastewater.

For non human exposure, exposure multiples were above one for 11 of the 50 pharmaceuticals investigated.

$$EM = \frac{PEC}{C_{max}} \quad \text{Equation 13}$$

EM: exposure multiple for non-human organisms. **PEC:** Predicted Environmental Concentration. **C_{max}:** freely dissolved plasma concentration of the pharmaceutical (peak plasma concentration corrected by the fraction bound to proteins).

2) For antimicrobial effects, an exposure multiple was expressed for microbial inhibition as the ratio of wastewater PEC and the lowest minimum inhibitory concentration (MIC) found for a specific pharmaceutical. Moreover, potential of antimicrobials residues for selection of resistant bacteria was also evaluated. For microbial inhibition, 4 antibacterial by the 30 investigated had an exposure multiple above 1; the multiple for the mixture effect (assumed as the sum of all individual antibacterial multiples) was about 21.

In addition of such a risk assessment, authors reviewed the molecular targets of the selected studied pharmaceuticals and search for potential similar targets in non-human species. Indeed, one of the main questions addressed in the ERA of pharmaceuticals is the sensitivity of non-target taxa to human pharmaceuticals, due to high differences in biology and physiology. Molecular drug targets for pharmaceuticals were identified from a literature review. Then, human sequences of target proteins were retrieved through a database and non-mamalian sequences similar to putative human drug targets were searched.

Main conclusions of this work were that :

- Significant human, non-human and microbial impacts resulting from exposure to most pharmaceuticals are likely only possible through contact with concentrating sources, unexpected dose responses or in extremely sensitive population.

- For a small subset of pharmaceuticals, effects of direct aquatic exposure to single compounds cannot be ruled out for non target-organisms and microbes.
- Predicted wastewater concentrations of several antibiotics are sufficient to impair growth or select for low-level resistance in microorganisms.
- Analysis of conserved molecular mechanisms, along with the information about the physiological roles of molecular pathways in different organisms, can provide guidance on the range of species and the type of endpoints that should be considered in chronic toxicity studies.

2.7 Swiss

To identify pharmaceuticals with high environmental risk, and to evaluate if human metabolites' contribution to ecotoxicity needed to be accounted for, Lienert et al. (2007) proposed a screening tool mainly based on the use of modelling toxicity from quantitative structure activity relationships (QSAR). Their methodology did not consider chronic toxicity (due to lack of chronic data and appropriate QSAR) or specific toxic mode of action of parent drug or metabolite, but mainly baseline toxicity (i.e. narcosis). Nevertheless, in a more complex approach, the inclusion of known specific toxicity effects is possible and was shown for algal toxicity of β -Blockers. (Escher et al., 2006).

The approach was based on literature data of human metabolism and excretion, pharmaceuticals sales data, physicochemical properties of parent drugs and metabolites, and ecotoxicological data when available. It allowed to estimate a risk quotient of parent drug and metabolite mixture (Equation 14).

$$RQ_{mix} = \frac{PEC_{wastewater}}{PNEC_{mix}} \quad \text{Equation 14}$$

***RQ_{mix}**: Risk quotient for parent drug and metabolites. **PEC_{wastewater}**: Predicted Environmental Concentration for wastewaters. **PNEC_{mix}**: Predicted No Effect Concentration for parent drug and metabolites.*

When ecotoxicity data were missing, baseline acute toxicity was modelled with lipophilicity (D_{lipw} , pH7) estimates using QSAR. The mixture effect of each parent drug and its metabolites was treated with the model of concentration addition, assuming a similar mode of toxic action of all components. From a literature information, the main phase of their

procedure consisted in a tiered estimation of the effect concentration (EC_{50}) of the mixture of the parent drug and metabolites, based on the assessment of the baseline toxicity of parent drug and next the relative potency of metabolites.

The relative toxicity potential of each metabolite was assessed by using the ratio between baseline toxicity of parent drug and modelled baseline toxicity of metabolite. Next it became possible to calculate the toxic potential of the mixture (when no toxicophore is present in metabolites).

This procedure gives help to screen the risk of pharmaceutical including their metabolites.

2.8 France

A risk assessment was conducted in France in 2006 (Besse et al., 2008). This assessment was performed on the same basis as the previous ones (Carlsson et al., 2006; Huschek et al., 2004; Jones et al., 2002; Stuer-Lauridsen et al., 2000) and used PEC/PNEC ratios. Using year 2004 French drug consumption data, aquatic PECs for 112 parent molecules and several metabolites were calculated using Equation 15, adapted from the EMEA guideline (EMEA 2006).

$$PEC_{surfacewater} = \frac{consumption \times F_{excreta} \times F_{stp}}{WW_{inhab} \times hab \times Dilution \times 365} \quad \text{Equation 15}$$

consumption: the quantity ($mg \cdot year^{-1}$) of an active molecule consumed by the population during 1 year in a defined zone (generally a country). **Hab:** number of inhabitants and 100 the correction factor for the percentages. **365:** number of days per year ($day \cdot year^{-1}$). **WW_{inhab}:** volume of wastewater per person per day (default value = 200 L. $inhabitants^{-1} day^{-1}$). **F_{excreta}:** excretion fraction of the active molecule. **F_{stp}:** fraction of emission of the drug from wastewater treatment plants (STP) directed to surface water, F_{stp} can be defined as (1-STP removal fraction).

A special emphasis was made on human metabolism. $F_{excreta}$ values (proportion of drug excreted as unchanged molecule) were determined for almost 80 compounds. Moreover, several metabolites were identified as potentially of concern for the aquatic environment, due to their potential occurrence in the aquatic environment (PEC) and/or pharmacological activity.

PEC/PNEC ratios were calculated but, as ecotoxicological data were lacking, it was only possible to achieve risk quotients for 6 compounds according to the EMEA guideline (i.e. 3 NOEC values from 3 trophic levels). Using limited data (1 or 2 NOEC values) it was possible to determine risk quotients for a further 16 molecules. On these 22 pharmaceuticals, only the antibiotic amoxicillin showed a ratio above one.

Conclusions of this work were that :

- Considering excretion fractions of pharmaceuticals can lead to drastically reduced predicted concentrations reaching the aquatic environment, and can help to target environmentally relevant pharmaceuticals and metabolites.
- Metabolites should be considered when performing a pharmaceutical ERA.
- Calculated PECs using the described methodology were consistent with French field measurements.
- Due to the lack of ecotoxicological data, the use of PEC/PNEC ratios is not enough informative to prioritize pharmaceuticals likely to pose a risk for surface waters.
- Alternative ways to prioritize risk to pharmaceuticals, combining PEC, pharmacological, and ecotoxicological data available from the literature, should be implemented.

Two prioritization strategies were also conducted in France. The first one, with regard to the use of pharmacological data to assess the biological effects of pharmaceuticals (Besse and Garric, 2008), is fully described in the paragraph 6.3² of the current chapter as it is given as a specific example. The second one, conducted by Jean (2008), with emphasis on bioaccumulation is summarized below.

In year 2008, a prioritization strategy was conducted for hospital effluents and with regard to consumption amounts in hospitals and bioaccumulation potential (Jean 2008). Bioaccumulation potential was determined by reviewing modelled bioconcentration factor (BCF) from CAS database® values for a high number of pharmaceuticals. To take into account the ionization of pharmaceuticals in the environment, BCF were reviewed for four

² Dans ce manuscrit, la stratégie de priorisation est décrite dans le chapitre 5.

environmental relevant pH values ranging from 6 to 9. A compound was considered bioaccumulating if at least one of the estimated BCF value was higher than the threshold value of 1000. The recommended value of TGD is set at 2000, however, a more conservative value of 1000 was chosen to stand for uncertainties of estimated values (which could differ from real ones).

The main assumption of this work is that, considering the environmental concentrations for pharmaceuticals (ng.L^{-1} to $\mu\text{g.L}^{-1}$ range), the main risk is linked to chronic exposure and to bioaccumulation of pharmaceuticals in aquatic organisms. Such a bioaccumulation could lead to critical internal concentration in the organisms and toxicity. Indeed, as pharmaceutical compounds are continuously released in the aquatic environment, the risk of bioaccumulation is to consider.

A final list of 70 substances, potentially bioaccumulating, and with respect to hospital effluents was therefore obtained.

Chapitre 3.

Revue et discussion sur les données écotoxicologiques

1. Introduction	71
2. Données d'écotoxicité aiguë	71
2.1. Ecotoxicité aiguë sur les algues.....	71
2.2. Ecotoxicité aiguë sur les invertébrés.....	73
2.3. Ecotoxicité aiguë sur les poissons	73
2.4. Conclusion pour l'écotoxicité aiguë.....	73
3. Données d'écotoxicité chronique	75
3.1. Ecotoxicité chronique sur les algues :.....	75
3.2. Ecotoxicité chronique sur les invertébrés.....	75
3.3. Ecotoxicité chronique sur les poissons	76
3.4. Conclusion pour les données d'écotoxicité chronique.....	76
4. Etudes basées sur l'utilisation de biomarqueurs	77
5. Etudes sur des mélanges de composés	77
6. Activité estrogénomimétique des molécules pharmaceutiques	78
7. Discussion	78
7.1. Considérations sur les données disponibles	78
7.2. Limite de représentativité des tests.....	79
7.3. Différences de sensibilité inter- espèces.....	79
7.4. Différences de toxicité au sein d'une même classe chimique.....	79
8. Conclusion	82

1. Introduction

Afin d'établir une priorisation des molécules pharmaceutiques tenant compte du danger écotoxicologique, la littérature scientifique a été revue de manière exhaustive afin de réunir les données d'écotoxicité, en particulier sur les trois principaux groupes taxonomiques (algues, invertébrés et poissons) d'organismes aquatiques servant communément de base aux évaluations de risque. Les données existantes se rapportent à un nombre relativement restreint de classes thérapeutiques : les antibiotiques, les analgésiques (AINS et paracétamol notamment), certains anti-dépresseurs sérotoninergiques (inhibiteurs de la recapture de la sérotonine ou ISRS), un anti-épileptique (la carbamazépine), les anti-hypertenseurs avec une forte majorité de données sur les β -bloquants, et les hypolipémiants, principalement représentés par les fibrates.

Remarques préliminaires :

- *Les données écotoxicologiques présentées ici ne s'intéressent pas aux molécules à caractère perturbateur endocrinien et aux molécules cytotoxiques. Celles-ci sont présentées dans les chapitres correspondants (chapitres 6, 7 et 8).*
- *Dans les pages suivantes, les cyanophytes (cyanobactéries) sont traitées avec les algues, dans la mesure où les études écotoxicologiques les mentionnant les classent dans cette catégorie. Ces organismes devraient cependant être considérés comme des bactéries, groupe taxonomique dont ils font partie.*

2. Données d'écotoxicité aiguë

La Figure 3 présente l'ensemble des données de toxicité aiguë retrouvées pour les organismes aquatiques. Les données sont présentées en fonction des grands groupes taxonomiques mais ne différencient pas les espèces utilisées : par exemple, dans le cas du propranolol et des invertébrés, à la fois les données sur *D. magna*, *C. dubia* et *B. calicyflorus* sont présentées sur le graphique. Dans le cas des algues, Les données concernant les cyanophytes et les autres familles d'algues sont présentées séparément. Cette organisation des données permet de préciser quelques comportements généraux dans la toxicité des composés pharmaceutiques.

2.1. Ecotoxicité aiguë sur les algues

2.1.1. Algues et antibiotiques

Les cyanophytes présentent une sensibilité plus importante aux antibiotiques que les algues vertes : les cyanophytes étant structurellement plus proches des bactéries sont par conséquent plus sensibles que les autres algues aux antibiotiques. L'utilisation des cyanophytes est d'ailleurs recommandée dans la procédure EMEA pour tester la toxicité de ces molécules. Les composés les plus toxiques pour les cyanophytes sont l'amoxicilline, la benzylpénicilline, la streptomycine, la spiramycine, la levofloxacine et la ciprofloxacine avec des concentrations toxiques aiguës inférieures à la dizaine de $\mu\text{g/l}$.

D'une manière générale, les cyanophytes apparaissent être les organismes les plus sensibles envers les antibiotiques, tous groupes taxonomiques confondus.

La toxicité des antibiotiques sur les algues vertes est moins marquée que sur les cyanophytes. L'érythromycine et la clarithromycine, deux antibiotiques de la famille des macrolides présentent toutefois des valeurs de toxicité très faibles: CE_{50} 72 h respectives de 20 $\mu\text{g/l}$ et 2 $\mu\text{g/l}$ sur l'algue verte *P. subcapitata* (Isidori et al. 2005a). Dans le cas des algues vertes, les antibiotiques les plus toxiques sont donc les macrolides, suivis par la streptomycine (aminoside anti-tuberculeux) et la lincomycine (lincosanide).

Toxicité aiguë des composés pharmaceutiques

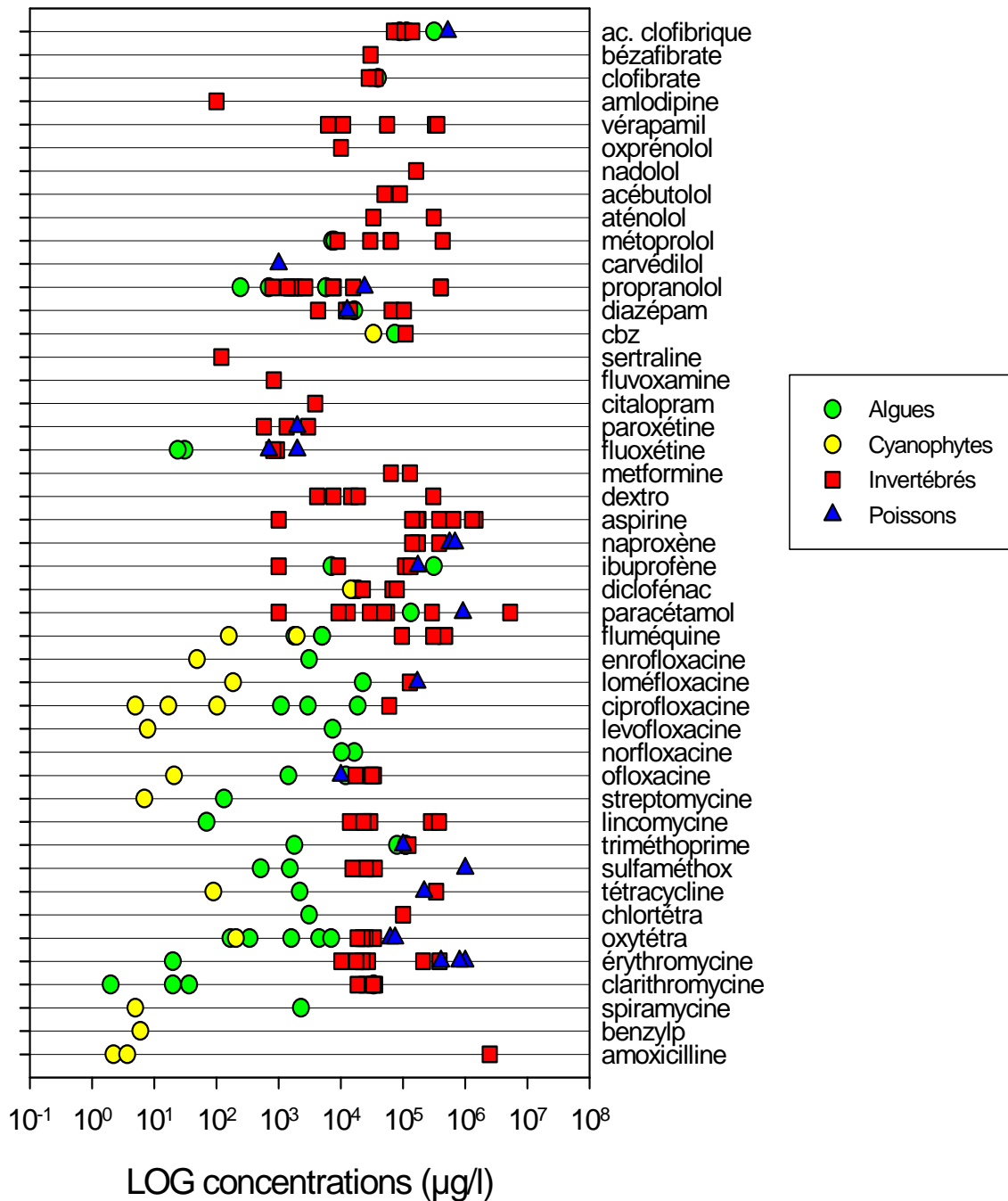


Figure 3 : Valeurs d'écotoxicité aiguë des composés pharmaceutiques sur les organismes aquatiques.

Valeurs de CE₅₀ données pour les cyanophytes, pour les algues vertes, les invertébrés et les poissons. Concentrations exprimées en µg/l selon une échelle logarithmique. Abréviations : Benzylp : benzylpénicilline ; oxytétra : oxytétracycline ; cbz : carbamazépine ; sulfaméthox : sulfaméthoxazole ; dextro : dextropropoxyphène ; ac. clofibrigue : acide clofibrigue.

Le triméthoprimé considéré seul semble être l'antibiotique le moins toxique (il n'est d'ailleurs que rarement utilisé seul en thérapeutique humaine et ne présente qu'une activité bactériostatique). Le sulfaméthoxazole et les cyclines présentent une toxicité intermédiaire. On note par ailleurs que les fluoroquinolones présentent des différences de toxicité au sein de leur famille (Figure 3).

2.1.2. Algues et autres familles thérapeutiques

Assez peu de molécules appartenant à d'autres classes thérapeutiques ont fait l'objet de tests aigus sur les algues. Dans l'ensemble, les études rapportent des concentrations effectives très élevées, de l'ordre du mg/l. Les cyanophytes semblent être un peu plus sensibles que les algues vertes, mais les valeurs de toxicité restent toutefois du même ordre de grandeur. Les ISRS (inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine), et notamment la fluoxétine et la sertraline sont toutefois très toxiques sur les algues vertes, avec des valeurs de CE_{50} respectives de 24 $\mu\text{g/l}$ et 12 $\mu\text{g/l}$ (Johnson et al. 2007 ; Brooks et al. 2003 ; FDA-CDER 1996).

2.2. Ecotoxicité aiguë sur les invertébrés

D'une manière générale, on observe que l'essentiel des valeurs de toxicité aiguë pour les invertébrés est compris entre 1 et 100 mg/l, ce qui reste très au dessus des niveaux de concentration retrouvés dans l'environnement (de l'ordre du ng ou du $\mu\text{g/l}$). Le risque aigu lié aux composés pharmaceutiques apparaît par conséquent négligeable.

La distribution des valeurs de toxicité aiguë est assez semblable pour les composés pharmaceutiques testés, néanmoins quatre composés semblent se démarquer (Figure 3) : le propranolol, anti-hypertenseur de la classe des β -bloquant ; la fluoxétine et la paroxétine, antidépresseurs de la classe des ISRS, et l'amlodipine, anti-hypertenseur de la classe des inhibiteurs calciques ; pour ce dernier composé cependant, on ne dispose que d'une seule valeur de toxicité et cette observation reste à confirmer.

2.3. Ecotoxicité aiguë sur les poissons

Il n'existe que peu de données rapportées chez le poisson. D'une manière générale, les valeurs de toxicité observées sont supérieures ou comparables à celles relevées sur les invertébrés. La majorité des valeurs relevées est supérieure à 10 mg/l sauf dans le cas de la fluoxétine (ISRS), de la paroxétine (ISRS) et du carvédilol (β -bloquant de profil particulier, réservé à un usage hospitalier) pour lesquels les valeurs de toxicité aiguë sont de l'ordre du mg/l. Toutes les valeurs de toxicité sont supérieures au mg/l et donc très au dessus des valeurs attendues dans l'environnement. Le risque aigu présenté par les composés pharmaceutiques pour les poissons est donc négligeable.

2.4. Conclusion pour l'écotoxicité aiguë

La revue des résultats des essais de toxicité aiguë fait ressortir les points suivants :

- La majorité des valeurs de toxicité est comprise entre 1 et 100 mg/l pour les invertébrés et les poissons. Pour ces groupes taxonomiques, le risque aigu représenté par les composés pharmaceutiques est donc négligeable.
- Les cyanophytes représentent le groupe taxonomique le plus sensible envers les antibiotiques.
- Les antidépresseurs de la classe des ISRS sont des composés potentiellement prioritaires de par leur toxicité sur les algues vertes.

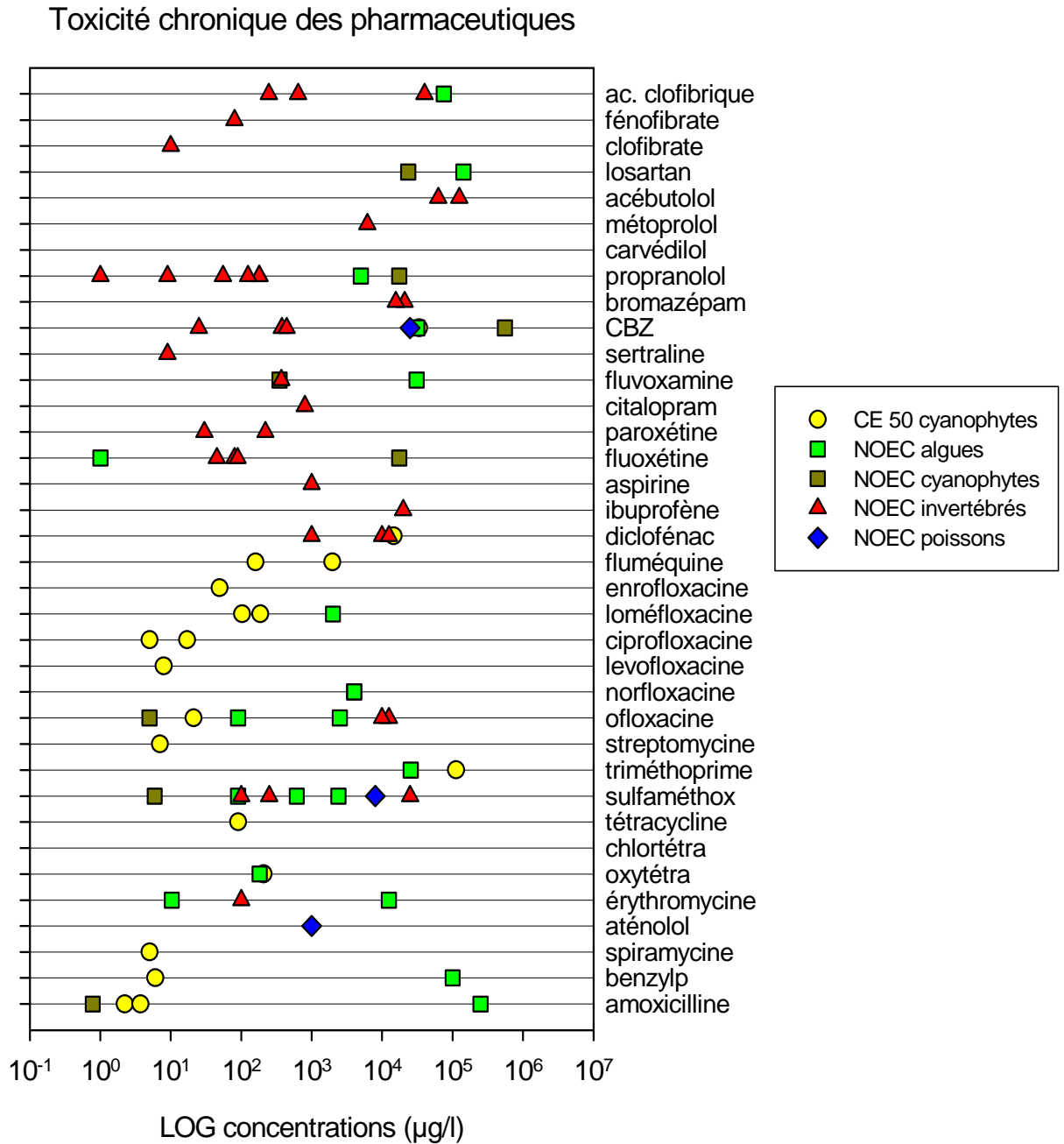


Figure 4 : Valeurs d'écotoxicité chronique des composés pharmaceutiques sur les organismes aquatiques.

Valeurs de NOEC données pour les cyanobactéries ou cyanophytes (dans le cas des cyanophytes les valeurs de CE₅₀ ont été rajoutées), pour les algues vertes, les invertébrés et les poissons, concentrations exprimées en µg/l selon une échelle logarithmique. Benzylp : benzylpénicilline ; oxytétra : oxytétracycline ; cbz : carbamazépine ; sulfaméthox : sulfaméthoxazole ; ac. clofibrigue : acide clofibrigue.

3. Données d'écotoxicité chronique

3.1. Ecotoxicité chronique sur les algues

Remarque préliminaire : Dans la Figure 4, les données aiguës de CE_{50} ont été rajoutées aux données chroniques. En effet, du fait même de leur construction, les tests d'inhibition de croissance sur algues sont des tests multi-générationnels donc a priori des tests chroniques. Cependant, selon le TGD Européen et dans le cadre des procédures d'évaluation du risque (pour la détermination de facteurs de sécurité et pour dériver une PNEC), une CE_{50} tirée d'un test d'inhibition de croissance de 96 heures doit être traitée comme donnée aiguë alors qu'une NOEC 96 heures est considérée comme une donnée chronique. Il n'est donc pas injustifié dans notre démarche de traiter toutes les données de toxicité sur les algues comme des données chroniques.

Les données de toxicité chronique sur les algues confirment ce qui a été observé en toxicité aiguë : les cyanophytes restent dans le cas des antibiotiques le groupe taxonomique le plus sensible.

Les macrolides apparaissent être les antibiotiques les plus toxiques pour les algues : la clarithromycine présente la plus faible valeur de NOEC observée sur une algue verte : 3.1 µg/l sur *P. subcapitata* (Yamashita et al. 2006) suivie par l'érythromycine : NOEC de 10.3 µg/l sur *P. subcapitata* mais seulement de 12.5 mg/l sur *C. vulgaris* (Eguchi et al. 2004).

Les ISRS et notamment la fluoxétine présentent une très forte toxicité sur les algues vertes, ce qui semble confirmer que ce composé est à surveiller en priorité : NOEC de 1 µg/l rapportée par le FDA-CDER (1996), et Cl_{50} de 12.1 et 45 µg/l sur l'algue *P. subcapitata*, respectivement pour la sertraline et la fluoxétine (Johnson et al. 2007).

D'une manière générale, les antibiotiques et notamment l'érythromycine, le sulfaméthoxazole, l'oxytétracycline et l'ofloxacine sont plus toxiques que les autres composés avec des valeurs de NOEC comprises entre 1 et 50 µg/l. Pour les autres composés (toutes classes confondues, à l'exception de la fluoxétine), les valeurs de NOEC sont supérieures à 100 µg/l.

3.2. Ecotoxicité chronique sur les invertébrés

Assez peu d'études chroniques portant sur la toxicité des produits pharmaceutiques envers des organismes aquatiques autres que les algues ont été réalisées ; et seul un petit nombre de composés est concerné par ces études. Parmi les produits étudiés on trouve pour les hypolipémiants le clofibrate, l'acide clofibrique, le gemfibrozil et le fénofibrate ; pour les β-bloquants le propranolol et dans une moindre mesure le métoprolol et l'acébutolol ; pour les anti-épileptiques la carbamazépine ; et principalement le diclofénac pour les AINS. Parmi les antidépresseurs, seuls des ISRS sont étudiés et en particulier la fluoxétine et la paroxétine.

Pour simplifier la présentation des données, la Figure 4 ne reprend que les données exprimées sous formes de NOEC pour la toxicité chronique sur les invertébrés. Il s'agit principalement de données sur la reproduction (test rotoxkit sur le rotifère *B. calyciflorus* et tests standardisés de reproduction sur *D. magna* et *C. dubia*). Il ressort de la revue des données écotoxicologiques les points suivants :

- La toxicité chronique de l'ibuprofène sur *D. magna* et sur les mollusques semble limitée, avec des valeurs de NOEC de l'ordre du mg/l (Pounds et al. 2008 ; Hekmann et al. 2007).
- Des effets sur la régénération des polypes du cnidaire *H. vulgaris* ont été observés pour le diazepam, la digoxine et l'amlodipine après 17 jours d'exposition pour une concentration de 10 µg/l (Pascoe et al. 2003).

- Les antidépresseurs de type ISRS apparaissent comme étant les composés les plus toxiques pour les invertébrés (Henry et al. 2004 ; Brooks et al. 2003). De plus Fong (1998) a montré que la fluvoxamine induisait la parturition chez la moule : la sérotonine étant impliquée dans les phénomènes de reproduction chez certains invertébrés. Les ISRS pourraient donc agir comme des perturbateurs endocriniens sur certains invertébrés, notamment les mollusques.
- Le propranolol est le composé le plus toxique des β -bloquants testés avec des valeurs de toxicité différentes rapportées pour un même organisme : NOEC reproduction de 7 jours sur *C. dubia* de 9 $\mu\text{g/l}$ (Ferrari et al. 2004) et 125 $\mu\text{g/l}$ (Huggett et al. 2002). Le métoprolol et l'aténolol sont moins toxiques (Winter et al. 2008 ; Dzialowski et al. 2006 ; Garric et al. 2006 ; Fraysse et Garric 2005 ; Huggett et al. 2002).
- La carbamazépine apparaît être relativement toxique avec une NOEC 7 jours de 25 $\mu\text{g/l}$ mesurée sur la reproduction chez *C. dubia* sur 7 jours (Ferrari et al. 2004).
- Concernant les antibiotiques, les données les plus informatives proviennent de l'étude d'Isidori et al. (2005a) qui a comparé plusieurs classes d'antibiotiques, il ressort de ces travaux que la toxicité de 6 ATBs testés varie en fonction de l'organisme considéré. Ainsi la clarithromycine est le composé le plus toxique pour *P. subcapitata* mais le moins toxique pour *C. dubia* et *B. calyciflorus*. L'ofloxacin quant à elle est le composé le moins toxique pour l'algue verte *P. subcapitata*, mais le plus toxique pour *B. calyciflorus*, alors que sa toxicité sur *C. dubia* est intermédiaire par rapport aux autres composés testés.

3.3. Ecotoxicité chronique sur les poissons

Peu de valeurs chroniques sont disponibles : il s'agit très majoritairement de tests de 10 jours sur la survie d'embryons. Pour les composés testés selon ce protocole, on retrouve les NOEC suivantes : 25 mg/l pour la carbamazépine (Nunes et al. 2005), 4 mg/l pour la fluoxétine et la paroxétine, 2 mg/l pour le diclofénac, le fénofibrate et le propranolol, et supérieur à 16 mg/l pour l'acébutolol (Garric et al. 2006). Une étude chronique portant sur les effets de l'ibuprofène sur la reproduction d'*Oryzias latipes* (Flippin et al. 2007) rapporte qu'une exposition de 6 semaines à des concentrations supérieures ou égales à 1 $\mu\text{g/l}$ d'ibuprofène provoque une diminution du nombre de jours de ponte mais une augmentation parallèle du nombre d'œufs pondus par jour de ponte ; le nombre d'œufs pondus au final restant équivalent. Enfin, une étude récente (Henry et Black 2008) rapporte que si la fluoxétine peut altérer le développement sexuel de la Gambusie, les concentrations effectives sont bien supérieures à celles mesurées dans l'environnement.

3.4. Conclusion pour les données d'écotoxicité chronique

- Les antidépresseurs de type ISRS sont une classe de composés potentiellement prioritaires en raison de leur toxicité et de leur mécanisme d'action, mais le risque doit être discuté en fonction des concentrations mesurées dans le milieu.
- La mise en parallèle des valeurs de CE_{50} sur les cyanophytes avec les autres valeurs chroniques confirme que ces organismes sont les plus sensibles aux antibiotiques, parmi l'ensemble des organismes testés.
- Les fibrates sont des composés susceptibles de présenter un risque mais le nombre de données est trop restreint pour pouvoir conclure.
- D'une manière générale, bien que les valeurs d'écotoxicité restent au dessus des valeurs environnementales, le risque chronique représenté par les composés pharmaceutiques ne peut être exclu et doit être évalué de manière plus approfondie.
- Enfin, le point le plus important à considérer reste le faible nombre de données disponibles et le faible nombre de composés testés ; les études se focalisant essentiellement sur les ISRS, certaines classes d'antibiotiques et les β -bloquants.

4. Etudes basées sur l'utilisation de biomarqueurs

Les études sur les biomarqueurs conduisent à l'obtention de concentrations effectives chroniques de plusieurs ordres de grandeur en dessous des concentrations relevées pour les autres tests chroniques basés sur la survie ou la reproduction. L'utilisation de biomarqueurs pertinents peut s'avérer très utile pour déterminer des réponses biologiques à des expositions proches des concentrations environnementales.

Foran et al. (2005) ont évalué l'action de la fluoxétine sur plusieurs biomarqueurs chez le poisson durant un test chronique de 28 jours. Les concentrations plasmatiques d'estradiol chez les femelles sont augmentées mais on n'observe pas d'effet dose-dépendant : cette augmentation n'est significative qu'à 0.1 et 0.5 µg/l et non à des concentrations supérieures, ce qui pourrait être lié à un phénomène de type « hormesis » (voir Calabrese et Baldwin 2002 pour une définition du terme).

Schwaiger et al. (2004) et Triebkorn et al. (2004) ont étudié les effets du diclofénac sur des truites adultes pour une exposition de 28 jours à des concentrations environnementales dans deux études parallèles. Les résultats montrent une altération au niveau des hépatocytes. Pour les auteurs, il s'agit plus d'une réponse au stress, d'une mobilisation d'énergie et d'une modification de la structure des organites liée à des réponses de détoxification qu'à une action toxique propre du diclofénac. Par contre les auteurs ont montré que ce composé, pour des concentrations de l'ordre du µg/l, induit des altérations au niveau des branchies et au niveau des reins, ce qu'ils mettent en relation avec des atteintes rénales liées au diclofénac observées chez des vautours (Oaks et al. 2005). Ces observations peuvent aussi être mises en relation avec des effets similaires d'insuffisance rénale aiguë observés chez les souris et l'homme (voir Schwaiger et al. 2004 pour les références). A l'opposé, des atteintes du tube digestif, classiquement rapportées comme un effet secondaire important du diclofénac chez les mammifères, n'ont pas été observées dans cet essai. Les auteurs concluent que pour réaliser l'évaluation du risque d'un composé, il est nécessaire de réaliser des expositions chroniques sur des espèces sensibles et de développer des marqueurs spécifiques. L'étude réalisée sur le diclofénac par Schwaiger et Triebkorn ouvre des perspectives intéressantes en mettant en parallèle des effets chez le poisson qui sont observés chez les mammifères. Les résultats de cet essai suggèrent qu'il serait possible d'utiliser les données de toxicologie et les effets observés chez les mammifères pour prédire certains effets biologiques ou toxiques, au moins chez le poisson.

5. Etudes sur des mélanges de composés

Peu de travaux ont été réalisés sur l'évaluation de la toxicité de mélanges de composés pharmaceutiques. Une étude concernant les mélanges de β -bloquants (Frayse et Garric 2005) rapporte les résultats suivants : dans le cas du mélange de 3 β -bloquants cardio-sélectifs (acébutolol, aténolol et métoprolol), chaque substance semble agir de manière indépendante. A l'inverse, dans le cas du mélange de 3 β -bloquants non sélectifs (nadolol, propranolol et oxprénolol), les substances semblent agir de manière additive. Le mélange des 6 composés présente également une tendance à l'additivité d'action. Au delà de la différence de sélectivité des composés testés, les auteurs suggèrent que ce phénomène d'additivité pourrait être lié à des propriétés pharmacologiques spécifiques, dans ce cas les propriétés stabilisatrices de membrane du propranolol et de l'oxprénolol.

Eguchi et al. (2004) ont testé la toxicité d'un mélange de sulfaméthoxazole et de triméthoprime sur des algues. Il ressort de l'étude que la toxicité du mélange est plus importante que celle des composés séparés. La NOEC pour le sulfaméthoxazole est de 0.6 mg/l pour le sulfaméthoxazole seul et passe à 0.2 mg/l lors d'une exposition conjointe avec le triméthoprime (avec une concentration en triméthoprime fixée à sa valeur de NOEC).

Yang et al. (2009) ont étudié la toxicité de mélanges binaires de différents antibactériens sur l'algue verte *P. subcapitata*. La toxicité des mélanges est variable en fonction des composés étudiés. Ainsi les auteurs rapportent des effets additifs pour des mélanges de sulfamides, des effets potentiellement synergiques pour des mélanges de macrolides ou de fluoroquinolones, et même des effets potentiellement antagonistes entre le triclosan (antiseptique) et des fluoroquinolones.

Bien que les études portant sur des mélanges de composés soient difficiles à mettre en place et à interpréter, en particulier au niveau des mécanismes d'action, ces approches devraient être développées dans la mesure où elles révèlent des concentrations toxiques pour des mélanges souvent inférieures à celles des composés testés individuellement, et posent la question de la pertinence des essais traditionnellement utilisés en évaluation de risque (Quinn et al. 2009 ; 2008).

6. Activité estrogénomimétique des molécules pharmaceutiques

Deux études ont évalué le potentiel estrogénique de composés pharmaceutiques à l'aide de tests *in vitro* (test YES et test E-screen). Dans la première (Fent et al. 2006b), seuls 6 des 37 composés testés montrent une activité estrogénique dans le test YES ; celle-ci étant très faible. Des mesures d'activité sur des mélanges binaires ont également rapporté une activité estrogénique faible. Une étude plus récente (Isidori 2009a) rapporte une activité estrogénique pour 11 des 14 molécules testées, les concentrations effectives restant très supérieures à celles du composé de référence, l'estradiol.

Si dans l'absolu, une activité de type perturbation endocrinienne ne peut-être exclue, comme par exemple dans le cas des mollusques avec les ISRS, la recherche systématique d'une activité estrogénique pour les molécules pharmaceutiques déjà mises sur le marché (et autres que celles spécifiquement ciblées pour avoir de tels effets), est discutable :

- dans son principe : contrairement à d'autres contaminants environnementaux, les médicaments sont des composés dont les effets biologiques sont bien étudiés et pour lesquels sont déjà identifiés, *via* les données pharmacologiques et notamment celles de pharmacovigilance, ceux présentant une activité sur les fonctions de reproduction.
- de par la construction des tests utilisés : la majorité des outils *in vitro* utilisés à ce jour sont basés sur l'utilisation d'un récepteur aux estrogènes humain : soit par l'emploi de lignées cellulaires humaines (test E-screen), soit par l'utilisation d'organismes transfectés par des gènes codant pour un récepteur aux estrogènes humain (tests YES ou ER-Calux). Les réponses de tels essais risquent donc de n'apporter qu'une information redondante par rapport à celles déjà acquises *via* les données pharmacologiques.

La recherche systématique d'une activité estrogénique est discutable pour les médicaments humains : il est peu probable que les outils les plus utilisés à l'heure actuelle, basés sur un récepteur aux estrogènes humain, détectent une activité significative qui n'aurait pas été précédemment mise en évidence par le biais des données de pharmacovigilance, notamment pour les médicaments mis depuis longtemps sur le marché.

7. Discussion

7.1. Considérations sur les données disponibles

Peu de molécules pharmaceutiques ont été évaluées pour leur écotoxicité ; de plus pour certaines molécules le nombre de données disponibles est très faible (une ou deux valeurs), ce qui limite les possibilités d'interprétation.

Seules certaines familles thérapeutiques, voire certaines molécules, sont étudiées de manière extensive, par exemple l'ofloxacine pour les fluoroquinolones, le diclofénac pour les AINS, le propranolol pour toutes les classes d'anti-hypertenseurs (β -bloquants et autres familles), la carbamazépine pour les anti-épileptiques, et enfin le clofibrate et son métabolite actif l'acide clofibrique pour les hypolipémiants.

D'une manière générale, le nombre de données d'effets chroniques et/ou sublétaux est limité. De plus les données récupérées sont hétérogènes de par les effets recherchés, les espèces testées, les gammes de concentrations évaluées, la mise en place des tests, et l'expression des concentrations effectives, ce qui rend difficile les conclusions sur les effets à long terme.

7.2. Limite de représentativité des tests

7.2.1. Limite des données aiguës

L'ensemble des données écotoxicologiques retrouvées concerne essentiellement des essais aigus. Or les données d'écotoxicité aiguë ne fournissent que des renseignements limités sur la toxicité d'un composé : compte tenu de la durée des essais et des doses toxiques (de l'ordre du mg/l), ils ne sont absolument pas représentatifs des conditions environnementales. Les données d'écotoxicité aiguë ont l'avantage d'être obtenues facilement et peuvent permettre de réaliser une évaluation de risque de type PEC/PNEC, mais la validité d'une telle démarche reste sujette à caution.

7.2.2. Limite des essais sur des composés isolés

La majorité des études réalisées sur les médicaments portent sur des substances isolées. Si dans un contexte de toxicologie environnementale, ces essais sont justifiés pour étudier des mécanismes d'actions spécifiques sur des organismes donnés ou pour dériver des concentrations limites acceptables pour les écosystèmes, ils sont limités du point de vue de la représentativité environnementale, dans la mesure où dans les milieux récepteurs, les organismes sont exposés à des mélanges de contaminants (voir Besse et al. 2009a pour une revue et une discussion sur les essais écotoxicologiques).

7.3. Différences de sensibilité inter- espèces

Parmi les algues, les cyanophytes apparaissent comme le phylum le plus sensible mais ceci n'est particulièrement vrai que dans le cas des antibiotiques. Selon Ferrari et al. (2004), les cyanophytes sont également les organismes les plus sensibles dans le cas de l'acide clofibrique et du diclofénac, alors que les diatomées sont plus sensibles à la carbamazépine et au propranolol. L'étude de Johnson et al. (2007) montre une très grande variabilité de la toxicité des ISRS en fonction de l'espèce d'algue verte exposée. Ainsi l'algue *Chlorella vulgaris* est beaucoup moins sensible que les autres espèces d'algues utilisées (*P. subcapitata*, *S. acutus* et *S. quadricauda*), avec des concentrations toxiques (CE_{50}) 20 à 50 plus élevées (en fonction de la molécule et de l'espèce d'algue considérées).

Concernant les invertébrés, il semble que le cladocère *Ceriodaphnia dubia* est l'espèce la plus sensible pour la toxicité aiguë et pour la toxicité chronique mais les données encore limitées empêchent toute conclusion définitive.

7.4. Différences de toxicité au sein d'une même classe chimique

7.4.1. Exemples des β -bloquants et des ISRS

Dans la pratique, on observe des différences de toxicité vis-à-vis des organismes au sein d'une même famille chimique.

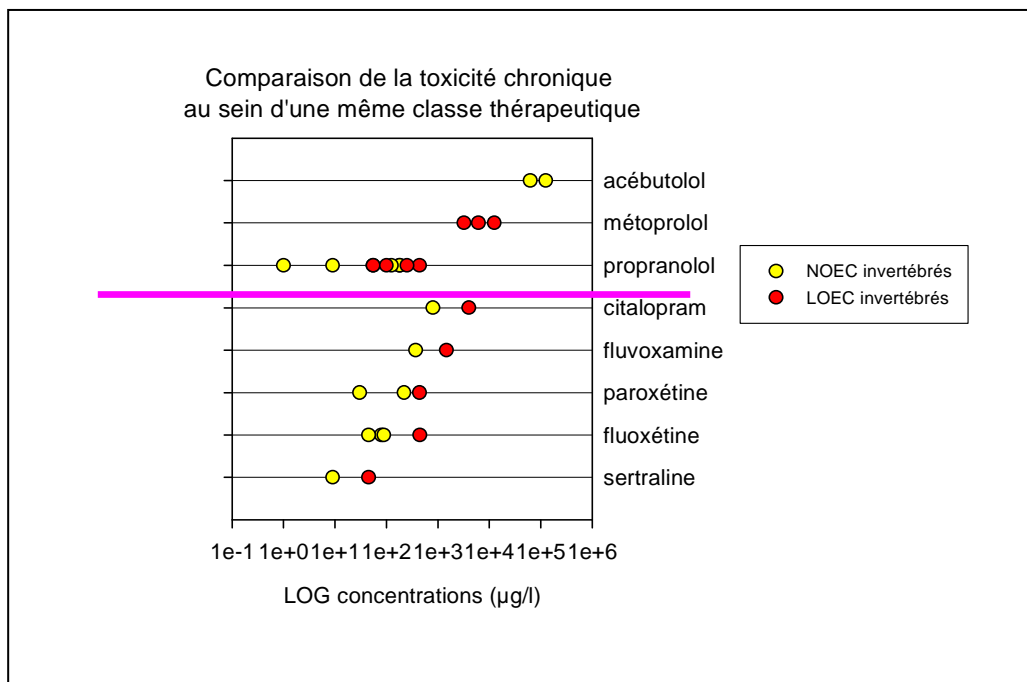


Figure 5 : Comparaison des valeurs de toxicité chronique sublétales (valeurs de NOEC et de LOEC) pour les β -bloquants et les IRS.

Concentrations exprimées en $\mu\text{g/l}$ selon une échelle logarithmique (données provenant des études de Henry et al. 2004 pour les IRS et de Dzialowski et al. 2006 ; Ferrari et al. 2004 ; Garric et al. 2006 et Huggett et al. 2002 pour les β -bloquants).

Molécule	Mécanisme d'action principal		Autres propriétés pharmacologiques				
	inhibition de la recapture de la sérotonine <i>in vitro</i>	sélectivité comparée	inhibition de la recapture de la noradrénaline	inhibition de la recapture de la dopamine	interactions avec des cytochromes	autres activités	volume de distribution (l/kg)
Citalopram	++	++++	0	0	0	interaction avec les récepteurs histaminergiques	14
Fluvoxamine	+	++	+/-	0	1A2 ; 2C19 ; 3A4	liaison aux récepteurs sigma	5
Paroxétine	+++	++	++	0	2D6	liaison aux récepteurs muscariniques cholinergiques	17
Fluoxétine	+/-	+/-	+	0	2D6 ; 3A4	-	25
Sertraline	++++	+	+	+	2D6 (à hautes doses)	liaison aux récepteurs sigma	25

Tableau 2 : Pharmacologie comparée des antidépresseurs de type ISRS (d'après Hyttel et al. 1993 et Dulin et al. 2002).

Les molécules sont classées de haut en bas par valeurs croissantes d'écotoxicité (valeurs rapportées par Henry et al. 2004 et Johnson et al. 2007).

Dans le cas des β -bloquants, le propranolol présente une toxicité nettement plus importante que ses congénères sur les invertébrés. Cette différence de toxicité se retrouve à la fois pour les effets aigus (Huggett et al. 2002 ; Fraysse et Garric 2005 ; Cleuvers 2005) et pour les effets sublétaux (Dzialowski et al. 2006, Garric et al. 2006). La Figure 5 présente des valeurs de LOEC et de NOEC pour les β -bloquants. Les valeurs de LOEC correspondent à l'action du propranolol et du métoprolol sur divers critères observés chez *D. magna*, dont le rythme cardiaque (Dzialowski et al. 2006). On remarque la plus forte activité du propranolol qui présente une concentration effective de plus de deux ordres de grandeur inférieure à celle du métoprolol. Dans le cas des NOEC, on observe également une différence de toxicité entre le propranolol et l'acébutolol avec des NOEC respectives sur la reproduction de *B. calyciflorus* de 0.18 et 125 mg/l (Garric et al. 2006) ; et des NOEC 7 jours reproduction de 9 μ g/l pour le propranolol (Ferrari et al. 2004) et de 62.5 mg/l pour l'acébutolol (Garric et al. 2006), les deux essais étant réalisés dans les mêmes conditions standard.

Cette différence de toxicité s'observe également chez les antidépresseurs de type ISRS (Figure 5). Les valeurs de LOEC et de NOEC correspondantes rapportées sur la figure proviennent de l'étude d'Henry et al. (2004) ; le congénère le plus toxique est la sertraline (NOEC reproduction sur *D. magna* de 9 μ g/l) suivie par la fluoxétine ; le citalopram étant le composé le moins toxique du lot, ces résultats étant confirmés par ceux de Johnson et al. (2007).

Enfin, en ce qui concerne les antibiotiques de type fluoroquinolones, la toxicité sur les cyanophytes peut varier de plus d'un ordre de grandeur entre les différentes fluoroquinolones testées (Robinson et al. 2005 ; Halling-Sørensen 2000).

Ces différences font qu'il n'est pas possible d'extrapoler la toxicité d'une classe chimique entière à partir de la toxicité d'une ou plusieurs molécules, et qu'il est également impossible de hiérarchiser les classes chimiques en fonction de leur toxicité.

7.4.2. Apports potentiels de la pharmacologie comparée

Au même titre que la physiologie comparée, qui permet d'expliquer les différences de sensibilité observées entre différents organismes exposés à un même polluant, la pharmacologie comparée pourrait permettre de comprendre les différences de toxicité observées sur un même organisme pour des molécules appartenant à la même classe chimique, donc qui présentent le même mécanisme d'action.

Ainsi, un médicament se caractérise certes par son mécanisme d'action principal, mais également par différentes propriétés pharmacologiques qui devraient être prises en considération : dans les cas des β -bloquants par exemple, plusieurs auteurs ont suggéré que les différences de toxicité entre les différents composés pouvaient-être en partie expliquées par des propriétés spécifiques à certaines molécules comme la cardiosélectivité et l'activité stabilisatrice de membrane (Fraysse et Garric 2005). De la même manière, les différences de toxicité observées entre les différents ISRS pourraient avoir un lien avec leurs propriétés pharmacologiques : le citalopram, rapporté comme étant l'ISRS le moins toxique sur les algues et les daphnies n'est pas celui dont l'activité de blocage de recapture de la sérotonine est moindre ; il est par contre celui présentant la sélectivité la plus importante pour les récepteurs sérotoninergiques (Tableau 2). Par ailleurs, la sérotonine et la fluoxétine, composés les plus toxiques pour les algues, sont eux caractérisés par une activité sur les récepteurs noradrénergiques non négligeable (Tableau 2).

Ces relations entre toxicité sur des organismes aquatiques et spécificités pharmacologiques sont encore obscures car peu étudiées. Elles mériteraient cependant d'être évaluées de manière plus approfondie car elles pourraient apporter des éléments de compréhension sur les mécanismes d'action toxique des composés pharmaceutiques sur les organismes aquatiques, et d'expliquer les différences de toxicité observées au sein d'une même classe chimique.

8. Conclusion

- Le jeu de données écotoxicologiques est finalement assez réduit, ce qui limite d'autant la possibilité d'évaluer l'effet des substances médicamenteuses par l'utilisation de valeurs de PNEC.
- Peu de molécules sont effectivement testées, la très grande majorité des études se focalisant sur les mêmes composés : ISRS, β -bloquants et notamment propranolol et aténolol, certaines classes pourtant d'intérêt potentiel n'étant pas du tout étudiées (cf. chapitres suivants).
- L'éventualité d'un risque aigu lié à la présence des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques apparaît négligeable.
- Le risque de type chronique ne peut-être exclu, notamment pour certaines classes de médicaments, et les investigations doivent être poursuivies.
- Les études portant sur les mélanges de composés et leurs interactions possibles sont encore peu nombreuses. Pourtant, au vu des niveaux de concentrations relevés dans l'environnement, il est possible que les effets toxiques des substances médicamenteuses s'exercent principalement *via* une interaction entre elles et/ou avec d'autres contaminants.
- Concernant le manque de données écotoxicologiques, il est nécessaire de poursuivre les essais pour créer de la donnée mais aussi d'explorer des voies alternatives pour évaluer la toxicité des médicaments (Cooper et al. 2008 ; Besse et al. 2008 ; Jjemba 2006 ; Carlsson et al. 2006a ; Jones et al. 2002 ; Stuer-Lauridsen et al. 2000).

Chapitre 4.

Mise en place d'une démarche de priorisation basée sur les quotients de risque (PEC/PNEC)

1. Introduction	85
1.1. Evaluation de l'exposition, détermination des PEC	85
1.2. Evaluation de l'effet, détermination des PNEC.....	85
1.3. Molécules traitées.....	85
2. Article publié dans Human and Ecological Risk Assessment	86
3. Principaux résultats	118
3.1. Identification de métabolites humains d'intérêt.....	118
3.2. Evaluation du risque des médicaments.....	118
3.3. Nécessité de mettre en place une méthode de priorisation alternative.....	118
4. Données additionnelles non présentées dans l'article	118
4.1 Nouvelles valeurs de PEC	118
4.2. Evolution des consommations de médicaments dans le temps.....	118
5. Discussion et perspectives	125
5.1. Evaluation de l'exposition, intérêts et limites du modèle.....	125
5.2. Limites du modèle : prise en compte de la dégradation dans l'environnement, exemples de dégradation abiotique	125
5.3. Limites du modèle : sorption au sédiment et aux matières en suspension	126
5.4. Utilisation des données pharmacocinétiques pour estimer le comportement des médicaments dans l'environnement.....	127
5.5. Conclusion générale pour l'estimation des PEC pour le sédiment.....	130
6. Conclusion	130

1. Introduction

Dans le cadre de la convention avec l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée & Corse, nous avons à définir une liste de molécules pharmaceutiques prioritaires en terme de risque pour les écosystèmes aquatiques.

Afin d'être cohérent avec la démarche d'évaluation du risque proposée dans la procédure EMEA (EMEA 2006), une première méthodologie de priorisation a été mise en place, sur la base d'une évaluation des quantités rejetées dans les milieux (PEC), *via* des voies d'exposition définies (rejets de STEP), et d'une évaluation des effets pour les écosystèmes aquatiques (PNEC).

1.1. Evaluation de l'exposition, détermination des PEC

Les PEC ont été calculées selon l'équation 3 rappelée ici, dérivée du modèle proposé par l'EMEA (EMEA 2006), sur la base des données de consommation nationales fournies par l'AFSSAPS pour l'année 2004 (AFSSAPS 2006).

$$PEC = \frac{amount \times F_{excreta} \times F_{stp}}{WW_{inhab} \times hab \times Dilution \times 365}$$

PEC : concentration prédite d'une molécule pharmaceutique dans le milieu aquatique (eaux de surface).

amount : quantité consommée d'un molécule active sur une année sur une zone géographique donnée (en mg).

F_{excreta} : fraction excrétée de la substance active (permet de tenir compte du métabolisme du composé).

F_{stp} : fraction du composé émis dans l'eau de surface à partir de la STEP (permet de tenir compte de la dégradation du composé dans les STEPs).

hab : nombres d'habitants en France, fixé à (60 millions pour le calcul).

WW_{inhab} : quantité d'eaux usées par jour et par habitant sur la zone considérée (l/hab/jour), valeur fixée par défaut à 200 litres.

Équation 1 : Calcul des concentrations prédites dans les eaux de surface pour les substances pharmaceutiques.

1.2. Evaluation de l'effet, détermination des PNEC

Les données écotoxicologiques aiguës et chroniques disponibles ont été collectées de manière exhaustive et compilées dans une base de données. Pour la détermination des PNEC, nous avons suivi la procédure préconisée par l'EMEA (EMEA 2006), elle-même dérivée de la méthodologie proposée dans le TGD Européen (EU 2003).

1.3. Molécules traitées

Dans cette démarche de priorisation, les médicaments actifs sur le système reproducteur (estrogènes, androgènes, progestatifs, apparentés d'hormones et anti-hormones) ainsi que les anticancéreux cytotoxiques ne sont pas pris en compte. En raison de leur spécificité, caractère perturbateur endocrinien pour les premiers et cytotoxique pour les seconds, ces molécules sont traitées de manière spécifique (cf. chapitres 6, 7 et 8).

2. Article publié dans Human and Ecological Risk Assessment

Résumé (traduction de l'abstract)

De faibles niveaux de concentrations en médicaments ont été mesurés dans les eaux de surface de plusieurs pays. Compte tenu du nombre important de molécules pharmaceutiques pouvant contaminer le milieu aquatique, il est nécessaire, avant de mettre en place un programme de surveillance, d'élaborer une procédure de sélection des molécules à rechercher en priorité.

Sur la base d'une équation simple, adaptée de la procédure d'évaluation du risque pour les médicaments de l'EMA (EMA 2006), nous avons calculé des PEC pour le milieu aquatique. A partir des données de consommation nationale Françaises pour l'année 2004, nous avons déterminé des PEC pour 112 composés parents et pour plusieurs de leurs métabolites.

Les valeurs calculées apparaissent cohérentes avec les mesures de terrain effectuées en France. Bien le modèle proposé soit simple, il permet de donner une bonne estimation de l'exposition pour les composés pharmaceutiques.

Afin évaluer le risque des molécules et les hiérarchiser, nous avons également déterminé des quotients de risque (PEC/PNEC). A cause d'un manque de données écotoxicologiques, il n'a été possible de déterminer ces quotients que pour un faible nombre de molécules ; et il n'a par conséquent pas été possible de hiérarchiser les composés pharmaceutiques sur cette base. Il apparaît nécessaire de mettre en place des approches de priorisation alternatives, basées par exemple sur l'utilisation conjointe de données écotoxicologiques et pharmacologiques.

Exposure Assessment of Pharmaceuticals and Their Metabolites in the Aquatic Environment: Application to the French Situation and Preliminary Prioritization

Jean-Philippe Besse,¹ Christine Kausch-Barreto,² and Jeanne Garric¹

¹Laboratoire d'écotoxicologie, CEMAGREF, Lyon, France; ²Centre de Documentation et d'Information Pharmaceutiques, Pharmacie Centrale des Hospices Civils de Lyon, St Genis Laval cedex, France

ABSTRACT

Low levels of pharmaceuticals have been detected in many countries in surface waters. As a wide range of pharmaceuticals can reach aquatic environments, a selection of molecules to survey is the first step before implementing a monitoring program. We used a simple equation to calculate Predicted Environmental Concentrations (PECs), adapted from the European Medicine Agency model used for the Environmental Risk Assessment (ERA) of human pharmaceutical. Excretion fractions for pharmaceuticals were determined for 76 compounds. Using year 2004 French drug consumption data, we determined aquatic PECs for 112 parent molecules and several metabolites. Considering excretion fractions of pharmaceuticals can lead to drastically reduce predicted concentrations reaching the aquatic environment and help to target environmentally relevant pharmaceuticals and metabolites. Calculated PECs using the described methodology are consistent with French field measurements. The simple model for calculating PECs can be used as a valuable estimation of the exposure. Risk quotient ratios were also calculated. Due to the lack of ecotoxicological data, the use of PEC/PNEC ratios is not enough informative to prioritize pharmaceuticals likely to pose a risk for surface waters. Alternative ways to prioritize risk to pharmaceuticals, combining PEC, pharmacological, and ecotoxicological data available from the literature, should be implemented.

Key Words: pharmaceuticals, metabolites, exposure assessment, aquatic environment, prioritization.

INTRODUCTION

It is now recognized that pharmaceutical compounds reach the environment and can be considered as environmental contaminants. A wide range of drugs

Received 21 June 2007; revised manuscript accepted 6 November 2007.

Address correspondence to Jeanne Garric, Laboratoire d'écotoxicologie, CEMAGREF, 3bis quai Chauveau, 69336 Lyon, CP 220, Cedex 09, France. E-mail: garric@lyon.cemagref.fr

including antibiotics, antidepressants, non steroidal anti-inflammatories (NSAIDs), blood lipid-lowering agents, anti-epileptics, and β -blockers have been found in wastewater effluents and surface waters of several countries (Halling-Sorensen *et al.* 1998; Ternes 1998; Kümmerer 2000; Kolpin *et al.* 2002). These observations have contributed to a growing interest in targeting and quantifying these substances in terrestrial and aquatic environments. In France, there is a concern for monitoring pharmaceuticals in freshwaters as this country shows the highest consumption of pharmaceutical drugs in Europe (DREES 2006). This concern is addressed in the framework of the French Plan National Santé Environnement (PNSE 2004) and in Europe, in the context of preventing deterioration and protecting and enhancing the status of aquatic ecosystems, within the European Water Framework Directive. River basin authorities therefore need to establish a list of priority pharmaceuticals prior to implementing a comprehensive survey in surface waters. In this aim, we developed a prioritization approach to identify human pharmaceuticals to be monitored in French surface waters. As a first step in this prioritization strategy, we used a simple equation to calculate Predicted Environmental Concentrations (PECs) adapted from the model proposed by the European Medicine Agency (EMA) guideline (EMA 2006). This equation takes into account three main parameters: the amount of active ingredients consumed by the population over a year, the removal fraction in wastewater treatment plants (WWTPs), and the excretion fraction of the active molecule.

Pharmaceuticals enter surface waters mainly from WWTPs (Kümmerer 2000, 2001; Bound and Voulvoulis 2004). The majority of human pharmaceuticals probably reach surface waters after being excreted from the body, either as parent compounds or metabolites. Consequently, we reviewed metabolism data in order to estimate values of the excreted fraction of pharmaceuticals. We also targeted metabolites that present significant pharmacological activity and can be found in the environment in non-negligible concentrations.

Our study focused on the most widely used human pharmaceuticals in France. We excluded steroid estrogens from this work, as the risk of endocrine disruption has been previously discussed (Langston *et al.* 2005; Mills and Chichester 2005; Fent *et al.* 2006). Cytotoxic compounds were also excluded because these drugs have specific toxic properties (mutagenesis and carcinogenicity), and need to be assessed in a specific prioritization approach.

PECs for parent compounds and metabolites were calculated using the methodology presented here and were compared with field measurements. Next, the reliability of the applied methodology was discussed.

Finally, we determined risk quotient ratios, according to the EMA guideline. Results and use of the PEC/PNEC (Predicted No Effect Concentration) risk quotient for prioritizing and ranking pharmaceuticals are discussed.

MATERIALS AND METHODS

Model Used for Calculating PECs

The EMA guideline (EMA 2006) proposes an approach to estimate PEC values for pharmaceuticals in surface water. PECs are calculated by using the following

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

general equation:

$$PEC_{surface\ water} = \frac{ELOCAL_{wat} \times F_{stp}}{WW_{inhab} \times CAP_{stp} \times Factor \times Dilution} \quad (1)$$

$$\text{with: } ELOCAL_{wat} = DOSE_{ai} \times F_{excreta} \times F_{pen} \times CAP_{stp} \quad (2)$$

$$\text{and } F_{pen} = \frac{consumption \times 100}{DDD \times hab \times 365} \quad (3)$$

where PEC is expressed in $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ using the following parameters: *consumption* is the quantity ($\text{mg}\cdot\text{year}^{-1}$) of an active molecule consumed by the population during 1 year in a defined zone (generally a country); *hab* is the number of inhabitants and 100 the correction factor for the percentages; 365 is the number of days per year ($\text{day}\cdot\text{year}^{-1}$); *DOSE_{ai}*: maximum recommended daily dose of an active molecule consumed per inhabitant ($\text{mg}\cdot\text{inhabitants}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$); *DDD*: Defined Daily Dose for an active molecule ($\text{mg}\cdot\text{inhabitants}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$); *WW_{inhab}*: volume of wastewater per person per day (default value = $200\text{ l}\cdot\text{inhabitants}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$); *CAP_{stp}*: capacity of local sewage treatment plant (inhabitants); dilution is the dilution factor from WWTP effluent to surface waters (default value set to 10). *Factor* stands for the fraction of the molecule adsorbed to the suspended matter; *F_{pen}* (%): market penetration factor; *F_{pen}* is the proportion of the population being treated daily with a specific drug substance; *F_{excreta}*: excretion fraction of the active molecule; *F_{stp}*: fraction of emission of the drug from wastewater treatment plants (WWTP) directed to surface water, *F_{stp}* can be defined as (1-WWTP removal fraction).

Combination of Eqs. (1), (2), and (3) gives the following:

$$PEC_{surface\ water} = \frac{consumption \times F_{excreta} \times F_{stp} \times DOSE_{ai} \times 100}{WW_{inhab} \times hab \times Factor \times Dilution \times DDD \times 365} \quad (4)$$

In the aim of our prioritization strategy, we simplified this last equation. Eq. (4) is finally transformed into Eq. (5) as follows:

$$PEC_{surface\ water} = \frac{consumption \times F_{excreta} \times F_{stp}}{WW_{inhab} \times hab \times Dilution \times 365} \quad (5)$$

all PEC calculations presented in this study will refer to Eq. (5).

Consumption Data Sources

The French medicine agency (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, AFSSAPS, Paris) kindly shared yearly sales data compulsory provided by the pharmaceutical firms to AFSSAPS. These data cover both sale quantities of all prescribed drugs delivered in France and over-the-counter drugs for the year 2004 for hospitals and pharmacies. In the scope of this work we assume that delivered quantities represent quantities effectively consumed by the French population and that the consumed amount was evenly distributed throughout the year, as assumed in Carlsson *et al.* (2006).

The candidate list of pharmaceuticals was established as follows: a first set of molecules was selected from the top 100 pharmaceuticals used in France (AFSSAPS 2006). To this first set of molecules, we added those that were reported in previous studies to be detected in the aquatic environment or to be of high aquatic ecotoxicity, and finally the molecules known to be persistent in the environment. The list of selected molecules is displayed in Table 1; compounds are sorted by decreasing

Table 1. Consumption, excretion fractions (Fexcreta), and calculated PECs for pharmaceuticals used in France in 2004 (Data from AFSSAPS 2006). Active molecules are sorted by decreasing consumption amounts. PECs are calculated using Eq. (5) and are expressed in $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$. PEC_A are calculated using actual amounts only. PEC_B are PEC_A refined by Fexcreta values.

Compound name	Therapeutic use	Consumption of active ingredient in the year 2004 (kg)	Fexcreta	PEC_A ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$)	PEC_B ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$)
Paracetamol	Analgesic	3303077	0.85	75413	64101
Metformin	Antihyperglycaemic	716858	1	16367	16367
Troloxerutin	Used in venous insufficiency	444339	—	10145	—
Aspirin	Analgesic	396212	—	9046	—
Diosmin	Used in venous insufficiency	373544	—	8528	—
Amoxicillin	Antibiotic	333223	0.9	7608	6847
Ibuprofen	Anti-inflammatory	240024	0.25	5480	1370
Carbocistein	Mucolytic	232308	—	5304	—
Sodium valproate	Anti-epileptic	112162	0.53	2561	1357
Acetylcystein	Mucolytic	96759	—	2209	—
Fenofibrate	Lipid regulating	85670	0.01	1956	20
Allopurinol	Antigout	54247	0.12	1239	149
Dextropropoxyphene	Analgesic	51963	0.05	1186	59
Buflomedil	Anti-ischaemic	50958	0.25	1163	291
Naftidrofuryl	Anti-ischaemic	45523	—	1039	—
Benfluorex	Lipid regulating	40730	—	930	—
Pristinamycin	Antibiotic	39855	—	910	—
Naproxen	Anti-inflammatory	37332	0.7	852	597
Metronidazole	Antiprotozoal	36545	0.18	834	150
Carbamazepine	Anti-epileptic	33514	—	765	—
Heptaminol	Used in orthostatic hypotension	28423	—	649	—
Tramadol	Analgesic	25897	0.3	591	177
Levodopa	Management of parkinsonism	24996	—	571	—
Amiodarone	Anti-arryhtmic	24318	—	555	—
Trimebutine	Antispasmodic	23550	—	538	—
Clavulanic acid	β -lactamase inhibitor	22699	—	518	—
ketoprofen	Anti-inflammatory	21697	0.85	495	421
Furosemide	Diuretic	21288	1	486	486
Bezafibrate	Lipid regulating	20852	1	476	476
Atenolol	Anti-hypertensive (β -blocker)	18337	1	419	419
Amphotericin B	Antifungal	18179	1	415	415
Sulfamethoxazole	Antibiotic	16730	0.4	382	153
Trimetazidine	Anti-ischaemic	16480	—	376	—
Clarithromycin	Antibiotic	15105	0.18	345	62
Ceftriaxone	Antibiotic	13603	1	311	311
Iosamycin	Antibiotic	12802	0.2	292	58
Propranolol	Anti-hypertensive (β -blocker)	12487	0.24	285	68

(Continued on next page)

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

Table 1. Consumption, excretion fractions (Fexcreta), and calculated PECs for pharmaceuticals used in France in 2004 (Data from AFSSAPS 2006). Active molecules are sorted by decreasing consumption amounts. PECs are calculated using Eq. (5) and are expressed in $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$. PEC_A are calculated using actual amounts only. PEC_B are PEC_A refined by Fexcreta values. (Continued)

Compound name	Therapeutic use	Consumption of active ingredient in the		PEC_A ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$)	PEC_B ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$)
		year 2004 (kg)	Fexcreta		
Ciprofloxacin	Antibiotic	12186	0.5	278	139
Ranitidine	Anti-ulcer	11656	0.5	266	139
Pravastatin	Lipid regulating	10969	0.5	250	125
Diclofenac	Anti-inflammatory	9896	0.15	226	34
Cefpodoxime	Antibiotic	9283	0.8	212	170
Metoprolol	Anti-hypertensive (β -blocker)	8786	0.05	201	10
Omeprazole	Anti-ulcer	8045	0.01	184	1.8
Atorvastatin	Lipid regulating	7924	0.01	181	1.8
Nicardipine	Anti-hypertensive	7800	0.01	178	1.8
Simvastatin	Lipid regulating	6943	0.01	159	1.6
Fosfomycin	Antibiotic	6774	1	155	155
Hydroxyzine	Anxiolytic	6638	—	152	—
Doxycycline	Antibiotic	6243	0.72	143	103
Sertraline	Aerotoninergic anti-depressant	6224	0.14	142	20
Oxazepam	Anxiolytic	6195	1	141	141
Domperidone	Antiemetic (dopamine antagonist)	5861	0.07	134	9
Paroxetine	Aerotoninergic anti-depressant	5515	0.03	126	4
Cyamemazine	Antipsychotic	5441	—	124	—
Pantoprazole	Anti-ulcer	5287	0.01	121	1
Piperacillin	Antibiotic	4476	1	102	102
Ofloxacin	Antibiotic	4137	1	94	94
Azithromycin	Antibiotic	4073	0.5	93	46.5
Phenobarbital	Anti-epileptic	3915	0.25	89	22.3
Prednisolone	Corticoid	3743	—	85	—
Fluoxetine	Serotoninergic anti-depressant	3740	0.1	85	8.5
Citalopram	Serotoninergic anti-depressant	3487	0.4	80	32
Roxythromycin	Antibiotic	3404	0.5	78	38.9
Trimethoprim	Antibiotic	3346	0.5	76	38.2
Zolpidem	Hypnotic	3344	0.01	76	0.76
Bromazepam	Anxiolytic	2604	0.03	59	1.78
Mianserine	Antipsychotic	2423	—	55.3	—
Rifampicine	Antibiotic	2383	0.18	54	9.8
Prazepam	Anxiolytic	2166	0.03	49	1.48
Tianeptine	Antidepressant	2152	0.08	49	3.93
Bisoprolol	Anti-hypertensive (β -blocker)	2113	0.6	48	28.94

(Continued on next page)

Table 1. Consumption, excretion fractions (Fexcreta), and calculated PECs for pharmaceuticals used in France in 2004 (Data from AFSSAPS 2006). Active molecules are sorted by decreasing consumption amounts. PECs are calculated using Eq. (5) and are expressed in $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$. PEC_A are calculated using actual amounts only. PEC_B are PEC_A refined by Fexcreta values. (Continued)

Compound name	Therapeutic use	Consumption of active ingredient in the year 2004 (kg)		PEC_A ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$)	PEC_B ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$)
			Fexcreta		
Clorazepate	Anxiolytic	2109	0.01	48	0.48
Amlodipine	Anti-hypertensive	2013	0.1	46	4.60
Piroxicam	Anti-inflammatory	2008	0.1	46	4.58
Zopiclone	Hypnotic	1948	0.04	44	1.78
Ceftazidime	Antibiotic	1832	1	42	41.82
Levomepromazine	antipsychotic	1699	—	39	—
Prednisone	Corticoid	1550	—	35	—
Cetirizine	Anti-allergic	1442	0.7	33	23.05
Fluvoxamine	Serotoninerpic anti-depressant	1121	—	26	—
Glibenclamide	Antihyperglycaemic	1092	0.1	25	2.49
Baclofen	Muscle relaxant	1080	0.8	25	19.72
Ramipril	Antihypertensive	1042	0.02	24	0.48
Loxapine	Antipsychotic	961	—	22	—
Nadolol	Anti-hypertensive (β -blocker)	938	1	21	21.42
Loratadine	Anti allergic	927	—	21	—
Vancomycin	Antibiotic	918	1	21	20.96
Metoclopramide	Antiemetic (dopamine antagonist)	913	0.3	21	6.25
Fluconazole	Antifungal	893	0.8	20	16.30
Lorazepam	Anxiolytic	585	0.85	13	11.35
Tazobactam	β -lactamase inhibitor	560	0.8	13	10.22
Diazepam	Anxiolytic	526	0.01	12	0.12
Perindopril	Anti-hypertensive	504	0.1	12	1.15
Hydrocortisone	Corticoid	453	—	10	—
Oxprenolol	Anti-hypertensive (β -blocker)	377	0.98	8.60	8.43
Tropatepine	Management of parkinsonism	355	—	8.11	—
Haloperidol	Antipsychotic	342	—	7.81	—
Loperamide	Antidiarrhoeal	318	—	7.26	—
Carvedilol	Anti-hypertensive (β -blocker)	313	—	7.15	—
Buprenorphine	Opioid	270	—	6.17	—
Trihexyphenidyle	Management of parkinsonism	257	—	5.86	—
Nordazepam	Anxiolytic	237	0.01	5.4	0.05
Alprazolam	Anxiolytic	178	0.01	4.05	0.04
Terbutaline	Anti-asthmatic	165	—	3.78	—
Betamethasone	Corticoid	156	—	3.56	—

(Continued on next page)

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

Table 1. Consumption, excretion fractions (Fexcreta), and calculated PECs for pharmaceuticals used in France in 2004 (Data from AFSSAPS 2006). Active molecules are sorted by decreasing consumption amounts. PECs are calculated using Eq. (5) and are expressed in $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$. PEC_A are calculated using actual amounts only. PEC_B are PEC_A refined by Fexcreta values. (Continued)

Compound name	Therapeutic use	Consumption of active ingredient in the year 2004 (kg)		PEC_A ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$)	PEC_B ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$)
			Fexcreta		
Teicoplanin	Antibiotic	136	1	3.11	3.11
Midazolam	Hypnotic/ amnesic	98	—	2.23	—
Levothyroxin	Thyroid hormone	59	—	1.34	—
Ondansetron	Anti-emetic	44	0.1	1.00	0.10
Clonazepam	Anxiolytic	21	—	0.49	—
Escitalopram	Serotonergic anti-depressant	4.6	—	0.11	—

consumption. As discussed in the introduction, neither steroid estrogens nor cytotoxics were included in this set of molecules.

Determination of the Parameter Fexcreta

Implications of Pharmaceutical Metabolism for Environmental Considerations

In the human body, active molecules pass through several biotransformation mechanisms ending in their elimination from the organism. Schematically, biotransformations can be summarized into two different steps: phase I and phase II biotransformations. Phase I metabolites can show a pharmacological activity similar or not to the parent compound and be biologically active. As an example, norfluoxetine, a phase I metabolite of the serotonergic antidepressant fluoxetine, shows the same pharmacological activity as the parent compound.

Phase II metabolites are phase I metabolite or parent compound conjugated with a functional group (such as glucuronide, sulphate, or acetate), which enhance elimination from the organism and inactivate the molecule. It has been shown for estrogens that glucuronide phase II metabolites could be cleaved in the environment and thus regenerate the parent compound (Ternes *et al.* 1999; D'Ascenzo *et al.* 2003). Moreover, sulphate conjugates appear to be more stable in the environment (D'Ascenzo *et al.* 2003). As shown for estrogens, we can reasonably assume that glucuronide conjugates of pharmaceutical compounds are subjected to the same degradation pathway and are cleaved in the environment.

Therefore, active metabolites and glucuronide conjugates have to be considered in an Environmental Risk Assessment (ERA) or a prioritization approach.

Fexcreta Calculation

To provide reasonable Fexcreta values, we made the following assumptions: We assumed that all glucuronide conjugates are cleaved in the environment.

Consequently, Fexcreta was determined by summing the excreted proportion of the unchanged active molecule (in urine and/or in feces) and the proportion of the parent molecule existing as a glucuronide conjugate. If no information was given on the nature of the conjugate, we assumed a worst case hypothesis considering that all conjugates were glucuronide conjugates. Rates of molecule not absorbed by the digestive tract were added to the other excretion rates to give the final Fexcreta value.

Modifications in metabolism rates that can occur in unhealthy people were not taken into account. When more than one excretion value was given, we always chose the greater one, assuming a worst case scenario (decimal values were rounded up or down to the nearest value). When information such as “negligible excretion of unchanged drug” was given with no other specific information, we assumed a Fexcreta value minimum of 0.01. When no reliable data were found, no Fexcreta value was calculated.

Finally, when data were available, we calculated the Fexcreta value for active metabolites using the same methodology with the assumptions described earlier. The methodology used to determine Fexcreta values is synthesized in Figure 1.

Reference Books and Databases Reviewed

In order to determine metabolism pathways of selected pharmaceuticals and to calculate Fexcreta values, we reviewed data from several sources commonly used by healthcare services (hospitals, pharmacovigilance services, pharmacists, *etc.*): the Banque Claude Bernard (BCB 2006), a complete and free French databank on human pharmaceuticals (<http://www.resip.fr>), the BCB is updated monthly, notably with data from the Marketing Authorisation Application (MAA); the BIAM database (www.biam2.org 2006); the drug database drugs.com (www.drugs.com); the Micromedex Drugdex[®] databank (from Thomson Micromedex, available at www.micromedex.com/products/drugdex); the Martindale compendium's *Complete Drug Reference* (Martindale 2002); the Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutic* (Hardman *et al.* 1996); the Merck Index (Merck 2001); and the Dorosz *Guide pratique des médicaments* (Dorosz 2007). The HSDB database (<http://www.toxn-et.nlm.nih.gov/>) was also investigated.

RESULTS

Excretion Factor Values

Excretion factor values are displayed in Table 1. Reviewing the databases allowed us to determine Fexcreta values for 76 molecules of the 112 selected. From the 76 compounds for which Fexcreta values were determined, 45 showed excretion rates less than 0.5 and 23 compounds present excretion rates less than 0.1.

Although the data determined here are consistent with previous published excretion rates, some differences can be noted for a few of the compounds studied. We report an excretion value for sulfamethoxazole of 0.4 compared to 0.15 (Ternes 1998) and 0.25 versus 0.01–0.08 for ibuprofen (Ternes 1998). In the case of ibuprofen, this difference can be explained by the fact that the proportion of glucuronide conjugates was added in our study. For furosemide, in taking into account the glucuronide

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

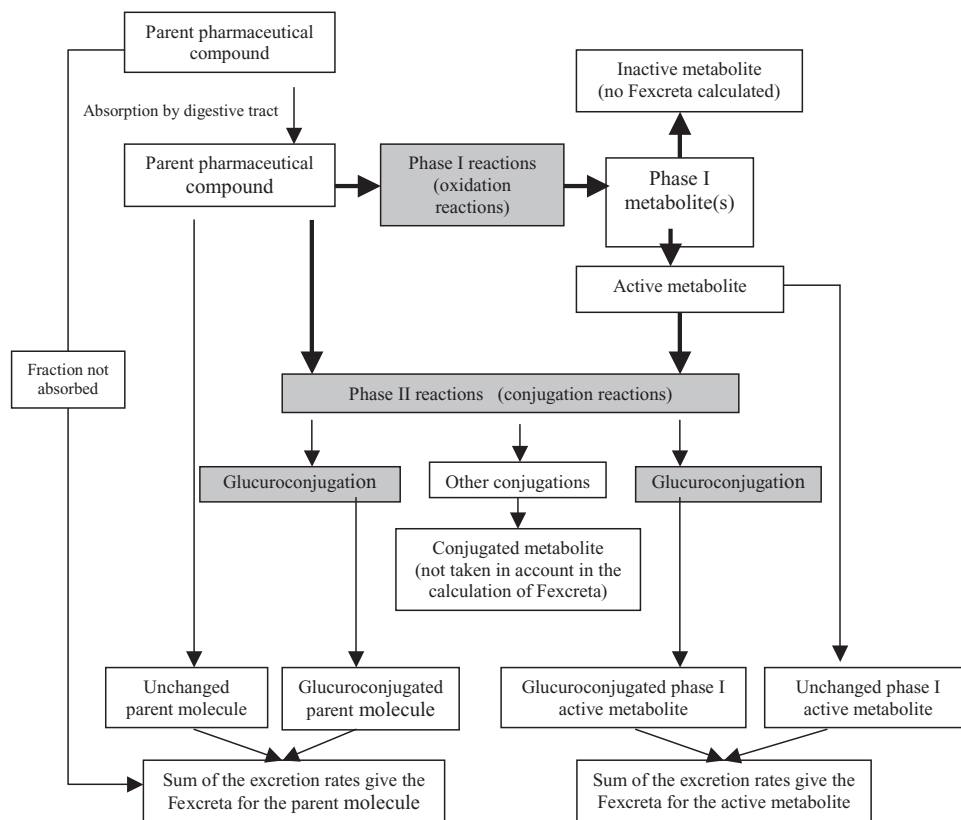


Figure 1. Methodology used to calculate Fexcreta values for pharmaceutical compounds and active metabolites. As glucuroconjugated metabolites can be cleaved in the environment and regenerate the active compound, their excretion rates were taken into account in the calculation of the Fexcreta value.

ester metabolites, we calculated a Fexcreta value of 1 instead of the value of 0.4 reported by Bindschedler *et al.* (1997). As the glucuronide ester is reported to be the only significant metabolite of furosemide (Micromedex Drugdex[®] 2006), we considered that all furosemide was excreted unchanged or as glucuronide metabolite, with 100% of the dose excreted in the environment after cleavage of the ester.

Hirsch *et al.* (1999) reported excretion fractions for antibiotics. Our results are in good agreement with these values for doxycycline, amoxicillin, trimethoprim, and erythromycin; for erythromycin, we assumed a worst case value of 1. On the contrary, for roxithromycin and clarithromycin, the results differ significantly. Hirsch reports excretion rates of both unchanged molecules greater than 0.6, whereas we determined a 0.5 value for roxithromycin and a 0.3 value for clarithromycin.

For carbamazepine, a Fexcreta of about 0.01 to 0.03 was reviewed from the literature (Ternes 1998; Jjemba 2006), which corresponds to the unchanged fraction excreted in urine. However, carbamazepine is also excreted in faeces and can be metabolized in glucuronide conjugates (Lynn *et al.* 1978; BCB; Micromedex Drugdex[®]

2006). Nevertheless, as no quantitative data were available to allow calculating an accurate Fexcreta value, we chose to consider Fexcreta for this molecule as undetermined rather than giving a wrong estimation.

For the active metabolite of simvastatin (β -hydroxy-acid metabolite), we did not find any value in the reviewed databases. However, Carlsson *et al.* (2006) report that 55% of the parent pro-drug simvastatin is excreted under the activated form. Therefore, we assumed a Fexcreta value of 0.55 for the β -hydroxy-acid metabolite in our work.

Active Metabolites Entering the Aquatic Environment

Reviewing metabolism pathways of pharmaceutical compounds allowed us to target specific metabolites that may be of potential concern for the aquatic environment. These metabolites were selected because they present either a significant pharmacological activity, or a significant excretion fraction (≥ 0.1 , threshold value assumed by the EMEA). Metabolites of interest are listed with their excretion values and their pharmacological properties in Table 2. In addition, searching for active metabolites allowed us to highlight specific compounds that are both active molecules and metabolites. Two important drugs exemplify this particular profile: oxazepam and prednisolone.

Oxazepam is an anxiolytic drug belonging to the benzodiazepine class. Oxazepam shows a very particular profile because it is both an active molecule and a metabolite of the following active molecules: prazepam, diazepam, nordazepam, and clorazepate dipotassium (Figure 2). Prazepam, diazepam, and clorazepate are metabolized in humans to desmethyldiazepam, an active metabolite also used as a drug (nordazepam), which is subsequently transformed to oxazepam. Oxazepam then undergoes direct glucuronidation before its excretion. Glucuronide conjugates of oxazepam should then undergo subsequent cleavage in the environment and then regenerate the active oxazepam.

This case is interesting because diazepam, the benzodiazepine commonly searched for in the aquatic environment, is not expected to reach surface waters in significant concentrations. Diazepam was detected at low frequency in German WWTP effluents with a maximum concentration of $40 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Ternes 1998), at very low concentration in surface waters, less than $5 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Fent *et al.* 2006) and once in drinking waters at level up to $10 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Waggott *et al.* 1981, cited by Halling-Sorensen 1998). Nevertheless, most of the studies did not detect diazepam in effluents (Clara *et al.* 2005; Carballa *et al.* 2005; Rabiet *et al.* 2006) or in surface waters (Ternes 1998; Zuccato *et al.* 2005).

On the contrary, oxazepam, which is potentially excreted up to 100% (taking into account the glucuronide conjugates) of the dose absorbed for the five different active molecules, is expected to be present at greater levels in the aquatic environment. A very recent study on occurrence of pharmaceuticals in aquatic systems in France (Togola *et al.* 2007) did not detect diazepam in surface waters, whereas oxazepam was measured at significant concentrations (up to $1500 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$). Therefore, we assume that oxazepam is the benzodiazepine to search for in the environment, and that this drug could be used as an indicator of contamination of the aquatic environment by benzodiazepines.

Table 2. Review of phase I metabolites of potential interest for the French aquatic environment. Active metabolites are sorted in alphabetical order of parent compounds, except for oxazepam.

Active metabolite	Fexcreta	Parent compound	Pharmacological activity
<u>Diacetolol</u>	0.5	Acebutolol	Equipotent to parent compound
Oxypurinol	ND	Allopurinol	Less active than parent compound
N-desethylamidarone	ND	Amiodarone	Equipotent as sodium channel blocker less active as antagonist of the calcium channel
Nortryptiline	ND	Amitriptyline	Active, no further details
<u>Salicylic acid</u>	ND	Aspirin*	Active, related to the pharmacological effect
<u>2-hydroxy-atorvastatin</u>	ND	Atorvastatin*	Active, related to the pharmacological effect
<u>4-hydroxy-atorvastatin</u>	ND	Atorvastatin*	Active, related to the pharmacological effect
<u>β-acid metabolite</u>	0.05	Baclofen	Active, no further details
10,11-epoxy metabolite	ND	Carbamazepine	Active, partially responsible for carbamazepine intoxication
Desmethylcarvedilol	ND	Carvedilol	2.5 times more potent in rabbits
4-OH-phenylcarvedilol	ND	Carvedilol	13 times more potent in rabbits
4 different metabolites	0.22 (all metabolites)	Ciprofloxacin	Some metabolites may have an antibacterial activity
<u>14-OH-clarithromycin</u>	0.15	Clarithromycin	More active on certain bacterial strains (<i>H influenza</i>), synergistic action with clarithromycin
<u>Clofibric acid</u>	0.99	Clofibrate*	Active, linked to the pharmacological effect
<u>Norpropoxyphene</u>	0.25	Dextropropoxyphene	Substantially less central-nervous-system depressant effect than dextro but a greater local anaesthetic effect
<u>Fenofibric acid</u>	0.6	Fenofibrate*	Active, linked to the pharmacological effect
<u>Norfluoxetine</u>	0.2	Fluoxetine	Equipotent to parent compound
Cetirizine	ND	Hydroxyzine	Active, used as patent medicine

Table 2. Review of phase I metabolites of potential interest for the French aquatic environment. Active metabolites are sorted in alphabetical order of parent compounds, except for oxazepam. (*Continued*)

Active metabolite	Fexcreta	Parent compound	Pharmacological activity
<u>2-OH-ibuprofen</u>	0.25	iIbuprofen	No data on pharmacological activity
<u>Carboxy-ibuprofen</u>	0.37	iIbuprofen	No data on pharmacological activity
Desipramine	0.06	Imipramine	Equipotent to parent compound
OH-metronidazole	0.28	Metronidazole	Between 30 and 50% of the metronidazole activity
Desmethylnaproxen	0.28	Naproxen	May be pharmacologically inactive
Unidentified metabolites	0.08	Norfloxacin	Some metabolites may have an antibacterial activity
<u>Perindoprilat</u>	0.38	Perindopril*	active, linked to the pharmacological effect
4-OH-propranolol	ND	Propranolol	Equipotent to parent compound
Ramiprilat	0.12	Ramipril*	6 times more active than ramipril
25-O-deacetyl rifampicin	About 0.5	Rifampicin	Equipotent to parent compound
β -OH-acid metabolite	0.55**	Simvastatin*	Active, linked to the pharmacological effect
<u>Acetylsulfamethoxazole</u>	0.6	Sulfamethoxazole	No antibacterial activity
<u>Demethyltramadol</u>	0.6	Tramadol	Active, analgesic effect, no further details
<u>O-desmethylvenlafaxine</u>	0.3	Venlafaxine	active, no further details
<u>Zopiclone-N-oxide</u>	0.15	Zopiclone	Less active than parent compound
<u>Oxazepam</u>	1	Diazepam	Active, used as a patent anxiolytic (see section 3.2)
	1	Clorazepate	
	1	Nordazepam	
	ND	Prazepam	

ND: no excretion rate value could be determined.*Indicates a prodrug.**Data from Carlsson *et al.* 2006. Underlined metabolites are considered to be of environmental concern (see section about environmental relevance of active metabolites for further details).

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

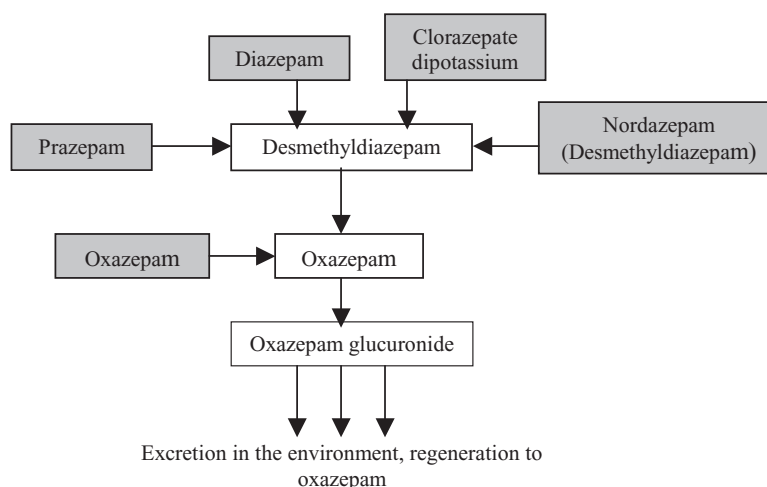


Figure 2. Simplified scheme of the different sources of oxazepam. Grey squares indicate an active molecule used as a commercialized product; white squares indicate metabolites.

Prednisolone belongs to the glucocorticoid therapeutic class. Glucocorticoids are natural (hydrocortisone or cortisol) or synthesized (prednisolone, prednisone, betamethasone, or dexamethasone) steroid compounds. They present immunosuppressant properties and are used in many different pathologies (inflammation, allergy, auto-immune disease, *etc.*). Reviewed metabolism data are incomplete but available data show that only a small portion (less than 5%) of glucocorticoids are excreted in unchanged form (Schorderet 1998), except for prednisolone, which is excreted in a greater fraction: up to 24% in case of a large dose (Schorderet 1998; Martindale 2002). Prednisolone is also the active form of prednisone. Therefore, non-negligible levels of prednisolone can reach the environment. Consequently, prednisolone should be searched for in the environment and could be used as a marker of contamination for other glucocorticoids. This assumption is partially confirmed by the results of Chang *et al.* (2007), who report that prednisolone is the synthetic glucocorticoid frequently found in surface waters. These results indicate that metabolism data are useful for selecting relevant pharmaceuticals or metabolites to survey in surface waters.

Calculated PECs for Parent Compounds

PECs were calculated using Eq. (5). As all required data were not available (especially WWTP removal rates data) for all the selected molecules, three PEC values were calculated corresponding to varying conservative levels.

PEC_A is the conservative PEC calculated with actual amounts of pharmaceuticals and not refined by Fexcreta and Fstp values. PEC_B are PEC_A refined by Fexcreta values. PEC_C are PEC_B refined by Fstp values. Results for PEC_A and PEC_B are displayed in Table 1. Considering PEC_A values, only 15 compounds show a value greater than 1 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ and our results highlight paracetamol, ibuprofen, dextropropoxyphene, amoxicillin, and aspirin. PEC_A values of troxerutin and diosmin,

two flavonoid compounds with vitamin P properties (used against veinous insufficiency of the lower limbs), are also in the top 10 because they are widely prescribed in France, contrary to other European countries; these last two drugs may be specific to the French consumption profile.

For compounds such as sertraline, dextropropoxyphene, omeprazole, and pantoprazole, the PEC_B values are drastically reduced. For example, for the antidepressant sertraline, PEC_A is equal to $142 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ but drops to $20 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ when excretion rates are taken into account. Comparison of PEC_A and PEC_B values confirms that metabolism is one of the most important processes that can reduce the quantity of parent pharmaceuticals reaching the aquatic environment. Therefore, metabolism data and excretion rates have to be taken into account in PEC calculation (Huschek *et al.* 2004). As data on metabolism rates are currently available through databases, they can help to prioritize pharmaceuticals of greater concern.

Comparison of PEC Values with Field Measurements

WWTP removal rates data are limited. Reviewing literature data, we found only data for 24 molecules by the 111 selected in this work (Table 3); some of them show a high variability, depending on the study. This is especially the case for metoprolol and diclofenac with removal fractions varying from less than 0.1 to 0.83 and from less than 0.1 to 0.75, respectively.

Considering the heterogeneity of data, we determined PEC_C values by two methods. First, we calculated extreme PEC_C values by taking into account the minimal and maximal WWTP removal rates reviewed. Second, we calculated a refined PEC_C using the WWTP removal rates reported by Paffoni *et al.* (2006), as this study provides data for almost all 24 compounds.

Our first objective was to compare PEC values for surface water with field measurements, but, as only few measurements of pharmaceuticals in French surface waters are available, we used data on occurrence in WWTP effluents. Consequently, in order to compare the calculated PEC with real measurements, we used Eq. (5) without the default dilution factor of 10. Calculated PEC_C for WWTP effluents with WWTP effluents measurements performed in France are compared in Table 4.

Calculated PECs for pharmaceuticals appear to correlate well with effluents measurements. This is the case for diclofenac, ibuprofen, naproxen, ketoprofen, bezafibrate, metoprolol, and propranolol. As a general rule, calculated PECs for antibiotics were in the range but slightly greater than the measured concentrations in effluents.

For two compounds, however, PECs are very different from the effluent measurements (more than one order of magnitude); this is the case for amoxicillin and doxycycline.

For amoxicillin, the difference could be explained by the fact that this molecule is rapidly degraded in water, which has been previously suggested (Zuccato *et al.* 2005). Another β -lactam, piperacillin, showing a PEC_B value for WWTP effluent of about $1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ has been searched for but not detected in WWTP effluents or surface waters in the French aquatic environment (Paffoni *et al.* 2006). These results suggest that β -lactam antibiotics may undergo rapid environmental degradation but this hypothesis must be confirmed.

Table 3. Wastewater treatment plants (WWTPs) removal fraction for pharmaceuticals and metabolites.

	Wastewater treatment plants removal fraction								Min value	Max value
	Ternes 1998	Stumpf <i>et al.</i> 1999	Paxéus 2004	Bendz <i>et al.</i> 2005	Clara <i>et al.</i> 2005	Paffoni <i>et al.</i> 2006	Castiglioni <i>et al.</i> 2006*	Castiglioni <i>et al.</i> , 2006**		
Amoxicillin						0.29	0.49–1 (md = 0.75)	1	0.29	1
Atenolol			<0.1			0.52	0–0.21 (md = 0.1)	0.36–0.76 (md = 0.55)	0	0.76
Azithromycin						0.43				0.43
Bezafibrate	0.83	0.5			0.4–>0.9	0.72	0–0.66 (md = 0.15)	0–0.98 (md = 0.87)	0	0.98
Aarbamazepine	0.07		<0.1–0.53	0.3		0.19	0	0	0	0.19
Ciprofloxacin						0.62	0.45–0.78 (md = 0.6)	0.53–0.69 (md = 0.63)	0.45	0.78
Clarithromycin						0.69	0–0.24 (md = 0)	0	0	0.69
Diclofenac	0.69	0.75	<0.1–0.8	0.22		0.27			0.1	0.75
Doxycycline						0.06				0.06
Fenofibrate						>0.01				>0.1
Fenofibric acid	0.64	0.45				0.82			0.45	0.82
Furosemide							0–0.17 (md = 0.8)	0.15–0.62 (md = 0.54)	0	0.62
Ibuprofen	0.09	0.75	0.52–0.99	0.96	>0.9	0.96	0.25–0.72 (md = 0.38)	0–1 (md = 0.93)	0	1
OH-ibuprofen				0.95						0.95
Carboxy-ibuprofen				0.96						0.96
Ketoprofen		0.69		0.65		0.93			0.65	0.93
Metoprolol	0.83		<0.1–0.1			0.1			0.1	0.83
Naproxen	0.66	0.78	0.48–0.93	0.93		0.88			0.48	0.93
Ofloxacin						0.4	0–0.62 (md = 0.43)	0.33–0.66 (md = 0.57)	0	0.66
Propranolol	0.96			0.32		0.22			0.22	0.96
Ranitidine							0–0.76 (md = 0.39)	0.72–0.89 (md = 0.84)	0	0.84
Roxithromycin					0.5–0.6	0.51			0.5	0.6
Spiramycine						0.94	0–0.11 (md = 0)	0	0	0.94
Sulfamethoxazole					0.5–0.6	0.64			0.5	0.64
Srimethoprim			<0.1–0.4	0.49		0.51			0.1	0.51
Vancomycin						1				1

md: median value.

*Removal fraction determined in winter (Castiglioni *et al.* 2006). **Removal fraction determined in summer (Castiglioni *et al.* 2006).

Table 4. Comparison of calculated PECs for wastewater treatment plants (WWTP) effluents with measured concentrations in WWTP effluents in France. PECs are determined using Eq. (5) and are expressed in $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$.

	Pharmaceutical concentrations in French WWTP effluents ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$)				Calculated PEC for WWTP effluents	
	Paffoni <i>et al.</i> 2006	Miège <i>et al.</i> 2006	Andreozzi <i>et al.</i> 2003	Rabiet <i>et al.</i> 2006	PEC _C ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$) ^a	PEC _C ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$) ^b
Amoxicillin	40				0–48615	48615
Atenolol	570				1000–4190	2010
Azithromycin	101					260
Bezafibrate	840		ND–1070		95–4760	1330
Carbamazepine	1020		980–1200	157–293	NA	NA
Ciprofloxacin	101		60		305–765	530
Clarithromycin	117				190–620	190
Diazepam	ND			ND	Negligible*	Negligible*
Diclofenac	810		250–410	211–486	85–305	250
Doxycycline	73					965
Fenofibrate	310		20–120			<180
Ibuprofen	600		20–1820	18–219	0 13700	550
Ketoprofen	270		ND–1620	22–1081	295–1475	295
Metoprolol	100	509–1774	80		15–90	90
Naproxen	350		510–1730	42–289	420–3100	715
Ofloxacin	177		330–510		320–940	565
Propranolol	190	416–1111			25–535	535
Roxithromycin	50				155–195	190
Dimvastatin	ND				Negligible*	Negligible*
Sulfamethoxazole	205		70–90		550–765	550
Trimethoprim	72		20–40		185–345	185
Vancomycin	ND					Negligible**

ND: not detected in WWTP effluents, NA: not applicable: carbamazepine Fexcreta values were not determined in this study, ^adistribution of PEC calculated using minimal and maximal WWTP removal rates reviewed (see Table 3 for details), ^bPEC calculated using WWTP removal rates calculated by Paffoni *et al.* 2006, *PEC_C are considered negligible considering the very low Fexcreta values of 0.01 assumed for diazepam and simvastatin, **PEC_C is considered negligible as Paffoni *et al.* (2006) reports a WWTP removal fraction of 1. WWTP measured concentrations from Paffoni *et al.* (2006) are mean concentrations.

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

For doxycycline, previous studies have reported that tetracyclines should be bound to suspended matter and sediment due to their complexing properties (Hirsch *et al.* 1999). Therefore doxycycline is unlikely to be found under dissolved form but could still be in the water column if bound to suspended materials, especially colloids.

PEC_Bs of diazepam and simvastatin (a prodrug) are very low (2 ng·l⁻¹) and therefore those molecules were not expected to be found in effluents or surface waters, which is confirmed by field measurements (Paffoni *et al.* 2006; Rabiet *et al.* 2006).

We also investigated PEC values in surface water for a few metabolites of potential concern (Table 5), considering excretion rates of metabolites and consumed amounts of the respective parent compound. Only a few of the metabolites considered in this work have already been measured in aquatic environments (but not in France), which allowed us to compare PEC and field measurements. The calculated PEC_B for acetylsulfamethoxazole is in the range of the measured concentrations reported in WWTP effluents and surface waters downstream from a WWTP (Ashton *et al.* 2004).

The anti-inflammatory drug ibuprofen can generate two main metabolites: carboxy and hydroxy-ibuprofen. Our calculated PEC_C values reported here are consistent with field measurements for the two metabolites, if we consider a WWTP removal fraction of 0.95 for the two compounds (Bendz *et al.* 2005).

The PEC_C value of fenofibric acid calculated with a WWTP removal fraction of 0.82 (Paffoni *et al.* 2006) is in the range of the surface water levels reported by Paffoni (Table 5). For other metabolites, no field data were available to allow any comparison; the following active metabolites—hydroxymetronidazole, norpropoxyphene, and demethyltramadol (excreted from metronidazole, dextropropoxyphene, and tramadol, respectively)—show PEC_B values for surface waters of approximately 250 ng·l⁻¹. For oxazepam (benzodiazepine), a final PEC_B value was calculated by summing the PECs of different sources of oxazepam, which reached roughly 200 ng·l⁻¹. Recent field measurements (Togola *et al.* 2007) reported an average concentration of oxazepam in surface water of about 200 ng·l⁻¹, which is in good agreement with our calculated PEC.

Calculation of Risk Quotients and Risk Assessment for Pharmaceuticals

As a first attempt to prioritize pharmaceuticals, we calculated risk quotient ratios. According to the EMEA guideline (EMEA 2006), PNECs are calculated using assessment factors, as described in the European Technical Guidance Document (TGD 2003). Unlike TGD, the EMEA guideline enforces the use of chronic toxicity data and requires long-term NOEC for the base set (*i.e.*, three NOEC values from three different trophic levels, applying an assessment factor of 10 to the lowest value). The review of available ecotoxicity data showed that only six compounds bring together the conditions required by the EMEA guideline: clofibric acid, propranolol, carbamazepine, sulfamethoxazole, fluoxetine, and diclofenac. If we do not use only the EMEA guideline but also refer to the European TGD (2003) for pharmaceuticals with limited chronic data (1 or 2 NOECs from different trophic levels), it is then possible to calculate PNEC values and PEC/PNEC quotients for a further 16 compounds.

Table 5. Calculated surface water PEC values for relevant metabolites.

Metabolite	PEC _B (ng·l ⁻¹)	PEC _C (ng·l ⁻¹)	Measured Concentration	Sample	Reference
Salicylic acid	NA	NA	25	Surface water	Ternes 1998
Acetylsulfamethoxazole	230	NA	161 ^a	WWTP effluent	Ashton <i>et al.</i> 2004
			70 ^a	Downstream WWTP	
Hydroxy-ibuprofen	1370	70	50	WWTP effluent	Bendz <i>et al.</i> 2005
			20	Downstream WWTP	
Carboxy-ibuprofen	2025	100	430	WWTP effluent	
			230	Downstream WWTP	
14-OH-clarithromycin	50	NA	ND	—	—
OH-metronidazole	235	NA	ND	—	—
25-O-deacetyl-rifampicin	25	NA	ND	—	—
Norfluoxetine	17	NA	ND	—	—
Oxazepam	205 ^c	NA	1500	Surface water	Togola <i>et al.</i> 2007
Zopiclone N-oxide	7	NA	ND	—	—
Norpropoxyphene	295	NA	ND	—	—
Demethyltramadol	355	NA	ND	—	—
β -OH-acid metabolite*	90	NA	ND	—	—
fenofibric acid	1175	2068	1260 ^a	WWTP effluent	Paffoni <i>et al.</i> 2006
			380 ^b	WWTP effluent	Ternes 1998
			45 ^b	Surface water	
Perindoprilat	4	NA	ND	—	—
Ramiprilat	3	NA	ND	—	—

PEC values were calculated using Eq. (5). Sample and references report to measured concentrations. All PECs are calculated for surface waters except the PEC for fenofibric acid, which is calculated for WWTP effluents. *active metabolite of simvastatin. ^amean values. ^bmedian values. ^coxazepam PEC was calculated by summing different sources for this compound. ND: not detected or not already searched in the aquatic environment. NA: not applicable due to lack of data.

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

As all data required for calculating PEC_C values for pharmaceuticals were not always available, we used PEC_B values for furosemide, sertraline, paroxetine, citalopram, and fluoxetine and PEC_A values for carbamazepine, aspirin, and fluvoxamine. Results are displayed in Table 6.

All risk quotients are less than one, except for amoxicillin, which presents a very high ratio of 62, suggesting a risk for the aquatic environment. Nevertheless, a number of pharmaceuticals show a risk quotient close to 1. This is the case for propranolol, ofloxacin, and erythromycin. For these molecules, a risk cannot be ruled out.

Three other molecules showed a risk ratio near 1, carbamazepine, sertraline, and furosemide. However, calculated PEC for carbamazepine is conservative and PNEC values for the two other compounds were calculated with an assessment factor of 100; therefore risk ratio is overestimated. Although reported to be one of the most toxic compounds, the serotonergic antidepressant fluoxetine shows a low PEC/PNEC ratio, due to the very low PEC of $9 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ calculated for this molecule.

DISCUSSION

Reliability of the PEC Calculation, Uncertainties, and Flaws

Although field measurements are available for a limited number of pharmaceuticals, preliminary results indicate that PEC calculation is in accordance with environmental levels for pharmaceuticals. Therefore, the simple equation proposed here is valuable for predicting aquatic concentrations for pharmaceuticals in any country.

Previously published works on exposure assessment of pharmaceuticals came to the same conclusion. Bound and Voulvoulis (2006) used EMEA guidelines to calculate PEC values and compared them with their own field measurements. They concluded that PEC calculation using the EMEA model could provide useful information for the prioritization of pharmaceuticals.

The same conclusion was drawn by Liebig *et al.* (2006), who quoted that even if the EMEA model does not reflect the complexity of the real environment, it permits calculating PECs in accordance with field measurements. This study also reported that the factor with the highest impact and uncertainty was the production volume, estimated in the EMEA model in using F_{pen} and $DOSE_{ai}$. Using actual amounts of consumption, as in this study, and $F_{excreta}$ values give a reliable exposure assessment for pharmaceuticals.

Nevertheless, some uncertainties remain in the model we used. PEC values were calculated based on human consumption data during 1 year. As some pharmaceutical compounds are used both in human and veterinary medicine, there are still uncertainties about the actual amounts of pharmaceuticals reaching surface waters. This is particularly the case for antibiotic and antiprotozoal compounds. Theoretically, including veterinary consumption is likely to ensure a more comprehensive PEC. However, as the routes of administration and ways of reaching the aquatic environment differ between veterinary and human pharmaceuticals, this study only focused on human use.

Another major uncertainty remains on the quantity actually consumed by patients. Data provided by the AFSSAPS give information on the quantities delivered

Table 6. Determination of risk quotients for pharmaceutical compounds (compounds are sorted by decreasing risk ratios values).

Compound	Most sensible specie	Taxa	Endpoint	Reference of the ecotoxicological assay	AF used	PNEC final value (ng.l ⁻¹)	PEC _A value (ng.l ⁻¹)	PEC _B value (ng.l ⁻¹)	PEC _C value (ng.l ⁻¹)	PEC/PNEC ratio
Amoxicillin	<i>S. leopoliensis</i>	Cyanobacteria	Growth	Andreozzi <i>et al.</i> 2004	10*	78			4860	62.3
Aspirin	<i>Daphnia. magna</i>	Cladoceran	Reproduction	Marques <i>et al.</i> 2004	100	10000	9046			0.9
Ofloxacin	<i>S. leopoliensis</i>	Cyanobacteria	Growth	Ferrari <i>et al.</i> 2004	50	100			56.5	0.56
Propranolol	<i>Hyallolela azteca</i>	Gammaridae	Reproduction	Huggett <i>et al.</i> 2002	10*	100			54.5	0.54
Carbamazepine	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Cladoceran	Reproduction	Ferrari <i>et al.</i> 2004	10*	2500	765			0.31
Furosemide	<i>Ceriodaphnia. dubia</i>	Cladoceran	Reproduction	Isidori <i>et al.</i> 2006	100	1560		486		0.31
Clarithromycin	<i>D. magna</i>	Cladoceran	Reproduction	Yamashita <i>et al.</i> 2006	50	62			19	0.3
Diclofenac	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Cladoceran	Reproduction	Ferrari <i>et al.</i> 2004	10*	100			25	0.25
Sertraline	<i>Ceriodaphnia. dubia</i>	Cladoceran	Reproduction	Henry <i>et al.</i> 2003	100	90		20		0.22
Sulfamethoxazole	<i>S. leopoliensis</i>	cyanobacteria	growth	Ferrari <i>et al.</i> 2004	10*	590			55	0.1
Fluoxetine	<i>unspecified</i>	Chlorophyceae	Growth	FDA 1996	10*	100		9		0.09
Fenofibrate	<i>Daphnia. magna</i>	Cladoceran	Reproduction	Garric <i>et al.</i> 2006	50	140			<18	<0.13
Paroxetine	<i>Ceriodaphnia. dubia</i>	Cladoceran	Reproduction	Garric <i>et al.</i> 2006	50	600		4		6.67 10 ⁻³
Fluvoxamine	<i>Ceriodaphnia. dubia</i>	Cladoceran	Reproduction	Henry <i>et al.</i> 2004	50	7400	26			3.5 10 ⁻³
Citalopram	<i>Ceriodaphnia. dubia</i>	Cladoceran	Reproduction	Henry <i>et al.</i> 2003	100	8000		32		4 10 ⁻³
Ibuprofen	<i>Daphnia.magna</i>	Cladoceran	Reproduction	Han <i>et al.</i> 2006	100	2.10 ⁵			55	2.7 10 ⁻⁴

Trimethoprim	<i>S. capricornutum</i>	Chlorophyceae	Growth	Eguchi <i>et al.</i> 2004	100	2.55 10 ⁵			19	7.45 10 ⁻⁵
Acebutolol	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Cladoceran	Reproduction	Garric <i>et al.</i> 2006	50	1.25 10 ⁶	NA	NA	NA	NA
Erythromycin	<i>S. capricornutum</i>	Chlorophyceae	Growth	Eguchi <i>et al.</i> 2004	50	206	NA	NA	NA	NA
Clofibrilic acid	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Cladoceran	Reproduction	Ferrari <i>et al.</i> 2004	10*	64	Negligible	Negligible	Negligible	Negligible
Clofibrate	<i>Daphnia magna</i>	Cladoceran	Reproduction	Köpf 1995***	50	200	Negligible	Negligible	Negligible	Negligible

AF: Assessment Factor. Taxa species and references refer to the assay that showed the lowest NOEC. *Indicates that risk quotients for these compounds were calculated applying the EMEA methodology (three NOEC values from three different taxonomic groups). Other risk ratios were conducted using TGD (2003) recommendations (with only one or two NOEC values). When three NOEC values for three different taxonomic groups were available, a factor of 10 was applied to the lowest NOEC value; when two NOECs were available, a factor of 50 was applied; a factor of 100 was applied when only one NOEC value was available. **Quoted by Webb 2001, in Kummerer 2001. NA: not available.

in hospitals and pharmacies per year but cannot give any information on the patient compliance. Patients' non-compliance can be quite large, and quantities actually consumed by people may be less than the quantities delivered, especially for drugs that do not require medical prescription as NSAIDs. Moreover, if data shared by the AFSSAPS provided a complete profile of the national annual consumption, no data were available regarding local consumptions of pharmaceuticals, which are likely to differ from one region to another. Finally, temporal variations of consumption (especially for pharmaceuticals used in acute treatments, such as antibiotics), and of quantities reaching the aquatic environment cannot be taken into account.

Uncertainties also lie in the parameter *Fstp*: review of available data shows a high heterogeneity in removal rates. Moreover, WWTP efficiency toward pharmaceuticals can be influenced by the season (Castiglioni *et al.* 2006), therefore leading to varying surface water concentrations throughout the year.

At last, great uncertainties lie in the default values proposed by the model. For example, the default value for quantities of effluent is set to $200 \text{ l-inhab}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$, which is a mean value that can be accepted at the national scale in France. However, for some specific French regions, this value may drop to $150 \text{ l-inhab}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$. Using this last value in our calculation significantly increases PEC values by 25%. To this extent, PEC values calculated for the WWTP effluents are more reliable than surface water PECs.

Equation (5) does not take into account the fraction of the molecule sorbed to sediment or suspended matter, which is a flaw in the proposed model. The EMEA model (Eq. [1]) includes this factor (FACTOR), but its calculation requires Koc values that are very scarce at the moment.

In addition, Eq. (5) does not take into account abiotic and biotic degradation processes that can occur in surface waters. Abiotic processes are reported to be most important ones (Fent *et al.* 2006). Photolysis and hydrolysis were suggested to be rapid ways of removal of amoxicillin in the environment (Andreozzi *et al.* 2004). This statement was supported by the fact that amoxicillin was only detected in surface waters at low levels (Zuccato *et al.* 2005; Paffoni *et al.* 2006). The β -blocker propranolol was reported to be rapidly photodegraded and therefore is not expected to be persistent in surface waters (Qin-Tao and Williams 2007). Nevertheless, calculated PEC for propranolol was in the range of field measurements. This could be partially explained by the fact that propranolol and most of the pharmaceuticals are continuously released in the environment. This fact could balance the degradation processes in the environment, therefore some authors have suggested that pharmaceuticals should be considered as "pseudo-persistent" contaminants due to this continuous release (Daughton and Ternes 1999).

Relevance of *Fexcreta* Values

As excretion rates range from 0.1 to 1, they are to be taken into account in a prioritization or a risk assessment approach. Metabolism of pharmaceuticals is one of the first steps that limit the concentrations reaching the environment. Consequently, it is valuable to review such data and to search for the most accurate excretion values that would allow us to calculate more realistic PECs.

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

In this work, two main assumptions were made in the determination of the *Fexcreta* values. First, we did not take into account modifications of metabolism than can occur in unhealthy people (specifically people with hepatic or renal impairment). As an example: chronic renal failure can result in a decrease in propranolol metabolism via downregulation of hepatic cytochrome P450 activity (www.drugs.com, 2006), therefore potentially leading to increase excretion of unchanged drug. However, as people affected by renal or hepatic impairment may only represent a small part of the population, we considered that the resulting variability of the excretion fractions can be neglected when calculating PEC for the aquatic environment. Accuracy of PECs with field measurements presented here seems to confirm this assumption.

Second, we considered a worst case scenario for the *Fexcreta* values when more than one excretion fraction was given. This assumption, however, did not lead to high over-predictions of concentrations, as the variability of recovered values was limited and rarely exceeded 10%; contrary to WWTP removal fractions. Only 4 compounds of the 76 showed a greater variability: sotalol (excretion rates values between 0.66 and 0.9), clarithromycin (0.18 to 0.3), ranitidine (0.3 to 0.5), and rifampicin for which excretion in urine is dose-dependant (Micromedex Drugdex[®] 2006).

Environmental Relevance of Active Metabolites

The metabolites reviewed should not be all of environmental concern. However, as no data exist about the ecotoxicity of these compounds, it is rather difficult to draw any conclusions. Moreover, it is not clear that pharmacologically inactive metabolites will not have any biological effects or toxicity on aquatic non-target organisms, especially lower invertebrates. Nevertheless, we will make a few suggestions to select the metabolites to search for in surface waters:

- The amount of the parent molecule consumed should be taken into account when selecting for relevant metabolites.
- Active metabolites that are pharmacologically equipotent to the parent compound should be considered unless they are excreted at low rates. Because it is not possible to propose a threshold excretion value using available data (metabolism, occurrence, and ecotoxicity), we assume a threshold value of 10%, which is the value proposed by the EMEA (2006) to assess the relevance of a metabolic fraction of a pharmaceutical compound.
- Active metabolites showing a mechanism of action that is different from the parent compound should also be considered if their excretion fraction is equal to or greater than 0.1.
- Because there are no data on the toxicity of pharmacologically inactive metabolites on aquatic organisms, such metabolites should be considered on a case-by-case approach considering the amount of parent compound and their excretion fraction.
- Metabolites with an excretion fraction greater than the parent compound should be considered relevant for the aquatic environment.
- Active metabolites of prodrugs should be searched for in the environment.

Finally, it should be noted that no data are available on the potential toxicity of inactive metabolites, considering that the term “pharmacologically inactive

metabolite” does not necessarily mean that such a metabolite has no effects on an aquatic organism. Considering these assumptions, we selected 30 environmentally relevant metabolites (Table 2) for which risk assessment should be implemented.

Only human metabolites were considered in this work. However, other degradation products can be generated in the environment, especially by photolysis. Photodegradation metabolites can be more toxic than the parent compound (Della-Greca *et al.* 2004; Isidori *et al.* 2005, 2006); and attention should also be paid on such metabolites.

Considerations on Risk Assessment for Pharmaceuticals

As quoted by several authors (Jones *et al.* 2002; Carlsson *et al.* 2006; Fent *et al.* 2006), ecotoxicological data, and notably chronic data, are lacking and thus limit the outcome of ERA based on risk quotients. Relevant chronic data are needed. Preliminary results presented here can nevertheless give some insight on the risk assessment of pharmaceuticals.

Antibiotics and notably amoxicillin could present a risk for the aquatic environment. However, two points must be noted for this molecule. First, the NOEC value used to derive the PNEC is based on growth inhibition testing on the cyanobacteria *Synechococcus leopoliensis* (Andreozzi *et al.* 2003). If other available data on amoxicillin confirm that cyanobacteria seem very sensitive to amoxicillin (Holten-Lutzoft *et al.* 1999), data on green algae species (Holten-Lutzoft *et al.* 1999) and on invertebrates (Garric *et al.* 2006) only indicate limited toxicity.

Second, previous studies seem to indicate that amoxicillin is rapidly degraded in the aquatic environment (Andreozzi *et al.* 2004; Zuccato *et al.* 2005). Consequently, the risk ratio for amoxicillin could be smaller than predicted here.

Nevertheless, antibiotics remain one of the more hazardous pharmaceutical classes for the aquatic environment due to their antimicrobial activity. Among antibiotics, macrolides, which are not only toxic toward cyanobacteria but also toward green algae (Isidori *et al.* 2005), may represent a class of compounds of high concern for the aquatic environment.

Although reported to be one of the most toxic compounds, the serotonergic antidepressant fluoxetine shows a low PEC/PNEC ratio (0.09), due to the very low PEC of $9 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ calculated for this molecule. It should be noted that the active metabolite norfluoxetine, with similar pharmacological activity, may act additively with fluoxetine. It therefore seems reasonable to consider the sum of the two PEC values (fluoxetine + norfluoxetine) in the calculation of the risk quotient, which increases the fluoxetine risk quotient to 0.26, still less than 1 but 3 times greater than the previous value. Metabolites should be considered when performing a pharmaceutical ERA, at least for PEC calculation. However, it is not yet possible to assess the hazard of these metabolites, due to the lack of ecotoxicity data. For metabolites that are reported to be equipotent (the same mechanism of action and pharmacological potency) to the parent compound, using the sum of respective PECs may be appropriate. For active metabolites with differences in pharmacological potency but with the same mechanism of action, it will be necessary to take their relative potency into account. For metabolites with a mechanism of action different from the parent compound, however, ecotoxicological data remain necessary to assess their toxicity.

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

For non-pharmacologically active metabolites that may have toxic effects on aquatic organisms, it is also necessary to build ecotoxicological assays.

Finally, in the context of an ERA, an effort should be made on the study of the effect of pharmaceuticals mixtures on aquatic organisms for several reasons. First, pharmaceuticals with the same mechanism of action may act additively on aquatic organisms (Cleuvers 2003; Fraysse and Garric 2005). Therefore, in a risk assessment framework, such pharmaceuticals should be considered together. As an example, for SSRIs, summed PECs of all parent compounds (and also active metabolites) should be taken into account rather than considering separate PECs; moreover the ecotoxicological effects of such mixtures should be better evaluated.

Second, interactions between pharmaceuticals are well studied and taken into account in humans as the concomitant use of some pharmaceuticals can lead to severe consequences. Mixtures of pharmaceuticals known to interact with each other should be assessed for ecotoxicity. Third, a number of pharmaceuticals are cytochrome P450 enzyme modulators or Para-glycoprotein-P modulators (proteins that play a key role in the resistance to xenobiotics), and thus are likely to disrupt homeostasis of non-target organism and to increase their sensitivity to other pollutants (Endicoot and Ling 1989; Toomey and Epel 1993).

Therefore, one of the major issues when considering concentrations entering the environment should be interactions between pharmaceuticals or between pharmaceuticals and other pollutants: single-compound assays are not sufficient to provide accurate environmental risk assessment of pharmaceuticals. Nevertheless, except for a few laboratory (Cleuvers 2003; Eguchi *et al.* 2004; Fraysse and Garric 2005; Christensen *et al.* 2007), and microcosms studies (Brain *et al.* 2004; Richards *et al.* 2004) the ecotoxicological assays done to date only focus on single compounds.

Considerations on the Prioritization of Pharmaceuticals

Equation (5) can be used to assess the environmental exposure for pharmaceuticals. If all data were available, a preliminary prioritization based on PEC values could be conducted. However, WWTP removal rates are scarce and limit such an approach. In addition, the effects are not taken into account, and such a simple approach does not allow to select the compounds showing the highest risk.

To fill this lack and to provide an initial hazard assessment of pharmaceuticals, some authors have proposed the use of QSAR and a test battery based on mechanism of action (Escher *et al.* 2006; Lienert *et al.* 2007).

We consider, as do several authors, that the use of existing pharmacological, toxicological, and pharmacokinetic data is likely to be helpful in assessing the risk of pharmaceuticals, as they could provide a better understanding of the fate and effect of pharmaceuticals in the aquatic environment (Lange and Dietrich 2002; Seiler 2002; Fent *et al.* 2006; Jjemba 2006). The use of mammalian pharmacological and toxicological data was proposed to help to prioritize the potential impacts of pharmaceuticals to fish (Huggett *et al.* 2003).

In practice, pharmacokinetic parameters such as bioavailability, half-life in the human body or excretion rates may be used as indicators of the environmental behavior of pharmaceuticals in the aquatic environment. Jjemba (2006) suggested that

compounds excreted unchanged in low amounts may also show low degradability in the environment.

As the pharmacokinetic behavior is influenced by the same parameters that can modify environmental behavior such as pH and pKa, it makes sense to draw a parallel between pharmacokinetic and environmental criteria. Williams *et al.* (2006) very recently studied the correlation between the environmental partitioning coefficient Kd and the distribution volume Vd, which measures the distribution of a pharmaceutical within the body. These results suggest that pharmacokinetic parameters should be helpful to estimate environmental behavior for pharmaceuticals.

Known side effects of pharmaceuticals may also be valuable to indicate potential harmful effects on non-target organisms as it has already been shown for diclofenac in vultures (Oaks *et al.* 2004), and in fish (Schwaiger *et al.* 2004; Triebkorn *et al.* 2004). Taking into account such effects could make it possible to target the harmful impacts of these compounds, at least on non-target vertebrates.

Comparative pharmacology could also be useful to understand toxicity pathways of pharmaceuticals. At the moment, studies have only considered the major mechanism of action (MoA) of pharmaceuticals in ecotoxicity assays. However, evidence shows that compounds belonging to same pharmacological and chemical classes (*e.g.*, compounds with same mechanisms of action), can display a high variability in toxic values on same species and endpoints (Huggett *et al.* 2002; Henry *et al.* 2004; Dzialowski *et al.* 2006; Garric *et al.* 2006). Indeed, pharmaceuticals are not only characterized by their principal MoA but also by some additional pharmacological characteristics that should be taken into account. In the case of β -blockers, several authors (*e.g.*, Fraysse and Garric 2005; Fent *et al.* 2006) have suggested that differences in toxicity should be partially explained by pharmacological properties specific to these compounds such as receptor selectivity or membrane-stabilizing activity.

For SSRIs, results from Henry *et al.* (2004) show that NOEC values on the reproduction of *C. dubia* range more than two orders of magnitude. Pharmacological data indicate that even if SSRIs have a greater selectivity for blocking serotonin reuptake (their principal MoA), they also have affinities to some other receptors and reuptake inhibitor activities on other systems such as the noradrenergic or dopaminergic systems (Hyttel 1993; Dulin *et al.* 2002). Such "secondary" MoAs could help to understand toxic responses. Sertraline is both the most toxic SSRI on *C. dubia* reproduction (Henry *et al.* 2004) and the most potent inhibitor of serotonin reuptake (Hyttel 1993); however, it is not the most selective SSRI, as it also exerts an activity on dopamine and noradrenaline reuptake (Hyttel 1993). Citalopram, which is the less toxic SSRI (Henry *et al.* 2004), is not the less potent molecule but the most selective one. Such pharmacological data suggest that the toxic response observed for *C. dubia* could not only be linked to serotonin reuptake but also to other MoAs; this hypothesis remains to be confirmed.

A prioritization methodology for pharmaceuticals could therefore cross PEC values with relevant pharmacological data, such as specific mechanism of action or relevant chronic adverse effects, to give a reliable estimation of the risk. Such a methodology should allow to bypass the lack of ecotoxicological data and could provide useful information for building ecotoxicological assays.

CONCLUSION

The main objective of this study was to assess the exposure concentration of pharmaceuticals in surface water with an emphasis on metabolites. The PEC calculation proposed here is reliable, as calculated PECs are in good agreement with field measurements. Metabolism data are important to take into account as they allow a more relevant selection of pharmaceuticals and metabolites to survey in aquatic ecosystems. Moreover, there is a need to consider the specificity of drugs consumption profile for each country, as such a specificity can lead to different priority compounds.

Another objective was to perform a preliminary prioritization using risk quotients ratios. Given the lack of relevant ecotoxicological data, it was not possible to prioritize pharmaceuticals using risk ratios. As it will take time to build enough ecotoxicological data, we consider that the use of pharmacokinetic and pharmacological data can help to prioritize pharmaceuticals. Moreover, comparative pharmacology based on mechanism of action, adverse effects, and specific activities could be usefully taken into account to better understand the mechanisms of toxicity of pharmaceuticals and to assess their environmental risk.

The next step in our work is to propose a sound selection of pharmaceuticals to be monitored in surface waters by implementing a prioritization methodology based on an exposure assessment crossed with a biological affect assessment using ecotoxicological and pharmacological data.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the AFSSAPS (Cavalié Philippe, Rouleau Alice, and Castot Anne), for kindly sharing consumption data of pharmaceuticals. The authors also thank Tatiana Boucard (UK Environment Agency) for kindly proofreading the former manuscript. The authors also thank the Agence de l'Eau Rhône Méditerranée & Corse for financially supporting this project. Finally, the authors are grateful to the two anonymous reviewers for their helpful comments that allowed us to improve this article.

REFERENCES

- AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé). 2006. Personal communication. Paris, France
- Andreozzi R, Raffaele M, and Nicklas P. 2003. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 50:319–30
- Andreozzi R, Caprio V, Ciniglia C, *et al.* 2004. Antibiotics in the environment: Occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin. *Environ Sci Technol* 38:6832–8
- Ashton D, Hilton M, and Thomas KV. 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci Total Environ* 333:167–84
- BCB (Banque Claude Bernard). 2006. Available at <http://www.resip.fr>
- BIAM. 2006. Banque de données automatisée sur les médicaments. Available at <http://www.biam2.org>

- Bendz D, Paxeus NA, Ginn TR, *et al.* 2005. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Høje River in Sweden. *J Hazard Mat* 122:195–204
- Bindschedler M, Degen M, Flesch G, *et al.* 1997. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction of single oral doses of valsartan and furosemide. *Eur J Clin Pharmacol* 52:371–8
- Bound JP and Voulvoulis N. 2004. Pharmaceuticals in the aquatic environment—A comparison of risk assessment strategies. *Chemosphere* 56:1143–55
- Bound JP and Voulvoulis N. 2006. Predicted and measured concentrations for selected pharmaceuticals in UK rivers: Implications for risk assessment. *Wat Res* 40:2885–92
- Brain RA, Johnson DJ, Richards SM, *et al.* 2004. Microcosm evaluation of the effects of an eight pharmaceutical mixture to the aquatic macrophytes *Lemna gibba* and *Myriophyllum sibiricum*. *Aquatic Toxicol* 70:23–40
- Carballa M, Omil F, Lema JM, *et al.* 2005. Behaviour of pharmaceuticals and personal care products in a sewage treatment plant of northwest Spain. *Water Sci Technol* 52:29–35
- Carlsson C, Johansson A-K, Alvan G, *et al.* 2006. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Sci Tot Environ* 364:67–87
- Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R, *et al.* 2006. Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environ Sci Technol* 40:357–63
- Chang H, Hu J, and Shao B. 2007. Occurrence of natural and synthetic glucocorticoids in sewage treatment plants and receiving river waters. *Environ Sci Technol* 41:3462–8
- Christensen AM, Faaborg-Andersen S, Ingerslev F, *et al.* 2007. Mixture and single-substance toxicity of selective serotonin reuptake inhibitors toward algae and crustaceans. *Environ Toxicol Chem* 26:85–91
- Clara M, Strenn B, Gans O, *et al.* 2005. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Res* 39:4797–807
- Cleuvers M. 2003. Initial risk assessment for three β -blockers found in the aquatic environment. *Chemosphere* 59:199–205
- Daughton CG and Ternes TA. 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environ Health Perspec* 107:907–38
- D'Ascenzo G, Di Corcia A, Gentili A, *et al.* 2003. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Sci Total Environ* 302:199–209
- DellaGreca M, Fiorentino A, Isidori M, *et al.* 2004. Toxicity of prednisolone, dexamethasone and their photochemical derivatives on aquatic organisms. *Chemosphere* 54:629–37
- Dorosz P. 2007. *Guide Pratique des Médicaments*, 22nd ed. Maloine Editions, Paris, France
- DREES 2006. Direction de la recherche des études de l'évaluation et des statistiques. Les ventes de médicaments remboursables en 2005. Clerc ME. *Etudes et résultats* 508
- Drugdex© 2006. Thomson Micromedex Healthcare Series, vol 129 and 130. Available at <http://www.micromedex.com/products/drugdex/>.
- Drugs.com 2006. Prescription Drug Information, Side Effects, Interactions. Available at <http://www.Drugs.com>
- Dulin R, Silberstein N, Bonnin M, *et al.* 2002. Comparison and practical guidelines of selective serotonin reuptake inhibitors [Comparaison et critères de choix des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine]. *Journal de Pharmacie Clinique* 21:39–46
- Dzialowski EM, Turner PK, and Brooks BW. 2006. Physiological and reproductive effects of beta adrenergic receptor antagonists in *Daphnia magna*. *Arch Environ Contam Toxicol* 50:503–10

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

- Eguchi K, Nagase H, Ozawa M, *et al.* 2004. Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. *Chemosphere* 57:1733–8
- EMA (European Medicine Agency). 2006. Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use. EMA/CHMP/SWP/4447/00. London, UK
- Endicoot JA and Ling V. 1989. The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Annu Rev Biochem* 58:137–71
- Escher BI, Bramaz N, Richter M, *et al.* 2006. Comparative ecotoxicological hazard assessment of beta-blockers and their human metabolites using a mode-of-action-based test battery and a QSAR approach. *Environ Science Technol* 40:7402–8
- FDA (US Food and Drug Administration) 1996. Retrospective Review of Ecotoxicity Data Submitted in Environmental Assessments. (Docket No. 96N-0057). Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD, USA
- Fent K, Weston AA, and Caminada D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicol* 76:122–59
- Ferrari B, Mons R, Vollat B, *et al.* 2004. Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: Are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environ Toxicol Chem* 23:1344–54
- Fraysse B and Garric J. 2005. Prediction and experimental validation of acute toxicity of β -blockers in *Ceriodaphnia dubia*. *Environ Toxicol Chem* 24:2470–6
- Garric J, Ferrari B, Fraysse B, *et al.* Impact de médicaments à usage humain sur les organismes aquatiques d'eau douce. 2006. *Environnement Risques et Santé* 5:290–5
- Halling-Sorensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, *et al.* 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—A review. *Chemosphere* 36:357–93
- Han GH, Hur HG, and Kim SD. 2006. Ecotoxicological risk of pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: Occurrence and toxicity to *Daphnia magna*. *Environ Toxicol Chem* 25:265–71
- Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PS, *et al.* (eds). 1996. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed. McGraw-Hill Professional, New York, USA
- Henry TB, Kwon JW, Armbrust KL, *et al.* 2004. Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. *Environ Toxicol Chem* 23:2229–33
- Hirsch R, Ternes T, Haberer K, *et al.* 1999. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci Total Environ* 225:109–18
- Holten-Lützhøft HC, Halling-Sørensen B, and Jørgensen SE. 1999. Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming. *Arch Environ Con Tox* 36:1–6
- HSDB (Hazardous Substances Databank). Available at <http://toxnet.nlm.nih.gov>
- Huggett DB, Brooks BW, Peterson B, *et al.* 2002. Toxicity of select beta adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (B-blockers) on aquatic organisms. *Arch Environ Cont Toxicol* 43:229–35
- Huggett DB, Cook JC, Ericson JF, *et al.* 2003. A theoretical model for utilizing mammalian pharmacology and safety data to prioritize potential impacts of human pharmaceuticals to fish. *Hum Ecol Risk Assess* 9:1789–99
- Huschek G, Hansen PD, Maurer HH, *et al.* 2004. Environmental risk assessment of medicinal products for human use according to European Commission recommendations. *Environ Toxicol* 19:226–40
- Hyttel J. 1993. Comparative pharmacology of selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs). *Nord J Psychiat* 47:5–12
- Isidori M, Lavorgna M, Nardelli A, *et al.* 2005. Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. *Sci Tot Environ* 348:93–101
- Isidori M, Nardelli A, Parrella A, *et al.* 2006. A multispecies study to assess the toxic and genotoxic effect of pharmaceuticals: Furosemide and its photoproduct. *Chemosphere* 63:785–93

- Jjemba PK. 2006. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotox Environ Safe* 63:113–30
- Jones OAH, Voulvoulis N, and Lester JN. 2002. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Wat Res* 36:5013–22
- Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, *et al.* 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: A national reconnaissance. *Environ Sci Technol* 36:1202–11
- Köpf W. 1995. Effects of endocrine substances in bioassays with aquatic organisms. Presentation at the 50th seminar of the Bavarian Association for Water Supply. Substances with endocrine effect in water. (Quoted in Webb 2001)
- Kümmerer K. 2000. Drugs, diagnostic agents and disinfectants in wastewater and water—A review. *Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene* 105:59–71
- Kümmerer K (ed). 2001. Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks. Springer-Verlag, New York, NY, USA
- Lange R and Dietrich D. 2002. Environmental risk assessment of pharmaceutical drug substances—Conceptual considerations. *Toxicol Lett* 131:97–104
- Langston WJ, Burt GR, Chesman BS, *et al.* 2005. Partitioning, bioavailability and effects of oestrogens and xeno-oestrogens in the aquatic environment. *J Mar Biol Assoc UK* 85:1–31
- Liebig M, Moltmann JF, and Knacker T. 2006. Evaluation of measured and predicted environmental concentrations of selected human pharmaceuticals and personal care products. *Environ Sci Pollut Res* 13:110–9
- Lienert J, Güdel K, and Escher BI. 2007. Screening method for ecotoxicological hazard assessment of 42 pharmaceuticals considering human metabolism and excretory routes. *Environ Sci Technol* 41:4471–8
- Lynn RK, Smith RG, Thompson RM, *et al.* 1978. Characterization of glucuronide metabolites of carbamazepine in human urine by gas chromatography and mass spectrometry. *Drug Metab Dispos* 6:494–501
- Marques CR, Abrantes N, and Goncalves F. 2004. Life-history traits of standard and autochthonous cladocerans: I. Acute and chronic effects of acetylsalicylic acid. *Environ Toxicol* 19:518–26
- Martindale. The Complete Drug Reference, 33 edition 2002. Sean C Sweetman (ed), Pharmaceutical Press, London, UK
- Merck. 2001. The Merck Index, 13th ed, Merck Publications, London, UK
- Miège C, Favier M, Brosse C, *et al.* 2006. Occurrence of betablockers in effluents of wastewater treatment plants from the Lyon area (France) and risk assessment for the downstream rivers. *Talanta* 70:739–44
- Mills LJ and Chichester C. 2005. Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? *Sci Total Environ* 343:1–34
- Oaks JL, Gilbert M, Virani MZ, *et al.* 2004. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427:630–33
- Paffoni C, Welte B, Gousailles M, *et al.* 2006. New molecules involved by the European directives: From wastewater to drinking water treatment plants [Nouvelles molécules mises en cause par les directives européennes: De la station d'épuration à l'usine de traitement d'eau potable]. *J Européen d'Hydrologie* 37:21–38
- Paxéus N. 2004. Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, β -blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water Sci Technol* 50:253–60
- PNSE 2004. Plan National Santé Environnement. Ministère de la Santé et de la Protection sociale. Ministère de l'Écologie et du Développement durable. Ministère de l'Emploi, du

Pharmaceuticals Exposure Assessment in Surface Waters

- Travail et de la Cohésion sociale. Ministère délégué à la Recherche. Available at www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/pnse/rapport.pdf
- Qin-Tao L and Williams HE. 2007. Kinetics and degradation products for direct photolysis of β -blockers in water. *Environ Sci Technol* 41:803–10
- Rabiet M, Togola A, Brissaud F, *et al.* 2006. Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment. *Environ Sci Technol* 40:5282–8
- Richards SM, Wilson CJ, Johnson DJ, *et al.* 2004. Effects of pharmaceutical mixtures in aquatic microcosms. *Environ Toxicol Chem* 23:1035–42
- Schorderet M. 1998. *Pharmacologie: Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques*, 3rd ed, Frison Roche, Paris, France
- Schwaiger J, Ferling H, Mallow U, *et al.* 2004. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicol* 68:141–50
- Seiler JP. 2002. Pharmacodynamic activity of drugs and ecotoxicology—Can the two be connected? *Toxicol Lett* 131:105–15
- Stumpf M, Ternes TA, Wilken RD, *et al.* 1999. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Sci Total Environ* 225:135–41
- Ternes TA. 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res* 32:3245–60
- Ternes TA, Kreckel P, and Mueller J. 1999. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants—II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Sci Total Environ* 225:91–9
- TGD 2003. Technical Guidance Document on risk Assessment. TGD part II. European Commission joint research centre. EUR 20418 EN/2. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg
- Togola A, Bristeau S, and Amalric L. 2007. Occurrence of pharmaceuticals in aquatic systems of Loire-Britlang Basin (France). Poster communication. ERAPharm International Conference on Pharmaceuticals in the Environment. Lakeside Conference Center, York, UK
- Toomey BH and Epel D. 1993. Multixenobiotic resistance in *Urechis caupo* embryos: Protection from environmental toxins. *Biol Bull* 185:355–64
- Triebkorn R, Casper H, Heyd A, *et al.* 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 Toxicol* 68:151–66
- Waggott A. 1981. Trace organic substances in the River Lee. In: Cooper WJ (ed), *Chemistry in Water Reuse*, pp 55–99. Ann Arbor Publishers, Ann Arbor, MI, USA
- Webb SF. 2001. A data based perspective on the environmental risk assessment of human pharmaceuticals. Collation of available ecotoxicity data. In: Kümmerer K (ed), *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*, pp 221–30. Springer-Verlag, New York, NY, USA
- Williams M, Saison CLA, Williams DB, *et al.* 2006. Can aquatic distribution of human pharmaceuticals be related to pharmacological data? *Chemosphere* 65:2253–9
- Yamashita N, Yasojima M, Nakada N, *et al.* 2006. Effects of antibacterial agents, levofloxacin and clarithromycin, on aquatic organisms. *Water Sci Technol* 53:65–72
- Zuccato E, Castiglioni S, and Fanelli R. 2005. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *J Hazard Mater* 122:205–9

3. Principaux résultats

3.1. Identification de métabolites humains d'intérêt

En plus de la détermination de valeurs de PEC pour environ 110 molécules pharmaceutiques (hors anticancéreux et thérapeutiques endocrines) et d'un nombre limité de PNEC, ce travail a permis d'identifier plusieurs métabolites humains d'intérêt pour les eaux de surface et de proposer des lignes directrices pour leur sélection et leur évaluation.

3.2. Evaluation du risque des médicaments

Deux points importants sont à retenir concernant l'évaluation du risque des médicaments :

- Les données écotoxicologiques sont limitées et ne permettent de calculer des PNEC que pour un faible nombre de molécules ; cette observation ayant déjà été faite dans plusieurs études portant sur l'évaluation du risque des substances pharmaceutiques (Crane et al. 2006 ; Fent et al. 2006a ; Carlsson et al. 2006a ; Jones et al. 2002 ; Långe et Dietrich 2002 ; Stuer-Lauridsen et al. 2000). Par ailleurs, le nombre de données écotoxicologiques disponibles augmente mais de manière trop lente (Kümmerer 2009a), et il est peu probable que l'on dispose d'un jeu de données exhaustif avant plusieurs années.
- Comme il a été montré dans l'article, avec l'exemple de la fluoxétine et de son métabolite actif la norfluoxétine, il apparaît nécessaire, au moins pour des molécules présentant un mécanisme d'action semblable, d'évaluer le risque lié à des mélanges de molécules.

3.3. Nécessité de mettre en place une méthode de priorisation alternative

En raison du manque de données écotoxicologiques, il n'a été possible de déterminer des quotients de risque que pour un nombre restreint de molécules et il n'est donc pas possible de dresser une liste de priorisation sur la base de cette approche. En conséquence, une méthodologie de priorisation alternative a été mise en place et est décrite dans le chapitre suivant.

4. Données additionnelles non présentées dans l'article

4.1 Nouvelles valeurs de PEC

Récemment, des données additionnelles publiées par la CPAM (Medicam 2009) sur la consommation nationale des médicaments en France ont pu être récupérées. Ces données, bien qu'incomplètes, sont très bien corrélées avec les données fournies par l'AFSSAPS (cf. annexe A) ; il a ainsi été possible de calculer des PEC pour une série de 90 molécules additionnelles ainsi que pour quelques métabolites supplémentaires, sur la base des quantités consommées pour l'année 2004. Les résultats sont présentés dans le Tableau 3 pour les composés parents et le Tableau 4 pour les métabolites.

4.2. Evolution des consommations de médicaments dans le temps

Les concentrations environnementales ont été calculées à partir de données datant de 2004. Les données produites par la CPAM couvrant les années 2002 à 2007, il est possible d'évaluer l'évolution de la consommation des médicaments en rapportant simplement les quantités consommées en 2007 à celles consommées en 2004. Les PEC pour l'année 2007 sont également présentées dans le Tableau 3.

Molécule	Usage thérapeutique	Classe chimique	Quantités consommées pour l'année 2004 d'après les données CPAM (kg)	Quantités consommées corrigées pour l'année 2004 (kg)	Fexcreta	PECA (ng.l ⁻¹) 2004	PECB (ng.l ⁻¹) 2004	Evolution 2007/2004	PECA (ng.l ⁻¹) 2007	PECB (ng.l ⁻¹) 2007
Piracetam	nootropique	-	90687.43	116932.63	1	2670	2670	0.72	1922	1922
Trimébutine	antispasmodique	anticholinergique	29241.12	39786.10	-	908	-	1.15	1045	-
Irbesartan	anti-hypertenseur	sartan	36485.85	49124.21	0.8	1122	897	1.41	1581	1265
Acebutolol	anti-hypertenseur	beta-bloquant	30779.15	41776.93	0.57	954	544	0.95	906	516
Diltiazem	anti-hypertenseur	inhibiteur calcique	20895.77	2888.67	0.05	66	3	0.9	59	3
Valsartan	anti-hypertenseur	sartan	18593.17	25848.25	0.8	590	472	1.58	932	746
Vérapamil	anti-hypertenseur	inhibiteur calcique	17670.23	24624.66	0.05	562	28	1.03	579	29
Celiprolol	anti-hypertenseur	beta-bloquant	17330.64	24173.69	1	552	552	0.84	464	464
Nifuroxazide	antiseptique intestinal	nitrofurane	17109.00	23879.29	1	545	545	0.83	453	453
Clopidogrel	antithrombotique	-	11343.50	16444.28	-	375	-	1.48	556	-
Norfloxacine	antibiotique	fluoroquinolone	8271.28	11949.78	0.7	273	191	0.95	259	181
Losartan	anti-hypertenseur	sartan	7964.75	11527.59	0.05	263	13	1.19	313	16
Cefuroxime	antibiotique	céphalosporine	7873.18	11401.32	1	260	260	0.77	200	200
Sotalol	anti-hypertenseur	beta-bloquant	7782.20	11275.80	1	257	257	0.99	255	255
Venlafaxine	antidépresseur	IRSN	7230.52	10513.11	0.07	240	17	1.41	338	24
Hydrochlorothiazide	anti-hypertenseur	diurétique thiazidique	6839.51	9970.87	1	228	228	1.31	298	298
Oxcarbazepine	anticonvulsivant	-	5759.22	8464.84	0.01	193	1.93	1.28	247	2
Amisulpride	antipsychotique	benzamide	5645.80	8305.99	0.8	190	152	0.94	178	143
Spironolactone	anti-hypertenseur	antialdostérone	5517.03	8125.43	0.01	186	1.9	0.9	167	2
Gemfibrozil	hypolipémiant	fibrate	5155.28	7617.15	-	174	-	0.83	144	-
Céfaclor	antibiotique	céphalosporine	4390.89	6537.38	1	149	149	0.81	121	121
Ciprofibrate	hypolipémiant	fibrate	4522.07	6723.27	1	153	153	0.69	106	106
Cimetidine	anti-acide	antihistaminique H2	4136.36	6175.90	-	141	-	0.78	110	-
Fluvastatine	hypolipémiant	statine	3668.39	5508.51	-	126	-	1.01	127	-

Tableau 3 : Quantités consommées, taux d'excrétion (Fexcreta) et valeurs de PEC pour les substances pharmaceutiques utilisées en France pour les années 2004 et 2007 (sur la base des données CPAM).

Molécule	Usage thérapeutique	Classe chimique	Quantités consommées pour l'année 2004 d'après les données CPAM (kg)	Quantités consommées corrigées pour l'année 2004 (kg)	Fexcreta	PECA (ng.l ⁻¹) 2004	PECB (ng.l ⁻¹) 2004	Evolution 2007/2004	PECA (ng.l ⁻¹) 2007	PECB (ng.l ⁻¹) 2007
Captopril	anti-hypertenseur	IEC	3099.96	4692.32	0.5	107	54	0.62	66	33
Cefadroxil	antibiotique	céphalosporine	3011.95	4565.35	1	104	104	0.65	68	68
Eprosartan	anti-hypertenseur	sartan	2973.59	4509.95	-	103	-	1.17	120	-
Cefixime	antibiotique	céphalosporine	2956.30	4484.97	-	102	-	1.11	114	-
Fluindone	antivitamine K	antivitamine K	2689.79	4099.00	-	94	-	1.26	118	-
Clodronate	anti-ostéoporse	bisphosphonate	2656.39	4050.51	1	92	94	1.27	117	119
Telmisartan	anti-hypertenseur	sartan	2468.53	3777.19	1	86	86	1.64	141	141
Lamotrigine	anti-épileptique	-	2063.33	3184.19	1	73	73	1.45	105	105
Erythromycine	antibiotique	macrolide	1719.19	2676.19	-	61	-	0.99	60	-
Cefotiam	antibiotique	céphalosporine	1634.03	2549.77	1	58	58	0.69	40	40
Minocycline	antibiotique	cycline	1540.91	2411.19	-	55	-	0.72	40	-
Candesartan	anti-hypertenseur	sartan	1499.99	2350.16	0.82	54	44	1.44	77	63
Lisinopril	anti-hypertenseur	IEC	1484.83	2327.52	0.7	53	37	0.77	41	29
Piroxicam	anti-inflammatoire	oxicam	1476.70	2315.35	-	53	-	0.94	50	-
Etidronate	anti-ostéoporse	bisphosphonate	1458.10	2287.59	1	52	52	0.37	19	19
Rabeprazole	anti-ulcéreux	IPP	1338.18	2108.02	0.01	48	0.48	1.2	58	0.6
Enalapril	anti-hypertenseur	IEC	1290.40	2036.26	0.25	46	11.6	0.84	39	10
Clomipramine	antidépresseur	tricyclique	1157.00	1835.06	-	42	-	0.63	26	-
Cefalexine	antibiotique	céphalosporine	1039.09	1656.66	1	38	38	0.54	20	20
Nifedipine	anti-hypertenseur	inhibiteur calcique	1037.69	1654.53	-	38	-	0.70	26	-
Nitrofurantoïne	antiseptique urinaire	nitrofurane	925.28	1483.37	-	34	-	1.01	34	-
Lercandipine	anti-hypertenseur	inhibiteur calcique	840.61	1353.77	-	31	-	2.24	69	-
Cefradine	antibiotique	céphalosporine	662.42	1078.95	-	25	-	0.43	11	-
Alendronate	anti-ostéoporse	bisphosphonate	630.13	1028.80	1	23	23	1.56	37	37

Tableau 3 (suite) : Quantités consommées, taux d'excrétion (Fexcreta) et valeurs de PEC pour les substances pharmaceutiques utilisées en France pour les années 2004 et 2007 (sur la base des données CPAM).

Molécule	Usage thérapeutique	Classe chimique	Quantités consommées pour l'année 2004 d'après les données CPAM (kg)	Quantités consommées corrigées pour l'année 2004 (kg)	Fexcreta	PECA (ng.l ⁻¹) 2004	PECB (ng.l ⁻¹) 2004	Evolution 2007/2004	PECA (ng.l ⁻¹) 2007	PECB (ng.l ⁻¹) 2007
Quinapril	anti-hypertenseur	IEC	564.65	926.71	-	21	-	0.7	15	-
Isotrétinoïne	anti-acnéïque	rétinoïde	532.52	876.40	-	20	-	0.84	17	-
Alfuzosine	alphanbloquant	alpha-bloquant	491.73	812.35	-	19	-	1.23	23	-
Ampicilline	antibiotique	pénicilline	481.74	796.61	1	18	18	0.65	12	12
Fosinopril	anti-hypertenseur	IEC	461.79	765.16	0.01	17	0.17	0.84	15	0.15
Betaxolol	anti-hypertenseur	beta-bloquant	384.30	642.35	0.15	15	2.2	1.07	16	2.35
Molsidomine	vasodilatateur	-	368.88	617.77	-	14	-	0.77	11	-
Thiocolchicoside	myorelaxant	-	354.98	595.48	-	14	-	0.88	12	-
Zofenopril	anti-hypertenseur	IEC	313.11	528.48	-	12	-	0.8	10	-
Rosuvastatine	hypolipémiant	statine	258.75	440.70	0.8	10	8	4.96	50	40
Risedronate	anti-ostéoporose	bisphosphonate	258.16	439.73	1	10	10	1.6	16	16
Benazepril	anti-hypertenseur	IEC	241.90	413.32	0.05	9	0.5	0.7	6.6	0.3
Nitrendipine	anti-hypertenseur	inhibiteur calcique	232.45	397.92	-	9	-	0.7	6.4	-
Glimepiride	antidiabétique	sulfamide	230.21	394.28	0.01	9	0.09	1.04	9.4	0.1
Clonazepam	anxiolytique	benzodiazépine	180.23	275.30	-	6	-	1.17	7.4	-
Féلودipine	anti-hypertenseur	inhibiteur calcique	145.17	254.13	-	6	-	0.04	0.2	-
Eletriptan	antimigraineux	triptan	132.73	233.34	-	5.33	-	1.68	9.0	-
Zuclopthixol	antipsychotique	-	126.18	222.36	-	5.1	-	1.07	5.4	-
Gentamicine *	antibiotique	aminoside	124.70	219.94	1	5	5	0.87	4.4	4.4
Meloxicam	anti-inflammatoire	oxicam	108.07	191.87	0.02	4	0.09	1.03	4.5	0.1
Netilmicine *	antibiotique	aminoside	95.27	170.15	1	3.88	4.14	1.27	4.9	5.3
Doxazosine	alphanbloquant	alpha-bloquant	93.60	167.29	-	3.82	-	1.18	4.5	-
Pindolol	anti-hypertenseur	beta-bloquant	82.61	148.54	0.46	3.39	1.56	0.8	2.7	1.2
Tiludronate	anti-ostéoporose	bisphosphonate	75.01	135.49	1	3.1	3.1	0.6	1.9	1.9

Tableau 3 (suite) : Quantités consommées, taux d'excrétion (Fexcreta) et valeurs de PEC pour les substances pharmaceutiques utilisées en France pour les années 2004 et 2007 (sur la base des données CPAM).

Molécule	Usage thérapeutique	Classe chimique	Quantités consommées pour l'année 2004 d'après les données CPAM (kg)	Quantités consommées corrigées pour l'année 2004 (kg)	Fexcreta	PECA (ng.l ⁻¹) 2004	PECB (ng.l ⁻¹) 2004	Evolution 2007/2004	PECA (ng.l ⁻¹) 2007	PECB (ng.l ⁻¹) 2007
Trandolapril	anti-hypertenseur	IEC	55.85	102.30	-	2.34	-	1.5	3.5	-
Isradipine	anti-hypertenseur	inhibiteur calcique	51.76	95.16	-	2.17	-	0.95	2.1	-
Olmesartan	anti-hypertenseur	sartan	45.88	84.83	1	1.94	1.94	27.6	53	53
Sumatriptan	antimigraineux	triptan	35.36	66.19	-	1.51	-	0.94	1.42	-
Lacidipine	anti-hypertenseur	inhibiteur calcique	34.23	64.19	-	1.47	-	0.77	1.13	-
Zolmitriptan	antimigraineux	triptan	30.59	57.65	-	1.32	-	1.03	1.36	-
Lincomycine	antibiotique	lincosamide	29.47	55.65	-	1.27	-	0.8	1.02	-
Tobramycine *	antibiotique	aminoside	28.39	53.70	1	1.23	1.23	2.87	3.52	3.52
Terazosine	alphabloquant	alpha-bloquant	24.14	46.02	-	1.05	-	0.71	0.75	-
Tamsulosine	alphabloquant	alpha-bloquant	22.12	42.35	-	0.97	-	1.4	1.35	-
Almotriptan	antimigraineux	triptan	19.10	36.80	-	0.84	-	2.1	1.76	-
Manidipine	anti-hypertenseur	inhibiteur calcique	16.67	32.35	-	0.74	-	12.8	9.45	-
Moexipril	anti-hypertenseur	IEC	15.26	29.74	-	0.68	-	0.65	0.44	-
Naratriptan	antimigraineux	triptan	12.29	24.19	-	0.55	-	0.87	0.48	-
Trétinoïne	anti-acnéïque	réтиноïde	6.43	13.06	-	0.30	-	0.91	0.27	-
Timolol	anti-hypertenseur	beta-bloquant	6.34	12.88	0.2	0.29	0.06	0.78	0.23	0.05
Pamidronate	anti-ostéoporose	bisphosphonate	0.29	0.68	1	0.02	0.02	0.51	0.01	0.01
Zoledronate	anti-ostéoporose	bisphosphonate	0.13	0.31	1	0.01	0.01	1.61	0.01	0.02

Tableau 3 (suite) : Quantités consommées, taux d'excrétion (Fexcreta) et valeurs de PEC pour les substances pharmaceutiques utilisées en France pour les années 2004 et 2007 (sur la base des données CPAM).

Métabolite	Fexcreta	Composé parent	Activité pharmacologique	PEC (ng.l ⁻¹)
Enalaprilate	0.7	Enalapril	métabolite responsable de l'activité pharmacologique	32
Fosinoprilate	> 0.44	Fosinopril	métabolite responsable de l'activité pharmacologique	> 7.5
Benazeprilate	> 0.28	Benazépril	métabolite responsable de l'activité pharmacologique	2.5
Quinaprilate	1*	Quinapril	métabolite responsable de l'activité pharmacologique	21
Diacétolol	0.5	Acébutolol	activité équivalente à celle du composé parent	477
DMH	0.8	Oxcarbazépine	principal responsable de l'activité pharmacologique	154
O-desméthylvenlafaxine	0.55	Venlafaxine	activité équivalente à celle du composé parent	132
dérivé acide carboxylique (E-3174)	ND	Losartan	10 à 40 fois plus actif que le composé parent	ND
Norvérapamil	ND	Vérapamil	activité égale à 20% de celle du composé parent	ND
N-dealkylvérapamil	ND	Vérapamil	activité pharmacologique très faible	ND
N-desmethylrosuvastatine	ND	Rosuvastatine	activité égale à 1/6ème de celle du composé parent	ND
dérivé cyclohexylhydroxyméthyl	ND	Glimépiride	activité égale à 1/3 de celle du composé parent	ND

Tableau 4 : Taux d'excrétion, activité pharmacologique et valeurs de PEC pour des métabolites d'intérêt.

Valeurs de PEC calculées sur la base de l'équation 3, à partir des données de la CPAM pour l'année 2004.

ND : non déterminé.

Composé	Concentrations mesurées en entrée et sortie de STEP ^a (ng/l)						PEC calculées en entrée et sortie de STEP ^b (ng/l)				Valeur de Fstp utilisée	
	influent			effluent			année 2004		année 2007		valeur ^c	référence
	min	max	moyenne	min	max	moyenne	influent	effluent	influent	effluent		
Acébutolol	910	5000	2160	32	1413	311	5330	2132	5064	2025	0.4	Onesios et al. 2009
Aténolol	990	3920	2068	35.5	1411	707	4190	2011	4106	1971	0.48	Paffoni et al. 2006
Betaxolol	< 0.3	54	26.3	< 0.3	10	8	23	-	25	-	-	-
Bisoprolol	44	429	216	8.4	177	74	289.4	-	327	-	-	-
Carvedilol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	71.5 ^d	-	73 ^d	-	-	-
Céliprolol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5450	3488	4578	2930	0.64	Onesios et al. 2009
Métoprolol	4.6	309	186	19.9	363	121	1700	1530	1683	1515	0.9	Paffoni et al. 2006
Nadolol	< 0.4	379	140	< 0.3	43	14	214.2	-	186	-	-	-
Oxprénolol	< 0.4	21	10	< 0.4	28	9	84.3	-	68	-	-	-
Pindolol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16.7	-	13	-	-	-
Propranolol	133	703	307	60	397	221	680	530	694	541	0.78	Paffoni et al. 2006
Sotalol	241	3200	1164	232	2389	965	2570	2570	2544	2544	1	Paffoni et al. 2006
Timolol	< 0.4	5.9	2.9	< 0.2	8	5	0.7	-	1	-	-	-

Tableau 5 : Comparaison des concentrations prédites et réellement mesurées en entrée et sortie de STEP pour les β -bloquants.

a : concentrations rapportées par Gabet et al. 2009.

b : sur la base de l'équation 3, sans tenir compte de la dilution.

c : valeur de Fstp pour le composé et référence de l'étude correspondante.

d : valeur conservative : pas de valeur de Fexcreta disponible.

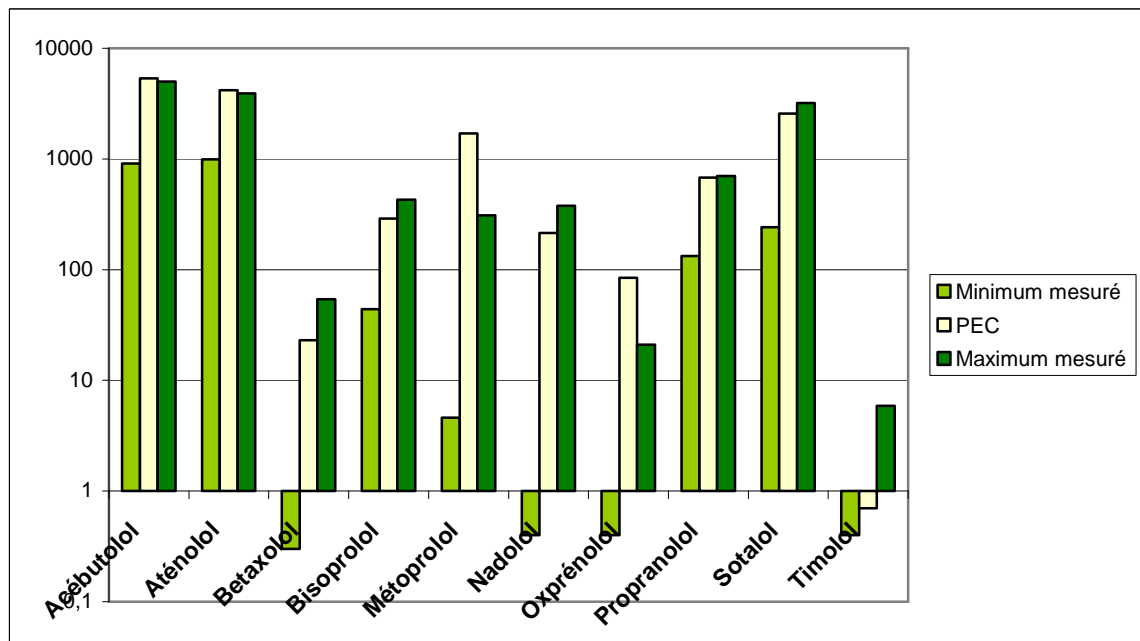


Figure 6 : Comparaison des concentrations prédites et mesurées en entrée de STEP.

Les valeurs présentées sous forme d'histogramme correspondent aux valeurs du tableau précédent. Les concentrations sont exprimées en ng/l selon une échelle logarithmique.

L'évolution des consommations pour l'ensemble des molécules traitées (article et molécules additionnelles) est quant à elle présentée en annexe B. Dans l'ensemble, la consommation reste relativement stable ; on note cependant une augmentation à prendre en compte pour l'alendronate, le clodronate, la rosuvastatine, le valsartan et le telmisartan.

5. Discussion et perspectives

5.1. Evaluation de l'exposition, intérêts et limites du modèle

5.1.1. Comparaison des valeurs calculées avec des valeurs mesurées :

Le Tableau 5 et la Figure 6 comparent les valeurs de PEC calculées avec des valeurs mesurées (Gabet et al. 2009) en entrée et sortie de STEP, pour les β -bloquants. Toutes les valeurs calculées, à l'exception de celles du métoprolol et de l'oxprénolol, sont en adéquation avec les valeurs mesurées. Les valeurs calculées se situent plutôt entre la moyenne et la maximale des valeurs mesurées.

Les divergences observées pour l'oxprénolol et le métoprolol ne s'expliquent pas. Pour le métoprolol cependant, une telle différence a déjà été rapportée (Siemens et al. 2008), ce qui suggère un comportement particulier pour cette molécule dans les eaux usées.

5.1.2. Utilisation des données nationales pour déterminer des concentrations régionales ou locales :

Les données nationales sont bien corrélées avec les données régionales fournies par les répartiteurs pharmaceutiques, et les données locales fournies par la CPAM (annexe C). Par conséquent dans notre cas, les données de consommation nationales peuvent être utilisées pour déterminer des valeurs de PEC valides au niveau local. Ceci est lié à la taille de l'agglomération Lyonnaise qui lui permet d'être représentative de la consommation nationale Française en médicaments. Toutefois, dans le cas d'agglomérations plus petites ou de régions particulières, il n'est pas impossible que des profils de consommation spécifiques soient observés, conduisant à une divergence entre concentrations estimées et concentrations réelles ; ce qui peut-être une limite à l'utilisation du modèle utilisé (Coetsier et al. 2009).

5.2. Limites du modèle : prise en compte de la dégradation dans l'environnement, exemples de dégradation abiotique

La différence observée entre certaines des valeurs de PEC avec celles mesurées sur le terrain est liée au fait que tous les facteurs intervenant dans le comportement des médicaments dans l'environnement ne sont pas pris en compte : abattement dans les STEP, sorption au sédiment ou sur les matières en suspension, dégradation biotique et abiotique. Dans ce paragraphe, nous avons choisi de mettre l'accent sur la dégradation abiotique et notamment les phénomènes d'hydrolyse et de photodégradation car ces exemples illustrent bien, d'une part, les divergences entre certaines de nos valeurs de PEC et les valeurs mesurées, et d'autre part, la complexité de la prise en compte de ces phénomènes.

5.2.1. Modification des concentrations environnementales et des propriétés biologiques, exemple de l'hydrolyse des antibiotiques de type β -lactamines

On observe une différence importante entre la PEC et les valeurs mesurées (en France ou dans d'autre pays) pour l'amoxicilline et la pipéracilline. Cette différence peut s'expliquer par une dégradation rapide de ces molécules dans le milieu aquatique.

Plusieurs résultats indiquent qu'elles sont rapidement hydrolysées, voire minéralisées dans le cas de l'amoxicilline (Längin et al. 2009 ; Andreozzi et al. 2004). Pour Kümmerer, ce phénomène explique que les niveaux de concentration en pénicillines réellement mesurés soient souvent plus faibles que ceux prédits à partir des chiffres de la consommation humaine (Kümmerer 2009b).

En plus de jouer un rôle de facteur limitant au niveau de l'exposition, ce mécanisme influe sur les propriétés biologiques des molécules. L'hydrolyse qui s'effectue au niveau du cycle β -lactame (Längin et al. 2009 ; Andreozzi et al. 2004), responsable de l'activité antibactérienne, résulte en la disparition de cette activité, ce qui pourrait limiter de manière importante le risque environnemental. Ce mécanisme d'hydrolyse pourrait concerner d'autres molécules de type β -lactamines (notamment les céphalosporines), qui sont la famille d'antibiotiques la plus utilisée en France mais aussi dans de nombreux autres pays (Kümmerer 2009b). S'il est trop tôt pour conclure de manière certaine, ce phénomène d'hydrolyse, s'il est avéré, pourrait contribuer à limiter fortement le risque lié à l'ensemble des antibiotiques de type β -lactamines.

5.2.2. Formation de nouveaux produits de dégradation, exemple de la photodégradation

Dans le cas des statines, il a été montré que ces molécules étaient sensibles à la photodégradation (Cermola et al. 2007, Lam et Marbury 2005 ; Lam et al. 2004). Ce mécanisme pourrait expliquer le fait que la pravastatine, pour laquelle nous avons déterminé une PEC de 125 ng/l, ne soit pas été détectée dans le milieu aquatique (Coetsier et al. 2009 ; Kasprzyk-Hodern et al. 2008 ; Terzic et al. 2008).

De plus, il est important de considérer que ce mécanisme ne conduit pas pour les statines à une minéralisation des molécules, mais à la formation de nouveaux produits de dégradation (Cermola et al. 2007 ; Lam et Mabury 2005 ; Lam et al. 2004 ; Latch et al. 2003). D'une manière générale, si la dégradation d'une molécule est incomplète (e.g. si la molécule n'est pas minéralisée), il peut y avoir formation de produits de dégradation multiples, ce qui complique l'évaluation du risque car il faut tenir compte de ces nouvelles molécules, d'autant que certaines peuvent encore présenter une activité biologique qui peut être différente de celle du composé parent (Kümmerer 2009a). Il a ainsi été rapporté que des produits de photodégradation pouvaient-être biologiquement actifs, et dans certains cas plus toxiques que le composé parent (Isidori et al. 2009b ; 2006 et 2005b ; DellaGreca et al. 2007a et 2007b ; 2004).

5.2.3. Conclusion pour la prise en compte des phénomènes de dégradation dans les modèles de calcul de PEC pour les médicaments

Compte tenu de la multiplicité des mécanismes de dégradation et du nombre de molécules médicamenteuses, il apparaît difficile voire impossible d'obtenir des données expérimentales pour l'ensemble de celles-ci. Une perspective pourrait-être la mise en place de modèles de dégradation adaptés aux médicaments. Toutefois, même dans l'hypothèse où de tels modèles prédiraient les demi-vies d'élimination des molécules parentes, une incertitude resterait sur l'existence ou non de produits de dégradation et sur leur éventuelle toxicité.

5.3. Limites du modèle : sorption au sédiment et aux matières en suspension

Le modèle que nous avons utilisé ne permet de calculer des PEC que pour la colonne d'eau, plusieurs molécules médicamenteuses ayant été détectée dans les sédiments (Feitosa-Felizzola et Chiron 2009 ; Kim et Carlson 2006 ; Hålling-Sørensen et al. 1998), il est également important de pouvoir prédire, sinon estimer, le comportement d'une molécule dans le milieu récepteur et de déterminer la fraction sorbée au sédiment et/ou aux matières en suspension.

L'équation proposée par l'EMEA inclut un facteur permettant de déterminer la fraction sorbée au sédiment ou aux matières en suspension mais celle-ci nécessite des valeurs de Kd (coefficient de partition) ou de Koc (coefficient de partition normalisé par la teneur en carbone organique) expérimentales qui sont encore peu nombreuses pour les médicaments.

Une manière classique d'estimer la sorption réside dans le calcul d'une valeur de Koc à partir du log Kow (coefficient de partage octanol-eau), paramètre qui renseigne sur la lipophilie (ou hydrophobie) d'une molécule. Toutefois, ce paramètre ne semble pas adapté aux composés pharmaceutiques dans la mesure où il s'agit pour l'essentiel de molécules ionisables, et que des mécanismes autres que les interactions de type hydrophobe vont rentrer en jeu dans les phénomènes de sorption (Yamamoto et al. 2009 ; Wells 2006 ; Tolls 2001).

L'utilisation du Log Dow, qui est le Log Kow corrigé par le pH et le pKa pour les espèces ionisables, a été proposé comme alternative pour estimer le comportement environnemental des médicaments (Besse et Garric 2008 ; Wells 2006 ; Fent et al. 2006 ; Stuer-Lauridsen et al. 2000) mais son utilité reste à confirmer (voir les résultats de l'étude de Yamamoto et al. 2009).

5.4. Utilisation des données pharmacocinétiques pour estimer le comportement des médicaments dans l'environnement

5.4.1. Rappels

Plusieurs auteurs ont proposé de recourir aux données pharmacologiques pour estimer les effets biologiques et le comportement des médicaments dans l'environnement. Williams et al. (2009 ; 2006) ont proposé l'utilisation d'un paramètre pharmacocinétique, le Volume de distribution (Vd) pour estimer le coefficient de partition (Kd) d'une molécule.

Le volume de distribution (Vd) correspond au « *volume fictif dans lequel le médicament devrait être réparti pour être à la même concentration que dans le plasma. Le Vd traduit l'intensité de la diffusion du médicament dans l'organisme* ». Ce Vd est dit « apparent » car il n'a pas de réalité physiologique ; ainsi, certains médicaments ont un Vd supérieur à 1500 litres, ce qui excède largement le volume corporel. Le Vd est donc un paramètre virtuel qui permet d'estimer la diffusion tissulaire d'une molécule dans l'organisme sans pour autant en donner de répartition anatomique.

En pratique, un Vd faible indique que le médicament ne diffuse pas dans les tissus mais reste localisé dans le compartiment plasmatique. Réciproquement, un Vd élevé indique généralement que la substance est fortement fixée au niveau tissulaire, et que la concentration plasmatique est faible. Ce paramètre peut varier de 0.06 l/kg pour un médicament hydrosoluble ou de poids moléculaire élevé, confiné au seul volume plasmatique, à plus de 500 l/kg pour un médicament lipophile ou ayant un tropisme particulier pour un tissu donné, donc très fortement concentré dans les tissus (www.pharmacomedicale.org).

5.4.2. Arguments en faveur de l'utilisation du Vd

Les résultats rapportés par Williams et al. (2006) montrent une bonne corrélation entre les valeurs de Vd et les valeurs de Kd déterminées en laboratoire pour 13 composés. Les auteurs concluent sur l'intérêt de l'utilisation du Vd dans un contexte où les données expérimentales sont limitées, et également sur la nécessité de poursuivre les travaux afin de déterminer si la relation entre Vd et Kd peut être appliquée à un plus grand nombre de molécules et à des conditions environnementales différentes. Une étude complémentaire très récente, également réalisée en laboratoire, et qui porte sur l'étude de 21 composés dans 12 type des sols différents confirme l'utilité potentielle du Vd pour estimer la sorption de composés pharmaceutiques sur une phase solide (Williams et al. 2009).

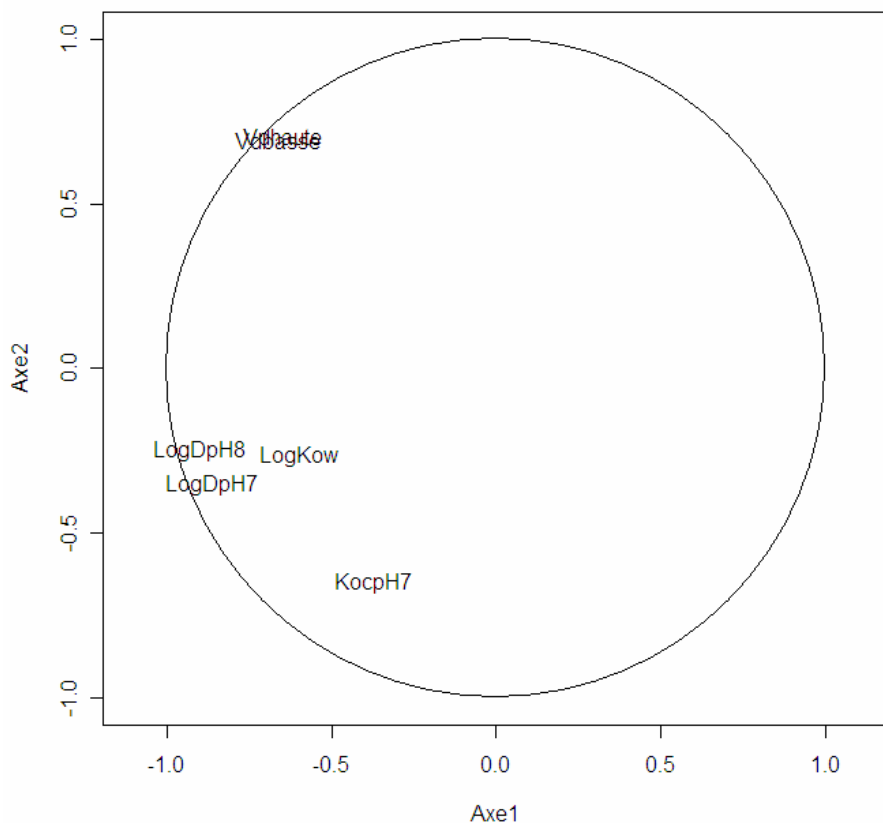


Figure 7 : Projection des variables Vd, Log Kow, Log Dow à pH 7 et 8, et Koc à pH 7 sur les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales.

Vd haute : valeur la plus élevée du Vd pour un composé pharmaceutique donné.

Vd basse : valeur la plus faible du Vd pour un composé pharmaceutique donné.

molécule	Vd	Koc calculé	Koc exp	Kd exp	log Koc exp	référence
Sulfaméthoxazole	0.17 - 0.25	5.07	62.2	0.23	1.4	Drillia et al. 2005 ; Stein et al. 2008
Diclofenac	0.12 - 0.55	6.44	121	0.45	-	Drillia et al. 2005
Oxazepam	0.67 - 1.5	428	-	-	2.4	Stein et al. 2008
Carbamazepine	0.8 - 2	677	132	0.49	2.4	Drillia et al. 2005 ; Stein et al. 2008
Tramadol	2.6 - 2.9	1.81	-	-	2.5	Stein et al. 2008
Diazepam	0.7 - 3.4	975	-	-	2.4	Stein et al. 2008
Ofloxacin	2.4 - 3.5	1.4	322162	1192	-	Drillia et al. 2005
Propranolol	6	9.23	4405	16.3	-	Drillia et al. 2005

Tableau 6 : Comparaison de valeurs de Vd et de Koc et Kd expérimentaux.

Vd : Volume de distribution, valeurs extraites de Micromedex[®] drugdex.

La mise en regard de valeurs de Koc et de Kd rapportées dans la littérature (Drillia et al. 2005 et Stein et al. 2008) et de valeurs de Vd suggère que les valeurs de Koc et de Kd augmentent avec le Vd (Tableau 6). On observe toutefois que l'ofloxacine présente un Koc bien supérieur aux autres molécules (Drillia et al. 2005) alors qu'elle n'a pas le Vd le plus élevé. De plus, de récentes mesures rapportent que la clarithromycine et l'azithromycine, deux antibiotiques de la classe des macrolides, sont ubiquitaires dans le sédiment (Feitosa-Felizzola et Chiron 2009), avec des concentrations importantes dans le cas de l'Azithromycine. Or les macrolides sont reconnus être des antibiotiques à diffusion tissulaire élevée et affichent des valeurs de Vd importantes, respectivement 23 à 31 l/kg pour l'Azithromycine et 3.5 à 4 l/kg pour la Clarithromycine.

Sur la base de ces observations, il semble qu'une valeur de Vd élevée indique que la molécule peut être adsorbée sur le sédiment, et qu'au contraire une valeur faible indique une faible sorption. Le comportement de l'ofloxacine semble cependant indiquer que la relation entre Vd et Kd pourrait ne pas être une simple relation de proportionnalité.

5.4.3. Arguments en défaveur de l'utilisation du Vd

Afin d'évaluer les relations du Vd, paramètre pharmacocinétique, avec des paramètres communément utilisés en chimie et toxicologie environnementale, nous avons collecté et réalisé une ACP sur des valeurs de Vd, de log Kow, de log Dow et de Koc pour une centaine de molécules (annexe D). Les résultats, présentés dans la Figure 7, montrent qu'il n'y a pas de corrélation entre le Vd et les autres paramètres. Ces résultats ne permettent cependant pas de conclure de manière ferme contre l'existence d'une relation entre Vd et Koc, dans la mesure où toutes les valeurs de Koc sont des valeurs calculées et donc sujettes à caution.

D'autre part, si les résultats de l'étude de Williams et al. (2009) montrent une bonne corrélation entre Vd et Kd pour la majeure partie des composés testés, des divergences sont cependant observées dans les cas suivants :

- la norfloxacine et l'amoxicilline présentent des valeurs de Kd très élevées compte tenu de leur Vd ; ces résultats sont à rapprocher de l'observation faite plus haut pour l'ofloxacine. Dans ce cas, les auteurs suggèrent que cette différence est liée au caractère de zwitterion de ces substances à un pH proche de la neutralité, et à la complexité des processus intervenant dans les phénomènes de sorption. Pour les auteurs, dans le cas de telles espèces moléculaires, l'utilisation du Vd pour estimer la sorption pourrait être limitée.
- La carbamazépine, qui contrairement aux deux molécules précédentes est un composé non ionisable, présente un Kd inférieur à celui attendu sur la base de son Vd ; cette différence reste inexploitée pour le moment.

5.4.4. Conclusion sur l'utilisation du Vd pour estimer la sorption d'un médicament

En conclusion, nous considérons que le Vd est un indicateur potentiellement pertinent du comportement des substances pharmaceutiques dans l'environnement bien que plusieurs incertitudes subsistent concernant ce paramètre :

- les relations observées se basent sur un nombre encore limité de molécules ;
- le Vd ne permet pas d'expliquer le comportement de certaines molécules ;
- des incertitudes existent sur la validité des valeurs de Vd disponibles (mode de calcul, variation du Vd avec l'âge et le sexe...).

Pour avoir une idée de la validité du Vd comme indicateur du comportement des molécules dans l'environnement, il reste nécessaire de comparer les valeurs de Vd à un plus grand nombre de valeurs de Kd (ou de Koc) expérimentales ; pour un nombre plus important de molécules mais également pour des molécules couvrant un plus grand panel de classes thérapeutiques et chimiques.

5.5. Conclusion générale pour l'estimation des PEC pour le sédiment

S'il est aisé de calculer des PEC pour la colonne d'eau, les choses se compliquent lorsqu'il s'agit d'estimer la fraction sorbée au sédiment, d'une part à cause de la complexité des interactions régissant les mécanismes de sorption/désorption, et d'autre part par l'importance de l'influence des conditions environnementales sur le comportement des molécules (Pan et al. 2009).

La détermination de valeurs de K_d ou de K_{oc} expérimentales se heurte au grand nombre de molécules à prendre en compte. Les modèles prédictifs basés sur l'utilisation du $\log K_{ow}$ sont très limités dans le cas des médicaments (au moins pour ceux qui sont ionisables) et il est trop tôt pour se prononcer sur la pertinence du $\log K_{ow}$. L'utilisation du V_d , paramètre pharmacocinétique, semble à même de donner une indication sur le comportement des médicaments dans l'environnement mais celle-ci reste pour le moment limitée et des incertitudes subsistent quant à la pertinence de ce paramètre.

6. Conclusion

Bien que le modèle que nous avons utilisé soit simple et qu'il présente un certain nombre d'incertitudes, la comparaison des PEC avec des valeurs mesurées montre que l'exposition (en tenant compte des taux d'abattement dans les STEP) est correctement évaluée. Plusieurs auteurs, ayant utilisé un modèle similaire, sont en accord avec cette conclusion (Carlsson et al. 2006a ; Castiglioni et al. 2004 ; Huschek et al. 2004).

Ce modèle reste cependant limité par divers aspects :

- il montre ses limites pour des estimations au niveau local (Coetsier et al. 2009) ou pour des molécules spécifiques (Siemens et al. 2008) qui vont présenter un comportement particulier ;
- il ne permet pas de prendre en compte les mécanismes de dégradation dans l'environnement, les modèles actuellement disponibles étant d'un usage limité dans le cas des composés pharmaceutiques ;
- s'il permet de déterminer des PEC pour la colonne d'eau, il ne permet pas de calculer de manière satisfaisante des concentrations pour les matières en suspension ou le sédiment.

Par ailleurs, par manque de données écotoxicologiques, il n'a pas été possible d'établir une liste de molécules prioritaires en utilisant une approche de type « quotient de risque ». Par conséquent, une méthode alternative a été mise en place et est présentée dans le chapitre suivant.

Chapitre 5.

Mise en place d'une démarche de priorisation pragmatique basée sur l'exploitation des données pharmacologiques

1. Introduction	133
2. Article publié dans Toxicology letters	134
3. Principaux résultats	155
4. Données additionnelles	155
4.1. Résultats.....	155
4.2. Discussion sur les molécules parentes	155
4.3. Le cas des antiviraux	163
4.4. Discussion sur les métabolites.....	163
5. Discussion	165
5.1. Intérêts et limites d'une liste prioritaire	165
5.2. Perspectives	166

1. Introduction

Principe général de l'approche

Dans l'approche précédente, il a été possible de calculer des valeurs de PEC pour un nombre important de composés pharmaceutiques. Par contre, le faible nombre de données écotoxicologiques disponibles n'a pas permis pas de calculer suffisamment de PNEC pour effectuer une démarche de priorisation de type quotient de risque. Afin d'établir une liste de molécules prioritaires, nous avons mis en place une seconde approche de type expert.

Celle-ci peut être résumée en deux étapes :

- la première est basée sur une démarche comparable à la phase 1 de l'EMA, à savoir la comparaison de PEC à des valeurs seuil, ce qui permet d'obtenir une première classification basée sur l'exposition.
- La deuxième étape consiste à utiliser les données disponibles (écotoxicologiques, pharmacologiques et physico-chimiques) afin d'affiner la classification. Cette deuxième étape est effectuée au cas par cas selon une démarche de type expert.

La figure 8 suivante présente de manière simplifiée la démarche utilisée.

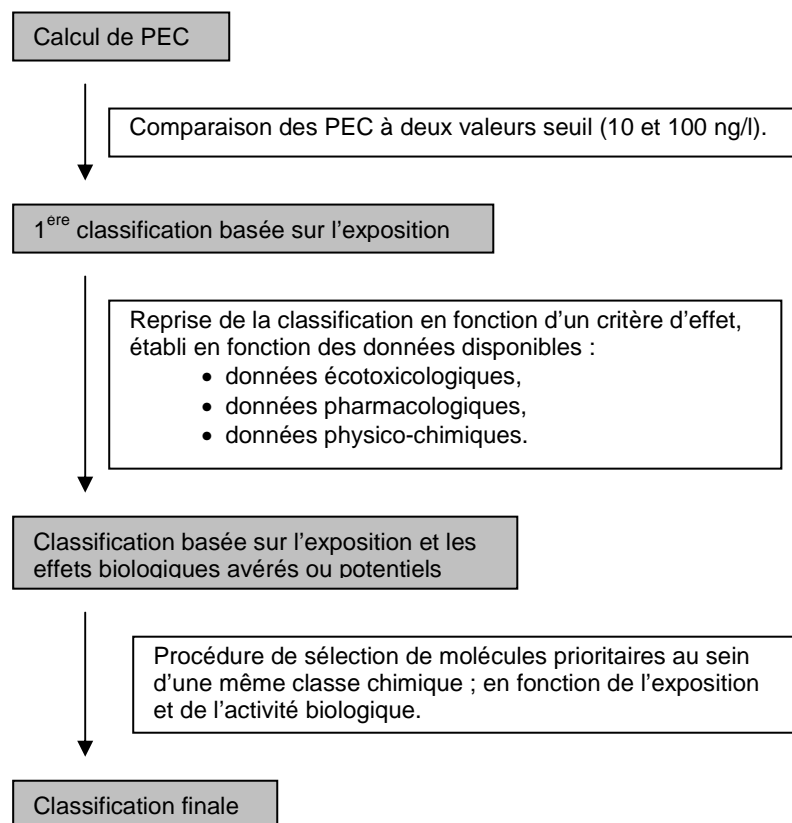


Figure 8 : Schéma simplifié de la démarche de priorisation utilisée.

2. Article publié dans Toxicology letters

Résumé de l'article (traduction de l'abstract)

Les médicaments à usage humain sont très largement utilisés et peuvent se retrouver dans les eaux de surface où ils sont susceptibles d'exercer des effets biologiques sur les organismes aquatiques.

En raison du nombre important de molécules utilisées en thérapeutique humaine, il est nécessaire de mettre en place une procédure de sélection de celles-ci avant de pouvoir mettre en oeuvre des campagnes de mesures dans les milieux récepteurs et une évaluation du risque environnemental. Dans cet article, nous proposons une méthodologie destinée à définir une telle sélection. Cette méthodologie se divise en trois étapes.

Dans un premier temps, une classification préliminaire basée sur l'évaluation de l'exposition est mise en oeuvre. Cette évaluation se fait sur la base d'un calcul de concentrations environnementales prédites (PEC) pour chaque molécule, selon un modèle dérivé de la méthodologie proposée par l'EMA (EMA 2006). Dans la deuxième étape, cette classification préliminaire est revue au cas par cas, selon une démarche de type expert se basant sur toutes les données biologiques disponibles : données écotoxicologiques, pharmacologiques (mécanisme d'action, activité enzymatique, effets secondaires) et physicochimiques (Log Kow). Finalement, une étape supplémentaire est utilisée pour sélectionner des composés prioritaires parmi des molécules présentant une structure chimique et des mécanismes d'action similaires.

Nous avons appliqué cette méthodologie à la situation française et avons évalué 120 molécules parentes et 30 métabolites. La liste de priorisation finale rassemble 40 composés parents et 14 métabolites. Parmi les 40 molécules parentes, 21 ont déjà été détectées dans le milieu aquatique, ce qui indique une bonne adéquation entre l'approche théorique et les mesures environnementales.

Enfin, nous proposons une discussion sur la pertinence des paramètres utilisés pour construire les critères d'effet.



Human pharmaceuticals in surface waters Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation

Jean-Philippe Besse, Jeanne Garric*

*Laboratoire d'écotoxicologie, Research Unit Freshwater Ecosystems Biology CEMAGREF,
3 Bis Quai Chauveau, 69336 Lyon, CP 220, Cedex 09, France*

Received 28 June 2007; received in revised form 15 October 2007; accepted 17 October 2007
Available online 30 October 2007

Abstract

Human pharmaceuticals are widely used and can reach surface waters, where they have the potential to exert biological effects on aquatic non-target organisms. Due to the high number of pharmaceutical drugs used in human medicine throughout the world, it is necessary to select the pharmaceuticals to search for, prior to implementing any environmental measurements and any extensive environmental risk assessment (ERA). This paper describes a methodology developed in order to define this selection. The prioritization scheme consists in three tiers. First, a preliminary classification based on the assessment of exposure is implemented. This exposure assessment is determined by calculating predicted environmental concentrations (PECs) for each pharmaceutical according to the European Medicine Evaluation Agency's (EMEA's) environmental risk assessment guidelines [EMEA, 2006. European Medicine Agency Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use. EMEA/CHMP/SWP/4447/00.].

In the second step, the preliminary classification is reviewed on a case-by-case hypothesis basis using all the biological data available: ecotoxicological, pharmacological (mechanism of action (MoA), enzyme modulation, adverse effects) and physicochemical data ($\log K_{ow}$).

Finally, an additional step is used to select priority compounds among molecules showing the same chemical structure and the same mechanism of action.

We applied this methodology to the French situation and prioritized 120 parent molecules and 30 metabolites. The final prioritization list gathers 40 parent compounds and 14 metabolites. Among the 40 parent molecules, 21 have already been found in the aquatic environment, indicating a good agreement between the theoretical approach and the environmental measurements. Parameters used to construct the effect criteria are discussed for their relevance.

© 2007 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: Pharmaceuticals; Metabolites; Prioritization; Exposure; Pharmacology

1. Introduction

It is now recognized that pharmaceutical compounds reach the environment and can be considered as environmental contaminants. As a wide range of drugs including antibiotics, antiphlogistics, blood lipid-lowering agents, antiepileptics, and β -blockers have been found in the effluents and surface waters of several countries (Fent et al., 2006; Halling-Sørensen et al., 1998; Kolpin et al., 2002; Kümmerer, 2000; Ternes, 1998), there is a growing need to assess their environmental risk. Consequently, monitoring pharmaceuticals in the surface water and/or

ground water is becoming mandatory (French Plan National Santé Environnement, PNSE, 2004). Prior to implement a monitoring program in the aquatic environment, there is a need to rank pharmaceuticals according to their environmental relevance (e.g., their presence in the environment and their potential for ecotoxicological effects), because of the high number of molecules used as marketed human drugs. Indeed, it is not conceivable to search for all molecules in the environment and test all of them for ecotoxicity. Therefore, a methodology needs to be developed to select for priority molecules. Priority molecules can be defined as molecules for which a monitoring strategy and eventually ecotoxicological assays are to be implemented.

To take into account the existing regulatory approaches used to assess the environmental risk of a pharmaceu-

* Corresponding author.

E-mail address: garric@lyon.cemagref.fr (J. Garric).

tical, the prioritization of pharmaceuticals can be based on risk quotients, as described in the current European Medicine Evaluation Agency (EMA, 2006) guideline for environmental risk assessment (ERA) for pharmaceuticals. To construct such risk ratios, predicted environmental concentration (PEC) and predicted no effect concentration (PNEC) values are required. However, although it is possible to estimate the PEC for a number of compounds, ecotoxicological data are too scarce to calculate PNEC values for most of the pharmaceuticals currently in use (Fent et al., 2006; Crane et al., 2006; Carlsson et al., 2006). Consequently, we implemented a pragmatic prioritization approach, which aimed to identify priority human pharmaceuticals and metabolites to monitor in French surface water. Moreover, this approach allowed to identify some data gaps that should be filled to allow a better assessment of these compounds.

The approach used was based both on the calculation of PEC values and on a decision scheme based on selected quantitative and qualitative biological data: ecotoxicological, pharmacological and physicochemical data. This paper presents the parameters and the scheme used to prioritize human pharmaceuticals. The results and the relevance of the considered parameters are discussed.

2. Prioritization methodology

The prioritization scheme consisted of three tiers. First, a preliminary exposure-based classification was established using PEC values. Second, this preliminary classification was reviewed using a case-by-case expert approach considering the potential environmental effect, using ecotoxicological data, pharmacological, mammalian toxicological and physicochemical data as well as available data on the environmental behavior of pharmaceuticals. Finally, an additional selection was made in order to select priority compounds in the same pharmacological and chemical class (e.g., compounds with the same chemical structure and the same mechanism of action (MoA)).

The candidate pharmaceuticals list was based on the data provided by the French Health Product Agency (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, AFSSAPS, Paris), which cover exhaustive sales data for drugs delivered in France for hospitals and pharmacies, including over-the-counter drugs, for the year 2004 (AFSSAPS, 2006). The candidate list of pharmaceuticals was established as follow: a first set of molecules was selected from the top 100 pharmaceuticals used in France (data from AFSSAPS, 2006). To this first set of molecules, we added pharmaceuticals already detected in the aquatic environment or with high aquatic ecotoxicity, and finally the molecules known to be persistent in the environment.

Pharmaceuticals undergo several biotransformations in the human body prior to being excreted and reach surface waters through sewage water and wastewater treatment plant (WWTP) effluents either as parent compounds or as metabolites. Consequently, relevant metabolites were included in this work. The targeting and selection methodology for metabolites is described elsewhere (Besse et al., in press). Briefly, metabolites of interest were selected based on their excretion fraction, their pharmacological activity, and the consumption amount of the corre-

sponding parent drug. The final candidate drugs list gathered 120 parent molecules (Table 1) and 30 metabolites (Table 2).

Pharmaceuticals selected here belong to several therapeutical and pharmacological classes and include analgesics, non-steroidal anti-inflammatories (NSAIDs), anxiolytics, several antidepressant classes including selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), blood lipid lowering agents such as statins and fibrates, various anti-hypertensor classes (β -blockers, sartans, calcium-channel blockers), antipsychotics, antibacterials, anticonvulsives and corticoids.

Neither steroid estrogens nor cytotoxic compounds were taken into account in this work. The risk of endocrine disruption from estrogens is well known and has been previously discussed (Fent et al., 2006; Langston et al., 2005; Mills and Chichester, 2005). As cytotoxic compounds show specific toxic properties (mutagenesis and carcinogenicity), we considered that they should be assessed in a specific prioritization strategy or ERA.

2.1. Exposure criteria

The first step of the prioritization strategy classified pharmaceuticals compounds according to their probable exposure concentration in the aquatic environment. This was based upon the premise that the pharmaceuticals used in higher amounts have a potential to reach the aquatic environment in greater quantities and therefore may present a higher risk for the aquatic environment. The exposure-based classification implemented was derived from the EMA guideline (EMA, 2006) and compared PECs to threshold values. In the EMA guideline, this comparison aims to decide which molecules go on to further testing, in the context of an ERA; whereas in our approach, threshold values only aimed to classify pharmaceuticals. PEC calculation was adapted from the current EMA methodology. Two PEC values for parent pharmaceuticals in the aquatic environment were calculated using the following equations:

$$PECa = \frac{\text{consumption}}{WWinhab \times hab \times \text{dilution} \times 365} \quad (1)$$

$$PECb = \frac{\text{consumption} \times Fexcreta}{WWinhab \times hab \times \text{dilution} \times 365} \quad (2)$$

PECa is an over-conservative PEC for surface water based on the amounts of selected pharmaceuticals consumed in France. It assumed no metabolism in the body (i.e., 100% of the parent molecule excreted unchanged), and subsequently, no removal in sewage treatment plants. PECb is a refined PECa taking into account the amount of the unchanged parent molecule actually excreted. As with PECa, it assumed no removal in sewage treatment plants.

PEC values for metabolites were calculated using Eq. (2). PECb were calculated using actual amounts of the corresponding parent drug consumed in France, refined by the Fexcreta of the metabolite. No PECa were calculated for metabolites.

PECs were determined using the following parameters.

Consumption (mg/year): quantity of an active molecule consumed over 1 year in a defined zone (generally a country), determined for France in this study using AFSSAPS data;

Table 1
Candidate priority list for parent pharmaceuticals

Molecule	Therapeutic use	Exposure class	Relevant MoA	Relevant adverse effect	Inducer/inhibitor	Enzyme or protein
Acetylcysteine	Mucolytic	IB				
Alendronic acid	Inhibitor of bone resorption	IIB				
Allopurinol	Antigout	IA				
Alprazolam	Anxiolytic	IV				
Amiodarone	Antiarrhythmic	IB		Yes	Inhibitor	CYP 3A4, 2D6, 2C9, P-gp
Amoldipine	Anti-hypertensor	III	Yes			
Amoxicillin	Antibiotic	IA	Yes			
Amphotericin B	Antifungal	IA				
Aspirin	NSAID	IB				
Atenolol	Anti-hypertensor	IA				
Atorvastatin	Blood lipid lowering agent	IB	Yes	Yes		
Azithromycin	Antibiotic	IIA	Yes			
Baclofen	Muscle relaxant	IIA				
Benfluorex	Blood lipid lowering agent	IB				
Betamethasone	Glucocorticoid	IV	Yes	Yes		
Bezafibrate	Blood lipid lowering agent	IA	Yes	Yes		
Bisoprolol	Anti-hypertensor	IIA				
Bromazepam	Anxiolytic	III				
Buflomedil	Anti-ischemic	IA				
Buprenorphine	Psychotrop	IV				
Carbamazepine	Anti-convulsivant	IB			Inducer	CYP 3A4, 2C9, 1A2
Carbocisteine	Mucolytic	IB				
Carvedilol	Anti-hypertensor	IV			Inhibitor	P-gp
Cefpodoxime	Antibiotic	IA	Yes			
Ceftazidime	Antibiotic	IIA	Yes			
Ceftriaxone	Antibiotic	IA	Yes			
Cetirizine	Anti-allergic	IIA				
Ciprofloxacin	Antibiotic	IA	Yes	Yes	Inhibitor	CYP 1A2
Citalopram	Antidepressant	IIA	Yes			CYP 2D6
Clarithromycin	Antibiotic	IIA	Yes		Inhibitor	CYP 1A2, 3A4, P-gp
Clavulanic acid	β -Lactamase inhibitor	IB				
Clonazepam	Anticonvulsivant	IV				
Clopidogrel	Antiplatelet drug	IB				
Clorazepate	Anxiolytic	III				
Cyamemazine	Antipsychotic	IB		Yes		
Desloratadine	Antiallergic	IIB				
Dextropropoxyphene	Analgesic	IIA			Inhibitor	CYP 2D6
Diacerheine	Antiinflammatory	IB				
Diazepam	Anxiolytic	III				
Diclofenac	NSAID	IIA		Yes		
Diosmine	Vitaminic P	IB	Yes			
Domperidone	Antiemetic	III		Yes		
Doxycycline	Antibiotic	IA	Yes		Inhibitor	CYP 3A4
Escitalopram	Antidepressant	IV	Yes	Yes		
Fenofibrate	Blood lipid lowering agent	III	Yes	Yes		
Fluconazole	Antifungal	IIA	Yes			CYP 3A4, 2C9, P-gp
Fluindione	Anticoagulant	IB				
Fluoxetine	Antidepressant	III	Yes	Yes	Inhibitor	CYP 3A4, 2D6
Fluvoxamine	Antidepressant	IIB	Yes	Yes	Inhibitor	CYP 3A4, 2D6, 1A2, 1C19
Fosfomycin	Antibiotic	IA	Yes			
Furosemide	Diuretic	IA				
Glibenclamide	Antidiabetic	III				
Haloperidol	Antipsychotic	IV			Inhibitor	CYP 2D6
Heptaminol	Vasodilatator	IB				
Hydrocortisone	Glucocorticoid	IIB	Yes	Yes		
Hydroxyzine	Antiallergic	IB				
Ibuprofen	NSAID	IA		Yes		

Table 1 (Continued)

Molecule	Therapeutic use	Exposure class	Relevant MoA	Relevant adverse effect	Inducer/inhibitor	Enzyme or protein
Josamycin	Antibiotic	IIA	Yes		Inhibitor	CYP 3A4, 1A2, P-gp
Ketoprofen	NSAID	IA		Yes		
Levodopa	Antiparkinsonism drug	IB				
Levomepromazine	Antipsychotic	IIB		Yes		
Levothyroxine	Thyroid hormone	IV	Yes			
Loperamide	Antidiarrhoeal	IV			Inhibitor	P-gp
Loratadine	Anti-allergic	IIB				
Lorazepam	Anxiolytic	IIA				
Losartan	Anti-hypertensor	IB	Yes			
Loxapine	Antipsychotic	IIB				
Metformin	Antidiabetic	IA				
Methylprednisolone	Glucocorticoid	IIB	Yes	Yes		
Metoclopramide	Antiemetic	III				
Metoprolol	Anti-hypertensor	IIA				
Metronidazole	Antiprotozoal	IA	Yes			
Mianserine	Antidepressant	IIB				
Nadolol	Anti-hypertensor	IIA				
Naftidrofuryl	Anti-ischaemic	IB	Yes			
Naproxen	NSAID	IA		Yes		
Nicardipine	Anti-hypertensor	III	Yes			
Nordazepam	Anxiolytic	IV				
Ofloxacin	Antibiotic	IA	Yes	Yes	Inhibitor	CYP 1A2
Omeprazole	Anti-ulcer	III			Inducer	CYP 1A2
Ondansetron	Antiemetic	IV	Yes			
Oxazepam	Anxiolytic	IA				
Oxprenolol	Anti-hypertensor	IV				
Pantoprazole	Anti-ulcer	III				
Paracetamol	Analgesic	IA				
Paroxetine	Antidepressant	III	Yes		Inhibitor	CYP 1A2, 2D6
Perindopril	Anti-hypertensor	III	Yes			
Phenobarbital	Anti-convulsivant	IIA			Inducer	CYP 2C9, 1A2, 2A6, 2C8
Phloroglucinol	Antispasmodic	IB				
Piperacillin	Antibiotic	IA	Yes			
Piroxicam	NSAID	III		Yes		
Pravastatin	Blood lipid lowering agent	IA	Yes	Yes		
Prazepam	Anxiolytic	III				
Prednisolone	Glucocorticoid	IIB	Yes	Yes		
Prednisone	Glucocorticoid	IIB	Yes	Yes		
Pristinamycin	Antibiotic	IB	Yes			
Propranolol	Anti-hypertensor	IIA		Yes		
Quinine benzoate	Muscle relaxant	IB				
Ramipril	Anti-hypertensor	III	Yes			
Ranitidine	Anti-ulcer	IA				
Rifampicin	Antibiotic	III	Yes		Inducer	CYP 3A4, 2C9, P-gp
Roxythromycin	Antibiotic	IIA	Yes		Inhibitor	CYP 3A4, 1A2, P-gp
Sertraline	Antidepressant	IIA	Yes	Yes	Inhibitor	CYP 2D6
Simvastatin	Blood lipid lowering agent	IB	Yes	Yes		
Sulfamethoxazole	Antibiotic	IA	Yes			
Tazobactam	β -Lactamase inhibitor	IIB				
Teicoplanin	Antibiotic	IV	Yes			
Tianeptine	Antidepressant	III	Yes			
Tramadol	Analgesic	IA				
Trihexyphenidyle	Anti-parkinsonism drug	IV				
Trimebutine	Antispasmodic	IB				
Trimetazidine	Anti-ischemic	IB				
Trimethoprim	Antibiotic	IIA	Yes			
Tropatepine	Anti-parkinsonism drug	IV				
Troxerutine	Vitaminic P	IB				
Valproic acid	Anticonvulsivant	IA			Inhibitor	CYP 3A4, 2C9

Table 1 (Continued)

Molecule	Therapeutic use	Exposure class	Relevant MoA	Relevant adverse effect	Inducer/inhibitor	Enzyme or protein
Vancomycin	Antibiotic	IIA	Yes			
Venlafaxine	Antidepressant	IIA	Yes	Yes		
Zolpidem	Hypnotic	III				
Zopiclone	Hypnotic	III				

The therapeutic use, existence of a relevant mechanism of action (MoA), side effect or enzymatic activity, and exposure class (see Section 2.1 for details) are given for each compound. Inducer/inhibitor means that the molecule is an inducer or an inhibitor of a cytochrome P-450 isoform (excluding aromatase) or of the *para*-glycoprotein P. CYP: cytochrome P-450; P-gp: *para*-glycoprotein-P; NSAID: nonsteroidal anti-inflammatory drug.

WWinhab: volume of wastewater per person per day (default of 200 l in hab⁻¹ day⁻¹, as per EMEA guideline, 2006); Fexcreta: excretion fraction of the unchanged active molecule (parent drug or metabolite). Fexcreta determination based on an extensive literature review is described elsewhere (Besse et al., in press). Dilution: dilution factor from WWTP effluents to surface water (default value of 10, EMEA, 2006); hab: number of inhabitants in the defined zone (set at 60 million for France).

PECa and PECb values were subsequently compared to threshold values and pharmaceuticals were classified accord-

ingly. In order to provide a preliminary priority list for pharmaceuticals, we used the two threshold values already proposed: the US Food and Drug Administration (FDA) one, set at 100 ng l⁻¹ (FDA, 1998) and the EMEA's, set at 10 ng l⁻¹ (EMEA, 2006).

Fig. 1 depicts the proposed scheme for classifying pharmaceuticals using the exposure criteria; classification of pharmaceuticals is displayed in Table 1. Six classes of compounds were generated and are described in Table 3. Briefly, category IA gathers the compounds showing the highest risk

Table 2
Candidate priority list for metabolites

Active metabolite	Parent compound	Pharmacological activity
Oxypurinol	Allopurinol	Yes (less active than parent compound)
<i>N</i> -desethylamiodarone	Amiodarone	Yes
Nortriptyline	Amitriptyline	Yes
Salicylic acid	Aspirin ^a	Yes
2-Hydroxy-atorvastatin	Atorvastatin ^a	Yes
4-Hydroxy-atorvastatin	Atorvastatin ^a	Yes
β -Acid metabolite	Baclofen	Yes
10,11-Epoxy metabolite	Carbamazepine	Yes
Desmethylcarvedilol	Carvedilol	Yes
4-OH-phenylcarvedilol	Carvedilol	Yes
14-OH-clarithromycin	Clarithromycin	Yes
Norpropoxyphene	Dextropropoxyphene	Yes (different from the parent compound)
Fenofibric acid	Fenofibrate	Yes
Norfluoxetine	Fluoxetine	Yes
Cetirizine ^b	Hydroxyzine	Yes
2-OH-ibuprofen	Ibuprofen	Unknown, considered as inactive
Carboxy-ibuprofen	Ibuprofen	Unknown, considered as inactive
Desipramine	Imipramine	Yes
OH-metronidazole	Metronidazole	Yes (less than parent compound)
Desmethylnaproxen	Naproxen	No
Perindoprilat	Perindopril ^a	Yes
4-OH-propranolol	Propranolol	Yes
Ramiprilat	Ramipril ^a	Yes
25- <i>O</i> -Deacetyl rifampicin	Rifampicin	Yes
β -OH-acid metabolite	Simvastatin ^a	Yes
Acetylsulfamethoxazole	Sulfamethoxazole	No
Demethyltramadol	Tramadol	Yes
<i>O</i> -Desmethylvenlafaxine	Venlafaxine	Yes
Zopiclone- <i>N</i> -oxide	Zopiclone	Yes (less than parent compound)
	Diazepam	
Oxazepam ^b	Clorazepate	Yes
	Nordazepam	
	Prazepam	

The corresponding parent compound and pharmacological activity are given for each compound.

^a Indicates a prodrug.

^b Oxazepam and cetirizine are both metabolites and active ingredients.

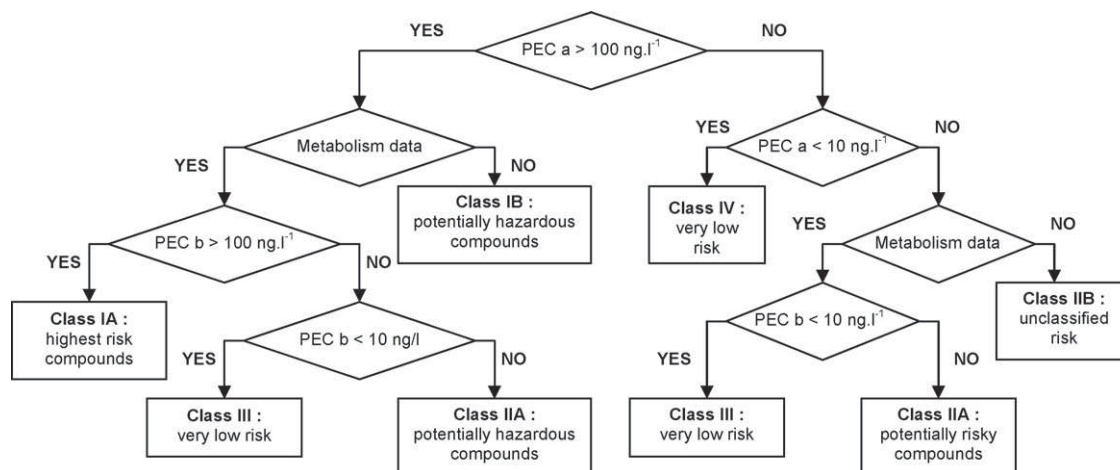


Fig. 1. Step I of the prioritization scheme—prioritizing pharmaceuticals based on potential exposure (PEC values). PEC values were calculated using Eqs. (1) and (2). Values of 10 and 100 ng l⁻¹ are threshold values used by the EMEA (2006) and FDA (1998), respectively. Compounds from class IA are potentially priority compounds, apart from any effect.

to the aquatic environment, apart from any effect; classes IB and IIA gather compounds potentially hazardous for the aquatic environment; classes III and IV gather compounds with a very low exposure risk to the aquatic environment. For some compounds, data were too scarce and no conclusion was possible, such compounds were gathered in class IIB.

2.2. Effect criteria

Selecting the compounds on exposure only was insufficient for an accurate estimation of the risk, as some compounds may exert a high toxicity toward aquatic organisms at low exposure concentrations.

To assess the hazard of the pharmaceutical compounds and to propose a risk classification, a second selection procedure was implemented by reviewing available data on pharmaceutical compounds. Therefore, we did not only consider ecotoxicological data, but also pharmacological (mechanism of action, side effects in humans, enzymatic induction or inhibition), toxicological (carcinogenicity in rodents) and physicochemical data (log K_{ow}). The relevance and use of each parameter are detailed below.

2.2.1. Ecotoxicological data

As this prioritization scheme aimed to identify pharmaceuticals which could affect the aquatic environment, chronic ecotoxicological data on aquatic organisms were obviously the first parameters to consider. Such data were scarce and consequently accurate PNEC values could not be calculated for most of the pharmaceutical compounds. Therefore, NOEC values were used and compared to the threshold value proposed for assessing the toxicity according to the persistence, bioaccumulation, toxicity (PBT) criterion (EU TGD, 2003). Any substance showing a chronic NOEC below 10 µg l⁻¹, whatever trophic level, species or toxicity criteria involved, was considered to fulfill the toxicity criterion and therefore was added to the priority list.

2.2.2. Pharmacological data

Given that ecotoxicological data remain limited, we assumed, as do several other authors, that the use of existing pharmacological, toxicological and pharmacokinetic data is likely to be helpful in prioritizing and assessing the risk of pharmaceuticals in the environment, as they could provide a better understanding of the toxicity, mechanism of action, and

Table 3
Priority classes for pharmaceutical compounds according to the exposure criteria

Priority class	Priority rank according to the exposure criteria	Comments
IA	Highest risk compounds	PECa and PECb higher than 100 ng l ⁻¹ . High consumption and limited metabolism.
IB	Potentially hazardous compounds but limited data	PECa higher than 100 ng l ⁻¹ . High consumption. No data on metabolism.
IIA	Potentially hazardous compounds	PECa higher than 100 ng l ⁻¹ and PECb higher than 10 ng l ⁻¹ . High consumption and intermediate metabolism.
IIB	Unclassified priority risk	PECa lower than 100 ng l ⁻¹ but higher than 10 ng l ⁻¹ . No data on metabolism. No definitive conclusion, need further investigation
III	Very low risk for the environment (extensive metabolism)	PECa higher than 100 ng l ⁻¹ but PECb lower than 10 ng l ⁻¹ . High consumption but extensive metabolism.
IV	Very low risk for the environment (low consumption amount)	PECa lower than 10 ng l ⁻¹ . Low consumption amount.

behaviour of these molecules (Fent et al., 2006; Jjemba, 2006; Länge and Dietrich, 2002; Seiler, 2002; Williams et al., 2006). Therefore, available and relevant pharmacological data were reviewed. The parameters selected are described below.

2.2.2.1. Mechanism of action. Mechanism of action of pharmaceuticals may provide useful information regarding the potential toxic effects on environmental targets. Pharmaceuticals, unlike other pollutants such as polycyclic aromatic hydrocarbons or pesticides, are molecules designed to exert a specific mode of action with a limited toxicity. Extensive metabolic and toxicological studies are central to the development of drugs and can provide valuable information to guide ecotoxicological studies (Owen et al., 2007). Consequently, it makes sense to review available pharmacological and toxicological data before investigating ecotoxicity in aquatic organisms. For non-mammalian animals with receptors similar to those of mammals, similar biological effects or adverse reactions may occur; it was recently suggested that cardiovascular dysfunction could be one of the consequence of the waterborne exposure of fish to β -blockers (Owen et al., 2007). On the other hand, unexpected chronic effects may occur in lower organisms due to biological differences in pharmacodynamics and physiology (Fent et al., 2006; Seiler, 2002). Available information on MoA for mammalian and non-mammalian organisms (reviewed from Fent et al., 2006 and Huggett et al., 2005) is reported in Table 4. From this information, and by reviewing pharmaceutical databases (Drugs.com, available at <http://www.drugs.com> and Banque Claude Bernard (BCB), available at <http://www.resip.fr>), we selected the most relevant MoA for the prioritization approach (Table 5). We mainly focused on MoA involving enzymatic reactions or metabolic/endocrine reactions. Antibacterial MoAs were also selected due to the high toxicity of antibiotics (ATBs) to micro-organisms such as cyanobacteria (Holten-Lützhøft et al., 1999; Andreozzi et al., 2004; Garric et al., 2006; Ferrari et al., 2004; Robinson et al., 2005).

2.2.2.2. Side effects in humans. The known adverse side effects of pharmaceuticals may also be valuable to indicate potential harmful effects on non-target organisms. For example, the anti-inflammatory diclofenac is known to induce renal impairment in humans. Furthermore, it has been reported that declines in the vulture population of Pakistan were associated with renal impairment related to the accumulation of diclofenac (Oaks et al., 2004). Similarly, histopathological and cytological alterations of the kidneys were observed in fish after 4 weeks of exposure to diclofenac at environmentally relevant concentrations (Schwaiger et al., 2004; Triebskorn et al., 2004). Taking into account such adverse effects could make it possible to target the potential harmful impacts of these compounds, at least on non-target vertebrates. We therefore searched for relevant side effects and specific organ toxicity to include in our prioritization schemes. We did not include hepatic toxicity as nearly all drugs are metabolized by the liver and therefore can be toxic to this organ. Side-effects were reviewed case-by-case for each pharmaceutical in order to select the most relevant ones. Specific side effects and organ toxicity selected as relevant

are reported in Table 6, with examples of the chemical classes and drugs concerned. Side effects were reviewed from the BCB (<http://www.resip.fr>), and Drugs.com (<http://www.drugs.com>) databases and the Martindale (Sweetman, 2002) and Hardman et al. (1996) compendia.

2.2.2.3. Enzymatic induction or inhibition. Several drugs are known enzymatic inductors or inhibitors of the cytochrome P-450 (Table 1). P-450 isoforms are involved in a number of physiological reactions: transformation of both endogenous compounds and xenobiotics and synthesis and degradation of several steroids, prostaglandins, fatty acids, and other endogenous molecules (Stegeman et al., 1992). Therefore, modulation of the enzymatic response may lead to disruption in the homeostasis of non-target organisms. Interference between pharmaceuticals and the metabolizing enzyme have been recently shown *in vitro* (Thibaut et al., 2006). Even if the long-term consequence is unknown, P-450 modulation was selected as a selection criterion. P-450 modulation described here does not apply to aromatase modulation, considered here as a specific MoA (see Tables 5 and 6). All data on the P-450 enzymatic activity of pharmaceutical drugs were taken from Dorosz (2002).

2.2.2.4. Glycoprotein P modulation. P-glycoprotein (P-gp) is a protein acting as a multidrug transporter that actively transports xenobiotics out of the cell, preventing the accumulation of toxic compounds (Endicoot and Ling, 1989; Tutundjian and Minier, 2002). Glycoprotein P is involved in the multi-xenobiotic resistance (MXR) system. Increases in P-gp expression have been reported for aquatic organisms from polluted areas (Toomey and Epel, 1993; Britvic and Kurelec, 1999). As P-gp could play an important role in the protection of the organism from toxic effects caused by xenobiotics, a modulation in the expression of the P-gp and particularly an inhibition of its expression by a specific drug could result in enhancing the sensitivity of organisms to an environmental pollution. As several pharmaceutical drugs are known inducers or inhibitors of P-gp (Table 1), this parameter was added to the effect criteria (data taken from Dorosz, 2002).

2.2.3. Toxicological data

2.2.3.1. Acute toxicity data. Reviewing for toxicological data, we mainly found acute toxicity data for mammals. Chronic data also exist, and are part of the Market Drug Authorization (MDA) dossier; during our review, we were unable to access such data. As chronic toxicity is the main hazard due to long-term exposure to pharmaceuticals, acute toxicity data were not included in our prioritization scheme.

2.2.3.2. Carcinogenicity in rodents. During the research and development of a new drug, long-term carcinogenicity studies are implemented on several mammal species and at least one rodent species. Carcinogenicity data could be of interest, as this may be an indicator of toxic effects after a long-term exposure. However, it is difficult to draw conclusions from such data. Most of the drugs that present positive results

Table 4
Mechanism of action of pharmaceuticals in humans and mammals and implications for toxicity toward aquatic vertebrates and invertebrate organisms (data reviewed from Fent et al., 2006; Huggett et al., 2005; Seiler, 2002; Länge and Dietrich, 2002)

Target receptor/function	Mechanism of action	Therapeutic/chemical class	Therapeutic effects in man	Identity fish/mammals ^a	Comments for fish	Presence in invertebrates ^b	Comments for invertebrates	References
Cyclooxygenase (COX-1 and COX-2)	Inhibition	NSAID	<ul style="list-style-type: none"> Synthesis inhibition of prostaglandins and leucotrienes Anti-inflammatory effect 	67%	<ul style="list-style-type: none"> Cox-1: role in development in zebrafish Prostaglandins: role in fishes ovulation Ibuprofen reported to affect time of reproduction in fish High homology with other vertebrates Supposed to play similar roles in humans β-Blockers hypothesised to affect cardiovascular function in fish 	Yes	<ul style="list-style-type: none"> Enzyme COX-like may play a role in prostaglandin synthesis in molluscs and arthropods β-Blockers could affect heart rate in <i>D. magna</i> 	Fent et al. (2006), Flippin et al. (2007), Cha et al. (2005), Mercure and Van Der Kraak (1996)
β -Adrenergic receptors	Antagonism	Beta-blockers	Decrease in heart and output rate	63%	<ul style="list-style-type: none"> Inhibition of aromatase in undifferentiated female fish results in complete masculinisation 	To be confirmed	<ul style="list-style-type: none"> Medetomidine and clonidine (agonists) investigated as anti-fouling agents 	Fent et al. (2006), Owen et al. (2007), Nickerson et al. (2001), Dzialowski et al. (2006)
Aromatase	Inhibition	Antineoplastic agents ^c	Decrease in plasmatic estrogen levels	ND	<ul style="list-style-type: none"> Inhibition of aromatase in undifferentiated female fish results in complete masculinisation 	Yes	ND	BCB (http://www.resip.fr) Guiguen et al. (1999)
α -Adrenergic receptors	Agonism	Central anti-hypertensors	<ul style="list-style-type: none"> Reduction in sympathetic tone Reduction in peripheral resistance Decrease in blood pressure 	61%	<ul style="list-style-type: none"> Five distinct α-adrenoreceptors in fish Locomotor inhibition in zebrafish by dexmedetomidine (agonist) 	To be confirmed	<ul style="list-style-type: none"> Medetomidine and clonidine (agonists) investigated as anti-fouling agents 	Fent et al. (2006), Ruuskanen et al. (2005), Dahlström et al. (2004)
HMG-coA-reductase	Inhibition	Statins	Decrease in cholesterol synthesis	ND	ND	Yes	<ul style="list-style-type: none"> HMG-coA reductase may influence mollusk oocyte activation Statins may affect the juvenile hormone synthesis in insects 	Turner et al. (1995), Fent et al. (2006), Debernard et al. (1994)
Calcium channel	Channel blockade	Calcium channel blockers	<ul style="list-style-type: none"> Vasodilating effect Decrease in blood pressure 	98%	ND	Yes	ND	Huggett et al. (2005)
Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)	Receptor binding and activation	Fibrates	Decrease in cholesterol synthesis	47%	<ul style="list-style-type: none"> Presence of pharmaceutical inducible receptors in fish Physiological and ecotoxicological relevance unknown Fluoxetine alters estradiol plasmatic levels in fish 	ND	ND	Fent et al. (2006)
Serotonin re-uptake	Inhibition	SSRIs	Antidepressant activity	72%	<ul style="list-style-type: none"> Fluoxetine alters estradiol plasmatic levels in fish 	Yes	<ul style="list-style-type: none"> Role in development and reproduction SSRI induce parturition in one bivalve specie 	Fent et al. (2006), Fong (1998), Foran et al. (2004)

NSAID: nonsteroidal anti-inflammatory; SSRIs: serotonin selective reuptake inhibitors.

^a Overall receptor or enzyme identity in fish compared with mammalian species; data from Huggett et al. (2005).

^b Presence confirmed in at least one specie of invertebrate, whatever the species.

^c Imidazole antifungals also show an *in vitro* inhibitory activity on aromatase (Tröskén et al., 2004).

Table 5
Modes of action (MoA) of pharmaceuticals considered relevant to our prioritization scheme

Mechanism of action	Molecule/class	Therapeutic use
Inhibition of serotonin reuptake	SSRIs, venlafaxine	Antidepressant
Increase of serotonin reuptake	Tianeptine	Antidepressant
5HT-2 serotonergic receptors antagonism	Naftidrofuryl	Anti-ischemic
5HT-3 serotonergic receptors agonism	Setrons	Anti-emetic
Binding to peroxysome proliferator-activated receptor (PPAR)	Fibrates	Blood lipid lowering agents
HMG-coA reductase inhibition	Statins	Blood lipid lowering agents
Ergosterol synthesis inhibition/potential anti-aromatase activity ^a	Azole antifungals	Antimycotic agents
Potential estrogenic activity ^b	Flavonoids	Diosmin/diosmetin
Calcium channel blockade	Calcium channel blockers	Anti-hypertensive
Antibacterial ^c (high toxicity toward blue-green algae)	Antibiotics	Antibacterials
Activity against anaerobic bacteria and protozoa	Metronidazole	Antiprotozoal
Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition ^d	ACE inhibitors	Anti-hypertensive
Angiotensin 2 receptor (AT1) antagonism ^e	Sartans	Anti-hypertensive
Analogue of endogenous thyroid hormone	Levothyroxin	Hypothyroidia
Arachidonic acid metabolism/immunomodulating activity	Corticoids	Various

^a *In vitro* activity (Trösken et al., 2004, 2006).

^b Flavonoids are potent estrogen enzyme modulators (Basly and Lavier, 2005).

^c Antibacterial MoA differs between chemical classes: Sulfamides: dihydrofolate reductase inhibition. Penicillins and cephalosporins: inhibition of cell-wall biosynthesis. Macrolides: inhibition of protein synthesis by binding 50 S ribosomal subunits. Cyclines: inhibition of protein synthesis by binding 30 S ribosomal subunits. Fluoroquinolones: alteration of bacterial DNA synthesis by interference with the enzyme DNA gyrase.

^d This MoA leads to decrease in aldosterone secretion.

^e AT2 receptors are found in heart, kidney and suprarenal glands; the MoA causes a decrease in aldosterone secretion.

for carcinogenicity in rats are not considered as carcinogenic to humans given normal therapeutic use. Moreover, some drugs can be carcinogenic to rats (the most sensitive species), but not to other species, such as mice. Finally, carcinogenic studies sometimes show positive results only at very high exposure concentrations. Consequently, accuracy and relevance of such data appeared to be limited for environmental considerations. Therefore, in our prioritization approach, we only considered rodent carcinogenic data as additional information on pharma-

ceuticals but not as a selection parameter in our prioritization scheme. Carcinogenic data were reviewed from Drugs.com, Snyder and Greene (2001) and Marselos and Vainio (1991).

2.2.4. Physicochemical data, $\log K_{ow}$

$\log K_{ow}$ is usually used to estimate the bioaccumulation potential of an environmental pollutant. As the potential to bioaccumulate in an organism may contribute to chronic toxic effects, we therefore included this parameter in the selec-

Table 6
Side effects and specific organ toxicity considered as relevant to our prioritization scheme

Side-effect/organ toxicity	Molecule	Therapeutic use
Effects on thyroid due to iodine	Amiodarone	Antiarrhythmic
Tendon rupture/arthropathia in children	Fluoroquinolones	Antibiotic
Effects on striated muscle, occurrence of rhabdomyolysis (muscular necrosis) especially with high posology. Impotence	Statins	Blood lipid lowering agent
	Fibrates	Blood lipid lowering agent
Hypo and hyperthyroidism (this side effect does not occur with other β -blockers)	Propranolol	β -Blocker
Nephrotoxicity	Amphotericin b	Antifungal
Kidney toxicity, cases of acute renal failure reported for diclofenac	Arylcarboxylic acids	NSAID
Disruption of prolactin and growth hormone secretion, due to dopaminergic receptors D2 blockade	Phenothiazines	Antipsychotic
Perturbation of menstrual cycle in case of prolonged administration	Rifampicin	Antibiotic, antituberculosis
Increase in synthesis of antidiuretic hormone	SSRIs	Antidepressant
Sexual dysfunction (decrease in libido, anorgasmia)	SSRIs/tricyclic antidepressants	Antidepressant
Increase in cholesterol in case of high posology or prolonged administration	Venlafaxine	Antidepressant
Hyperprolactinemia (linked to decrease in libido)	Butyrophenones	Antipsychotics
Decrease in thyroxin levels, increase in TSH levels	Carbamazepine	Anti-epileptic
Oligospermia, gynecomastia, transient decrease in plasma testosterone	Ketoconazole	Antifungal
Increase in prolactin levels	Domperidone	Anti-emetic

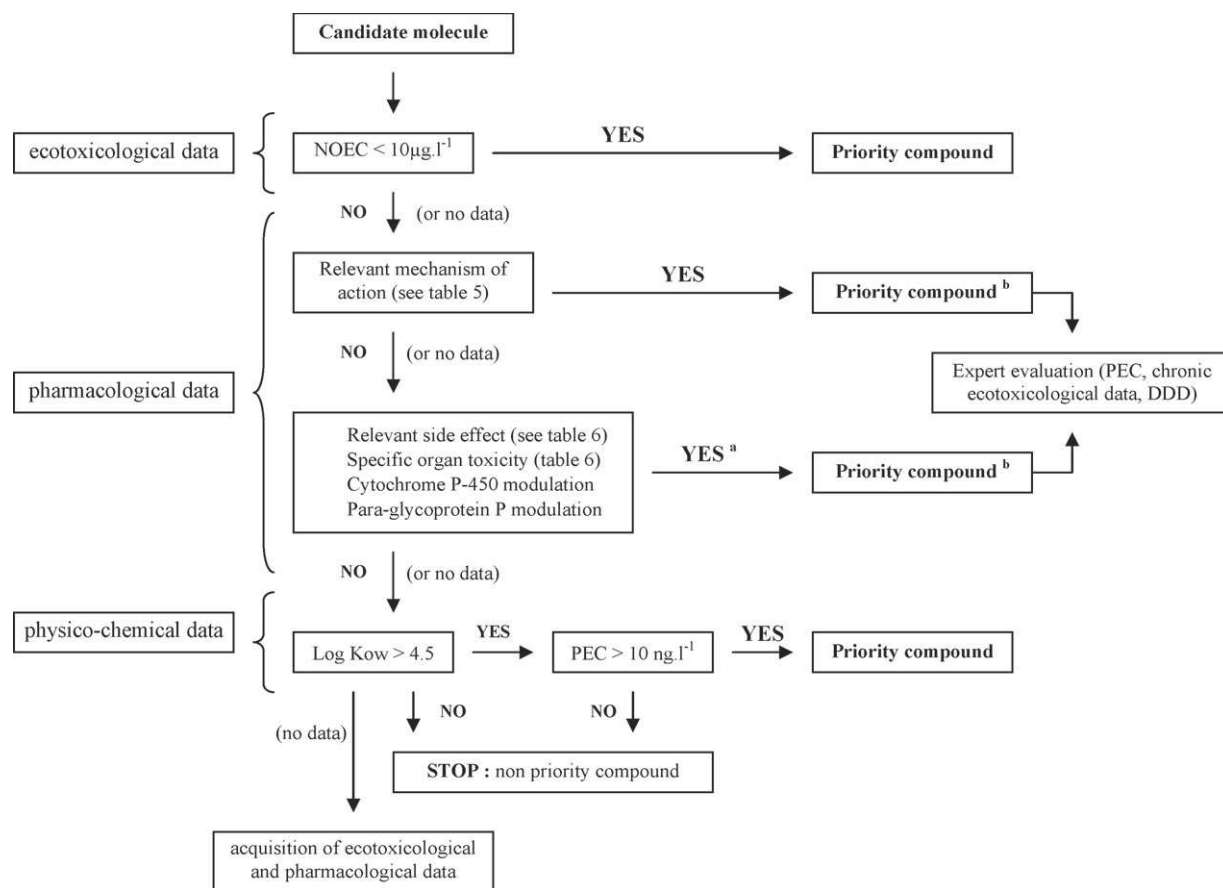


Fig. 2. Step II of the prioritization scheme—prioritizing pharmaceuticals based on ecotoxicological, pharmacological and physicochemical data. (a) Yes, if the compound meets at least two of the selected criteria (e.g., relevant side effect and cytochrome inhibition). (b) For priority compounds selected based on pharmacological data, the final inclusion on the priority list is to be discussed case-by-case by taking into account PEC values and biological data (see Section 2.3 and Fig. 3).

tion scheme. With reference to the EMEA guideline (EMEA, 2006), the threshold value for taking into account the bioaccumulation potential was set at 4.5 in our prioritization approach.

2.2.5. Overall prioritization scheme for the effect criteria

Effect parameters were ranked according to their relevance to aquatic organisms and inherent uncertainties. Fig. 2 depicts

the organization scheme leading to the selection of hazardous pharmaceuticals. Briefly, candidate molecules with a NOEC less than $10 \mu\text{g l}^{-1}$, whatever the trophic level, were considered priority compounds. Pharmaceuticals with relevant MoAs or other pharmacologically relevant properties were considered priority compounds. In this last case, an additional step was needed prior to the definitive selection (see Section 2.3). Finally, when no other data were available, $\log K_{ow}$ is used and a compound with

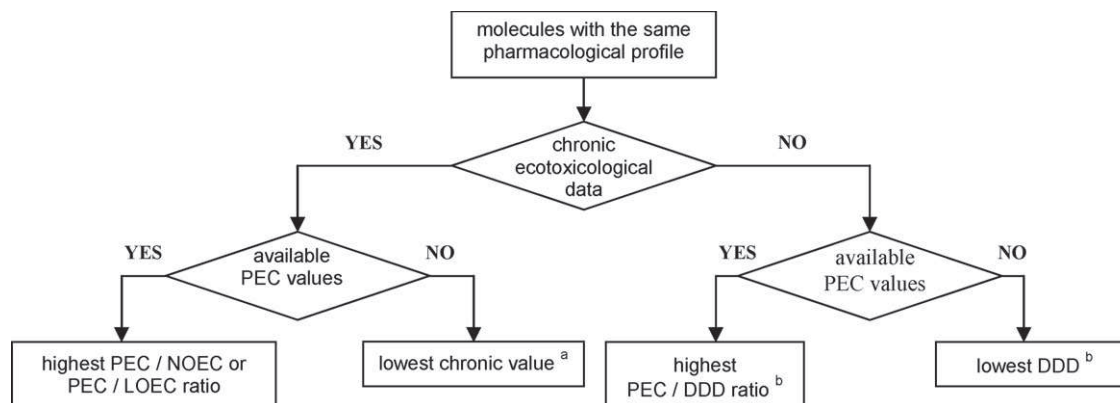


Fig. 3. Step III of the prioritization scheme—final selection of priority pharmaceuticals. This step was used to select one or more compounds from a number of priority compounds belonging to the same pharmacological class, with the same MOA and comparable side effects. (a) NOEC or LOEC. (b) DDD: defined daily dose. Molecules are compared to other using the same type of data, i.e., PEC/NOEC ratios are compared to PEC/NOEC ratios only.

Table 7
Final priority list for parent pharmaceuticals

Molecule	PECa (ng l ⁻¹)	PECb (ng l ⁻¹)	Exposure priority class	Therapeutic/chemical class	Reason(s) for including the compound in the priority list	Metabolite(s)	Found in surface water (reference)	Additional data need
Allopurinol		150	IA	Antigout	PEC value	Oxypurinol		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Amiodarone	555		IB	Antiarrhythmic	High <i>K_{ow}</i> ; adverse effects linked to iode CYP-450; P-gp inhibitor	N-Desethyl amiodarone		Confirm occurrence in water or sediment; may sorb to WWTP sludge due to high <i>K_{ow}</i> ; may search for its active metabolite
Amoxicillin		6,847	IA	Antibiotic penicillin	PEC value; antibiotic		Zuccato et al. (2005), Paffoni et al. (2006)	Confirm occurrence in water, maybe readily degradable (Zuccato et al., 2005); ecotoxicological data in fish
Amphotericin B		415	IA	Antifungal	PEC value; kidney toxicity			Confirm occurrence in water
Atenolol		419	IA	ATH β-blocker	PEC value		Zuccato et al. (2005)	Ecotoxicological data
Bezafibrate		476	IA	Blood lipid lowering agent (fibrate)	PEC value; muscular disease (rhabdomyolysis); PPAR agonist		Zuccato et al. (2005), Wiegel et al. (2004)	Ecotoxicological data
Buflomedil		291	IA	Anti-ischemic	PEC value			Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Carbamazepine	765		IB	Anticonvulsivant	PEC value; may be persistent in the aquatic environment; P-450 inducer	10,11-Epoxy-carbamazepine	Zuccato et al. (2005), Wiegel et al. (2004)	
Ceftriaxone		315	IA	Antibiotic cephalosporin	PEC value; antibiotic			Confirm occurrence in water, maybe readily degradable; ecotoxicological data
Ciprofloxacin		139	IA	Antibiotic fluoroquinolone	PEC value; antibiotic; high ecotoxicity		Zuccato et al. (2005)	Ecotoxicological data
Clarithromycin		62	IIA	Antibiotic macrolide	ATB; high ecotoxicity on blue-green algae; CYP-450; P-gp inhibitor		Zuccato et al. (2005), Wiegel et al. (2004)	
Cyamemazine	124		IB	Antipsychotic	Endocrine and metabolic disorders in man due to dopaminergic receptor blockade			Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Diclofenac		35	IIA	NSAID	High <i>K_{ow}</i> ; adverse effects on kidney		Ashton et al. (2004), Budzinski and Togola (2006)	Ecotoxicological data
Diosmin	8,528		IB	Vitaminic P	Flavonoid; potent estrogenic activity	Diosmetin (deglycosylated form)		Confirm occurrence of diosmetin in water rather than diosmine; evaluate diosmetin estrogenic activity
Doxycycline		103	IA	Antibiotic tetracycline	PEC value; antibiotic			Confirm occurrence in water; complexing properties of cyclines and possible sorption to suspended matter (Hirsch et al., 1999)
Fluoxetine		9	III	Antidepressant SSRI	Agonist of serotonergic receptors; high ecotoxicity; P-gp inhibitor	Norfluoxetine	Vasskog et al. (2006), Kolpin et al. (2002)	Ecotoxicological data in fish
Fosfomicin		155	IA	Antibiotic phosphonic	PEC value; antibiotic			Confirm occurrence in water
Furosemide		486	IA	Diuretic	PEC value		Zuccato et al. (2005)	Ecotoxicological data in fish
Ibuprofen		1,370	IA	NSAID	PEC value; potential renal toxicity	2-OH-ibuprofen carboxy-ibuprofen	Zuccato et al. (2005), Budzinski and Togola (2006)	Ecotoxicological data
Ketoprofen		421	IA	NSAID	PEC value; potential renal toxicity		Budzinski and Togola (2006)	Ecotoxicological data
Losartan	334		IB	ATH sartan	MoA; decrease in aldosterone secretion	5-Carboxylic acid metabolite		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Metformin		16,367	IA	Antidiabetic	PEC value			Ecotoxicological data
Metronidazole		150	IA	Antiprotozoal	PEC value; antiprotozoal activity	OH-metronidazole		Confirm occurrence in water

Table 7 (Continued)

Molecule	PECa (ng l ⁻¹)	PECb (ng l ⁻¹)	Exposure priority class	Therapeutic/chemical class	Reason(s) for including the compound in the priority list	Metabolite(s)	Found in surface water (reference)	Additional data need
Nafidrofuryl	1039		IB	Anti-ischemic	Antagonist activity of serotonergic 5-HT ₂ receptors			Confirm occurrence in water
Naproxen		597	IA	NSAID	PEC value; potential renal toxicity		Budzinski and Togola (2006)	Ecotoxicological data on fish
Ofloxacin		94	IIA	Antibiotic fluoroquinolone	PEC value; ATB; high ecotoxicity		Zuccato et al. (2005)	
Oxazepam		207	IA	Benzodiazepine	PEC value		Togola et al. (2007)	Ecotoxicological data
Paracetamol		64,101	IA	Antipyretic; analgesic	PEC value		Budzinski and Togola (2006)	Ecotoxicological data
Piperacillin		102	IA	Antibiotic ureidopenicillin	PEC value; ATB			Confirm occurrence in water, maybe readily degradable; ecotoxicological data
Pravastatin	125		IA	Blood lipid lowering agent (statin)	Adverse effects on striated muscle; evidence of endocrine disruption in insects by fluvastatin; MoA; carcinogenic to rodents			Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Prednisolone	85		IIB	Corticoid	Immunomodulating properties; metabolism data		Chang et al. (2007)	Ecotoxicological data
Pristinamycin	910		IB	Antibiotic streptogramin	PEC value; ATB			Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Propranolol		68	IIA	ATH β-blocker	High ecotoxicity; adverse effects on thyroid	4-OH-propranolol	Ashton et al. (2004), Miège et al. (2006)	
Ranitidine		133	IA	Antacid	PEC value		Zuccato et al. (2005)	Ecotoxicological data
Sertraline		20	IIA	Antidepressant SSRI	Serotonergic activity; high <i>K_{ow}</i> ; high ecotoxicity; P-450 inhibitor		Vasskog et al. (2006)	Ecotoxicological data on fish and algae
Sulfamethoxazole		153	IA	Antibiotic sulfonamide	PEC value; ATB synergy with trimethoprim		Ashton et al. (2004), Wiegel et al. (2004)	Ecotoxicological data of mixture with trimethoprim
Tramadol		177	IA	Analgesic	PEC value	Demethyltramadol		Ecotoxicological data of mixture with sulfamethoxazole
Trimethoprim		38	IIA	Antibiotic benzylpyrimidine	Synergy with sulfamethoxazole		Ashton et al. (2004), Wiegel et al. (2004)	Ecotoxicological data of mixture with sulfamethoxazole
Valproic acid		1,357	IA	Anticonvulsant	PEC value; P-450 inhibitor			Confirm occurrence in water maybe extensively removed in WWTP (Yu et al., 2006)
Vancomycin		21	IIA	Antibiotic glycopeptide	ATB			Confirm occurrence in water, could be extensively removed in WWTP (Paffoni et al., 2006)

For each compound, its predicted environmental concentration (PEC) value, its therapeutic use, the reasons for its inclusion on the priority list, the reference of studies reporting environmental concentrations, if any, and the immediate needs are given. NSAID: nonsteroidal anti-inflammatory; ATH: anti-hypertensor; SSRI: selective serotonin reuptake inhibitor.

Table 8
Priority list for metabolites

Metabolite	PECb (ng l ⁻¹)	Parent compound	Reason(s) for inclusion on priority list	Pharmacological activity	Found in surface water (reference)	Additional data need
Salicylic acid	ND	Aspirin	Active metabolite of the prodrug	Responsible for pharmacological activity	Ternes (1998)	
Fenofibric acid	1175	Fenofibrate	Active metabolite of the prodrug	Responsible for pharmacological activity	Ternes (1998)	
Perindoprilat	4	Perindopril	Active metabolite of the prodrug	Angiotensin-converting enzyme inhibition		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Ramiprilat	3	Ramipril	Active metabolite of the prodrug	Angiotensin-converting enzyme inhibition		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Demethyltramadol	355	Tramadol	Active, high excretion rate (60%)	Active, analgesic activity		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Hydroxy-ibuprofen	1370	Ibuprofen	High excretion rate (25%)	Inactive	Bendz et al. (2005)	Ecotoxicological data
Carboxy-ibuprofen	2027	Ibuprofen	High excretion rate (37%)	Inactive	Bendz et al. (2005)	Ecotoxicological data
Acetylsulfamethoxazole	229	Sulfamethoxazole	High excretion rate (60%)	Inactive	Ashton et al. (2004)	Ecotoxicological data
14-OH-clarithromycin	52	Clarithromycin	Active, synergy with parent drug	Active, synergy with parent compound on some bacterial strains		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
Norfluoxetine	17	Fluoxetine	Active, high excretion rate (28%)	Equipotent to parent drug		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
OH-metronidazole	234	Metronidazole	Active, high excretion rate (28%)	30–65% of the activity of metronidazole		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
β-Hydroxy-acid metabolite	87	Simvastatin	Active metabolite of the prodrug	Inhibition of HMG-coA reductase		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
2-OH-atorvastatin	ND	Atorvastatin	Active metabolite of the prodrug	Inhibition of HMG-coA reductase		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data
4-OH-atorvastatin	ND	Atorvastatin	Active metabolite of the prodrug	Inhibition of HMG-coA reductase		Confirm occurrence in water; ecotoxicological data

ND: not determined.

a log K_{ow} greater than 4.5 and a PEC greater than 10 ng l^{-1} was considered priority compound.

As a precaution, all pharmaceuticals of the candidate list, even those from classes III and IV were submitted to this selection procedure.

2.3. Selecting for drugs belonging to the same chemical class

In some cases, several molecules belonging to the same pharmacological and chemical class, e.g., molecules with the same therapeutic use and the same MoA were selected as priority molecules. Therefore, a further selection step was taken to choose between these molecules in order to prioritize the most hazardous one. This selection was quite similar to a risk quotient approach but was based on different parameters, considering available data (Fig. 3).

Instead of using PEC/PNEC ratios, as ecotoxicological data are too scarce, PEC/NOEC or PEC/LOEC ratios were used, considering available ecotoxicological data.

When no ecotoxicological data were available, we then choose to rely on the theoretical potency of the molecule. To this extent, we used the defined daily dose (DDD) as a surrogate for estimating the potency of a molecule. The DDD is “the assumed average maintenance dose per day for a drug used for its main indication in adults” (WHO, 2007). This assumption is based on the premise that the lower the DDD, the more active the molecule is: a molecule with a lower DDD could generate a therapeutic response (e.g., an activity on receptors) at a lower plasmatic level. Therefore, PEC/DDD ratios were calculated to prioritize between pharmaceuticals of the same chemical class when no other data were available.

Only ratios calculated using same parameters were compared, i.e., PEC/NOEC vs. PEC/NOEC or PEC/DDD vs. PEC/DDD. Pharmaceuticals were compared based on such ratios, and the molecule showing the highest ratio was selected as the priority compound.

3. Results

3.1. Prioritization list for parent drugs

The final prioritization list for parent compounds is shown in Table 7. It gathers 40 molecules. For each compound, the reason for its inclusion as a priority compound is given. Moreover, an indication is given on the detection of the molecule in European surface water. Finally, the additional information needed to improve our selection, in particular on the occurrence of the substance in surface waters or ecotoxicity, are indicated.

The final list gathers molecules belonging to several therapeutic and chemical classes and thus provides a large screening of compounds. Of the 40 parent compounds of the priority list, 21 have already been found in surface waters or WWTP effluents in several studies (Hirsch et al., 1999; Ternes, 1998; Ashton et al., 2004; Zuccato et al., 2005; Bendz et al., 2005; Miège et al., 2006; Vasskog et al., 2006; Paffoni et al., 2006; Budzinski and

Togola, 2006; Miège et al., 2006; Chang et al., 2007; Togola et al., 2007). The other compounds have not yet been searched for in surface waters or WWTP effluents. This result shows that there is a good agreement between the theoretical approach proposed here and the compounds actually found in the environment.

3.2. Final priority list for metabolites

The priority list for metabolites is given in Table 8. Among the 14 metabolites, five have been searched for and detected in the aquatic environment: salicylic acid and fenofibric acid, which are pharmacologically active metabolites, and acetylsulfamathoxazole, carboxy- and hydroxy-ibuprofen, which are inactive (Paffoni et al., 2006; Ternes, 1998; Bendz et al., 2005; Ashton et al., 2004). As occurrence data are still scarce for metabolites, an effort should be made to collect field measurements for such molecules. Indeed, as pharmacologically active metabolites can contribute to the therapeutic effect in humans, they can contribute to toxicity toward aquatic organisms, in the same way as parent drugs.

4. Discussion

4.1. Priority pharmaceuticals

4.1.1. Compounds selected based on their PEC value

Seven pharmaceuticals were selected on the basis of the exposure criteria only, considering their PEC_b value higher than 100 ng l^{-1} . These compounds are allopurinol (antigout), atenolol (anti-hypertensor), metformin (antidiabetic), oxazepam (anxiolytic), metronidazole (antiprotozoal), tramadol (analgesic), and ranitidine (antacid). For these compounds, no chronic ecotoxicological or pharmacological data were available to make any further conclusion. Therefore, there is a need to build ecotoxicological data for these drugs.

The other 33 compounds were selected by taking into account exposure and effect data, according to the prioritization strategy. Reasons for selection, as well as data gaps and needs for further information are discussed below.

4.1.2. Antibiotics

Among the 40 priority parent molecules, 12 are antibiotics belonging to various chemical classes: β -lactamin antibiotics (penicillins and cephalosporins), tetracyclines, fluoroquinolones, macrolides, sulfonamides, benzyl-pyrimidines and glycopeptides.

The penicillin amoxicillin was considered a priority compound according to the selection criteria: $\text{PEC} > 100 \text{ ng l}^{-1}$ and high toxicity toward cyanobacteria (Andreozzi et al., 2004; Holten-Lützhøft et al., 1999; Garric et al., 2006). However, it was found at only very low concentrations, lower than 10 ng l^{-1} in the Italian and French aquatic environment (respectively Zuccato et al., 2005 and Paffoni et al., 2006). Piperacillin, another penicillin, restricted to hospital use, was also considered a priority compound for the same reasons as amoxicillin. However, despite its high PEC, this molecule has not been found in WWTP effluents or surface waters in France (Paffoni et al., 2006). These

two molecules show the same chemical structure with a β -lactam ring, and low field concentrations suggest that β -lactamin antibiotics may undergo rapid environmental degradation (Zuccato et al., 2005; Andreozzi et al., 2004; Paffoni et al., 2006). Therefore, their presence in receiving water must be confirmed.

Three cephalosporins were previously selected: ceftazidime, ceftriaxone and cefpodoxime. Ceftriaxone was finally retained on the priority list, considering PEC/DDD ratios; as no ecotoxicological data were available. As cephalosporins are β -lactamin antibiotics, rapid degradation can be hypothesized. Therefore, the presence of ceftriaxone in surface waters must be confirmed.

Doxycycline was the only tetracycline selected as a priority compound. It is reported to have complexing properties and to potentially sorb to suspended matter or sediment (Hirsch et al., 1999) and therefore may not be present in dissolved form in the aquatic environment. Consequently, it could be more relevant to evaluate the sediment exposure and to assess the risk of this molecule for sediment species.

The fluoroquinolones ofloxacin and ciprofloxacin were both included on the prioritization list. Indeed, available data did not allow to establish a prioritization between these two molecules. They both have already been found in surface waters (Zuccato et al., 2005; Paffoni et al., 2006) and showed high toxicity toward cyanobacteria (Halling-Sørensen et al., 1998; Ferrari et al., 2004). Ecotoxicological data for both compounds need to be completed, especially on fish.

Four macrolides were initially included on the list: clarithromycin, josamycin, roxithromycin and azithromycin. Considering PEC values, ecotoxicological data and DDD values, only clarithromycin was finally selected. Clarithromycin shows a high toxicity toward green algae (Isidori et al., 2005) and has already been found in the surface waters of several European countries (Zuccato et al., 2005; Wiegel et al., 2004; Paffoni et al., 2006). Erythromycin, which was not on the initial list (e.g., not listed in the top 100 molecules) has been found in the aquatic environment (Zuccato et al., 2005; Ashton et al., 2004; Paffoni et al., 2006); this molecule should be included in the prioritization strategy.

The sulfonamide sulfamethoxazole and the benzylpyrimidine trimethoprim have already been found in the aquatic environment (Ashton et al., 2004; Wiegel et al., 2004; Paffoni et al., 2006) and were considered as priority compounds. Some ecotoxicological data were available for these compounds (Holten-Lützhøft et al., 1999; Ferrari et al., 2004). However, only very scarce data were available on the effect of mixing these two compounds (Eguchi et al., 2004), which are known to act synergistically and are used in therapeutics accordingly.

The glycopeptide antibiotic vancomycin showed a high PECb value; however, the study of Paffoni et al. (2006) suggests that this molecule has a removal rate of 100% in WWTP. Therefore, there is a need to confirm its occurrence in surface waters and in sewage sludge.

4.1.3. β -Lactamase inhibitors

Clavulanic acid and tazobactam are β -lactamase inhibitors that are used in association with penicillins (respectively, amoxicillin and piperacillin) to bypass the resistance mechanism

of some bacterial strains. β -Lactamase inhibitors therefore act synergistically with β -lactamin antibiotics. These compounds showed PECa values of 520 and 12.5 ng l⁻¹, respectively. The risk posed by such molecules could be indirect, in contributing to the selection of antibiotic-resistant bacterial strains. Considering the parameters used in our methodology, we could not conclude on these two compounds. The consequences of the presence of β -lactamase inhibitors in the aquatic environment are unclear. Nevertheless, it would be interesting to build ecotoxicological assays to assess the effect of combined mixtures of antibiotics and β -lactamase inhibitors.

4.1.4. Azole antifungals

Azole antifungals may pose a risk to the aquatic environment because they are potent aromatase (Trösken et al., 2004, 2006) and P-gp inhibitors. Fluconazole, a triazole antifungal, was the only azole considered in this study. However, it is not reported to be a potent aromatase inhibitor (Trösken et al., 2004). Considering its limited activity on aromatase and its low PEC, fluconazole was not considered as a priority compound. Other azole antifungals, especially imidazole antifungals such as ketoconazole, bifonazole and miconazole, which are *in vitro* inhibitors of the aromatase (Trösken et al., 2004), could pose a risk to the aquatic environment. Consequently, it is necessary to assess their exposure hazard and their ecotoxicological effects and to consider them in a prioritization approach. A very recent study (Ankley et al., 2007) showed that ketoconazole could adversely affect reproductive functions in the fathead minnow. This study also showed that the fish could compensate the effects of this compound.

4.1.5. Glucocorticoids

Among corticoids, prednisolone was the only molecule selected, mainly on metabolism considerations. Metabolism data report very low excretion rates for the other congeners. On the other hand, prednisone, another corticoid, is extensively metabolized to prednisolone and therefore is likely to increase the environmental loads of prednisolone. This assumption is partially confirmed by the fact that prednisolone was reported to be the synthetic glucocorticoid the most frequently detected in Chinese surface waters (Chang et al., 2007). As corticoids may induce disruptions in the immunologic functions of aquatic organisms because of their MoA, there is a need to evaluate the levels in surface waters by field measurements and eventually to assess for toxicity of prednisolone combined with other drugs or pollutants using long-term assays.

4.1.6. Statins

Three statins (blood lipid-lowering agents) were initially selected. Due to their mechanism of action, their potent interfering activity with juvenile hormone in insects (Debernard et al., 1994), their muscular side-effects and carcinogenicity in rodents, these pharmaceuticals should be considered priority compounds. Among them, only pravastatin is not a prodrug and therefore should be monitored in surface water. The other statins selected (simvastatin, atorvastatin) are prodrugs, i.e., they are the inactive (or significantly less active) forms, which once admin-

istered, are metabolised in the body into the active compound. It therefore seems justified to search only for the latter in surface waters. To date only very scarce data on statins occurrence and ecotoxicity were available; therefore, environmental fate and effect data are needed.

4.1.7. Selective serotonin reuptake inhibitors

Among the five SSRIs present on the initial list, only sertraline and fluoxetine were finally selected as priority molecules. Using ecotoxicological data (Henry et al., 2004), sertraline was included on the priority list because it shows the highest PEC/NOEC ratio compound. Fluoxetine was included because of its very high toxicity on green algae (FDA-CDER, 1996).

4.1.8. Other compounds

Amiodarone is an antiarrhythmic drug that presents adverse effects in humans because of the presence of iodine. It is also a P-450 and P-gp inhibitor. Moreover, this molecule shows a very high K_{ow} of 7.57; therefore, it was selected as a priority compound. Based on the K_{ow} value, amiodarone is likely to sorb to WWTP sludge or suspended matter or sediment and therefore may not be present in the dissolved phase in surface waters. Moreover metabolism data are scarce, and the PEC value calculated here may overestimate actual field concentrations. Consequently, environmental measurements should be conducted in order to confirm its presence in the environment.

Amlodipine and nifedipine, despite their mechanism of action (calcium antagonists) were finally not included on the priority list because of their very low PEC values ($<10 \text{ ng l}^{-1}$).

Losartan (angiotensin 2 receptor antagonist) was selected because of its MoA. However, metabolism data suggest that it could be extensively metabolized in a pharmacological equipotent metabolite (BCB, 2006). Therefore, it would be more appropriate to search for the metabolite.

Valproic acid is reported to be extensively removed in WWTP (Yu et al., 2006); therefore, the PEC value reported here could overestimate actual environmental concentrations and there is a need to evaluate the actual concentrations in surface waters.

Diosmin is a flavonoid with vitaminic-P properties used in venous insufficiency of the lower limbs. It is readily deglycosylated to diosmetin. Some flavonoids are reported to be potent estrogen enzyme modulators (Basly and Lavier, 2005). Diosmetin is an agonist of the aryl hydrocarbon receptor (Ciolino et al., 1998). There are no data on the estrogenic properties of diosmetin, but it shows a structural analogy with quercetin, an inhibitor of the 17- β -hydroxysteroid dehydrogenase enzyme which converts estrone into estradiol (Krazeisen et al., 2002; Basly and Lavier, 2005). Diosmetin is therefore likely to exert endocrine disrupting effects on aquatic organisms, and surface water concentration of diosmetin, as well as its estrogenic potency must be assessed.

4.2. Exposure assessment

We used two threshold values in the exposure assessment and two calculation methods to obtain PEC values. This allowed to

better distinguish between the pharmaceuticals and to take into account metabolism considerations.

Rather than assigning a default value when the Fexcreta was not available, we choose to consider the gaps in metabolism data. This led to the two classes – IB and IIB – for which the relevance of the pharmaceutical classification is limited. Therefore, conclusions on the exposure of pharmaceuticals belonging to classes IB and IIB must be considered with caution. Such classes would become unnecessary if all required metabolism data were to become available.

Classes III and IV both correspond to low-priority compounds. However, the selection criteria were different between the two classes, i.e., extensive metabolism for class III (therefore low excretion rates of unchanged molecule) and low consumption amount for class IV.

Comparing the outcome of this study with the prioritization approach mainly based on exposure criteria from Zuccato et al. (2005) shows very close results: of the 22 compounds studied in Zuccato et al.'s study, only four are not included on our priority list, and of these four compounds, two were not detected in Italian surface waters. So the exposure assessment we used provides good agreement with environmental occurrence.

Wastewater treatment plant removal rates were not taken into account, because these data remain scarce for the moment and only concern roughly 20% of the pharmaceuticals initially considered. When available, WWTP removal rates were only considered *a posteriori* of the prioritization strategy, as additional information.

Finally we did not take into account any biodegradation or environmental behavior data. When available, they also should be included in a exhaustive prioritization approach.

4.3. Accuracy of parameters selected for the biological effect assessment

In our prioritization scheme, side effects and/or organ toxicity were used as decision parameters. Seiler (2002) stated that a direct extrapolation from such endpoints may not be relevant for the characterization of environmental hazard and therefore that side effect data should be used with caution. Indeed such side effects may differ in lower invertebrates, because of differences in physiology, target receptors and therefore mechanism of action and toxicity (Fent et al., 2006; Seiler, 2002). Nevertheless, diclofenac provides an example of similarity between side effects in humans and non-mammalian species (Schwaiger et al., 2004; Triebkorn et al., 2004; Oaks et al., 2004). Moreover, SSRIs, which are reported to disrupt endocrine functions in lower invertebrates (Fong, 1998; Flaherty and Dodson, 2005; Brooks et al., 2003) and fish (Foran et al., 2004), are known to induce side effects on sexual function in humans such as sexual dysfunction and galactorrhea.

Side effects and organ toxicity can be considered as valuable indicators of the potential toxicity and target organs of a pharmaceutical: in the case of azole antifungals, fluconazole, which does not display any adverse effect on reproduction functions in humans (BCB), is reported to be a weak inhibitor of aromatase (Trösken et al., 2004). On the contrary, ketoconazole,

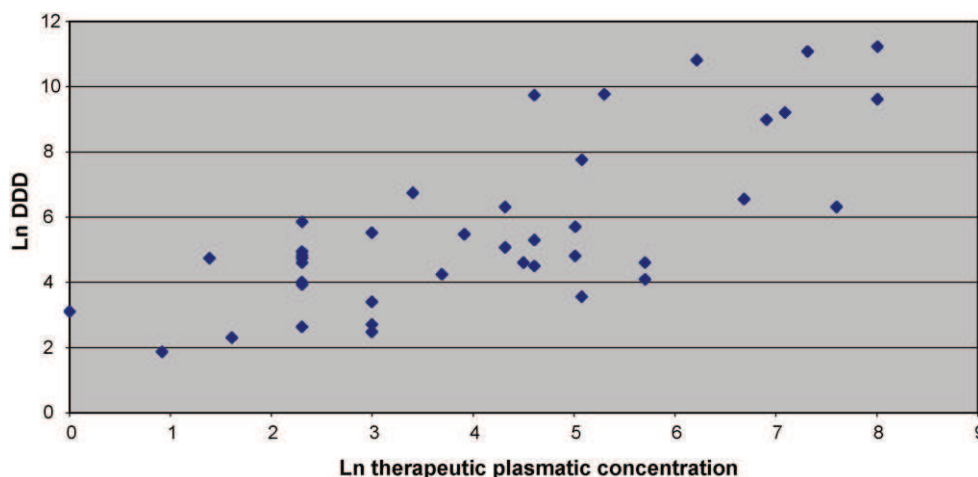


Fig. 4. Correlation between the defined daily dose (DDD) and the therapeutic plasmatic concentrations for 40 drugs. $R^2 = 0.54$. Data expressed in ln of DDD and ln of therapeutic plasmatic levels. Data from BCB (<http://www.resip.fr>) and Hardman et al. (1996).

which shows adverse effects in humans such as oligospermia, gynecomastia and transient decrease in testosterone levels when administered orally, is reported to be more potent as an aromatase inhibitor (Trösken et al., 2004). Side effects can provide useful information regarding toxicity mechanisms and could help target relevant endpoints in ecotoxicological studies.

In our prioritization methodology, we considered that DDD could be an accurate estimation of a molecule's activity. We studied the correlation between the DDD and the therapeutic plasmatic levels for 40 compounds for which data were available. Results are reported in Fig. 4 and show a correlation between the two parameters. Thus, DDD can be used as a surrogate to estimate a molecule's activity. Dispersions can partially be explained by the fact that DDD represents a theoretical administration dose, while numerous factors can influence the plasmatic levels such as bioavailability, the galenic form, the hepatic first pass, or plasmatic protein binding. Nevertheless, DDD can provide useful information about the potency of the molecule.

In our study, we took into account the K_{ow} to estimate the potential bioaccumulation for pharmaceuticals. However, as quoted by several authors (Fent et al., 2006; Wells, 2006; Tolls, 2001), K_{ow} may not be an accurate descriptor of the environmental behavior (sorption, bioaccumulation) of pharmaceuticals in the environment. The majority of pharmaceuticals are polar ionizable compounds, and it would be more accurate to use the $\log D_{ow}$ (K_{ow} corrected by the pK_a). In this study, we used the K_{ow} to estimate the bioaccumulation of pharmaceuticals, since no threshold value has been set using the D_{ow} . Nevertheless, this bioaccumulation estimation could be inaccurate for pharmaceuticals.

5. Conclusion

The prioritization selection described here aimed at two main goals: targeting molecules likely to be present in surface waters

and identifying data that could guide to a better risk assessment of the long-term effects of the pharmaceuticals. The goals and the data required for prioritization are somewhat different from those required for an ERA.

Several ERAs for pharmaceuticals have already been published (Carlsson et al., 2006; Stuer-Lauridsen et al., 2000; Jones et al., 2002). They started with PEC calculation based on EMEA guidelines, and the environmental risk was next assessed using classical risk ratios based on PNEC. One of the main conclusions across these studies was the lack of ecotoxicological data, which limited the outcome of ERAs for pharmaceuticals. This lack of ecotoxicological data was the main reason that led us to design an original prioritization methodology. We used the available pharmacological and environmental toxicological data which allowed a thorough screening for pharmaceuticals. Therefore, some molecules such as diclofenac, allopurinol or sodium valproate were selected as priority compounds, while these molecules showed PEC/PNEC risk ratios below one in previously published ERAs.

We used mammalian and human pharmacological data to provide indicators for selecting pharmaceutical compounds. The relevance of such indicators to predict biological effects in aquatic non-target organisms has yet to be confirmed. Nevertheless, this approach provides valuable indications for further field investigation and for a better understanding of the ecotoxicity of pharmaceuticals on aquatic vertebrates and invertebrates. Thus it can be considered as a useful tool to help the environmental monitoring and assessment of pharmaceuticals, but it is not intended to fulfil the regulatory requirements of an ERA for pharmaceutical products in the context of the market authorization.

The implemented prioritization methodology allowed us to build a list of priority pharmaceuticals to survey in French surface waters. The list proposed here should be considered as indicative of the hazardous pharmaceuticals that can reach the aquatic environment. The list and the methodology have to be completed and eventually modified as the data available and

knowledge increase. In particular, fate data, such as biodegradation, photodegradation and hydrolysis time, should be included as soon as they are available.

Finally, existence or feasibility of accurate analytical procedures are still to take into account prior to compile the definitive priority list.

Acknowledgments

The authors wish to thank the AFSSAPS (Cavalié Philippe, Rouleau Alice and Castot Anne), for kindly sharing of consumption data of pharmaceuticals. The authors also wish to thank the Agence de l'Eau Rhône Méditerranée & Corse for financially supporting this project. Finally, the authors wish to thank the two anonymous reviewers for their useful comments.

References

- AFSSAPS, 2006. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, personal communication.
- Andreozzi, R., Caprio, V., Ciniglia, C., De Champdore, M., Lo Giudice, R., Marotta, R., Zuccato, E., 2004. Antibiotics in the environment: occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin. *Environ. Sci. Technol.* 38, 6832–6838.
- Ankley, G.T., Jensen, K.M., Kahl, M.D., Makynen, E.A., Blake, L.S., Greene, K.J., Johnson, R.D., Villeneuve, D.L., 2007. Ketoconazole in the fathead minnow (*Pimephales promelas*): reproductive toxicity and biological compensation. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 1214–1223.
- Ashton, D., Hilton, M., Thomas, K.V., 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total Environ.* 333, 167–184.
- Basly, J.P., Canivenc, M.C.C., 2005. Dietary phytoestrogens: potential selective estrogen enzyme modulators? *Planta Med.* 71, 1–8.
- BCB, 2006. Banque Claude Bernard. <http://www.resip.fr>. Last accessed 29/06/07.
- Bendz, D., Paxeus, N.A., Ginn, T.R., Loge, F.J., 2005. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Høje River in Sweden. *J. Hazard. Mater.* 122, 195–204.
- Besse, J.P., Kausch-Barreto, C., Garric, J., Exposure assessment of pharmaceuticals and their metabolites in the aquatic environment. Application to the French situation and preliminary prioritization. *J. Human Ecol. Risk Assess.*, in press.
- Britvic, S., Kurelec, B., 1999. The effect of inhibitor of multixenobiotic resistance mechanism on the production of mutagens by *Dreissena polymorpha* in waters spiked with premutagens. *Aquat. Toxicol.* 47, 107–116.
- Brooks, B.W., Turner, P.K., Stanley, J.K., Weston, J.J., Glidewell, E.A., Foran, C.M., Slattery, M., La Point, T.W., Huggett, D.B., 2003. Waterborne and sediment toxicity of fluoxetine to select organisms. *Chemosphere* 52, 135–142.
- Budzinski, H., Togola, A., 2006. Présence des résidus de médicaments dans les différents compartiments du milieu aquatique. *Environnement Risques et Santé* 5, 248–252.
- Carlsson, C., Johansson, A.-K., Alvan, G., Bergman, K., Kühler, T., 2006. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants?: Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Sci. Total Environ.* 364, 67–87.
- Cha, Y.I., Kim, S.H., Solnica-Krezel, L., DuBois, R.N., 2005. Cyclooxygenase-1 signaling is required for vascular tube formation during development. *Dev. Biol.* 282, 274–283.
- Chang, H., Hu, J., Shao, B., 2007. Occurrence of natural and synthetic glucocorticoids in sewage treatment plants and receiving river waters. *Environ. Sci. Technol.* 41, 3462–3468.
- Ciolino, H.P., Wang, T.T., Chao, Y., Yeh, G., 1998. Diosmin and diosmetin are agonists of the aryl hydrocarbon receptor that differentially affect Cytochrome P450 1A1 activity. *Cancer Res.* 58, 2754–2760.
- Crane, M., Watts, C., Boucard, T., 2006. Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals. *Sci. Total Environ.* 367, 23–41.
- Dahlström, M., Jonsson, P.R., Lausmaa, J., Arnebrant, T., Sjögren, M., Holmberg, K., Mårtensson, L.G.E., Elwing, H., 2004. Impact of polymer surface affinity of novel antifouling agents. *Biotechnol. Bioeng.* 86, 1–8.
- Debernard, S., Rossignol, F., Couillaud, F., 1994. HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin inhibits insect juvenile-hormone biosynthesis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 95, 92–98.
- Dorosz, P. (Ed), 2002. Guide Pratique des Médicaments, 22 ed. Maloine, Paris, France.
- Drugs.com. Available at <http://www.drugs.com>. Last accessed 29/06/07.
- Dzialowski, E.M., Turner, P.K., Brooks, B.W., 2006. Physiological and reproductive effects of beta adrenergic receptor antagonists in *Daphnia magna*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50, 503–510.
- Eguchi, K., Nagase, H., Ozawa, M., Endoh, Y.S., Goto, K., Hirata, K., Miyamoto, K., Yoshimura, H., 2004. Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. *Chemosphere* 57, 1733–1738.
- EMA, 2006. European Medicine Agency Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use. EMA/CHMP/SWP/4447/00.
- Endicoot, J.A., Ling, V., 1989. The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Annu. Rev. Biochem.* 58, 137–171.
- EU TGD Technical Guidance Document, 2003. Technical Guidance Document in support of Council Directive 93/67/EEC on risk Assessment for New Notified Substances and Commission Regulation (EC) 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- FDA, 1998. Guidance for Industry-Environmental Assessment of Human Drugs and Biologic Applications. FDA, CDER/CBER, CMC 6, rev. 1.
- FDA-CDER, 1996. Retrospective Review of Ecotoxicity Data Submitted in Environmental Assessments. FDA Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD, USA (Docket No. 96N-0057).
- Fent, K., Weston, A.A., Caminada, D., 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.* 76, 122–159.
- Ferrari, B., Mons, R., Vollat, B., Frayssé, B., Paxéus, N., Lo Giudice, R., Pollio, A., Garric, J., 2004. Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: Are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 1344–1354.
- Flaherty, C.M., Dodson, S.I., 2005. Effects of pharmaceuticals on *Daphnia* survival, growth, and reproduction. *Chemosphere* 61, 200–207.
- Flippin, J.L., Huggett, D., Foran, C.M., 2007. Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquat. Toxicol.* 81, 73–78.
- Fong, P.P., 1998. Zebra mussel spawning is induced in low concentrations of putative serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs). *J. Exp. Zool.* 280, 260–264.
- Foran, C.M., Weston, J., Slattery, M., Brooks, B.W., Huggett, D.B., 2004. Reproductive assessment of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) following a four-week fluoxetine (SSRI) exposure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 511–517.
- Garric, J., Ferrari, B., Frayssé, B., Mons, R., Vollat, B., 2006. Impact de médicaments à usage humain sur les organismes aquatiques d'eau douce. *Environnement Risques et Santé* 5, 290–295.
- Guiguen, Y., Baroiller, J.F., Ricordel, M.J., Iseki, K., McMeel, O.M., Martin, S.A.M., Fostier, A., 1999. Involvement of estrogens in the process of sex differentiation in two fish species: the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and a tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Mol. Reprod. Dev.* 54, 154–162.
- Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Holten-Lützhøft, H.C., Jørgensen, S.E., 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review. *Chemosphere* 36, 357–393.
- Hardman, J.G., Limbird, L.E., Goodman Gilman, A. (Eds.), 1996. The pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed. McGraw-Hill Professional, New York.
- Henry, T.B., Kwon, J.W., Armbrust, K.L., Black, M.C., 2004. Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 2229–2233.

- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., Kratz, K.L., 1999. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* 225, 109–118.
- Holten-Lützhøft, H.C., Halling-Sørensen, B., Jørgensen, S.E., 1999. Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36, 1–6.
- Huggett, D.B., Benson, W.H., Chipman, K., Cook, J.C., Gray, L.E., Kinter, L.B., Meyerhoff, R.D., Trudeau, V.L., 2005. Role of mammalian data in determining pharmaceutical responses in aquatic species. In: Williams, R.T. (Ed.), *Human Pharmaceuticals, Assessing the Impacts on Aquatic Systems*. SETAC Press.
- Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., Parrella, A., 2005. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Sci. Tot. Environ.* 346, 87–98.
- Jjemba, P.K., 2006. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 63, 113–130.
- Jones, O.A.H., Voulvoulis, N., Lester, J.N., 2002. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water Res.* 36, 5013–5022.
- Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T., 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1202–1211.
- Krazeisen, A., Breitling, R., Möller, G., Adamski, J., 2002. Human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 5 is inhibited by dietary flavonoids. *Adv. Exp. Med. Biol.* 505, 151–161.
- Kümmerer, K., 2000. Drugs, diagnostic agents and disinfectants in wastewater and water—a review. *Schriftenreihe des Vereins für Wasser, Boden und Luft Hygiene* 105, 59–71.
- Länge, R., Dietrich, D., 2002. Environmental risk assessment of pharmaceutical drug substances—conceptual considerations. *Toxicol. Lett.* 131, 97–104.
- Langston, W.J., Burt, G.R., Chesman, B.S., Vane, C.H., 2005. Partitioning, bioavailability and effects of oestrogens and xeno-oestrogens in the aquatic environment. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 85, 1–31.
- Marselos, M., Vainio, H., 1991. Carcinogenic properties of pharmaceutical agents evaluated in the IARC Monographs programme. *Carcinogenesis* 12, 1751–1766.
- Mercure, F., Van Der Kraak, G., 1996. Mechanisms of action of free arachidonic acid on ovarian steroid production in the goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 102, 130–140.
- Miège, C., Favier, M., Brosse, C., Canler, J.P., Coquery, M., 2006. Occurrence of betablockers in effluents of wastewater treatment plants from the Lyon area (France) and risk assessment for the downstream rivers. *Talanta* 70, 739–744.
- Mills, L.J., Chichester, C., 2005. Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? *Sci. Total Environ.* 343, 1–34.
- Nickerson, J.G., Dugan, S.G., Drouin, G., Moon, T.W., 2001. A putative beta-adrenoreceptor from the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Molecular characterisation and pharmacology. *Eur. J. Biochem.* 268, 6465–6472.
- Oaks, J.L., Gilbert, M., Virani, M.Z., Watson, R.T., Meteyer, C.U., Rideout, B.A., Shivaprasad, H.L., Ahmed, S., Chaudhry, M.J.I., Arshad, M., Mahmood, S., Ali, A., Khan, A.A., 2004. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427, 630–633.
- Owen, S.F., Giltrow, E., Huggett, D.B., Hutchinson, T.H., Saye, J., Winter, M.J., Sumpter, J.P., 2007. Comparative physiology, pharmacology and toxicology of β -blockers: mammals versus fish. *Aquat. Toxicol.* 82, 145–162.
- Paffoni, C., Welte, B., Goussilles, M., Montiel, A., 2006. New molecules involved by the European directives: from wastewater to drinking water treatment plants [Nouvelles molécules mises en cause par les directives européennes: De la station d'épuration à l'usine de traitement d'eau potable]. *Journal Européen d'Hydrologie* 37, 21–38.
- PNSE, 2004. Plan National Santé Environnement. Ministère de la Santé et de la Protection sociale. Ministère de l'Écologie et du Développement durable. Ministère de l'Emploi, du Travail et de la Cohésion sociale. Ministère délégué à la Recherche. Available at <http://www.sante.gouv.fr/html/dossiers/pnse/rapport.pdf>.
- Robinson, A.A., Belden, J.B., Lydy, M.J., 2005. Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 423–430.
- Ruuskanen, J.O., Laurila, J., Xhaard, H., Rantanen, V.V., Vuoriluoto, K., Wurster, S., Marjamäki, A., Vainio, M., Johnson, M.S., Scheinin, M., 2005. Conserved structural, pharmacological and functional properties among the three human and five zebrafish alpha(2)-adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.* 144, 165–177.
- 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. *Aquat. Toxicol.* 68, 141–150.
- Seiler, J.P., 2002. Pharmacodynamic activity of drugs and ecotoxicology—can the two be connected? *Toxicol. Lett.* 131, 105–115.
- Snyder, R.D., Greene, J.W., 2001. A review of the genotoxicity of marketed pharmaceuticals. *Mutat. Res.* 488, 151–169.
- Stegeman, J.J., Brouwer, M., Richard, T.D.G., Förlin, L., Fowler, B.A., Sanders, B.M., van Veld, P.A., 1992. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: Hugget, R.J., Kimerly, R.A. (Eds.), *Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Lewis Publishers, Chelsea, MI, USA, pp. 235–335.
- Stuer-Lauridsen, F., Birkved, M., Hansen, L.P., Holten-Lützhøft, H.-C., Halling-Sørensen, B., 2000. Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use. *Chemosphere* 40, 783–793.
- Sweetman, S.C. (Ed.), 2002. *Martindale, The Complete Drug Reference*, 33 ed. Pharmaceutical Press, Great Britain.
- Ternes, T.A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res.* 32, 3245–3260.
- Thibaut, R., Schnell, S., Porte, C., 2006. The interference of pharmaceuticals with endogenous and xenobiotic metabolizing enzymes in carp liver: an *in vitro* study. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5154–5460.
- Tolls, J., 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3397–3406.
- Togola, A., Bristeau, S., Amalric, L., 2007. Occurrence of pharmaceuticals in aquatic systems of Loire-Brittany Basin (France). Poster communication. ERAPharm International Conference on Pharmaceuticals in the Environment. Lakeside Conference Centre, York, UK.
- Toomey, B.H., Epel, D., 1993. Multixenobiotic resistance in *Urechis caupo* embryos: protection from environmental toxins. *Biol. Bull.* 185, 355–364.
- Triebtskorn, 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*). *Aquat. Toxicol.* 68, 151–166.
- Turner, J.E., Minkoff, C.G., Martin, K.H., Misra, R., Swenson, K.I., 1995. Oocyte activation and passage through the metaphase/anaphase transition of the meiotic cell cycle is blocked in clams by inhibitors of HMG-CoA reductase activity. *J. Cell. Biol.* 128, 1145–1162.
- Trösken, E.R., Scholz, K., Lutz, R.W., Volkel, W., Zarn, J.A., Lutz, W.K., 2004. Comparative assessment of the inhibition of recombinant human CYP19 (aromatase) by azoles used in agriculture and as drugs for humans. *Endocr. Res.* 30, 387–394.
- Trösken, E.R., Fischer, K., Volkel, W., Lutz, W.K., 2006. Inhibition of human CYP19 by azoles used as antifungal agents and aromatase inhibitors, using a new LC-MS/MS method for the analysis of estradiol product formation. *Toxicology* 219, 33–40.
- Tutundjian, R., Minier, C., 2002. Les protéines de résistance multiple et leur exploitation pour la biosurveillance chez les organismes aquatiques. *Regard sur la biochimie* 4, 37–50.
- Vasskog, T., Berger, U., Samuelsen, P.J., Kallenborn, R., Jensen, E., 2006. Selective serotonin reuptake inhibitors in sewage influents and effluents from Tromsø, Norway. *J. Chromatogr. A* 1115, 187–195.
- Wells, M.J.M., 2006. Log D_{ow} : Key to understanding and regulating wastewater-derived contaminants. *Environ. Chem.* 3, 439–449.
- WHO, 2007. Collaborating Center for Drug Statistics Methodology. Complete ATC/DDD Index 2007. Available at <http://www.whocc.no/atcddd/>.
- Wiegel, S., Aulinger, A., Brockmeyer, R., Harms, H., Löffler, J., Reincke, H., Schmidt, R., Stachel, B., Von Tümpling, W., Wanke, A., 2004. Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries. *Chemosphere* 57, 107–126.

- Williams, M., Saison, C.L.A., Williams, D.B., Kookana, R.S., 2006. Can aquatic distribution of human pharmaceuticals be related to pharmacological data? *Chemosphere* 65, 2253–2259.
- Yu, J.T., Bouwer, E.J., Coelhan, M., 2006. Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. *Agric. Water Manag.* 86, 72–80.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R., 2005. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *J. Hazard. Mater.* 122, 205–209.

3. Principaux résultats

Grâce à la méthodologie proposée, il a été possible de dresser une liste de molécules prioritaires justifiable du point de vue du risque environnemental et des connaissances scientifiques.

La liste de priorisation finale rassemble 40 molécules parentes et 14 métabolites. Pour chaque molécule sont données :

- les raisons de sa sélection comme molécule prioritaire,
- les références d'études ayant mesuré la molécule dans des eaux de surface,
- les données additionnelles requises sur ces substances, en particulier le besoin de données d'occurrence dans les eaux de surface et de données écotoxicologiques.

La liste finale rassemble des molécules appartenant à plusieurs classes thérapeutiques et chimiques et fournit ainsi une sélection large de composés. 21 molécules parentes sur 40 et 5 métabolites sur 14, ont déjà été détectés dans les eaux de surface ou les effluents de STEP de différents pays Européens, ce qui montre que l'approche théorique développée ici est pertinente. Les autres molécules considérées comme prioritaires n'ont pas encore été recherchés dans l'environnement. Notre démarche permet donc d'identifier des composés potentiellement à risque pour les écosystèmes aquatiques et ainsi de guider de façon fiable des campagnes d'analyses ultérieures.

4. Données additionnelles

4.1. Résultats

Les molécules additionnelles présentées au chapitre précédent ont été intégrées à la démarche de priorisation. L'ensemble des informations prises en compte est présenté en annexe E et les listes de molécules prioritaires sont présentées dans le Tableau 7 pour les composés parents et le Tableau 8 pour les métabolites. L'apport de ces nouvelles données a permis, outre la prise en considération de molécules supplémentaires et l'identification de nouvelles molécules prioritaires, de pouvoir travailler sur des familles chimiques entières (céphalosporines, sartans, statines...) et non plus sur des molécules isolées comme cela avait été le cas lors des précédents travaux.

4.2. Discussion sur les molécules parentes

Dans ce paragraphe sont discutées les molécules et familles de molécules prises en compte dans la démarche de priorisation. L'organisation de cette discussion conserve celle utilisée dans l'article.

4.2.1 Antibiotiques de type céphalosporines

Sur la base des nouvelles données, il a été possible d'inclure à la démarche de priorisation toutes les céphalosporines utilisées en France. En raison de leur activité antibactérienne et de leur PEC, plusieurs de ces molécules devraient être incluses sur la liste de priorisation (cefuroxime, cefaclor, cefadroxil). Dans un premier temps, et en fonction des ratios PEC/DDD, nous incluons uniquement la cefuroxime sur la liste prioritaire. Toutefois, nous avons vu dans le chapitre précédent que les pénicillines, antibiotiques de type β -lactamines, étaient rapidement hydrolysées. Les céphalosporines appartenant à cette même famille pourraient donc être dégradées rapidement dans l'environnement, ce qui limiterait le risque lié à ces molécules ; cette hypothèse restant à confirmer.

Les études évaluant la présence de céphalosporines dans l'environnement restent encore peu nombreuses : à notre connaissance, si quelques études récentes rapportent la présence de céphalosporines (cefalexine et cefaclor) en entrée et sortie de STEP (Li et al. 2009) et dans des effluents hospitaliers (Ibanez et al. 2009), aucune donnée d'occurrence dans les eaux de surface n'est disponible. Pour Kümmerer (2009b), il n'est pas possible de dire si ce manque de données est lié au fait que ces molécules ne sont pas recherchées, ou bien lié à leur absence effective du milieu aquatique.

4.2.2 Antibiotiques de type fluoroquinolones

La norfloxacinine a pu être prise en compte dans la démarche de priorisation. Elle présente une PEC supérieure à la ciprofloxacine et à l'ofloxacine et par conséquent doit être considérée comme prioritaire. Sa présence dans les eaux usées et de surface a été rapportée dans plusieurs études (Ibanez et al. 2009 ; Tamtam et al. 2008). Le ratio PEC/DDD est comparable entre ces trois molécules malgré la PEC plus importante de la norfloxacinine ; par conséquent il n'est pas possible de sélectionner une seule molécule prioritaire sur la base des données disponibles et de la démarche utilisée. Ces 3 fluoroquinolones sont donc considérées comme prioritaires.

4.2.3. Antibiotiques de type aminosides

Les aminosides sont utilisés dans le traitement des infections sévères mettant en jeu des bactéries résistantes, et plus particulièrement celles responsables de septicémies. Ils agissent en se liant à la sous-unité 30s des ribosomes des bactéries et en interférant avec la traduction des ARN messagers en protéines. Les aminosides sont ototoxiques et néphrotoxiques chez l'homme. Ces molécules étant utilisées de manière prépondérante dans les établissements hospitaliers, il est possible que les données de la CPAM ne reflètent pas les quantités consommées réelles, les PEC sont donc peut-être sous-estimées. A notre connaissance, aucune donnée sur la présence de ces molécules dans les effluents de STEP ou les eaux de surface n'est disponible. Au vu de leur activité et de leur nocivité, les aminosides sont des molécules potentiellement prioritaires. Toutefois, compte-tenu de l'incertitude sur les quantités utilisées, il est nécessaire d'établir une estimation fiable des concentrations attendues dans le milieu avant de mettre en place une recherche de ces molécules sur le terrain et/ou des essais écotoxicologiques.

4.2.4. Nitrofuranes

Les nitrofuranes sont utilisés comme agents antibactériens. Ce sont des molécules comportant un groupe NO₂ fixé sur un noyau furane qui agissent par altération de l'ADN bactérien après réduction de ce groupement. Les dérivés réduits oxydent et provoquent des coupures de l'ADN et les nitrofuranes sont considérés comme étant génotoxiques et mutagènes chez les bactéries (HSDB 2009 ; Hofnung et al. 2002).

Le nifuroxazide est un antibactérien utilisé dans le traitement des affections intestinales. Le nifuroxazide est mutagène chez les bactéries mais pas chez la souris (Quillardet et al. 2006). Compte-tenu de sa PEC et de son mécanisme d'action, le nifuroxazide (et particulièrement sa forme réduite) est une molécule à rechercher en priorité.

La nitrofurantoïne est utilisée comme antibactérien urinaire ; son mécanisme d'action exact n'est pas entièrement élucidé et repose probablement sur une interférence avec divers systèmes enzymatiques bactériens (BCB 2009). Bien que consommée à des tonnages moins importants que le nifuroxazide, la nitrofurantoïne présente, outre des effets mutagènes et génotoxiques du nifuroxazide sur les systèmes bactériens, une faible mutagénicité chez la souris (www.toxnet ; Reifferscheid et Grummt 2000 ; Quillardet et al. 2006 ; Mukherjee et al. 1993).

Enfin la nitrofurantoïne pourrait avoir des effets carcinogènes (McCracken et al. 2005 ; Mukherjee et al. 1993). Il s'agit donc d'une molécule prioritaire. Bien que sa PEC soit faible, une confirmation de sa présence dans les effluents de STEP et les eaux de surface ainsi qu'une évaluation de sa toxicité devraient être effectuées.

4.2.5. β -bloquants

Les données additionnelles de la CPAM (MEDICAM 2009) ont permis de prendre en compte l'ensemble de ces molécules dans la démarche de priorisation, et modifient la précédente liste prioritaire. Deux des nouvelles molécules considérées, le céliprolol et le sotalol, présentent des PEC élevées.

Le celiprolol a été détecté dans des effluents de STEP à des concentrations allant jusqu'à 1.2 $\mu\text{g/l}$ (Benner et al. 2008 ; Ternes et al. 2003), ce qui en fait un composé prioritaire. A l'heure actuelle, aucune donnée écotoxicologique n'est disponible pour cette molécule. Le sotalol a également été retrouvé dans des effluents de STEP et des eaux de surface (Gros et al. 2008 ; Paffoni et al. 2006) et pourrait ne pas être dégradé du tout dans les STEP (Paffoni et al. 2006). Il n'existe que des données de toxicité aiguë pour ce composé (Hernando et al. 2004) et il n'est donc pas possible de conclure sur le risque environnemental. Céliprolol et sotalol sont par conséquent inclus dans la liste des molécules prioritaires et une évaluation écotoxicologique de ces deux molécules devrait être réalisée.

4.2.6. Sartans

Dans la première liste de priorisation, seules les données pour le losartan étaient disponibles. Compte tenu du métabolisme humain du losartan, nous avons considéré ses métabolites comme potentiellement prioritaires. L'acquisition des nouvelles données indique que le valsartan et l'irbesartan présentent des PEC plus importantes. Par ailleurs, on retrouve 3 autres molécules, eprosartan, telmisartan et candesartan à des PEC significatives. Très peu de données d'occurrence ou d'effet sont disponibles sur la classe des sartans. Une étude récente (Kasprzyk-Hodern et al. 2008) suggère que le valsartan est ubiquitaire et persistant dans l'environnement aquatique. Des études complémentaires écotoxicologiques et d'occurrence sont donc nécessaires pour les sartans. Les ratios PEC/DDD montrent que le candesartan, malgré une PEC faible, a un ratio équivalent à celui du valsartan et de l'irbesartan. Concernant le choix des molécules prioritaires, nous incluons donc l'irbesartan, le valsartan et le candesartan à la liste.

4.2.7. Inhibiteurs calciques

Parmi ces molécules, on retrouve deux classes principales : les inhibiteurs sélectifs à effet cardiaque et les inhibiteurs sélectifs à effet vasculaire.

Inhibiteurs à effet cardiaque : Le vérapamil et le diltiazem sont les deux molécules à effets cardiaques directs. Peu de données sont disponibles : le vérapamil a été détecté dans des effluents de STEP et des eaux de surface à des concentrations respectives de 51 et 6 ng/l (Hummel et al. 2006) ; avec un taux d'abattement en STEP d'environ 85%. Pour le diltiazem, une étude (Choi et al. 2008) rapporte des concentrations très souvent en dessous des limites de détection avec des pics à 13 ng/l dans des eaux de surface et de 6 ng/l dans des effluents de STEP.

Aucune donnée écotoxicologique n'a été retrouvée concernant le vérapamil mais il est connu pour être un puissant inhibiteur de la P-gp. Pour le diltiazem, seules des données écotoxicologiques aiguës ont été retrouvées.

En fonction des données disponibles (propriétés biologiques et données d'occurrence), nous ne classons que le vérapamil sur la liste de molécules prioritaires.

Molécule	PEC 2A (ng/l)	PEC 2B (ng/l)	Classe d'exposition	Classe thérapeutique / chimique	Raison(s) de l'inclusion sur la liste prioritaire	Métabolites	Déjà retrouvée dans les eaux de surface (référence)	Données complémentaires nécessaires
Acebutolol	954	544	IA	β-bloquant	valeur de PEC	diacétolol	Gabet et al. 2009	données écotoxicologiques
Aciclovir *			IA	antiviral	valeur de PEC	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Alendronate	23	23	IIA	anti-ostéoporose	fixation à la matrice osseuse ; effets secondaires	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Amisulpride	190	152	IA	antipsychotique	antagoniste des récepteurs dopaminergiques D2 et D3	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Cefuroxime	260	260	IA	antibiotique	valeur de PEC ; antibiotique cephalosporine	-	-	confirmation de la présence dans les eaux ; études de dégradation
Candesartan	54	44	IIA	anti-hypertenseur	rapport PEC/DDD ; antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Celiprolol	552	552	IA	β-bloquant	valeur de PEC	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Ciprofibrate	153	153	IA	fibrate	PEC ; atteintes musculaires possibles (rhabdomyolyse)	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Clodronate	92	94	IIA	anti-ostéoporose	fixation à la matrice osseuse ; effets secondaires	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Clomipramine	42	-	IIB	neuroleptique	inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Erythromycine	61	-	IIB	antibiotique	antibiotique macrolide	Erythromycine-H ₂ O	Zuccato et al. 2005 ; Ashton et al. 2004	-
Fluvastatine	126	-	IB	statine	mécanisme d'action ; interfère <i>in vitro</i> avec l'hormone de croissance chez les insectes	-	-	confirmation de la présence dans les eaux ; études de dégradation

Tableau 7 : Liste des composés prioritaires additionnels

* pour les antiviraux, une démarche de priorisation ou d'évaluation du risque environnemental spécifique à ces molécules serait nécessaire.

Molécule	PEC 2A (ng/l)	PEC 2B (ng/l)	Classe d'exposition	Classe thérapeutique / chimique	Raison(s) de l'inclusion sur la liste prioritaire	Métabolites	Déjà retrouvée dans les eaux de surface (référence)	Données complémentaires nécessaires
Gemfibrozil	174	-	IIB	hypolipémiant	atteintes musculaires possibles (rhabdomyolyse)	-	Paffoni et al. 2006 ; Budzinski et Togola 2006	données écotoxicologiques
Hydro-chlorothiazide	228	228	IA	anti-hypertenseur	PEC ; diminution de la réabsorption du Na et du Cl	-	Zuccato et al. 2005	données écotoxicologiques
Irbesartan	1122	897	IA	anti-hypertenseur	PEC ; antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Isotrétinoïne	21	-	IIB	anti-acnéïque	tératogène	-	-	confirmation de la présence dans les eaux
Nifuroxazide	545	545	IA	antibactérien intestinal	PEC ; mutagène bactérien ; génotoxique et carcinogène possible	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Nitrofurantoïne	34	-	IIB	antibactérien urinaire	mutagène ; génotoxique ; carcinogène	-	-	confirmation de la présence dans les eaux
Norfloxacine	273	191	IA	antibiotique	PEC ; antibiotique de type fluoroquinolones	-	-	-
Piracetam	2670	2670	IA	nootropique	valeur de PEC	-	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Sotalol	257	257	IA	beta-bloquant	valeur de PEC	-	Gabet et al. 2009	données écotoxicologiques
Valsartan	590	472	IA	anti-hypertenseur	antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-	Kasprzyk-Hodern et al. 2008	données écotoxicologiques
Venlafaxine	240	17	IIA	antidépresseur	inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline	desméthyl-venlafaxine	Lajeunesse et al. 2008 Schultz et Furlong 2008	données écotoxicologiques
Vérapamil	562	28	IIA	inhibiteur calcique	inducteur du CYP 1A2 et 3A4/5 ; inhibiteur de la P-gp ; inhibiteur calcique	norvérapamil	Hummel et al. 2006	confirmation de sa présence ; données écotoxicologiques

Tableau 7 : Liste des composés prioritaires additionnels (suite).

Inhibiteurs à effets vasculaires : Un grand nombre de molécules (12) sont utilisées en France. Toutes ces molécules sont très largement métabolisées en métabolites inactifs avec des taux d'excrétion des composés parents *a priori* faibles. L'amlodipine, représentant le plus utilisé en France n'avait pas été classée sur la liste de molécules prioritaires. Toutes les nouvelles molécules évaluées présentant des tonnages et des PEC plus faibles, nous n'incluons aucune des molécules de cette classe sur la liste des composés prioritaires.

4.2.8. Inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)

Les IEC sont des inhibiteurs de l'enzyme qui convertit l'angiotensine I en angiotensine II, molécule qui induit une vasoconstriction ainsi que la sécrétion d'aldostérone par le cortex surrénalien. Tous les IEC, à l'exception du lisinopril et du captopril sont des prodrogues.

Lisinopril et captopril : Peu d'études d'occurrence ont été effectuées sur ces molécules. Une étude (Gros et al. 2009) n'a détecté de lisinopril ni dans des eaux de surface, ni en entrée ou sortie de STEP. En fonction de sa faible PEC et de ces observations, nous ne considérons pas cette molécule comme prioritaire. Aucune étude d'occurrence n'a été effectuée pour le captopril, mais en raison de sa PEC plus élevée, nous l'incluons sur la liste de molécules prioritaires. Aucune donnée écotoxicologique n'est disponible pour ces molécules.

Autres IEC (prodrogues) : Les autres IEC étant des prodrogues, il semble donc plus logique de rechercher les métabolites actifs dans l'environnement. Une étude rapporte la présence d'enalapril dans des effluents de STEP à hauteur de 35 ng/l (Garcia-Ac et al. 2009) et de 8 ng/l dans des eaux de surface, ce qui est en accord avec notre estimation. Compte tenu de ces faibles niveaux de concentrations mesurés et des faibles valeurs de PEC associées pour les autres IEC, nous n'incluons aucune des molécules parentes sur la liste prioritaire, mais les métabolites seront pris en compte.

4.2.9. Statines

La fluvastatine a pu être prise en compte dans la démarche de priorisation. C'est sur cette molécule qu'il a été montré *in vitro* et *in vivo* qu'elle interférait avec la biosynthèse de l'hormone juvénile chez les insectes (Debernard et al. 1994). Une étude plus récente rapporte que l'atorvastatine et la fluvastatine réduisent la fécondité de *Blattella germanica* (Zapata et al. 2003). Sur la base de ces observations, une évaluation de la présence de la fluvastatine dans les milieux récepteurs devrait être réalisée et si sa présence est confirmée, des essais écotoxicologiques conduits.

Il est cependant possible que les statines soient rapidement dégradées dans l'environnement (cf. chapitre précédent). Dans l'article publié, nous avons considéré que la pravastatine était une molécule prioritaire, cependant les résultats d'études récentes rapportent que cette molécule n'est pas détectée dans les effluents urbains et les eaux de surface (Coetsier et al. 2009 ; Kasprzyk-Hodern et al. 2008 ; Terzic et al. 2008). Au final, nous excluons la pravastatine et ne gardons que la fluvastatine sur la liste de molécules prioritaires.

Bien que le mécanisme d'action des statines, leurs effets sur les insectes et leur PEC relativement importante en font des composés potentiellement prioritaires, il est possible que le risque lié à ces molécules soit limité si l'hypothèse de leur dégradation rapide est confirmée. Cette conclusion ne s'applique évidemment qu'aux composés parents et non aux métabolites humains et aux produits de dégradation des statines pour lesquels on ne dispose d'aucune information.

Erratum : dans l'article publié dans *Toxicology letters*, il est indiqué que l'atorvastatine est une prodrogue, ce qui est une erreur. Parmi les statines, les prodrogues sont la simvastatine, la lovastatine et la mevastatine (cette dernière n'étant pas utilisée en thérapeutique).

4.2.10. Fibrates

Deux nouvelles molécules, le ciprofibrate et le gemfibrozil sont à inclure sur la liste des molécules prioritaires.

Le gemfibrozil a déjà été détecté dans des effluents de STEP et des eaux de surface (Paffoni et al. 2006 ; Budzinski et Togola 2006 ; Fent et al. 2006a). Une étude récente rapporte un syndrome de malabsorption embryonnaire chez le poisson *D. rerio* après exposition à des concentrations très élevées de l'ordre du mg/l (Raldua et al. 2008). La toxicité chronique du gemfibrozil semble limitée sur les algues (NOEC de 3 mg/l) mais plus importante sur *C. dubia* avec une NOEC de 78 µg/l sur un test d'une durée de 7 jours (Isidori et al. 2007). Enfin, ce composé pourrait se bioaccumuler chez le poisson et altérer les fonctions de reproduction en provoquant une diminution des concentrations plasmatiques de testostérone (Mimeault et al. 2006 ; 2005).

A notre connaissance, le ciprofibrate n'a pas encore été recherché dans le milieu aquatique et il n'existe pas de données écotoxicologiques pour cette molécule, mais sa PEC et son mécanisme d'action justifient son inclusion comme molécule prioritaire.

4.2.11. Bisphosphonates

Les bisphosphonates sont des molécules utilisées dans le traitement de l'ostéoporose. Ils limitent la résorption osseuse ostéoclastique en empêchant les ostéoclastes (cellules qui dégradent la matrice osseuse) d'atteindre l'os et de se transformer en ostéoclastes matures. La forte liaison des bisphosphonates à la matrice osseuse pourrait en partie expliquer ce phénomène. Ces composés ne sont pas utilisés à des tonnages importants, mais leur très faible résorption, alliée au fait qu'ils ne sont pas métabolisés, fait que des concentrations non négligeables pourraient atteindre les eaux usées. La PEC cumulée pour cette classe de molécule est de 175 ng/l pour l'année 2004, mais elle ne prend pas en compte l'abattement dans les STEP et la dégradation environnementale. Le rapport des quantités consommées en 2007 par rapport à 2004 montre une augmentation des quantités pour les bisphosphonates et notamment pour l'alendronate et le clodronate.

Ces molécules interagissant avec le développement osseux, leur effet sur le développement de vertébrés aquatiques (poissons) devrait être évalué, notamment sur des organismes en développement. Nous considérons que la classe entière de ces molécules est prioritaire mais pour être en cohérence avec la démarche proposée ici, nous n'incluons dans un premier temps que le clodronate et l'alendronate.

4.2.12. α -bloquants

Les α -bloquants sont une classe de médicaments utilisés dans le traitement de l'hypertrophie bénigne de la prostate. Ce sont des antagonistes sélectifs des récepteurs α -1 adrénergiques post-synaptiques, avec chez l'homme une affinité pour les récepteurs α -1 prostatiques. Ces composés pourraient interagir avec les récepteurs adrénergiques d'organismes non-cibles. Toutefois, au vu de leur faible tonnage d'utilisation et de leur faible PEC, ces composés ne sont *a priori* pas problématiques pour l'environnement aquatique et ne sont donc pas considérés comme prioritaires.

4.2.13. Oxicams

Les oxicams des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Le piroxicam et le meloxicam présentent des PEC relativement faibles par rapport à d'autres anti-inflammatoires comme l'ibuprofène ou le kétoprofène. Nous considérons donc que les oxicams ne sont pas prioritaires et qu'il est préférable de se focaliser sur les autres classes chimiques d'AINS.

4.2.14. Antidépresseurs et antipsychotiques

Venlafaxine. La venlafaxine est un antidépresseur inhibiteur de la recapture de la noradrénaline et de la sérotonine. C'est également un inhibiteur enzymatique. Dans un premier temps, nous n'avons pas classée cette molécule comme prioritaire en raison de son faible taux d'excrétion et préféré son métabolite (voir plus bas), cependant des études rapportent des concentrations élevées en venlafaxine dans des effluents et en aval de STEP, jusqu'à 1 µg/l (Lajeunesse et al. 2008 ; Schultz et Furlong 2008), ce qui justifie la mise en place d'études d'occurrence et de toxicité.

Amisulpride. L'amisulpride est un antipsychotique de la classe des benzamides. C'est un antagoniste sélectif des récepteurs dopaminergiques D2 et D3 du système limbique. Chez l'homme, l'amisulpride n'a pas d'affinité pour les récepteurs sérotoninergiques et pour d'autres neurorécepteurs de type histaminiques, cholinergiques et adrénergiques (www.resip.fr). Cette molécule n'a pas encore été recherchée dans l'environnement aquatique. En raison de son mécanisme d'action et de sa PEC, nous incluons cette molécule sur la liste des composés prioritaires.

Clomipramine. La clomipramine est un antidépresseur qui agit par inhibition de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline, elle est donc potentiellement à risque pour les organismes aquatiques. Elle possède en outre des effets histaminergiques et anticholinergiques. Aucune donnée d'occurrence ou écotoxicologique n'est disponible pour cette molécule. Compte tenu de son mécanisme d'action, nous considérons cette molécule comme prioritaire. Les données de métabolisme étant limitées, il n'est pas possible de déterminer une PEC fiable et il serait donc nécessaire dans un premier temps de confirmer sa présence environnementale.

4.2.16. Autres composés

Isotrétinoïne. L'isotrétinoïne est utilisée dans le traitement de l'acné sévère, cette molécule est dérivée de l'acide tout-trans-rétinoïque, lui-même un métabolite de la vitamine A, qui agit dans la croissance et la différenciation cellulaire. Elle présente de nombreux effets secondaires et est tératogène. Ses propriétés tératogènes en font une molécule prioritaire. La PEC de l'isotrétinoïne est toutefois faible, d'autant qu'elle ne prend pas en compte son taux d'excrétion. Elle est incluse sur la liste prioritaire mais sa présence dans les milieux récepteurs doit être confirmée.

Piracetam. Le piracetam est utilisé pour traiter certains vertiges dans les suites d'accidents vasculaires cérébraux (AVC). Il est également utilisé pour améliorer certains troubles de mémoire ou d'attention chez le sujet âgé. Son mécanisme d'action n'est pas encore élucidé. Chez l'animal, à des posologies ou concentrations souvent élevées, il a été observé une amélioration des neurotransmissions gabaergiques, cholinergiques et glutamatergiques (www.resip.fr). Aucune donnée d'occurrence ou écotoxicologique n'est disponible pour ce composé. En raison de sa PEC très élevée (supérieure à 2.5 µg/l), nous le classons comme prioritaire.

Hydrochlorothiazide. L'hydrochlorothiazide est un diurétique thiazidique qui agit en inhibant la réabsorption du sodium par le tubule au niveau du segment cortical de dilution. Il augmente ainsi l'excrétion urinaire du sodium et des chlorures et, à un moindre degré, l'excrétion du potassium et du magnésium (www.resip.fr). Cette molécule a déjà été détectée à des concentrations allant de 20 à 250 ng/ dans les eaux de surface et jusqu'à 450 ng/l dans des effluents de STEP (Zuccato et al. 2005). Les données écotoxicologiques sur cette molécule sont très limitées et il n'est pas possible de conclure sur le risque de cette molécule. Au vu de sa PEC, elle est incluse sur la liste de molécules prioritaires. Une étude sur la photodégradation de l'hydrochlorothiazide (Brigante et al. 2005) indique la formation d'au moins deux produits de photodégradation et les auteurs suggèrent la nécessité de prendre en compte ces derniers dans une évaluation de risque.

4.3. Le cas des antiviraux

Une quarantaine de molécules antivirales différentes sont utilisées en France, ce sont des substances virostatiques qui empêchent la multiplication virale et qui présentent donc des mécanismes d'action particuliers. Les médicaments les plus utilisés en France sont les inhibiteurs de la replication de l'ADN viral, parmi lesquels on retrouve des analogues de nucléosides, des inhibiteurs non nucléosidiques, ou des dérivés du pyrophosphate. D'une manière générale, les antiviraux auraient les contre-indications et les effets secondaires des anticancéreux, donc une action sur toutes les cellules se répliquant rapidement (cellules de la moelle osseuse, cellules digestives) et activement (Colimon 2002). Certaines de ces molécules présentent des effets secondaires importants (Dorosz 2007) comme des troubles neurologiques (valaciclovir), des atteintes du pancréas (lamivudine), des reins (cidofovir), ou présentent un effet tératogène et/ou embryotoxique (ribavirine). Peu d'études écotoxicologiques sont disponibles. Seule une évaluation environnementale du risque a été réalisée pour l'oseltamivir (Tamiflu®) qui conclue, sur la base de tests standardisés, que cette molécule ne présente pas de risque pour l'environnement, y compris en temps de pandémie (Singer et al. 2007 ; Straub 2009).

Nous ne disposons pour les antiviraux que des données de la CPAM (Medicam 2009), qui sont incomplètes car n'indiquant les consommations que pour 20 molécules. Les quantités consommées sont assez faibles, à l'exception de l'aciclovir et de sa prodrogue, le valaciclovir. L'aciclovir est peu métabolisé dans l'organisme, et les quantités cumulées (aciclovir + valaciclovir) donnent une PEC tenant compte du métabolisme de 505 ng/l pour les eaux de surface pour l'aciclovir. Nous n'avons pas retrouvé de données d'occurrence mais une étude récente suggère que cette molécule pourrait être dégradée rapidement (Mascolo et al. 2009). Pour le moment, seul l'aciclovir est inclus dans la liste de priorisation compte tenu de sa PEC.

Toutefois, une démarche de priorisation ou une évaluation de risque spécifique et détaillée apparaît nécessaire pour cette catégorie de molécules. De plus, compte tenu de leurs mécanismes d'action, se pose pour les antiviraux la question de la validité des essais et des critères classiquement utilisés et mesurés dans les démarches d'évaluation de risque.

4.4. Discussion sur les métabolites

Les métabolites classés comme prioritaires sont présentés dans le tableau 9 et les raisons de leur inclusion sur la liste finale sont discutées ci-dessous.

Métabolites des IEC : Parmi les métabolites actifs des IEC, nous incluons l'enalaprilate et le quinaprilate sur la liste car ils présentent les PEC les plus importantes. Le ramiprilate et le perindoprilate sont finalement exclus de la liste en raison de leurs PEC très faibles.

Métabolite de la venlafaxine : La N-desméthylvenlafaxine présente la même activité que le composé parent sur les récepteurs sérotoninergiques et adrénergiques et sa PEC est supérieure. Nous incluons ce métabolite sur la liste prioritaire et considérons que des études d'occurrence et une évaluation écotoxicologique de cette molécule devrait être menée dans la mesure où elle a un mécanisme d'action proche de celui des ISRS (fluoxétine, sertaline...) et des concentrations attendues 10 fois supérieures à celles de la fluoxétine. Ces niveaux de concentration environnementaux sont confirmés par les résultats de deux études qui rapportent des concentrations en venlafaxine et N-desméthylvenlafaxine bien supérieures à celles des ISRS (Lajeunesse et al. 2008 ; Schultz et Furlong 2008).

Métabolite de l'acébutolol : Le diacétolol présente une PEC élevée (450 ng/l) et a la même activité que l'acébutolol. Ce métabolite est donc considéré comme prioritaire et doit être recherché dans l'environnement. Si sa présence est confirmée, les évaluations de risque et les essais écotoxicologiques devraient prendre en compte les effets cumulés de l'acébutolol et du diacétolol.

Molécule	PEC 2B (ng/l)	Composé parent	Raison(s) de l'inclusion sur la liste prioritaire	Activité pharmacologique	Déjà retrouvée dans les eaux de surface (référence)	Données complémentaires nécessaires
Enalaprilate	32	Enalapril	PEC ; mécanisme d'action	métabolite responsable de l'activité pharmacologique	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Quinaprilate	21	Quinapril	PEC ; mécanisme d'action	métabolite responsable de l'activité pharmacologique	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Diacétolol	477	Acébutolol	PEC	activité équivalente à celle du composé parent	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
DMH	154	Oxcarbazépine	PEC	principal responsable de l'activité pharmacologique	Leclerq et al. 2009	données écotoxicologiques
Desméthylvenlafaxine	132	Venlafaxine	PEC ; mécanisme d'action	activité équivalente à celle du composé parent	Lajeunesse et al. 2008 ; Schultz et Furlong 2008	données écotoxicologiques
dérivé acide carboxylique	ND	Losartan	actif	10 à 40 fois plus actif que le composé parent	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques
Norvérapamil	ND	Vérapamil	actif ; inhibiteur de la P-gp	activité égale à 20% de celle du composé parent	-	études d'occurrence ; données écotoxicologiques

Tableau 8 : Liste des métabolites humains prioritaires additionnels.

Métabolite du Vérapamil : Le norvérapamil est un métabolite actif du vérapamil. Son activité pharmacologique est moindre que celle du composé parent mais il reste un puissant inhibiteur de la P-gp. Son taux d'excrétion étant inconnu, il reste une incertitude sur les quantités qui peuvent atteindre le milieu récepteur. En raison de ses propriétés, nous incluons cette molécule sur la liste finale mais il est nécessaire de confirmer sa présence dans l'environnement.

Métabolite de l'oxcarbazépine : La DMH ou 10-hydroxy-10,11-dihydro-carbamazépine est le métabolite actif de l'oxcarbazépine. Sa PEC pour les eaux de surface est élevée (Tableau 8). Sa PEC pour les influents et effluents de STEP est du même ordre de grandeur que les concentrations effectivement mesurées (Leclercq et al. 2009), et la DMH pourrait ne pas être dégradée dans les STEP (Leclercq et al. 2009). En conséquence, nous classons ce métabolite comme prioritaire.

Métabolite du losartan : Le losartan est une prodrogue est son activité est médiée par son dérivé acide carboxylique. Les données de métabolisme sont incomplètes et il n'est donc pas possible de calculer une PEC fiable pour le milieu aquatique. Cependant, nous considérons que ce métabolite devrait être recherché au même titre que les trois sartans « parents » précédemment inclus sur la liste prioritaire.

5. Discussion

5.1. Intérêts et limites d'une liste prioritaire

La démarche de priorisation par expertise présentée ici a donc permis de dresser une liste de molécules médicamenteuses prioritaires parmi le grand nombre de molécules utilisées en France.

Une liste de molécules prioritaires est nécessaire pour élaborer un programme d'analyses réaliste, tant au plan financier que méthodologique. Une telle liste permet :

- de faire un choix raisonné de molécules à intégrer dans un programme de surveillance, sur des bases scientifiques et pragmatiques ;
- de donner une indication, de valeur bien qu'incomplète, sur les niveaux de concentrations attendus pour les molécules ;
- d'orienter les recherches vers des composés potentiellement à risque pour le milieu récepteur et qui en d'autres circonstances ne seraient pas recherchés (piracetam, oxazepam, nifuroxazide, celiprolol, bisphosphonates, sartans...).

Deux exemples illustrent bien l'intérêt de cette démarche :

- Le diazepam a longtemps été la benzodiazépine la plus recherchée dans le milieu aquatique. Toutefois les données pharmacologiques montrent que cette molécule ne peut-être présente dans l'environnement qu'à de très faibles niveaux de concentration, voire pas du tout, ce qui est confirmé par les résultats des analyses chimiques. Notre démarche a permis de mettre en évidence l'oxazepam, pour lequel des concentrations bien supérieures étaient attendues, ce qui a été confirmé depuis dans plusieurs études (Togola et al. 2007 ; Hummel et al. 2006).
- La desméthylvenlafaxine, que nous avons identifié comme composé prioritaire est présente dans l'environnement à des concentrations nettement plus importantes (10 à 100 fois plus importantes) que celles des ISRS et notamment de la fluoxétine. Or la fluoxétine est un des médicaments les plus étudiés, ce qui ne se justifie pas si l'on tient compte des très faibles concentrations retrouvées ; alors qu'à l'inverse, la desméthylvenlafaxine et son composé parent n'ont jusqu'à présent fait l'objet d'aucune étude écotoxicologique.

En ce qui concerne les effets toxiques sur le milieu récepteur, l'intérêt d'une telle liste est plus discutable dans la mesure où ce sont les effets cumulés des contaminants qu'il faut prendre en considération. Il apparaît en effet peu justifiable de ne considérer comme prioritaire qu'un seul composé appartenant à une classe chimique, lorsque plusieurs sont susceptibles de contaminer le milieu récepteur à des concentrations non-négligeables et d'agir de façon additive sur les organismes non-cibles.

Néanmoins, pour ce qui est de l'étude d'effets cumulés en laboratoire et/ou de mécanismes d'action, une telle liste permet d'établir une sélection de molécules pertinentes (i.e. celles susceptibles de contaminer le milieu récepteur) et de définir des gammes de concentrations d'exposition cohérentes avec les niveaux d'exposition du terrain.

5.2. Perspectives

La liste de molécules prioritaires a été bâtie à partir d'une démarche de type expert qui peut-être améliorée sur différents points. Les limites portant sur l'évaluation de l'exposition ont été discutées dans le chapitre précédent, nous traiterons donc ici des améliorations pouvant être apportées à l'évaluation de l'effet.

D'autres critères d'effet pourraient-être inclus de manière systématique dans la démarche comme par exemple des données sur la mutagénicité et la carcinogénicité ; ce qui n'a pas été fait dans notre démarche pour des difficultés d'interprétation de ces données.

Par ailleurs, l'utilisation des données sur les mécanismes d'action des médicaments et sur leurs effets secondaires, comme indicateurs potentiels de mécanismes d'action et/ou d'effets biologiques sur des organismes non-cibles, a été faite au cas par cas, sur la base des données disponibles et selon une démarche de type expert. Afin d'optimiser cette approche, il serait intéressant de reconsidérer l'utilisation des données pharmacologiques selon une approche de type évolutionnaire, en identifiant par exemple des cibles moléculaires communes entre l'homme et les organismes non-cibles, de manière systématique à l'aide de logiciels et de bases de données dédiées, comme cela a été fait dans les travaux de Gunnarsson et al. (2008) et Kostich et Lazorchak (2008).

Une telle approche permettant :

- d'identifier les composés pharmaceutiques les plus à mêmes d'exercer des effets biologiques sur des organismes non-cibles,
- de mieux interpréter et utiliser les données pharmacologiques,
- d'identifier des risques associés à certaines espèces,
- de sélectionner des espèces et/ou des critères d'effet pertinents pour des études écotoxicologiques.

Ainsi, les récepteurs de type alpha-adrénergiques et cholinergiques muscariniques sont présents chez plusieurs espèces d'invertébrés, ce qui suggère que des molécules agissant sur ces récepteurs chez l'homme pourraient agir selon des mécanismes d'action proches chez ces espèces (Kostich et Lazorchak 2008). A l'inverse, le récepteur de l'angiotensine II ne se retrouve que chez les poissons ; donc une éventuelle toxicité d'un antagoniste de l'angiotensine II (sartan) sur un invertébré serait à rapprocher d'un autre mécanisme d'action que celui reconnu chez l'homme (Gunnarsson et al. 2008).

Enfin, il est important de considérer que la liste prioritaire élaborée ici n'est pas définitive mais évolutive en fonction de l'acquisition de nouvelles données écotoxicologiques, pharmacologiques ou d'occurrence, et également en fonction de l'évolution des consommations des substances pharmaceutiques au cours des années.

Chapitre 6.

Médicaments à caractère perturbateur endocrinien : molécules utilisés en thérapeutique endocrine anticancéreuse

1. Introduction	169
2. Rappel sur les perturbateurs endocriniens	169
3. Evaluation préliminaire du risque lié aux molécules utilisées en thérapeutique endocrine anticancéreuse	171
3.1. Analogues d'hormones : molécules agissant sur la libération des gonadotrophines	171
3.2. Anti-estrogènes	171
3.3. Anti-androgènes.....	173
4. Conclusion pour les molécules utilisées en thérapeutique endocrine	173

1. Introduction

Parmi les médicaments à usage humain, certains présentent une activité spécifique sur les fonctions endocrines et notamment sur les fonctions de reproduction. En raison de leurs mécanismes d'action, on peut considérer de telles molécules comme des perturbateurs endocriniens, susceptibles d'altérer, après exposition environnementale, les fonctions de reproduction d'organismes sensibles, c'est-à-dire d'organismes présentant une physiologie comparable à celle des mammifères ou au moins certaines cibles moléculaires communes. En conséquence, il nous a paru justifié de ne pas inclure ces molécules dans les précédentes démarches de priorisation, mais de les traiter de manière spécifique, sous l'angle des perturbateurs endocriniens.

2. Rappel sur les perturbateurs endocriniens

C'est l'observation à la fin des années 60 de troubles sur la faune sauvage et les populations humaines qui a amené à s'interroger sur l'impact possible de polluants environnementaux sur la santé animale et humaine. Sur la faune sauvage, l'impact de ces polluants (en particulier celui des pesticides organochlorés, alors fortement suspectés) s'est traduit par des atteintes et des diminutions de populations chez plusieurs espèces. Ces atteintes se sont révélées être liées à des perturbations physiologiques (fonctionnement anormal de la thyroïde chez les oiseaux et les poissons ; baisse de la fertilité des oiseaux, des poissons, des mollusques et des mammifères ; démasculinisation et féminisation des poissons, des oiseaux et des mammifères mâles...) générées par des polluants rejetés dans l'environnement du fait des activités humaines (Colborn et al. 1993).

L'éventualité d'une relation entre ces composés et le développement de troubles de la santé sur les populations humaines a alors été suspectée ; des études ont par la suite mis en exergue une augmentation des atteintes des fonctions de reproduction chez l'homme, notamment une augmentation du nombre de cancer des testicules et du sein ainsi qu'une baisse de la fertilité et notamment une diminution de la production spermatique (Sharpe et Skakkebaek 1993 ; Carlsen et al. 1992), qui pourraient être mis en relation avec la présence dans l'environnement de substances chimiques perturbatrices du système endocrinien (Colborn et Clément 1992). En 1995, il y avait un consensus au niveau international sur les points suivants :

- les substances chimiques peuvent interagir et altérer le fonctionnement du système endocrinien ;
- les connaissances manquent pour juger de l'étendue du problème et de ses conséquences pour l'homme et l'environnement ;
- la nécessité de mieux étudier ces questions afin de réduire les incertitudes quant à l'évaluation des dangers, des niveaux d'exposition et des risques présentés par les perturbateurs endocriniens.

Dans un registre de santé publique et en rapport avec les médicaments, le diéthylstilbestrol (DES) reste l'un des très rares exemples pour lequel il existe des preuves tangibles de répercussion au niveau de l'espèce humaine suite à l'exposition à un perturbateur endocrinien (Burdorf et Nieuwenhuijsen 1999).

Dans un contexte environnemental, de très nombreuses molécules, en raison de leurs impacts avérés ou potentiels sur les écosystèmes, ont fait l'objet de travaux de recherche qui se sont multipliés ces 20 dernières années ; travaux dirigés vers :

- la détection de ces composés dans l'environnement,
- l'évaluation de leurs effets sur différents organismes,
- la détection d'une activité de type perturbateur endocrinien d'un échantillon environnemental, par exemple une activité estrogénique, à l'aide de test cellulaires.

Molécules à caractère perturbateur endocrinien :
molécules utilisées en thérapeutique endocrine

Molécule	Type	Classe chimique	Classe ATC	Activité pharmacologique	Quantités consommées en 2008 (kg)
Mégestrol	Hormones et apparentés	progestatifs	L02AB	progestatifs	65.82
Médroxyprogestérone					82.17
Buséreléline		analogues de l'hormone entraînant la libération de gonadotrophines	L02AE	analogue de la GnRH naturelle	0.05
Goséreléline					1.14
Leuproréline				analogue agoniste de la LH-RH naturelle	3.12
Triptoréline					2
Tamoxifène		anti-estrogènes	L02BA	inhibition compétitive de la liaison de l'estradiol avec ses récepteurs	377
Torémifène			G03XC		1
Raloxifène *			G03GB		3115
Clomifène *					91
Fulvestrant			6.7		
Flutamide	Anti-hormones et apparentés	anti-androgènes	L02BB	antagoniste non stéroïdien du récepteur aux androgènes	521
Nilutamide					169
Bicalutamide					863
Finastéride					G04CB
Anastrozole	inhibiteurs enzymatiques	L02BG	inhibition de l'aromatase	31.7	
Létrozole				34.3	
Exémestane				182	

Tableau 9 : Principales classes chimiques et molécules utilisées en thérapeutique endocrine en France, et quantités consommées en 2008.

* Pour ces deux molécules, les tonnages et les valeurs de PEC sont calculés sur la base de données pour l'année 2004.

Molécule	Activité pharmacologique	Quantités consommées en 2008 (kg)	valeurs de PEC (ng/l)	Métabolites
Mégestrol	progestatifs	65.82	1.50	nd
Médroxyprogestérone		82.17	1.88	nd
Buséreléline	analogue de la GnRH naturelle	0.05	0.0011	nd
Goséreléline		1.14	0.0260	nd
Leuproréline	analogue agoniste de la LH-RH naturelle	3.12	0.0712	nd
Triptoréline		2	0.0457	nd
Tamoxifène	inhibition compétitive de la liaison de l'estradiol avec ses récepteurs	377	8.61	N-desmethyltamoxifène (actif) 4-hydroxytamoxifène (actif)
Torémifène		1	0.0228	N-desmethyltorémifène (actif) 4-hydroxytorémifène (actif)
Raloxifène *		3115	71.12	nd
Clomifène *		9	0.21	nd
Finastéride **		nd	nd	nd
Anastrozole	inhibition de l'aromatase	31.7	0.72	Trizole, (inactif) Hydroxy-anastrozole
Létrozole		34.3	0.78	dérivé carbinol (inactif)
Exémestane		182	4.16	nd
Fulvestrant	antagoniste non stéroïdien du récepteur aux androgènes	6.7	0.15	nd
Flutamide		521	11.89	2-hydroxyflutamide (actif)
Nilutamide		169	3.86	nombreux métabolites
Bicalutamide		863	19.70	nd

Tableau 10 : Valeurs de PEC et principaux métabolites pour les molécules utilisées en thérapeutique endocrine.

* Pour ces deux molécules, les tonnages et les valeurs de PEC sont calculés sur la base de données pour l'année 2004.

** : Le finastéride n'est pas utilisé comme anticancéreux, il est employé dans les hypertrophies bénignes de la prostate et également dans le traitement de la chute de cheveux d'origine androgénétique.

nd : pas de données.

Parmi les molécules désignées comme perturbateurs endocriniens, on retrouve des substances très diverses comme les pesticides organo-chlorés (DDT, méthoxychlor), des antifongiques (vinclozoline, antifongiques azolés), les polychlorodibenzodioxines (PCDDs) et les polychlorodibenzofuranes (PCDFs), les polychlorobiphényles, des retardateurs de flamme halogénés (tétrabromobisphénol-A, polybromodiphényléthers), des adjuvants pour matières plastiques (phtalates), des surfactants (alkylphénols), des agents anti-corrosion (organo-étains), et des hormones stéroïdes naturelles et synthétiques (estradiol et éthinylestradiol).

Deux classes principales de médicaments à usage humain peuvent être considérées de par leurs effets biologiques comme des perturbateurs endocriniens : les molécules utilisées en thérapeutique endocrine anticancéreuse (analogues d'hormones et anti-hormones), et les hormones stéroïdes naturelles et synthétiques (estrogènes, progestatifs et androgènes). Dans le cadre de la thématique des rejets médicamenteux, il apparaît donc important de traiter ces molécules de manière spécifique. Dans ce chapitre, nous introduirons la problématique liée aux molécules utilisées en thérapeutique endocrine anticancéreuse. La question des hormones sexuelles (estrogènes, progestatifs et androgènes), est traitée dans le chapitre suivant.

3. Evaluation préliminaire du risque lié aux molécules utilisées en thérapeutique endocrine anticancéreuse

Un certain nombre de molécules sont utilisées pour traiter des affections présentant un caractère hormonal et notamment des cancers hormonodépendants. On retrouve parmi celles-ci 2 classes principales de molécules : les analogues d'hormones et apparentés, et les anti-hormones représentés par les anti-estrogènes et les anti-androgènes (Tableau 9).

3.1. Analogues d'hormones : molécules agissant sur la libération des gonadotrophines

Ces molécules, qui sont soit des analogues de la GnRH soit des analogues de la LH-RH, sont utilisées dans le traitement des cancers des testicules. L'administration prolongée de ces molécules entraîne à terme une réduction importante des taux plasmatiques de testostérone. La présence de ces molécules dans l'environnement pourrait donc présenter un risque pour les écosystèmes aquatiques. Toutefois, au vu des très faibles tonnages utilisés et des très faibles valeurs de PEC, le risque lié à ces molécules est négligeable, et il n'apparaît pas nécessaire pour le moment de mettre en place des études d'occurrence ou de toxicité.

3.2. Anti-estrogènes

Ces molécules agissent selon deux mécanismes d'action principaux : inhibition de la biosynthèse des estrogènes et antagonisme du récepteur aux estrogènes. Parmi les inhibiteurs de la biosynthèse, on retrouve les inhibiteurs de l'aromatase : aminoglutéthimide, formestane (qui ne sont plus utilisées en France), letrozole, anastrozole et exémestane, molécules de structure chimique non stéroïdienne. Parmi les antagonistes directs du récepteur aux estrogènes, on trouve le tamoxifène et le torémifène.

3.2.1. Inhibiteurs de l'aromatase

Toutes ces molécules sont employées dans le traitement du cancer du sein hormonodépendant. Le létrozole et l'anastrozole sont des dérivés azoles de type triazole mais dont la structure chimique diffère des antifongiques triazolés comme le fluconazole ou l'itraconazole. Ils agissent en inhibant l'activité de l'aromatase qui transforme les androgènes en estrogènes.

Des études comparant l'activité inhibitrice *in vitro* de différents agents phytosanitaires et pharmaceutiques sur l'aromatase (Trösken et al. 2006 ; 2004) montrent que le létrozole est la molécule la plus inhibitrice de l'aromatase parmi toutes celles testées. Le létrozole présente une activité inhibitrice plus importante que le prochloraz, le flusilazole et l'imazalil, molécules utilisées comme fongicides en agriculture et rapportées comme étant des inhibiteurs *in vitro* de l'aromatase (Trösken et al. 2004 ; Sanderson et al. 2002 ; Ankley et al. 2005). A titre comparatif, une étude récente (Kinnberg et al. 2007) menée chez le poisson (*D. rerio*) rapporte que le prochloraz induit une modification du *sex ratio* favorable aux mâles à des concentrations d'exposition de 200 µg/l mais également une augmentation des niveaux de vitellogénine chez les mâles pour des concentrations de 16 et 64 µg/l.

De par leur mécanisme d'action, les inhibiteurs de l'aromatase utilisés en thérapeutique humaine pourraient donc entraîner des perturbations des fonctions de reproduction chez les organismes aquatiques non-cibles. Toutefois, si aucune donnée sur les éventuels niveaux de concentration dans les eaux n'a été retrouvée, les PEC calculées sur la base des données AFSSAPS de 2008 sont très faibles (Tableau 10). S'il n'est pas possible de conclure de façon définitive sur ces molécules, elles ne devraient pas, compte-tenu de leurs très faibles valeurs de PEC, représenter de risque significatif pour les écosystèmes aquatiques.

3.2.2. Antagonistes du récepteur aux estrogènes

Le tamoxifène et le torémifène, de structure chimique très proche, sont utilisés dans le traitement du cancer du sein. Le tamoxifène agit principalement par l'intermédiaire de son métabolite actif, l'hydroxytamoxifène qui a une très grande affinité pour le récepteur aux estrogènes (Allain 2000).

Le tamoxifène a fait l'objet de recherches dans le milieu aquatique : une étude de Roberts et Thomas (2006) rapporte des concentrations variant de 27 à 212 ng/l en différents points de la rivière Tyne au Royaume-Uni. Ashton et al. (2004) rapportent une concentration maximale dans des effluents de STEP de 42 ng/l mais la majorité de leurs mesures (effluent de STEP ou eaux de surfaces) sont en dessous du seuil de détection de 10 ng/l. D'autres mesures effectuées en France rapportent des concentrations dans des effluents de STEP allant jusqu'à 102 ng/l et dans des eaux de surface, jusqu'à 25 ng/l (Coetsier et al. 2009) ; cependant, dans la moitié des prélèvements, les concentrations sont en dessous des limites de détection.

Les valeurs de PEC calculées pour le tamoxifène sont en dessous des concentrations maximales mesurées (Tableau 10).

Les données sur la toxicité de ce composé envers les organismes aquatiques sont peu nombreuses. Andersen et al. (2001) rapportent que le tamoxifène peut inhiber le développement de larves de copépodes et rapportent une CE₅₀ de 49 µg/l. Une étude de Williams et al. (2007) rapporte qu'aucun effet sur la reproduction de *P. promelas* n'a été observé pour des concentrations d'exposition inférieures à 5.12 µg/l. Au vu du nombre limité de données écotoxicologiques, il n'est pas possible de conclure pour le moment sur le risque que représente cette molécule.

Le tamoxifène est métabolisé en deux métabolites actifs, le desméthyltamoxifène et l'hydroxytamoxifène. Ce dernier est rapporté comme étant le principal responsable de l'effet pharmacologique observé, en effet son affinité pour les récepteurs à l'estradiol est 100 fois supérieure à celle de la molécule parente (www.resip.fr). Les données de métabolisme, incomplètes ne permettent pas de calculer une PEC pour cette molécule. Toutefois, compte tenu de son activité et sa présence potentielle dans le milieu récepteur, l'hydroxytamoxifène devrait faire l'objet d'investigations d'occurrence et de toxicité, ce qui n'est pas le cas à l'heure actuelle

Le torémifène quant à lui, présente une PEC très faible (Tableau 10) et il n'est pas justifié de le rechercher dans l'environnement.

Deux molécules antagonistes du récepteur aux estrogènes sont utilisées dans des affections autres que les cancers hormono-dépendants : le clomifène et le raloxifène.

Le clomifène est spécifiquement utilisé pour son action sur l'axe hypothalamo-hypophysaire pour traiter les troubles de la stérilité liée à une anovulation. Son tonnage d'utilisation étant faible, la PEC conservative (ne tenant compte ni du métabolisme humain ni de la dégradation dans les STEP) calculée est de l'ordre de 0,2 ng/l pour les eaux de surface ; en conséquence, le risque représenté par cette molécule apparaît très limité.

Le raloxifène est utilisé dans le traitement de l'ostéoporose. Sa PEC (ne tenant pas compte du métabolisme) est de 71 ng/l. Les données pharmacocinétiques semblent montrer que ce composé est principalement métabolisé sous formes de conjugués de l'acide glucuronique. Aucun autre métabolite n'ayant été mis en évidence, on peut donc considérer que la PEC affinée par les taux d'excrétion est égale à la précédente. Aucune donnée de toxicité aquatique ou d'occurrence n'étant disponible pour ce composé, il n'est pas possible de conclure sur le risque qu'il représente. Compte tenu de sa PEC élevée (par rapport aux autres molécules du même type), la présence et les effets écotoxicologiques du raloxifène devraient être évalués.

3.3. Anti-androgènes

Un certain nombre de dérivés synthétiques anti-androgènes sont utilisés dans le traitement de cancers. Le flutamide, le nilutamide et le bicalutamide sont des anti-androgènes de structure non stéroïdienne qui agissent par inhibition de la fixation de la testostérone sur ses récepteurs.

Aucune donnée sur la présence de ces composés dans le milieu aquatique n'a été retrouvée. Concernant les données écotoxicologiques, peu d'études ont été réalisées. Pour le nilutamide, seules des données de toxicité sur algue verte et cyanobactéries sont disponibles et les valeurs rapportées sont élevées : NOEC de 1 mg/l (FDA-CDER 1996). Pour le flutamide, une étude sur l'invertébré *Brachionus calyciflorus* a été retrouvée (Preston et al. 2000) ; cette étude rapporte une diminution de la fertilisation des femelles pour des concentrations en flutamide de 1 µg/l. Enfin, une étude sur l'exposition du poisson *O. latipes* au flutamide rapporte une NOEC de 1 mg/l (Hutchinson et al. 2003, cité par Crane et al. 2006). Les PEC calculées pour cette classe de molécules suggèrent que le risque associé au nilutamide et au fulvestrant est faible. Les PEC plus importantes pour le flutamide et le bicalutamide justifient cependant une évaluation de la présence de ces deux molécules dans l'environnement.

Le finastéride, inhibiteur de la 5- α -réductase empêche la conversion de la testostérone en DHT. Cette molécule n'est pas employée dans le traitement de cancers hormono-dépendants mais est utilisée dans le traitement de l'alopecie et le traitement des hypertrophies bénignes de la prostate. Aucune donnée d'occurrence, dans les milieux ou de toxicité sur les organismes aquatiques, n'a été retrouvée. Ne disposant pas des données de consommation complètes, il n'est pas possible de calculer de PEC et de conclure pour le finastéride.

4. Conclusion pour les molécules utilisées en thérapeutique endocrine

Les travaux portant sur les molécules médicamenteuses de type anti-estrogènes et anti-androgènes sont très limités, ainsi que les données d'occurrence. A notre connaissance, seul le tamoxifène a été recherché dans l'environnement (mais pas ses métabolites).

Compte-tenu des très faibles PEC calculées, beaucoup de molécules ne devraient pas représenter un risque pour l'environnement. Toutefois, des études complémentaires (occurrence et écotoxicité) apparaissent nécessaires pour un certain nombre de molécules :

- antagonistes du récepteur aux estrogènes : dont le tamoxifène et son métabolite actif l'hydroxytamoxifène, et le raloxifène ;
- anti-androgènes : dont le flutamide, le bicalutamide et le finastéride. Pour ce dernier, comme nous ne disposons pas des données de consommation complètes, il serait nécessaire dans un premier temps d'estimer les niveaux de concentration attendus dans l'environnement, et en cas de concentration significative, de réaliser des essais d'écotoxicité.

Chapitre 7.

Médicaments à caractère perturbateur endocrinien : stéroïdes sexuels naturels et de synthèse

1. Introduction	177
2. Impact environnemental des estrogènes	177
1.1. Ethinylestradiol	177
1.2. Estradiol	177
1.3. Estriol	178
3. Impact environnemental des androgènes	178
4. Impact environnemental des progestatifs	179
4.1. Introduction	179
4.2. Article paru dans Environmental Pollution	179
4.3. Principaux résultats	191
4.3. Perspectives	191

1. Introduction

Les médicaments utilisés dans les traitements hormonaux peuvent donc présenter un risque particulier pour les écosystèmes aquatiques. Parmi ceux-ci, les molécules les plus utilisées en terme de quantité sont de loin les hormones stéroïdes sexuelles (naturelles et synthétiques) et particulièrement les estrogènes et les progestatifs. Il s'avère donc important d'évaluer le risque lié à ces molécules. Dans ce chapitre, nous proposons un aperçu des connaissances existant sur les estrogènes (molécules les plus étudiées) et les androgènes, et nous intéresseront de manière plus spécifique aux progestatifs.

2. Impact environnemental des estrogènes

L'estradiol (E2), l'estriol (E3) et l'estrone (E1) sont des hormones et des produits de métabolisation des mammifères excrétés de manière physiologique. Les deux principales sources de rejet dans l'environnement sont d'une part les élevages intensifs d'animaux (volailles et bétail), et d'autre part les rejets physiologiques d'origine humaine (Kolodziej et al. 2004 ; Maghalaes-Antoine 2004 ; Besse et al. 2005 ; Länge et al. 2002). Le recours dans les élevages intensifs à l'utilisation d'hormones stéroïdes afin de modifier le cycle oestral et/ou afin de traiter les divers troubles de la reproduction peuvent représenter une part importante de l'ensemble des rejets (Refsdal 2000). Concernant l'utilisation en thérapeutique humaine, seuls l'éthinylestradiol, l'estradiol et l'estriol sont utilisés. L'éthinylestradiol (EE2) est l'estrogène de synthèse le plus largement employé (pilule contraceptive) et la contamination du milieu aquatique se fait principalement par l'excrétion humaine *via* les rejets de STEP.

La présence des estrogènes naturels et de synthèse (E1, E2, E3 et EE2) est rapportée dans les effluents de STEP et les eaux de surface (Caldwell et al. 2008 ; Auriol et al. 2007 ; Labadie et Budzinski 2005 ; De Mes et al. 2005 ; Cargouët et al. 2004 ; Petrovic et al. 2004 ; Ying et al. 2002 ; Lopez de alda et al. 2002) à des concentrations de l'ordre du ng/l ou de la dizaine de ng/l. Johnson et Williams (2004) ont développé un modèle permettant d'estimer les concentrations en EE2, E2 et E1 pour les influents et les effluents de STEP.

1.1. Ethinylestradiol

C'est un des perturbateurs endocriniens le plus étudié à ce jour, c'est pour cette molécule que l'on dispose du plus grand nombre de données écotoxicologiques (Caldwell et al. 2008 ; Mills et Chichester 2005 ; Fent et al. 2006a). L'EE2 est capable de perturber les fonctions de reproduction chez le poisson à des concentrations très faibles (0.1 à 0.3 ng/l ; voir Caldwell et al. 2008, et Mills et Chichester 2005 pour revue). Récemment, sur la base d'une revue exhaustive les données écotoxicologiques disponibles, une PNEC pour ce composé a été dérivée (Caldwell et al. 2008). Cette PNEC, d'une valeur de 0.35 ng/l est inférieure à la plupart des NOEC mesurées sur des invertébrés aquatiques. Toutefois, elle est de l'ordre de grandeur de celles déterminées chez le poisson sur les fonctions de reproduction. De plus, cette PNEC est également inférieure à la plupart des niveaux de concentrations relevés dans les eaux usées et les eaux de surface, ce qui indique un risque environnemental lié à cette molécule. Il est cependant à noter qu'un certain nombre d'études rapportent des concentrations en EE2 en dessous de limites de détection pourtant faibles (Vulliet et al. 2008 ; Petrovic et al. 2004 ; 2002).

1.2. Estradiol

L'estradiol est utilisé en thérapeutique humaine en quantités relativement importantes (207 kg pour l'année 2004). L'estradiol exogène est métabolisé de la même manière que l'estradiol endogène et les quantités consommées s'ajoutent donc aux quantités excrétées de manière physiologique.

Les données de pharmacocinétique disponibles ne permettent cependant pas de déterminer quelle est la contribution de l'estradiol exogène à la contamination des eaux de surface.

Concernant les données écotoxicologiques, plusieurs études sur des poissons rapportent les résultats suivants : Imai et al. (2005) rapportent qu'une exposition de 6 mois à une concentration de 16 ng/l entraîne une diminution de la fécondité chez *Oryzias javanicus*. Gimeno et al. (1998) ont rapporté une féminisation de juvéniles mâles de carpes après une exposition de 3 mois à des concentrations d'E2 de 9 µg/l. Une étude plus récente de Bangsgaard et al. (2006) suggère qu'après une exposition de 26 jours à des concentrations mesurées d'E2 comprises entre 8 et 16 ng/l, les taux de vitellogénine chez *Salmo salar* sont augmentés et que le comportement migratoire est altéré (diminution de l'activité migratoire). Les concentrations mesurées dans les effluents de STEP sont du même ordre de grandeur que ces concentrations effectives, mais les concentrations mesurées dans les eaux de surface sont inférieures, de l'ordre du ng/l (Auriol et al. 2007 ; Cargouët et al. 2004 ; Johnson et Williams 2004).

Pour l'E2 considéré isolément, il est difficile de conclure sur le risque qu'il représente pour les écosystèmes. Cependant, la présence conjointe d'E2, d'EE2 et d'autres xénoestrogènes dans les effluents de STEP et les eaux de surface est susceptible de provoquer des effets néfastes sur les organismes aquatiques, notamment sur les poissons.

1.3. Estriol

L'estriol employé en thérapeutique humaine n'est utilisé qu'à de très faibles tonnages (moins de 7 kg par an), et il est probable qu'il ne contribue que pour une faible part à la contamination des eaux usées et de surface : la PEC calculée pour cette molécule, en considérant qu'il n'est pas métabolisé (ce qui est probable au vu des données existantes) est de 1.5 ng/l en entrée de STEP, ce qui est faible au vu des concentrations rapportées dans la littérature, plutôt de l'ordre de la dizaine de ng/l (Auriol et al. 2007 ; Cargouët et al. 2004 ; D'Ascenzo et al. 2003).

Les études portant sur les effets de l'estriol sont peu nombreuses mais il semble que les effets estrogéniques de l'estriol soient moins importants que ceux de l'E2 et de l'E1. Une étude de 2001 (Metcalf et al. 2001) portant sur l'exposition de divers estrogènes et estrogénomimétiques sur le medaka (*O. latipes*) ne parvient pas à conclure sur les effets de ce composé ; de plus, dans une étude portant sur le développement d'oursins exposés à diverses hormones et estrogénomimétiques (Roepke et al. 2005), les auteurs rapportent que l'estriol est la moins active de toutes les molécules testées.

3. Impact environnemental des androgènes

Les androgènes, dont les principaux représentants chez l'homme sont la testostérone et son métabolite actif la dihydrotestostérone (DHT) sont encore assez peu étudiés bien que les travaux à leur sujet se développent depuis quelques années (Liu et al. 2009 ; Sumpter 2005). Les rejets animaux et humains sont la principale source de contamination du milieu aquatique (Liu et al. 2009 ; Länge et al. 2002). Récemment, les taux d'excrétion urinaire humains pour les androgènes ont été calculés et les auteurs ont ciblé 5 molécules pouvant potentiellement être présentes dans les effluents de STEP : la testostérone, la DHT, l'androsterone, le 5β-androstanediol et l'androstènediol (Liu et al. 2009).

Des études récentes rapportent la présence d'androgènes à des concentrations de l'ordre du ng/l dans des effluents de STEP et des eaux de surface (Liu et al. 2009 ; Chang et al. 2008 ; Kolodziej et al. 2003), ou bien révèlent la présence d'une activité androgénique de divers échantillons environnementaux à l'aide de tests *in vitro* (Van Der Linden et al. 2008).

A titre d'exemple, Kolodziej et al. (2003) rapportent des concentrations en testostérone de quelques ng/l (maximum 6 ng/l) dans des effluents de STEP urbaine et des concentrations en androstenedione du même ordre de grandeur (maximum de 3.5 ng/l). Par ailleurs, sur les huit effluents de STEP testés, seuls trois ont révélé la présence de testostérone (contre deux pour l'androstenedione).

En ce qui concerne les molécules employées en médecine humaine, seules la testostérone et son métabolite actif la DHT sont utilisées, et les quantités consommées peuvent s'ajouter aux quantités excrétées de manière physiologique. La testostérone exogène est métabolisée et excrétée de la même manière que la testostérone endogène et il est probable que la DHT exogène suive également les voies métaboliques des hormones endogènes.

Le risque pour le milieu aquatique n'est encore que peu documenté et les études sur ce sujet sont encore récentes. Une étude de 2004 (Kashian et Dodson 2004) indique que la testostérone diminue la fécondité de daphnies exposées à court-terme (100 µg/l sur 6 jours). Une étude multi-générationnelle sur *D. magna* a montré des effets sur les fonctions de reproductions à des concentrations de 100 µg/l (Clubbs et Brooks 2007). Ces concentrations sont très supérieures à celles relevées dans l'environnement, toutefois un risque pour les androgènes n'est pas à exclure car les hormones stéroïdes peuvent jouer un rôle de phéromones chez le poisson. Dans ce cas, les molécules agissent au niveau olfactif et peuvent entraîner des modifications comportementales et/ou métaboliques à de faibles niveaux de concentrations, de l'ordre du ng/l selon Kolodziej et al. (2003). Des études complémentaires sont donc à mener pour pouvoir conclure sur le risque présenté par ces molécules.

4. Impact environnemental des progestatifs

4.1. Introduction

S'il existe un nombre de données conséquent sur la présence et la toxicité des estrogènes synthétiques et naturels dans les eaux usées et les eaux de surface, les données existantes sur les progestatifs sont beaucoup plus restreintes. Ce déséquilibre n'est pas justifié dans la mesure où :

- ce sont des molécules actives sur les fonctions de reproduction,
- elles sont utilisées à des quantités importantes (on les retrouve notamment en association à l'éthinylestradiol dans la pilule contraceptive),
- cette classe thérapeutique et chimique est composée d'un nombre important de molécules : en France, 18 molécules différentes sont utilisées.

Ainsi il nous a paru important de se focaliser plus spécifiquement sur ces molécules. Sur la base d'une revue des données écotoxicologiques et pharmacologiques, une évaluation de l'exposition et du danger présenté par ces molécules a été effectuée. Les résultats de ce travail sont présentés dans l'article suivant.

4.2. Article paru dans Environmental Pollution

Résumé de l'article (traduction de l'abstract)

A l'heure actuelle, les informations relatives à la présence et aux effets des progestatifs sur les écosystèmes aquatiques sont très limitées. Dix-huit molécules différentes étant actuellement utilisées en France, nous avons effectué une évaluation préliminaire de l'exposition et du danger pour les progestatifs. Les valeurs de PEC obtenues suggèrent que les composés parents pourraient se retrouver dans les eaux de surface à hauteur du ng/l.

Ces PEC suggèrent également qu'un certain nombre de métabolites pourraient être présents à des concentrations plus importantes. Ces valeurs de PEC restent toutefois limitées et à confirmer, à cause d'un manque de données disponibles sur le métabolisme et le devenir environnemental des progestatifs.

Au niveau de la toxicité de ces molécules, il semble que les effets biologiques potentiels sur les organismes aquatiques ne soient pas limités à la seule activité progestative. Une activité anti-androgénique (principalement pour l'acétate de cyproterone, l'acétate de chlormadinone et leur métabolites) et une activité estrogénique (principalement pour les métabolites réduit du levonorgestrel et de la noréthisterone) sont également susceptibles de s'exercer. Toutes ces molécules sont susceptibles d'avoir un effet cumulatif entre elles ou avec d'autre xénoestrogènes. Des études complémentaires sur la toxicité, ainsi que sur leur présence et leur devenir dans l'environnement devraient être menées.

NB : dans l'article suivant, il est fait référence à des appendices (Appendix A et B), ces données complémentaires sont fournies en annexe F.



Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

journal homepage: www.elsevier.com/locate/envpol

Progestagens for human use, exposure and hazard assessment for the aquatic environment

Jean-Philippe Besse^a, Jeanne Garric^{a,*}^aUnité Biologie des écosystèmes aquatiques, Laboratoire d'écotoxicologie, Cemagref, 3bis quai Chauveau CP 220, 69336 Lyon cedex 09, France
Gestagens exposure and hazard assessment for the aquatic environment.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 January 2009

Received in revised form

14 May 2009

Accepted 10 June 2009

Keywords:

Gestagens

Metabolites

Surface water

Hazard

Exposure

Assessment

ABSTRACT

Little information is available on the environmental occurrence and ecotoxicological effects of pharmaceutical gestagens released in the aquatic environment. Since eighteen different gestagens were found to be used in France, preliminary exposure and hazard assessment were done. Predicted environmental concentrations (PECs) suggest that if parent gestagens are expected to be found in the ng l^{-1} range, some active metabolites could be present at higher concentrations, although limited data on metabolism and environmental fate limit the relevance of PECs. The biological effects are not expected to be restricted to progestagenic activity. Both anti-androgenic activity (mainly for cyproterone acetate, chlormadinone acetate and their metabolites) and estrogenic activity (mainly for reduced metabolites of levonorgestrel and norethisterone) should also occur. All these molecules are likely to have a cumulative effect among themselves or with other xenoestrogens. Studies on occurrence, toxicity and degradation time are therefore needed for several of these compounds.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

It is now recognized that pharmaceutical compounds reach the aquatic environment. A wide range of drugs (antibiotics, antidepressants, nonsteroidal anti-inflammatories, blood lipid-lowering agents, anti-hypertensors and so on) have been found in wastewater treatment plant (WWTP) effluents and surface waters, at concentrations ranging from the ng l^{-1} to the $\mu\text{g l}^{-1}$ (Halling-Sørensen et al., 1998; Ternes, 1998; Kolpin et al., 2002; Kümmerer, 2004). Therefore, more and more studies are directed toward assessing the risk of human pharmaceuticals in the aquatic environment. In this context, the question of the potential risk of endocrine disruption due to hormones used in contraception and hormone replacement therapy (HRT) needs to be addressed. It is well known now that many chemicals capable of endocrine disruption are found in the aquatic environment (Colborn et al., 1993; Sumpter, 2005), but the contribution of human pharmaceuticals to this contamination has not yet been defined.

A large number of studies investigating the occurrence and effects of natural and synthetic estrogen steroids (ethinylestradiol, estradiol, estrone and estriol) and estrogen-like molecules have been conducted, and the risk is now well documented. A few studies have

been conducted on the risk related to anti-androgens (Sumpter, 2005), and surprisingly, virtually no studies have been conducted on the occurrence of gestagens in wastewater and surface water and their effect on non-target organisms.

Gestagens (also called progestogens, progestagens or progestins) are hormones that produce effects similar to those of progesterone (P4). Progesterone is a C-21 steroid hormone involved in the female menstrual cycle, pregnancy and the embryogenesis of humans and other species (Rozenbaum, 2001; Hardman et al., 1996). Since natural progesterone is inactivated very rapidly in the organism, several synthetic progestins have been developed. Progesterone and synthetic progestins act through nuclear receptors, mainly the progesterone receptor (PR) but also through other receptors such as the androgen receptor (AR), estrogen receptor (ER), glucocorticoid receptor (GR) and mineralocorticoid receptor (MR). Synthetic progestins can have various hormonal activities: estrogenic, anti-androgenic and androgenic (Table 1).

Gestagens are compounds that can pose a risk for the aquatic environment, at least for fish, in which gestagens play a role in the control of spawning behavior (Kobayashi et al., 2002). In a recent study (Kolodziej et al., 2003), the synthetic progestin medroxyprogesterone acetate (MPA) and other steroid hormones were found in WWTP effluent samples. The authors highlighted that, considering the levels found, these compounds were able to elicit pheromonal responses in fish that could alter their behavior and interfere with their reproduction (Kolodziej et al., 2003).

* Corresponding author. Tel.: +33 472208902.

E-mail address: jeanne.garric@cemagref.fr (J. Garric).

Table 1
Classification and biological activities of gestagens (adapted from Rozenbaum, 2001; Schindler et al., 2003).

Classification		Progestin	Progestagenic	Estrogenic	Anti-androgenic	Androgenic	
Natural		Progesterone	+	–	+/-	–	
Structurally related to progesterone	Progesterone derivatives	Dydrogesterone	+	–	+/-	–	
		Medrogestone	+	–	+/-	–	
		Chlormadinone acetate	+	–	+	–	
	Pregnane derivatives	Cyproterone acetate	+	–	++	–	
		Medroxyprogesterone acetate	+	–	–	+/-	
		Promegestone	+	–	–	–	
		Nomegestrol acetate	+	–	+/-	–	
	Norpregnane derivatives						
	Structurally related to testosterone (19-Nortestosterone derivatives)	Estranes	Norethisterone	+	+	–	+
Lynestrenol			+	+	–	+	
Tibolone			+	+	–	+	
Gonanes (ethinylated derivatives)		Levonorgestrel	+	–	–	+	
		Norgestimate	+	–	–	+	
		Desogestrel/Etonogestrel	+	–	–	+	
		Gestodene	+	–	–	+	
		Dienogest	+	+/-	+	+	
Gonanes (nonethinylated derivative)							
Structurally related to spironolactone		Drospirenone	+	–	+	–	

Reviewing the use of steroid hormones in France, we found that there were 18 different natural and synthetic gestagens used but only few occurrence studies and no environmental risk assessments. In this paper we therefore propose to review the knowledge on progestins and to conduct a preliminary assessment of the risk for wastewaters and surface waters.

2. Pharmacology of gestagens

2.1. Classification of gestagens

Progesterone is the only natural gestagen: all other molecules are synthetic and are often referred to as progestins or synthetic progestins. In this paper, the terms “gestagen” and “progestin” will be used throughout to describe gestagens in general and synthetic progestins, respectively. Synthetic progestins differ from progesterone by several chemical modifications (Appendix A) and are classified accordingly. Briefly, there are derivatives of 17- α -hydroxyprogesterone (pregnanes), of 17- α -norhydroxyprogesterone and 19-norprogesterone (norpreganes), and of 19-nortestosterone (estrans and gonanes). There are large differences in the biological effects of progestins: some can present estrogenic activity (norethisterone, tibolone) while others are well known to display anti-androgenic activities (cyproterone and chlormadinone acetate); these different properties are summarized in Table 1.

2.2. Mechanism of action and activity of gestagens in mammals

Natural progesterone (P4) has progestagenic, anti-estrogenic, anti-aldosterone and mild anti-androgenic activities. P4 mainly acts through the progesterone nuclear receptors PRA and PRB and modifies the transcription of target genes (Rozenbaum, 2001). The main genomic activities are:

- preparation of the uterus for nidation, then maintaining gestation.
- inhibition of the secretion of pituitary gonadostimulins,
- blastocyte implantation,
- anti-estrogenic effect by induction of 17-hydroxysteroid dehydrogenase, which accelerates the conversion of estradiol into estrone, and by induction of estrogen sulfotransferase.
- anti-mineralocorticoid action by inhibition of aldosterone receptors, which induces a decrease in plasma sodium by increasing its urinary elimination.

P4 can also produce non-genomic effects. Such effects are reported to be faster than genomic effects (hours versus days) and can trigger different metabolic reactions and receptors (GABA, NMDA and acetylcholine receptors). P4 plays a role in oocyte maturation and modulation of reproductive signaling in the brain, but also has a sedating action by potentiating the GABA effect on GABA(A) receptors or can impair the glucose metabolism (Hardman et al., 1996; Rozenbaum, 2001; Pharmacorama, 2008).

Synthetic progestins are mainly used in association with an estrogen in oral contraception. Progestin activity may differ from natural P4 (Table 1): some can display estrogenic activities (tibolone [TBL], levonorgestrel [LNG]), while others are stronger anti-androgenics (cyproterone acetate [CPA]). Synthetic progestins are generally more potent than P4; as an example they are reported to be much more effective inhibitors of the secretion of gonadostimulins (Pharmacorama, 2008). Progestins also have several other metabolic effects, depending on their chemical structure. For example, ethinylated gestagens, particularly gestodene (GSD), have been demonstrated to inhibit cytochrome P450 enzymes (Rozenbaum, 2001; Kuhl, 1996).

2.3. Structure–activity relationships

As noted above, progestins can have subtle differences in their mode of action. This is related to chemical modifications at key points of the general structure of gestagens (Rozenbaum, 2001; Stanczyk, 1996). By acting on these key points, it is possible not only to modulate the progestagenic activity but also to switch the activity to other steroid pathways. The key points are shown in Fig. 1 and the structure–activity relationships are summarized in Table 2.

3. Material and methods

This paper has two main goals: i) to review the ecotoxicological and pharmacological knowledge on progestogens used in human medicine to provide an overview of the biological effects of these molecules and ii) to assess the exposure to the aquatic environment by calculating predicted environmental concentrations (PECs) and to provide a preliminary characterization of the risk for gestagens.

To do so, the scientific literature was reviewed, as well as the following databases and books: the Banque Claude Bernard (BCB), a complete, free French database on human pharmaceuticals (<http://www.resip.fr>), the BIAM database (www.biam2.org), the drugs.com drug database (www.drugs.com), the Micromedex Drugdex® databank (from Thomson Micromedex, available at www.micromedex.com/products/drugdex), the Martindale compendium's *Complete Drug Reference* (Sweetman 2002), *Les progestatifs* (Rozenbaum, 2001) and the Goodman and

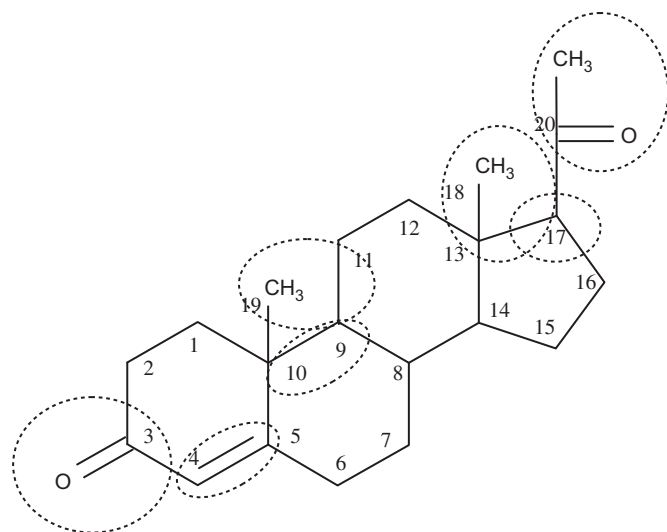


Fig. 1. Chemical key points of progesterone. Structural changes on these points induce changes in the molecule's activity (Rozenbaum, 2001). See Table 2 for structure–activity relationships.

Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (Hardman et al., 1996). Special attention was paid to the metabolism and active metabolites of gestagens. As highlighted in previous studies on pharmaceuticals, metabolism is one of the most important processes that can reduce the quantities of pharmaceuticals reaching the aquatic environment. Moreover, human metabolism can give rise to metabolites (Fig. 2) that must be considered when assessing the environmental risk (Besse et al., 2008; Huschek et al., 2004). Finally, as highlighted above in the structure–activity relationships, modifications in chemical structure can result in important modifications in activity, both quantitatively and qualitatively.

Preliminary exposure assessment was implemented by calculating PECs, as described in Besse et al. (2008), using the following equation:

$$PEC_{\text{surfacewater}} = \frac{\text{consumption} \times \text{Fexcreta} \times \text{Fstp}}{\text{WWinhab} \times \text{hab} \times \text{Dilution} \times 365}$$

PEC is expressed in mg l^{-1} using the following parameters: consumption is the quantity (mg year^{-1}) of an active molecule consumed by the population over 1 year in a defined zone (generally a country); hab is the number of inhabitants and 100 the correction factor for the percentages; 365 is the number of days per year (day year^{-1}); WWinhab is the volume of wastewater per person per day (default value = 200 $\text{l inhabitants}^{-1} \text{ day}^{-1}$); dilution is the dilution factor from WWTP effluent to surface waters (default value set at 10); Fexcreta is the excretion fraction of the active molecule; Fstp is the fraction of emission of the drug from wastewater treatment plants (WWTPs) directed to surface water, which can be defined as (1–WWTP removal fraction).

PEC gestagens were calculated using the actual amounts of progestogens provided by the French Medical Product Safety Agency (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, AFSSAPS, Paris).

4. Results

4.1. Metabolism data

Metabolism and pharmacokinetic data for progestins are limited (Stanczyk, 2003). No reliable excretion fraction value could be determined, except for cyproterone acetate (CPA). However, reviewing metabolism data highlighted very valuable information on the metabolites of gestagens, particularly progestins, that can help describe the hazard for the aquatic environment. All gestagens are metabolized extensively following the same general pathway: in the liver, they are mainly submitted to reduction and hydroxylation. Reduction generally acts primarily on a double-bond of ring A then on the ketone function of carbon 3. These structural modifications lead to metabolites that can be pharmacologically active but whose activity differs from the parent compounds. The parent compound and metabolites can subsequently be sulfo- and glucuroconjugated prior to excretion (Stanczyk, 2003; Rozenbaum, 2001). Information on gestagen metabolites is summarized in Table 3 and detailed in Appendix B. Although some metabolites with progestagenic properties are formed, it should be noted that some metabolites have a significant *in vitro* estrogenic activity (García-Becerra et al., 2002; Larrea et al., 2001). This has been shown for metabolites of gestagens structurally related to testosterone (Appendix B) and has a strong implication for the hazard and risk assessment related to gestagens. For medrogestone, norgestrol acetate, promegestone, norgestrienone and norelgestromin, no data were found.

4.2. PEC calculation and comparison with field measurements

Since no quantitative excretion data were available other than for CPA, the calculation of PEC values for progestogens remains limited and only conservative PEC values, assuming no metabolism, could be calculated. Moreover, since very few studies have been conducted on progestagens in the environment, no data exist on the WWTP removal rates for these molecules. Therefore, to limit the uncertainties, we calculated PEC values for the WWTP influent, without considering the WWTP removal rate and dilution factor. The results are displayed in Table 4. Since lynestrenol and norgestimate are prodrugs, their consumption amounts were summed with the amounts of norethisterone (NET) and levonorgestrel (LNG), their corresponding active metabolite, respectively, to calculate a more accurate PEC. PEC values for progestins range from less than the ng l^{-1} to the hundred ng l^{-1} level. Norelgestromin and norgestrienone show very low PEC values, even with conservative assumptions; consequently, these two molecules are not expected to be present in the aquatic environment. P4 showed a high PEC of more than $2 \mu\text{g l}^{-1}$; however, like all other gestagens, P4 is submitted to extensive metabolism and only traces of the parent compound are excreted; therefore, lower concentrations are expected in the aquatic environment. Moreover, it has been shown that P4 was highly removed in WWTPs, with a high proportion sorbed on sludge. (Esperanza et al., 2007).

Table 2
Structure–activity relationships and structural key points for gestagens (Rozenbaum, 2001; García-Becerra et al., 2002; Larrea et al., 2001; Jamin, 2003; Stanczyk, 1996).

Structural key points and functions	Changes in activity
C(3) ketone and $\Delta 4$ double bond	Essential for binding to progesterone receptor
C(3) then C(20) ketone reduction	Reduction then abolition of the progestagenic activity
$\Delta 4$ Double-bond reduction	Reduction or abolition of the progestagenic activity
C(3) ketone reduction only	No modification of progestagenic activity
C(10) β methyl group suppression	Delays metabolization
C(10) β methyl group conversion to C(10) α	Delays metabolization
17 α -Hydroxylation	Enhances metabolization
17 α -OH esterification	Delays metabolization
Switch from C(13)-methyl group to 13 ethyl group	Delays metabolization
Addition of an ethinyl radical on C(17)	Reduces androgenicity and enhances progestagenicity
C(10) methyl group suppression	Reduces androgenicity and enhances progestagenicity
$\Delta 4$, $\Delta 9$ And $\Delta 11$ insaturation of a 19 norsteroid	Enhances affinity to androgen receptor
C(3) ketone and $\Delta 4$ double bond	Anti-aromatase activity of P4 (anti-androgenic activity)
C(3) ketone reduction for 19-nortestosterone derivatives	Appearance of estrogenic activity
C(3) ketone And $\Delta 4$ double-bond reduction for 19-nortestosterone derivatives	Switch from progestagenic activity to estrogenic activity
17 β -hydroxylation of 19-nortestosterone derivatives	Necessary for displaying estrogenic activity

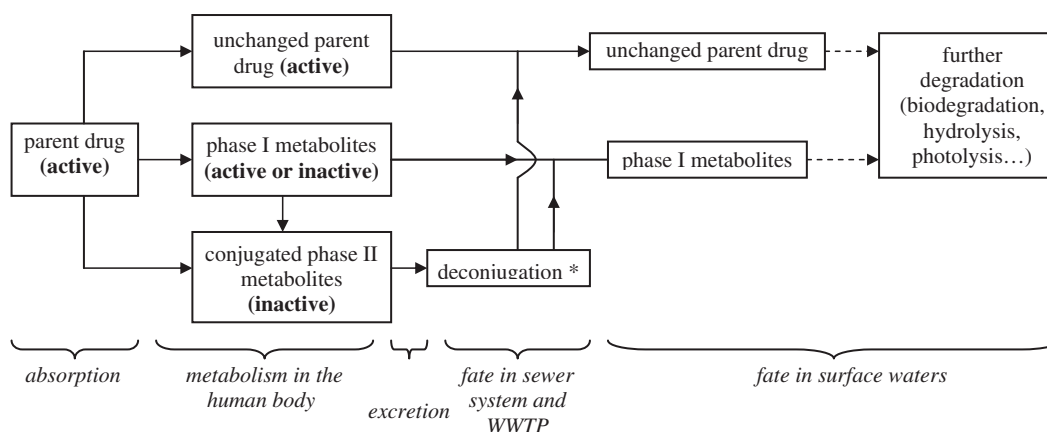


Fig. 2. Simplified scheme of the fate of human pharmaceuticals, from their absorption in the human body to their behavior in the aquatic environment. * Glucuroconjugated metabolites have been shown to be deconjugated in sewer systems and wastewater treatment plants (Panter et al., 1999; Ternes et al., 1999; D'Ascenzo et al., 2003). Activity or inactivity of metabolites is to be considered with regard to their pharmacological activity (i.e., their mechanism of action in mammals); see Besse et al. (2008) for a discussion on the environmental relevance of pharmaceutical metabolites.

Only a few studies on the occurrence of progestagens in the environment have been conducted to date and LNG and NET are the main progestagens that have been investigated.

Kuch and Ballschmiter (2000) did not find NET acetate in WWTP effluents, whereas LNG was found in only one sample, at the low

concentration of 1 ng l⁻¹. A study in French rivers did not detect LNG or NET, (Labadie and Budzinski, 2005a). Another study (Solé et al., 2000) did not reveal the presence of LNG, NET or progesterone in surface waters and WWTP effluents. Other studies (Petrovic et al., 2002; López de Alda et al., 2002) report the presence of NET, LNG and

Table 3
Review of major and active metabolites of gestagens.

Parent compound	Major metabolite(s)	Active metabolite(s)	Activity	References
Progesterone	5β-Pregnane-3α,20α-diol-3-glucuronide		No pharmacological activity reported	Stanczyk, 2003
Dydrogesterone	Dihydrodydrogesterone (DHD) C21-OH-dydrogesterone C13α-OH-dydrogesterone	Dihydrodydrogesterone (DHD) C21-OH-dydrogesterone C13α-OH-dydrogesterone	Progestagenic Potentially progestagenic Potentially progestagenic	Rozenbaum, 2001 Schindler et al., 2003
Chlormadinone acetate	3-Hydroxy-chlormadinone acetate	3β-Hydroxy-chlormadinone acetate	Anti-androgenic	Schindler et al., 2003
Cyproterone acetate	15β-Hydroxycyproterone acetate	15β-Hydroxycyproterone acetate	Anti-androgenic	Schindler et al., 2003
Norethisterone	3α,5β-Tetrahydronorethisterone sulfate and glucuronide	5α-Dihydronorethisterone 3α,5β-Tetrahydronorethisterone 3α,5α-Tetrahydronorethisterone (in vitro) 3β,5α-Tetrahydronorethisterone (in vitro)	Estrogenic activity/ progestagenic activity ND, potentially estrogenic Estrogenic activity Estrogenic activity	Rozenbaum, 2001 Schindler et al., 2003 Larrea et al., 2001
Tibolone	3α-Hydroxytibolone	Δ4-Tibolone 3α-Hydroxytibolone 3β-Hydroxytibolone	Progestagenic activity Estrogenic activity Estrogenic activity	Rozenbaum, 2001
Levonorgestrel	3α-5β-Tetrahydrolevonorgestrel glucuronide	5α-Dihydronolevonorgestrel (in vitro) 3α-5β-Tetrahydrolevonorgestrel 3β-5α-Tetrahydrolevonorgestrel (in vitro)	Estrogenic activity/ progestagenic activity ND, potentially estrogenic Estrogenic activity	Stanczyk and Roy, 1990 García-Becerra et al., 2002
Desogestrel/ Etonogestrel	C13-hydroxyetongestrel glucuronide C15α-hydroxyetongestrel glucuronide 3α,5α-Tetrahydroetongestrel sulfate 3β,5α-Tetrahydroetongestrel (free and glucuronide)	ND ND ND ND	ND ND ND ND	Rozenbaum, 2001 Verhoeven et al., 2001
Gestodene	ND	5α-Dihydrogestodene (in vitro) 3α,5α-Tetrahydrogestodene (in vitro) 3β,5α-Tetrahydrogestodene (in vitro)	Estrogenic activity/ progestagenic activity Estrogenic activity Estrogenic activity	Rozenbaum, 2001
Drospirenone	Acid metabolite of drospirenone 4,5-Dihydrodrospirenone sulfate	ND ND	ND ND	Rozenbaum, 2001 Sitruk-Ware, 2006

ND: no data available.

Table 4

WWTP influent predicted environmental concentrations (PEC_{in}) for gestagens; based on their consumption in France in the year 2004 (data from Afssaps, 2006).

Compound	Consumption of active ingredient in the year 2004 (kg)	PEC influent (ng.l ⁻¹)
Progesterone	9864.25	2252.11
Cyproterone acetate	821.56	187.57
Dydrogesterone	744.70	170.02
Chlormadinone acetate	385.17	87.94
Nomegestrol acetate	312.10	71.26
Drospirenone	149.38	34.10
Norethisterone + norethisterone acetate + lynestrenol	100.99	31.80
Levonorgestrel + norgestimate	94.17	21.50
Medrogestone	87.73	20.03
Medroxyprogesterone	68.50	15.64
Tibolone	52.53	11.99
Desogestrel + etonogestrel	28.88	6.86
Hydroxyprogesterone	27.58	6.30
Gestodene	22.04	5.03
Promegestone	13.41	3.06
Norgestrel	11.92	2.72
Dienogest	5.73	1.31
Norgestrienone	2.59	0.59
Norelgestromin	0.34	0.08

P4 in WWTP effluents or in sediment rivers (Table 5). Three very recent studies also report the occurrence of gestagens in different environmental samples (Table 5): P4 has been found in hospital and urban WWTP effluents in concentrations up to 33 ng l⁻¹ (Pauwels et al., 2008); several gestagens have been measured (Chang et al., 2008) in the low ng l⁻¹ range in effluents and surface waters; P4, LNG and NET have been found in surface water and groundwater samples at the ng l⁻¹ range (Vulliet et al., 2008). Finally, medroxyprogesterone acetate (MPA) was found in effluent samples (Kolodziej et al., 2003). MPA was detected in four of eight effluents tested, at concentrations ranging from 1 ng l⁻¹ to 15 ng l⁻¹. MPA was also detected at low concentrations (0.4–0.7 ng l⁻¹) in wetland samples. For MPA, the maximum effluent value of 15 ng l⁻¹ found in one effluent sample (Kolodziej et al., 2003) is equal to the conservative PECs determined for influents, suggesting that this molecule could be excreted in significant amounts. Since PECs remain conservative because of limited data, the calculated values are much higher than the range of the measured values (i.e., ng l⁻¹). This difference could

be mainly related to extensive metabolism and low excretion amounts of the unchanged parent molecule.

5. Discussion

5.1. Concentrations entering the aquatic environment

Given the limited metabolism data, most particularly the lack of quantitative excretion data, it was only possible to calculate conservative PECs, which limits their environmental relevance. Although it was not possible to calculate the excretion fraction for gestagens, some evidence (Verhoeven et al., 2001; Stanczyk and Roy, 1990; Vos et al., 2002) suggest that natural progesterone and some progestins related to testosterone (i.e., LNG, NET, ETO and GTD) have excretion fractions of a free and/or conjugate unchanged molecule ranging from about 5 to 10%. Applying this excretion fraction range to calculated PECs gives refined values in the range of field measurements. Field measurements from the study of Kolodziej et al. (2003) suggest that MPA could be excreted in higher amounts as an unchanged molecule.

Some gestagen metabolites could be present at higher concentrations. Although no excretion value could be calculated, there is some evidence in the literature for higher excretion rates than parent compounds.

Concentrations of pregnanediol (main metabolite of P4) entering the aquatic environment could be of environmental concern. Assuming a 15% excretion fraction value for this compound (Grady et al., 1952; Sommerville and Marrian, 1950) gives a PEC for WWTP influent of about 340 ng l⁻¹. Pregnanediol is also physiologically excreted in urine, in daily rates ranging from 1 mg for men to 70 mg for pregnant women (Hardman et al., 1996), giving a cumulated excretion over a year of about 150 kg for France (data not shown). Added to the assumed PEC levels described above, this gives concentrations entering WWTPs of about 370 ng l⁻¹. This metabolite is reported to be inactive. Moreover, it has undoubtedly been present in the environment for decades, and there is no evidence that any biological effect is related to it. However, considering the rates of its release into the environment through WWTPs, which should have considerably increased with the use of P4 in HRT, concerns are being raised and studies should investigate the fate and toxicity of this molecule.

Other metabolites with estrogenic activity could be found in surface waters at higher levels than parent compounds. Following an oral administration of NET (Stanczyk and Roy, 1990), there was five

Table 5

Concentrations of gestagens in different environmental samples (expressed in ng.l⁻¹ for aqueous samples and in ng.g⁻¹ for sediment samples).

Molecule	Sample type					References
	WWTP ^a influent	WWTP ^a effluent	Surface water	Ground water	Sediment	
Norethisterone	< 0.2 – 8.9	< 0.2 – 17.4			nd – 1.08	Lopez de alda et al., 2002 Petrovic et al., 2002 Vulliet et al., 2008
Levonorgestrel	< 0.2 – 16.1	< 0.2 – 4	2.8 ^{b,c}	4.2 – 5.6 ^d	nd – 2.18	Lopez de alda et al., 2002 Petrovic et al., 2002 Vulliet et al., 2008
Progesterone		2.5 – 33	5.3 ^b – 7 ^c	7.4 – 11 ^d	nd – 6.82	Lopez de alda et al., 2002 Pauwels et al., 2008 Pauwels et al., 2008 Chang et al., 2008 Vulliet et al., 2008
	4.8 – 33	nd – 2.5				
	15.3 – 100 ^e	nd – 3.2 ^e				
	3.1 – 10	0.31 – 0.37	0.06 – 0.09			
MPA	0.21 – 2.42	< 0.4 – 15	1.7 ^b – 3.5 ^c	2.8 – 4.1 ^d		Kolodziej et al., 2003 Chang et al., 2008
		0.03 – 0.42				

^a domestic WWTP otherwise indicated.

^b urban dam of water receiving effluents from various sewage treatment plants.

^c lake supplied by a lacustral source and different rivers from rural zones.

^d highest concentrations were found in deep phreatic water, downstream of agglomerations.

^e hospital WWTP. nd: not detected.

times more 3α - 5β -tetrahydro-NET (free and conjugated) than NET (free and conjugated) in urine. The same study showed that total urinary amounts of 3α - 5β -tetrahydro-LNG (free and conjugated) were 15 times higher than total amounts of LNG. Although there is a need for more studies, especially to determine WWTP removal rates of these molecules, these results indicate that wastewater effluent levels for 3α - 5β -tetrahydro-NET and 3α - 5β -tetrahydro-LNG could be up to 45 ng l^{-1} and 240 ng l^{-1} , respectively (by taking into account maximum values for NET and LNG reported in Table 5 and assuming comparable removal rates for parent compounds and metabolites). Therefore, there is evidence that most relevant compounds according to the environmental exposure and biological activity have not been targeted yet.

5.2. Fate and behavior in the aquatic environment

Except for P4, for which high removal rates in WWTPs and rapid degradation in surface water are expected (Esperanza et al., 2007; Labadie and Budzinski, 2005b), no data are available on the environmental half-lives and degradation pathways for gestagens. This is a significant limitation for the environmental assessment of gestagens and limits the relevance of the environmental concentrations of metabolites calculated above. It is not possible to draw any conclusion on the degradability of these molecules, but the following assumptions can be made. First, the degradability of synthetic progestins could be lower than for natural P4, although this is an indirect assumption. Synthetic progestins are specifically designed to have higher body half-lives than P4, which is rapidly inactivated. Moreover, a parallel can be drawn between estrogens and gestagens. Synthetic ethinylestradiol (EE2) is reported to be more resistant to bacterial biodegradation than natural estradiol (E2) (Ying et al., 2003; Jürgens et al., 2002), whereas the photodegradation times are similar (Jürgens et al., 2002). Resistance to bacterial degradation could be related to differences in stereochemistry and the presence of a C17 ethynylated group in EE2. Similarly, synthetic progestins (and their metabolites) could be more resistant to bacterial biodegradation, especially NET, LNG, TBL and norgestimate, which also have an ethynylated function on C17 (Appendix A) but also CPA, MPA and CMA, which display acetate groups on C17 (Appendix A). Second, pharmaceuticals are often considered to be pseudo-persistent contaminants (Daughton, 2003), because they are introduced in the aquatic environment on a continual basis through WWTPs. Given that gestagens are used throughout the year for oral contraception and HRT, this continuous release could balance a possible rapid degradation.

Concentrations of gestagens in sediment could be higher than those found in the water column. This is suggested by the results of a study (Jenkins et al., 2003) in which P4 levels found in sediment were 20 times higher than those found in the water column. Moreover, Kd values for NET and P4 have been calculated (López de Alda et al., 2002) and the results indicate that gestagens may have a general tendency to accumulate in sediments, but this remains to be confirmed.

5.3. Biological effects on aquatic species

Several progesterone receptors have been found in fish (Pinter and Thomas, 1995; Todo et al., 2000; Zhu et al., 2003) and gestagens play major roles in fish reproduction. They trigger oocyte maturation (Lutes, 1983; Truscott et al., 1992) and ovulation in female fish (Scott et al., 1983; Pinter and Thomas, 1999; Venkatesh et al., 1991). They also play a role in the spermiation in males (Barry et al., 1990). Therefore, there is evidence that synthetic progestins could interfere with endogen gestagens in fish and adversely affect their reproduction. Moreover gestagens also act as pheromones in fish and are involved in the control of spawning behavior

(Kobayashi et al., 2002). At environmental concentrations, gestagens could interfere with natural pheromones and therefore impair the physiological responses and spawning behavior in fish (Kolodziej et al., 2003; Sorensen et al., 1990). However, except for CPA, which was assessed for its anti-androgenic properties, no ecotoxicological data in fish were found.

Very few data are available on the ecotoxicity of gestagens on aquatic invertebrates. A very recent study, assessing the effects of estradiol, EE2 and MPA on the cladoceran *Ceriodaphnia dubia*, showed no effect on reproduction at concentrations ranging from $5 \mu\text{g l}^{-1}$ to 5 mg l^{-1} (Jukosky et al., 2008). On the contrary, P4 was shown to induce the production of more male-dominated broods in a 25-day assay at the concentration of $100 \mu\text{g l}^{-1}$ (Kashian and Dodson, 2004). Another study (Goto and Hiromi, 2003) determined a 48-h EC_{50} for NET on immobilization on *Daphnia magna* of 6.41 mg l^{-1} , which is very higher than environmental concentrations. No chronic toxicity was observed for NET on the total number of offspring, reproduction frequency, total number of male offspring, and total number of molts at tested concentrations ($<500 \mu\text{g l}^{-1}$), but the results suggested that there was a synergistic effect between EE2 and NET and the tested parameters.

No ecotoxicological data are available for metabolites of progestins; however, pharmacological data i) show that some of these metabolites have a pharmacological activity and ii) suggest that they could be found at higher concentrations than parent compounds in the environment. Therefore, there is a potential for biological effects on non-target organisms.

The risk could be linked to mixture of gestagens. Gestagens used by humans are only found at very low concentrations in aquatic samples; however, a number of different molecules (18 in France) are used. Moreover, since parent molecules show a main similar mode of action, there is a real risk of additive or synergistic effects in the environment. Finally, there is a risk of synergistic effects between gestagens and estrogens, as shown for P4 and EE2 (Goto and Hiromi, 2003) and as such effects have been shown in humans (Rozenbaum, 2001).

5.4. Hazard characterization

Although ecotoxicological data are still too limited to provide information for the hazard assessment of gestagens, the review of pharmacological data can give valuable hints on the biological effects of gestagens and their metabolites. Surprisingly, the potential hazard posed by these molecules may not be limited only to the progestagenic activity, but also to estrogenic and to anti-androgenic activity. The different types of biological activities to the different molecules are discussed here and are summarized in Fig. 3. The hazard characterization provided here is limited to aquatic species that display similar receptors to those found in mammals; for other species, other effects (if any) should occur.

5.4.1. Progestagenic activity

The risk of progestagenic activity is obviously the first to consider. Natural progesterone and parent progestins have a significant binding affinity and transcriptional activity on the PR. Synthetic progestins have a higher activity than natural progesterone. Dihydro metabolites of progestins have substantially less binding affinity to PR than the parent compound but within the same range as progesterone. This has been shown *in vitro* for GES, NES and LNG (Larrea et al., 2001; Lemus et al., 2000; García-Becerra et al., 2002). Some metabolites that can be excreted in higher amounts than parent compounds also have a significant activity: DHD, 17-hydroxyprogesterone and 20α -dihydroprogesterone, $\Delta 4$ -tibolone, and to a lesser extent, reduced metabolites. Therefore, there is a potential hazard of progestagenic activity in the environment. Considering the low measured concentrations in the environment,

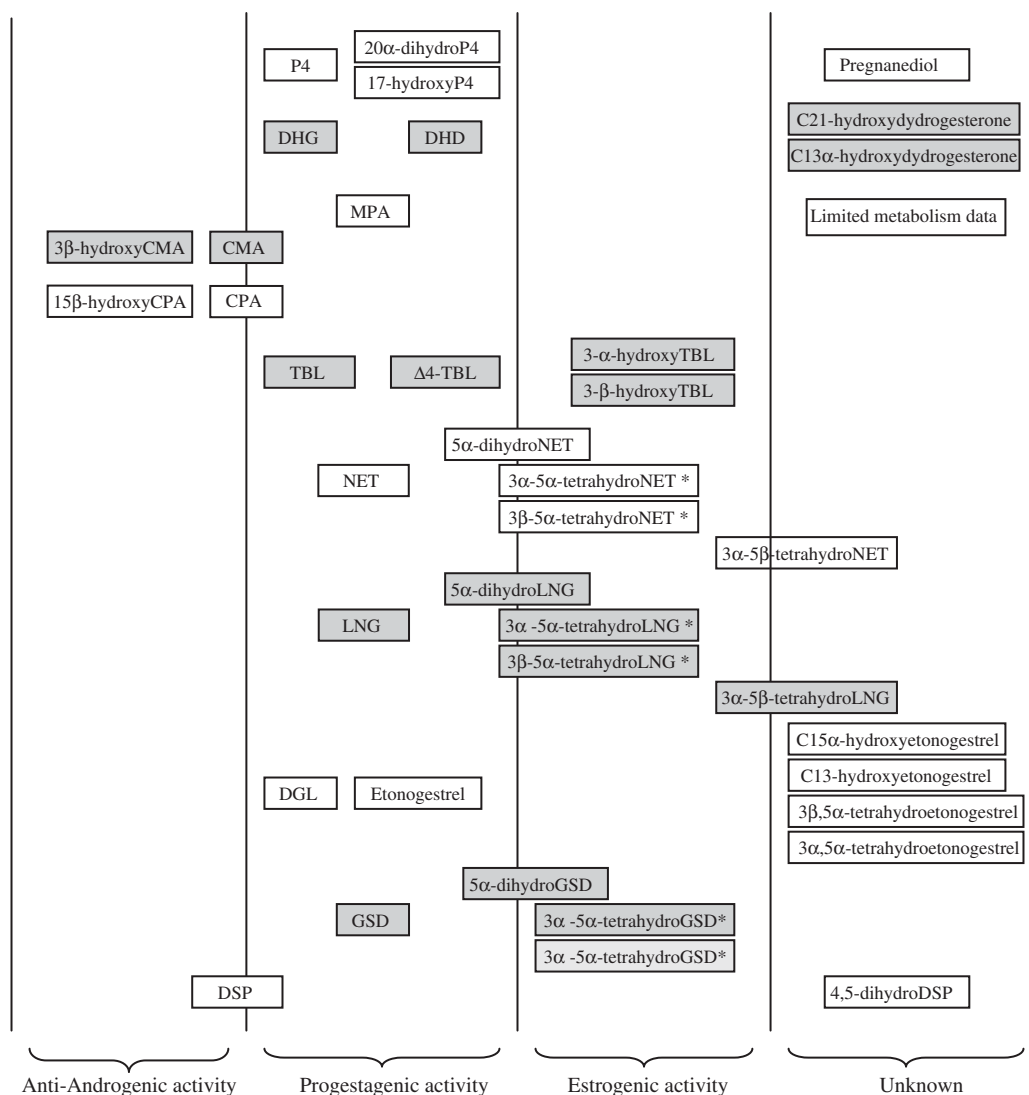


Fig. 3. Hazard classification for gestagens and their metabolites. Parent compounds and their metabolites are indicated on the same line with the same colour. Compounds astride two columns indicate that they have the two corresponding activities. For 3α-5β-tetrahydroLNG and 3α-5β-tetrahydroNET, there is a need to confirm the estrogenic activity. *: *In vitro* metabolite; P4: progesterone; DHG: dydrogesterone; MPA: medroxyprogesterone acetate; CMA: chlormadinone acetate; TBL: tibolone; NET: norethisterone; LNG: levonorgestrel; DGL: desogestrel; GSD: gestodene; DSP: drospirenone. Note: This classification, based on biological activities observed in mammals, is therefore limited to fishes and possibly to invertebrates that display similar receptors than those found in mammals.

the risk posed by progestagenic activity could be mainly related to the mixture of gestagens and their metabolites.

A very recent study (Van Der Linden, 2008) used several modified CALUX assays to detect hormonal activities in water samples. These authors showed that there were multiple hormonal activities in effluent samples. Progestagenic activity was found in only half of the samples, whereas estrogenic activity and glucocorticoid activity was found in all the samples. Higher progestagenic activity was found in an industrial effluent sample than in municipal effluents, suggesting that the contribution of gestagens used by humans to the aquatic contamination is not the major one. No activity was found in paper mill effluent, whereas a previous study (Jenkins et al., 2003) detected natural progesterone in sediment and surface waters exposed to paper mill effluent in concentrations 100 times higher than at a reference site. No progestagenic activity was found in hospital effluents, perhaps because most of the progestagen consumption is used for hormone replacement therapy or contraceptives and is therefore used outside hospitals. Nevertheless, P4 has been found in hospital WWTPs (Pauwels et al., 2008).

PR activity was only found in a small stream but not in river waters (Van Der Linden, 2008). This result suggests the absence or at least very low concentrations of gestagens in surface waters. There is a need for more studies since this result may stem from several factors: i) the low half-life for gestagens, as has been shown for P4 (Labadie and Budzinski, 2005b); ii) the sorption of gestagens in sediment or suspended matter (López de Alda et al., 2002; Esperanza et al., 2007); and iii), a lack of sensitivity of the ER CALUX assay. The reference compound used was org2058, reported to be 13 times more potent than progesterone in this assay. Given that most gestagen metabolites have a progestagenic activity similar to or lower than progesterone (Appendix B), it is possible that the use of org2058 as the reference compound is not sensitive enough to detect an environmental progestagenic activity.

5.4.2. Estrogenic activity

Progestins derived from testosterone appear to transform into tetrahydroderivatives, which present an estrogenic activity. This had been shown *in vitro* for GSD (Larrea et al., 2001; Lemus et al., 2000), NET (Larrea et al., 2001) and LNG, although there are some

contradictory results on this last molecule (García-Becerra et al., 2002; Lemus et al., 1992). The 3 β -5 α -tetrahydroderivatives from NET, GES and LNG have been shown to bind with the α subunit of the ER and displayed *in vitro* transcriptional activities through the ER α equivalent to about 90% of that of estradiol for tetrahydro-NET and tetrahydro-GES (Larrea et al., 2001) and equivalent to about 80% for tetrahydro-LNG. Such derivatives are structurally close to ethinylestradiol (Appendix A). Dihydroderivatives also display, but to a lesser extent, an estrogenic activity through ER α (Larrea et al., 2001; García-Becerra et al., 2002). Moreover, TBL is metabolized into two main metabolites that are known to exhibit estrogenic activity: 3 α and 3 β -hydroxy-TBL (Schindler et al., 2003; Rozenbaum, 2001). Therefore, there is evidence that some gestagen metabolites could act as estrogenic compounds in the aquatic environment. The environmental risk of estrogenic disruption remains putative as *in vivo* human tetrahydro-isomers (3 α -5 β , major isomer) are different from those that have been tested *in vitro* (3 β -5 α form). Since there can be differences in the estrogenic activity of isomers (Larrea et al., 2001; Lemus et al., 2000), there is a need to clearly assess the estrogenic activity of 3 α -5 β -tetrahydroderivatives. Nevertheless, since NES and GES are reported to have estrogenic activity (Table 1), there is strong evidence that their metabolites display this activity.

As discussed above, concentrations of these metabolites entering the aquatic environment could be higher than those of parent compounds; therefore, there is a potential risk of estrogenic activity. They have a similar mode of action to estrogen: consequently, tetrahydroderivatives and to a lesser extent, dihydroderivative metabolites from progestins derived from testosterone are likely to contribute to an estrogenic risk for the aquatic environment, by cumulative effect with each other and/or with other natural or xenoestrogens such as ethinylestradiol.

5.4.3. Anti-androgenic activity

A risk of anti-androgenic activity cannot be excluded. CPA, CMA and DSP are progestins that have an anti-androgenic activity. Hydroxylated metabolites of CPA and CMA are reported to be anti-androgenic as well, so there is a possibility that the mixture of these molecules is present in the aquatic environment in sufficiently high concentrations to elicit anti-androgenic responses in non-target organisms. Exposure of snails to nominal concentrations of 1.25 mg/l of CPA resulted in reduced length of male sex organs (Tillmann et al., 2001); however, the authors concluded that anti-androgens could be of lesser concern for snails compared with estrogens and androgens. The results of a study on exposure of Japanese medaka to anti-androgens (Kiparissis et al., 2003) concluded that CPA had the potential to alter testicular development and gametogenesis in fish. However, tested concentrations were in the $\mu\text{g l}^{-1}$ range, higher than what is expected in the aquatic environment for CPA. In a 7-day experiment, exposure of fish to 250 ng l $^{-1}$ CPA resulted in decreasing circulating levels of estradiol and testosterone (Sharpe et al., 2004). In the same study, a significant decrease in plasma testosterone levels in males exposed to 100 ng l $^{-1}$ and 10 ng l $^{-1}$ in females was observed after 14 days. Vitellogenin plasma levels were not affected by CPA exposure at the tested concentrations. Since the excretion fraction of unchanged CPA are reported to range from 5 to 20% (Appendix B), the influent PEC ranges from 10 to 40 ng l $^{-1}$, a comparable concentration that elicited effects in fish. Concentrations of CPA in surface waters could be lower, depending on WWTP removal rates and degradation time. On the other hand, other anti-androgenic compounds such as CMA and hydroxylated metabolites of CMA and CPA could act additively. There is a potential risk of anti-androgenic activity related to gestagens, although there is a need for more studies.

5.5. Selection of relevant gestagens according to the environmental concern

In previous work on pharmaceuticals (Besse and Garric, 2008), a prioritization was conducted in order to identify the compounds of high concern for the environment. The prioritization strategy previously implemented was not applicable to gestagens mainly because of the lack of a reliable excretion fraction. Theoretically, it could be possible to rank gestagens and their metabolites by comparing their consumption amounts and their relative binding affinities to PR and ER, but even in this case, the available data are too limited and heterogeneous to classify them accurately.

Nevertheless, it is possible to target a few compounds for which occurrence studies and ecotoxicological assays should be implemented firstly, to assess the risk of endocrine disruption, in accordance with each respective type of risk (i.e., progestagenic, estrogenic and anti-androgenic). This risk of endocrine disruption for aquatic species is based on the biological activity observed in mammals, therefore, it is limited to fishes and possibly to invertebrates that display similar steroid receptors than in mammals.

MPA is the parent progestin that has been found in the highest amounts (Kolodziej et al., 2003); therefore, other occurrence and toxicity studies should be directed toward MPA.

Occurrence studies should also be conducted on DHG, which is the third-ranked molecule in terms of consumption amounts (Table 5). As DHG is mainly metabolized in the active DHD, occurrence studies should also investigate this last molecule.

Tetrahydro-metabolites of LNG, GSD and NET, and the metabolites of TBL, are likely to exert an estrogenic activity. Since GSD is used in low amounts (Table 5), concentrations of this compound and its metabolites entering the environment are expected to be negligible. On the contrary, occurrence and ecotoxicological studies should focus on 3 α ,5 β tetrahydro-metabolites of LNG and NET and on 3 α hydroxylated metabolite of TBL.

CPA, CMA and their hydroxy metabolites should be tested for occurrence and toxicity because they display a significant anti-androgenic activity.

Given that pregnanediol could be excreted in significant amounts, it should be tested for ecotoxicity and occurrence.

Finally, for all the molecules cited above, degradation studies are needed to determine their removal rates in WWTPs and their fate in the aquatic environment (sorption to sediment and degradation time).

6. Conclusion

This study was the first one conducted on the environmental risk of gestagens used by humans. Although it was not possible to conclude on the environmental risk due to limited data on the fate of these molecules, it was possible to assess the hazard and the biological effects of gestagens and their metabolites and also to target relevant metabolites for further studies. The following conclusions, which remain to be confirmed, can be drawn.

- Synthetic progestins are expected to be found in effluent samples and possibly in surface waters, mainly as metabolites, in concentrations possibly in the ng l $^{-1}$ and even the 100 ng l $^{-1}$ range.
- Residual parent compounds and some active metabolites with progestagenic activity could interfere with spawning behavior in fish.
- Metabolites of progestins derived from nortestosterone can act as estrogenic compounds and therefore may act additively with other xenoestrogens such as ethinylestradiol.
- Some progestins such as chlormadinone acetate and cyproterone acetate and their metabolites have anti-androgenic properties and may pose a risk for aquatic species.

- Taken separately, progestins might not present a risk for the aquatic environment; however, since they are expected to be found in the environment as mixtures, there is a risk of additive or even synergistic effects.

Therefore, as several other authors (Sumpter, 2005; Johnson et al., 2008), we consider that synthetic gestagens merit more attention than they have received to date. There is a need to conduct other studies to clearly assess the risk for the aquatic environment, notably occurrence studies and ecotoxicological assays for metabolites and degradation tests for some parent gestagens and metabolites.

Acknowledgments

The authors wish to thank the AFSSAPS (Houeto Paul, Cavalié Philippe, Rouleau Alice and Castot Anne), for kindly share of consumption data of pharmaceuticals.

Appendix. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found in the online version, at doi:10.1016/j.envpol.2009.06.012.

References

- AFSSAPS, 2006. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (French Medical Product Safety Agency). Personal communication.
- Barry, T.P., Santos, A.J.G., Furukawa, K., Aida, K., Hanyu, I., 1990. Steroid profiles during spawning in male common carp. *Gen. Comp. Endocrinol.* 80, 223–231.
- BCB, 2008. Banque Claude Bernard. Available at: <http://www.resip.fr>.
- Besse, J.-P., Garric, J., 2008. Human pharmaceuticals in surface waters. Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. *Toxicol. Lett.* 176, 104–123.
- Besse, J.-P., Kausch-Barreto, C., Garric, J., 2008. Exposure assessment of pharmaceuticals and their metabolites in the aquatic environment: application to the French situation and preliminary prioritization. *J. Hum. Ecol. Risk Assess.* 14, 665–695.
- BIAM, 2006. Banque de données automatisée sur les médicaments. <http://www.biam2.org>.
- Chang, H., Wu, S., Hu, J., Asami, M., Kunikane, S., 2008. Trace analysis of androgens and progestogens in environmental waters by ultra-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1195, 44–51.
- Colborn, T., Vom Saal, F.S., Soto, A.M., 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ. Health Perspec.* 101, 378–384.
- D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., Mancini, R., Mastropasqua, R., Nazzari, M., Samperi, R., 2003. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Sci. Total Environ.* 302, 199–209.
- Daughton, C.G., 2003. Cradle-to-cradle stewardship of drugs for minimizing their environmental disposition while promoting human health. I. Rational for and avenues toward a green pharmacy. *Environ. Health Perspec.* 111, 757–774.
- Drugdex®, 2008. Thomson Micromedex®. Healthcare series. <http://www.micromedex.com/products/drugdex/> (last accessed November, 2008).
- Drugs.com, 2006. Prescription drug information, side effects, interactions. Available at: <http://www.drugs.com>.
- Esperanza, M., Suidan, M.T., Marfil-Vega, R., Gonzalez, C., Sorial, G.A., McCauley, P., Brenner, R., 2007. Fate of sex hormones in two pilot-scale municipal wastewater treatment plants: conventional treatment. *Chemosphere* 66, 1535–1544.
- García-Becerra, R., Borja-Cacho, E., Cooney, A.J., Jackson, K.J., Lemus, A.E., Peçrez-Palacios, G., Larrea, F., 2002. The intrinsic transcriptional estrogenic activity of a non-phenolic derivative of levonorgestrel is mediated via the estrogen receptor- α . *J. Steroid. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 82, 333–341.
- Goto, T., Hiromi, J., 2003. Toxicity of 17 α -ethynylestradiol and norethindrone, constituents of an oral contraceptive pill to the swimming and reproduction of cladoceran *Daphnia magna*, with special reference to their synergistic effect. *Marine Poll. Bull.* 47, 139–142.
- Grady, H.J., Elliott, W.H., Doisy Jr., E.A., Bocklage, B.C., Doisy, E.A., 1952. Synthesis and metabolic studies of Progesterone-21-C¹⁴. *J. Biol. Chem.* 195, 755–762.
- Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Holten-Lützhøft, H.C., Jørgensen, S.E., 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review. *Chemosphere* 36, 357–393.
- Hardman, J.G., Limbird, L.E., Molinoff, P.S., Ruddon, R.W., Goodman, A.G. (Eds.), 1996. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, ninth ed. McGraw-Hill Professional, New York, NY.
- Huschek, G., Hansen, P.D., Maurer, H.H., Kregel, D., Kayser, A., 2004. Environmental risk assessment of medicinal products for human use according to European Commission recommendations. *Environ. Toxicol.* 19, 226–240.
- Jamin, C., 2003. Comment Classer Les Progestatifs En 2003? XXIVèmes Journées AFEM. Available at: <http://www.menopauseafem.com/doc/ppt/528.ppt>.
- Jenkins, R.L., Wilson, E.M., Angus, R.A., Howell, W.M., Kirk, M., 2003. Androstenedione and progesterone in the sediment of a river receiving paper mill effluent. *Toxicol. Sci.* 73, 53–59.
- Johnson, A.C., Ternes, T., Williams, R.J., Sumpter, J.P., 2008. Assessing the concentrations of polar organic microcontaminants from point sources in the aquatic environment: measure or model? *Environ. Sci. Technol.* 42, 5390–5399.
- Jukosky, J.A., Watzin, M.C., Leiter, J.C., 2008. Elevated concentrations of ethinylestradiol, 17 β -estradiol, and medroxyprogesterone have little effect on reproduction and survival of *Ceriodaphnia dubia*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 81, 230–235.
- Jürgens, M.D., Holthaus, K.I.E., Johnson, A.C., Smith, J.J.L., Hetheridge, M., Williams, R.J., 2002. The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in English rivers. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 480–488.
- Kashian, D.R., Dodson, S.I., 2004. Effects of vertebrate hormones on development and sex determination in *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 1282–1288.
- Kiparissis, Y., Metcalfe, T.L., Balch, G.C., Metcalfe, C.D., 2003. Effects of the anti-androgens, vinclozolin and cyproterone acetate on gonadal development in the Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicol.* 63, 391–403.
- Kobayashi, M., Sorensen, P.W., Stacey, N.E., 2002. Hormonal and pheromonal control of spawning behavior in the goldfish. *Fish. Physiol. Biochem.* 26, 71–84.
- Kolodziej, E.P., Gray, J.L., Sedlak, D.L., 2003. Quantification of steroid hormones with pheromonal properties in municipal wastewater effluent. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 2622–2629.
- Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T., 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1202–1211.
- Kuch, H.M., Ballschmiter, K., 2000. Determination of endogenous and exogenous estrogens in effluents from sewage treatment plants at the ng/L-level. *Fresenius J. Anal. Chem.* 366, 392–395.
- Kuhl, H., 1996. Comparative pharmacology of newer progestogens. *Drugs* 51, 188–215.
- Kümmerer, K., 2004. *Kümmerer, Pharmaceuticals in the Environment*, second ed. Springer-Verlag.
- Labadie, P., Budzinski, H., 2005a. Determination of steroidal hormone profiles along the Jalle d'Eysines River (near Bordeaux, France). *Environ. Sci. Technol.* 39, 5113–5120.
- Labadie, P., Budzinski, H., 2005b. Development of an analytical procedure for determination of selected estrogens and progestagens in water samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 381, 1199–1205.
- Larrea, F., García-Becerra, R., Lemus, A.E., García, G.A., Peçrez-Palacios, G., Jackson, K.J., Coleman, K.M., Dace, R., Smith, C.L., Cooney, A.J., 2001. A-ring reduced metabolites of 19-nor synthetic progestins as subtype selective agonists for Er α . *Endocrinology* 142, 3791–3799.
- Lemus, A.E., Vilchis, F., Damsky, R., Chavez, B.A., García, G.A., Grillasca, I., Perez-Palacios, G., 1992. Mechanism of action of levonorgestrel: in vitro metabolism and specific interactions with steroid receptors in target organs. *J. Steroid. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 41, 881–890.
- Lemus, A.E., Zaga, V., Santillañ, R., García, G.A., Grillasca, I., Damián-Matsumura, P., Jackson, K.J., Cooney, A.J., Larrea, F., Peçrez-Palacios, G., 2000. The estrogenic effects of gestodene, a potent contraceptive progestin, are mediated by its A-ring reduced metabolites. *J. Endocrinol.* 165, 693–702.
- López de Alda, M.J., Gil, A., Paz, E., Barceló, D., 2002. Occurrence and analysis of estrogens and progestagens in river sediments by liquid chromatography–electrospray-mass spectrometry. *Analyst* 127, 1299–1304.
- Lutes, P.B., 1983. Oocyte maturation in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*: some mechanisms and applications. *Environ. Biol. Fish.* 14, 87–92.
- Panter, G.H., Thompson, R.S., Beresford, N., Sumpter, J.P., 1999. Transformation of a non-estrogenic steroid metabolite to an estrogenically active substance by minimal bacterial activity. *Chemosphere* 38, 3579–3596.
- Pauwels, B., Noppe, H., De Brabander, H., Verstraete, W., 2008. Comparison of steroid hormone concentrations in domestic and hospital wastewater treatment plants. *J. Environ. Eng.* 134, 933–936.
- Petrovic, M., Solé, M., López de Alda, M.J., Barceló, D., 2002. Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 2146–2156.
- Pharmacorama, 2008. Pharmacorama, connaissance des médicaments. Available at: www.pharmacorama.com.
- Pinter, J., Thomas, P., 1995. Characterization of a progestogen receptor in the ovary of the spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*. *Biol. Reprod.* 52, 667–675.
- Pinter, J., Thomas, P., 1999. Induction of ovulation of mature oocytes by the maturation-inducing steroid 17,20 β ,21-trihydroxy-4-pregnen-3-one in the spotted seatrout. *Gen. Comp. Endocrinol.* 115, 200–209.
- Rozenbaum, H., 2001. Les Progestatifs, second ed. ESKA, Paris.
- Schindler, A.E., Campagnoli, C., Druckmann, R., Huber, J., Pasqualini, J.R., Schweppe, K.W., Thijssen, J.H.H., 2003. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 46 (Suppl. 1), S7–S16.
- Scott, A.P., Sumpter, J.P., Hardiman, P.A., 1983. Hormone changes during ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Gen. Comp. Endocrinol.* 49, 128–134.
- Sharpe, R.L., MacLachy, D.L., Courtenay, S.C., Van Der Kraak, G.J., 2004. Effects of a model androgen (methyl testosterone) and a model anti-androgen (cyproterone acetate) on reproductive endocrine endpoints in a short-term adult mummichog (*Fundulus heteroclitus*) bioassay. *Aquatic Tox.* 67, 203–215.
- Sitruk-Ware, R., 2006. New progestagens for contraceptive use. *Hum. Reprod. Update.* 12, 169–178.

- Solé, M., De Alda, M.J.L., Castillo, M., Porte, C., Ladegaard-Pedersen, K., Barceló, D., 2000. Estrogenicity determination in sewage treatment plants and surface waters from the catalonian area (NE Spain). *Environ. Sci. Technol.* 34, 5076–5083.
- Sommerville, I.F., Marrian, G.F., 1950. Urinary excretion of Pregnanediol* in human subjects following the administration of Progesterone and of Pregnane-3 α :20 α -diol. *Biochem. J.* 46, 255–289. Available at: www.biochemj.org/bj/046/0285/0460285.pdf.
- Sorensen, P.W., Hara, T.J., Stacey, N.E., Dulka, J.G., 1990. Extreme olfactory specificity of male goldfish to the preovulatory steroidal pheromone 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one. *J. Comp. Physiol. Sens. Neural. Behav. Physiol. A* 166, 373–383.
- Stanczyk, F.Z., 1996. Introduction: structure–function relationships, metabolism, pharmacokinetics and potency of progestins. *Drug. Today* 32 (Suppl. H), 1–14.
- Stanczyk, F.Z., 2003. All progestins are not created equal. *Steroids* 68, 879–890.
- Stanczyk, F.Z., Roy, S., 1990. Metabolism of levonorgestrel, norethindrone, and structurally related contraceptive steroids. *Contraception* 42, 67–96.
- Sumpter, J.P., 2005. Endocrine disrupters in the aquatic environment: an overview. *Acta Hydrochem. Hydrobiol.* 33, 9–16.
- Sweetman, S. (Ed), 2002. *Martindale, The Complete Drug Reference*, 33 ed. Pharmaceutical Press, Great Britain.
- Ternes, T.A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res.* 32, 3245–3260.
- Ternes, T.A., Kreckel, P., Mueller, J., 1999. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Sci. Total Environ.* 225, 91–99.
- Tillmann, M., Schulte-Oehlmann, U., Duft, M., Markert, B., Oehlmann, J., 2001. Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part III: cyproterone acetate and vinclozolin as antiandrogens. *Ecotoxicology* 10, 373–388.
- Todo, T., Ikeuchi, T., Kobayashi, T., Kajiura-Kobayashi, H., Suzuki, K., Yoshikuni, M., Yamauchi, K., Nagahama, Y., 2000. Characterization of a testicular 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (a spermiation-inducing steroid in fish) receptor from a teleost, Japanese eel (*Anguilla japonica*). *FEBS Lett.* 465, 12–17.
- Truscott, B., So, Y.P., Nagler, J.J., Idler, D.R., 1992. Steroids involved with final oocyte maturation in the winter flounder. *J. Steroid. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 42, 351–356.
- Van Der Linden, S.C., Heringa, M.B., Man, H.-Y., Sonneveld, E., Puijker, L.M., Brouwer, A., Van Der Burg, B., 2008. Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays. *Environ. Sci. Technol.* 42, 5814–5820.
- Venkatesh, B., Tan, C.H., Lam, T.J., 1991. Progestins and cortisol delay while estradiol-17 β induces early parturition in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 83, 297–305.
- Verhoeven, C.H.J., Gloude-mans, R.H.M., Peeters, P.A.M., Van, J.J., Verheggen, F.T.M., Groothuis, G.M.M., Rietjens, I.M.C.M., Vos, R.M.E., 2001. Excretion and metabolism of desogestrel in healthy postmenopausal women. *J. Steroid. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 78, 471–480.
- Vos, R.M.E., Krebbers, S.F.M., Verhoeven, C.H.J., Delbressine, L.P.C., 2002. The in vivo human metabolism of tibolone. *Drug Metab. Dispos.* 30, 106–112.
- Vulliet, E., Wiest, L., Baudot, R., Grenier-Loustalot, M.-F., 2008. Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and ground-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1210, 84–91.
- Ying, G.-G., Kookana, R.S., Dillon, P., 2003. Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material. *Water Res.* 37, 3785–3791.
- Zhu, Y., Bond, J., Thomas, P., 2003. Identification, classification, and partial characterization of genes in humans and other vertebrates homologous to a fish membrane progesterin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 2237–2242.

4.3. Principaux résultats

4.3.1. Identification de métabolites humains d'intérêt

Bien que la pertinence des PEC soit limitée par le manque de données sur le métabolisme et le devenir dans l'environnement (dégradation dans les STEP, demi-vie...), il a été possible d'identifier des molécules parentes et des métabolites susceptibles de contaminer les effluents de STEP et les eaux de surface et dresser ainsi une « cartographie » des progestatifs d'intérêt pour le milieu aquatique pouvant servir de base à des études d'occurrence et/ou de toxicité futures.

4.3.2. Evaluation de l'effet

De manière assez surprenante, les effets biologiques escomptés ne se limitent pas à une activité progestative et anti-androgénique mais sont également de nature estrogénique. Cette activité biologique semble être spécifique des progestatifs dérivés de la testostérone dont font partie la noréthisterone et le levonorgestrel, qui sont les deux progestatifs les plus utilisés en contraception orale.

Les données d'effets sur des organismes aquatiques sont très restreintes, et il n'est pas possible de conclure sur le risque posé par ces molécules. Une étude très récente (Zeilinger et al. 2009) confirme toutefois les effets des progestatifs à de faibles concentrations, de l'ordre des concentrations environnementales. Ainsi le levonorgestrel induit une inhibition de la reproduction chez le poisson dès une concentration d'exposition de 0.8 ng/l ; et les auteurs rapportent notamment une modification du comportement chez les poissons mâles ainsi que des changements morphologiques chez les femelles.

D'une manière générale, les effets de type perturbateurs endocriniens suivants sont à considérer (au moins sur les organismes présentant des récepteurs à ces molécules) :

- une activité progestative, les effets pouvant être additifs entre les différents progestatifs présents ;
- une activité estrogénique qui s'ajouterait à celles des autres xénoestrogènes dont l'éthinylestradiol et l'estradiol ;
- une activité anti-androgénique ;
- enfin, un effet de type phéromonal n'est pas à exclure à de très faibles concentrations (Kolodziej et al. 2003).

En conclusion, il est nécessaire de mieux évaluer les effets biologiques de cette classe de molécules.

4.3. Perspectives

En premier lieu, et compte-tenu des incertitudes existantes sur la dégradation dans l'environnement et les taux d'abattement dans les STEP des progestatifs, des mesures chimiques sur les composés parents et les métabolites humains les plus susceptibles de contaminer le milieu aquatique devraient être effectuées afin d'informer de manière précise sur le niveau de contamination. Dans un premier temps, des mesures chimiques en entrée et sortie de STEP (effluents et aval) pourraient porter sur les molécules suivantes :

- acétate de médroxyprogestérone,
- dihydrodrogestérone,
- pregnediol,
- 3 α ,5 β -tetrahydrométabolites du lévonorgestrel et de la noréthisterone ; ces dernières molécules n'étant peut-être pas disponible dans le commerce, il sera peut-être nécessaire de recourir à leur synthèse chimique.

En parallèle, à ces mesures chimiques, des essais de laboratoire en conditions contrôlées pourraient être menés afin d'évaluer les effets biologiques de ces molécules sur des organismes aquatiques (poissons et invertébrés). Des études évaluant l'effet à des concentrations très faibles (ng/l et inférieure) pourraient donner une première idée de l'existence et de l'intensité des effets de type phéromonal.

En ce qui concerne les invertébrés, ces molécules devraient être testées sur d'autres invertébrés que les cladocères (daphnie et céridaphnie) utilisés dans les tests standardisés, ceux-ci n'étant pas sensible aux estrogènes et aux progestatifs (Jukovsky et al. 2008 ; Brennan et al. 2006 ; Kashian et Dodson 2004). Des espèces exprimant des récepteurs aux stéroïdes feraient de meilleurs organismes de test, par exemple les mollusques dont les stéroïdes endogènes sont chimiquement comparable à ceux des vertébrés et qui sont très utilisés pour évaluer les effets de perturbateurs endocriniens (Matthiessen 2008).

Enfin, plus que des essais sur des molécules isolées, des essais portant sur des mélanges de ces molécules devraient être mis en place, à des concentrations proches de celles mesurées ou estimées pour les eaux de surface, afin d'étudier :

- les risques d'addition ou de synergie d'effets entre des molécules présentant des mécanismes d'action semblables (exposition à plusieurs progestatifs) ;
- les interactions entre les différents stéroïdes (association estrogène et progestatif par exemple) ;
- la contribution des métabolites hydrogénés du levonorgestrel et de la norethistérone à l'effet estrogénique d'un mélange de xénoestrogènes ;
- ou encore l'exposition simultanée à un (ou plusieurs) progestatif et à des perturbateurs endocriniens non pharmaceutiques (pesticides ou antifongiques par exemple).

Chapitre 8.

Molécules anticancéreuses cytotoxiques

1. Introduction	195
1.1. Rappel.....	195
1.2. Les différentes classes d'anticancéreux	195
2. Evaluation de l'exposition pour les cytotoxiques	197
2.1. Calcul des PEC	197
2.2. Comparaison avec les valeurs mesurées	197
2.3. Conclusion pour l'évaluation de l'exposition	197
3. Evaluation du risque pour les cytotoxiques	197
4. Priorisation préliminaire	199
4.1. Revue des molécules parentes	199
4.2. Métabolites des cytotoxiques.....	201
4.3. Liste finale	201
5. Discussion	203
6.1. Rejet des médicaments anticancéreux dans l'environnement.....	203
6.2. Evaluation du risque des médicaments anticancéreux	204

1. Introduction

1.1. Rappel

Une substance cytotoxique (également appelée anticancéreuse, antinéoplasique ou antitumorale) peut être définie comme une substance toxique qui va détruire sélectivement les cellules malignes. Ces substances présentent un mécanisme d'action bien différent des autres molécules pharmaceutiques dans la mesure où elles sont développées pour détruire des cellules ou perturber des signaux métaboliques plutôt que de les réguler.

En raison de leurs mécanismes d'action particuliers mais également de leurs propriétés carcinogènes, mutagènes et tératogènes, elles peuvent représenter un risque spécifique pour l'environnement, et sont susceptibles d'exercer des effets néfastes sur tout organisme eucaryote (Johnson et al. 2008a). Il est donc nécessaire d'identifier si ces molécules sont susceptibles d'exercer une pression sur les écosystèmes aquatiques.

1.2. Les différentes classes d'anticancéreux

Les anticancéreux sont regroupés dans la classe ATC L01. Une classification des anticancéreux, basée sur la structure chimique des molécules et leur mécanisme d'action, distingue 2 grands groupes d'anticancéreux, les cytotoxiques et les cytostatiques.

1.2.1 Les cytotoxiques

Les cytotoxiques proprement dits sont des anticancéreux qui provoquent des altérations métaboliques et morphologiques de la cellule conduisant à sa mort. On distingue deux types de molécules, d'une part les molécules ayant une interaction directe avec l'ADN dont :

- les alkylants, molécules possédant un ou plusieurs groupements très nucléophiles qui se lient à l'ADN et en inhibent la transcription ou provoquent des cassures ;
- les dérivés du platine, qui inhibent la replication de l'ADN en se liant à lui ;
- les agents intercalants, qui agissent par cassure simple brin de l'ADN ;

et d'autre part, les molécules ayant une interaction indirecte avec l'ADN dont :

- les antimétabolites, analogues structuraux des bases puriques et pyrimidiques ou de l'acide folique, qui bloquent l'activité enzymatique et inhibent la synthèse de l'ADN ;
- les poisons du fuseau mitotique qui empêchent la formation du fuseau mitotique en division et bloquent donc la replication de la cellule ;
- les inducteurs ou stabilisants de lésions de l'ADN (inhibiteurs des Topoisomérases).

1.2.2. Les cytostatiques

Les cytostatiques sont des anticancéreux qui agissent par blocage du cycle d'évolution naturelle de la cellule, notamment en empêchant la fixation sur la cellule tumorale des facteurs de croissance (protéines de régulation), en particulier les tyrosines-kinases, protéines impliquées dans la régulation de nombreux processus biologiques comme la croissance, la différenciation, la migration ou la survie des cellules. On retrouve principalement parmi les cytostatiques deux classes de molécules :

- les anticorps monoclonaux, anticorps spécifiques de protéines présentes à la surface des cellules malignes qui vont bloquer les récepteurs extracellulaires ;
- les anti-tyrosine-kinases proprement dits.

NB : Par souci de simplification, nous emploierons dans la suite du manuscrit le terme générique de cytotoxique pour désigner l'ensemble des molécules traitées.

Molécule	Echantillon	Concentration (ng/l)	Références
Cyclophosphamide	eau de surface	< LOQ - 64,8	Moldovan 2006
	eau de surface	nd	Metcalfe et al. 2003
	effluent de STEP	0,6 (md)	Zuccato et al. 2005
	eau de surface	nd	
	effluent d'hôpital	20 - 4500	
	influent de STEP	nd - 143	Steger-Hartmann et al. 1996
	effluent de STEP	nd - 17	
	influent de STEP	nd	Kanda et al. 2003
	effluent de STEP	nd	
Ifosfamide	eau de surface	0.05 - 0.17	Buerge et al. 2006
	effluent d'hôpital	nd - 1914 (md = 109)	Kümerer et al. 1997
	effluent de STEP	nd - 40	
	effluent de STEP	nd (md) - 2900 (max)	Ternes 1998
	eau de surface	nd (md) - 20 (max)	
eau de surface	< 0.05 - 0.14	Buerge et al. 2006	
Daunorubicine	effluent d'hôpital	260 - 1350	
Doxorubicine	effluent d'hôpital	nd	Mahnik et al. 2004
Epirubicine	effluent d'hôpital	nd	
Méthotrexate	eau de surface	nd	Zuccato et al. 2005
Bléomycine	influent de STEP	15,8 (m)	Aherne et al. 1990
	eau de surface	8,5 (m)	
Fluorouracile	effluent d'hôpital	nd	Tauxe-Wuersh et al. 2006
	effluent de STEP	nd	
	effluent d'hôpital	< 8600 - 124000	Mahnik et al. 2004

Tableau 11 : Concentrations en agents anticancéreux cytotoxiques mesurées dans divers échantillons environnementaux (effluents hospitaliers, entrée et sortie de STEP, et eaux de surface).

m : moyenne.

md : médiane.

nd : non détecté.

LOQ : limite de quantification.

Molécule	Organisme	Critère	Valeur	Concentration (mg/l)	Références
Méthotrexate	<i>V.fischerii</i>	luminescence	CE ₅₀	1220	Henschel et al. 1997
	<i>S.subspicatus</i>	croissance	CE ₅₀ 72 h	260	
	<i>T. pyriformis</i>	croissance	CE ₅₀ 48 h	45	
	<i>D. magna</i>	immobilisation	CE ₅₀ 48 h	> 1000	
	<i>B. rerio</i>	survie	CE ₅₀ 96 h	85	
	<i>X. laevis</i>	croissance	CE ₅₀ 96 h	0.015	
Fluorouracile	<i>V. fischerii</i>	luminescence	CE ₁₀	0.122	Backhaus et al. 1999
	<i>P. promelas</i>	croissance	LOEC 120 h	20	De young et al. 1996
Cladribine	<i>D. magna</i>	immobilisation	CE ₅₀ 48 h	233	FDA 1996
Paclitaxel	<i>D. magna</i>	immobilisation	CE ₅₀ 48 h	> 0.74	FDA 1996
Thiotepa	<i>D. magna</i>	immobilisation	CE ₅₀ 48 h	546	FDA 1996

Tableau 12 : Valeurs d'écotoxicité retrouvées pour les anticancéreux cytotoxiques.

2. Evaluation de l'exposition pour les cytotoxiques

2.1. Calcul des PEC

Sur la base de l'Equation 3, des valeurs de PEC ont été déterminées pour l'ensemble des anticancéreux utilisés en France. Les valeurs calculées sont présentées en annexe G pour les années 2004 et 2008. Les PEC calculées ici sont conservatives car ne tenant pas compte du métabolisme.

Les valeurs calculées sont très faibles dans la majorité des cas. Seules 4 molécules présentent des PEC supérieures à 10 ng/l : ce sont l'hydroxycarbamide, la capecitabine, le fluorouracile et l'imatinib. 19 molécules affichent des valeurs comprises entre 1 et 10 ng/l, ce sont la gemcitabine, le cyclophosphamide, l'estrémustine, le mitotane, l'erlotinib, la cytarabine, le lapatinib, l'ifosfamide, la mercaptopurine, le bevacizumab, le carboplatine, le méthotrexate, le rituximab, le pipobroman, le nilotinib, le trastuzumab, le cetuximab, la temozolomide et l'irinotecan. Toutes les autres molécules ont des PEC inférieures au ng/l. D'une manière générale, près de la moitié des molécules anticancéreuses présentent des PEC très faibles, inférieures à 0.1 ng/l.

2.2. Comparaison avec les valeurs mesurées

Seul un petit nombre de molécules de type cytotoxique ont été recherchées et/ou détectées dans le milieu aquatique (Tableau 11). Les concentrations sont généralement faibles, de l'ordre du ng/l, et souvent en dessous des seuils de détection. Dans certains cas, notamment dans les effluents hospitaliers, ces concentrations peuvent atteindre des valeurs maximales de quelques µg/l. Les valeurs mesurées apparaissent cohérentes avec les valeurs calculées. Si le métabolisme et les taux d'abattement dans les STEP avaient été pris en compte dans les calculs, les valeurs calculées seraient probablement en dessous des valeurs mesurées mais *a priori* toujours dans le même ordre de grandeur. Seules les concentrations mesurées pour la bléomycine (Aherne et al. 1990) sont très au dessus des valeurs calculées : deux ordres de grandeur plus élevées.

2.3. Conclusion pour l'évaluation de l'exposition

Du point de vue de l'exposition, le risque lié à la majorité des molécules anticancéreuses est limité. Les concentrations attendues dans le milieu aquatique sont très faibles, ce qui est confirmé par les valeurs mesurées dans l'environnement. Beaucoup de molécules, environ les trois-quarts, affichent des PEC inférieures au ng/l. Compte tenu du fait que ni le métabolisme ni les taux d'abattement dans les STEP ne sont pris en compte dans le calcul de ces valeurs, les concentrations réelles dans le milieu seront certainement encore plus faibles.

Les concentrations mesurées dans les effluents de STEP (à l'exception des valeurs maximales relevées par Ternes 1998) et dans les eaux de surface sont également très faibles. Toutefois, celles-ci peuvent atteindre des niveaux plus importants dans les effluents hospitaliers, jusqu'à quelques µg/l ; dans ce cas, l'exposition pourrait être suffisante pour poser un risque à proximité immédiate des rejets des hôpitaux.

3. Evaluation du risque pour les cytotoxiques

Les données écotoxicologiques sur les organismes aquatiques sont rapportées dans le Tableau 12. Elles sont extrêmement limitées dans le cas des anticancéreux. La revue de Fent et al. (2006a) qui porte sur l'écotoxicité des composés pharmaceutiques, au demeurant très complète, ne rapporte qu'une seule donnée de toxicité aiguë pour un composé : le méthotrexate.

Molécule	TOTAL (kg) 2008	PEC conservative (ng/l)	Fexcreta	PEC tenant compte du métabolisme (ng/l)	Evolution 2008 / 2004
Hydroxycarbamide	6838.63	156.13	0.5	78.1	1.19
Capecitabine	5134.94	117.24	0.03	3.52	1.96
Fluorouracile	1733.20	39.57	0.2 ^a	7.91	1.03
Imatinib	873.90	19.95	0.25	5	1.50
Gemcitabine	379.28	8.66	0.1	0.87	1.12
Cyclophosphamide	305.73	6.98	> 0.25	> 1.75	1.08
Estramustine	287.62	6.57	-	-	0.74
Mitotane	233.75	5.34	0.6	3,20	2.44
Erlotinib	148.85	3.40	-	-	-
Cytarabine	133.59	3.05	< 0.1	< 0.31	1.14
Lapatinib	116.20	2.65	-	-	-
Ifosfamide	103.04	2.35	0.6	1,41	0.85
Mercaptopurine	94.84	2.17	0.07	0.15	0.93
Bevacizumab	87.12	1.99	-	-	-
Carboplatine	83.59	1.91	1	1.91	1.30
Methotrexate	74.73	1.71	0.9	1.54	0.64
Rituximab	72.08	1.65	-	-	2.22
Pipobroman	66.93	1.53	-	-	1.06
Nilotinib	58.71	1.34	0.7	0.94	-
Trastuzumab	56.01	1.28	-	-	3.72
Cetuximab	55.03	1.26	-	-	7.45
Temozolomide	53.54	1.22	-	-	1.83
Irinotecan	46.58	1.06	-	-	1.37

Tableau 13 : Valeurs de PEC affinées par le métabolisme pour les anticancéreux traités dans la démarche de priorisation.

a : valeur de Fexcreta prenant en compte la fraction de capecitabine excrétée sous forme de fluorouracile.

Un rapport réalisé par plusieurs équipes Danoises (Agence Danoise pour l'Environnement 2006) ne rapporte également que peu de données qui sont difficilement exploitables : uniquement treize valeurs aiguës (dont trois sont des valeurs calculées par QSAR), toutes supérieures au mg/l ; et une seule valeur chronique pour le fulorouracile.

Enfin, une étude de la génotoxicité *in vitro* de 5 cytotoxiques (Zounkovà et al. 2007) rapporte des concentrations minimales effectives assez élevées, allant de la dizaine de µg/l à la centaine de mg/l.

Ces données écotoxicologiques sont inexploitable pour dériver des PNEC. Il n'est donc pas possible de conclure sur le risque lié à la présence des cytotoxiques dans le milieu aquatique.

4. Priorisation préliminaire

4.1. Revue des molécules parentes

Les données écotoxicologiques étant limitées, il n'est pas possible de recourir à une démarche de type quotient de risque. Par ailleurs, compte tenu des propriétés spécifiques et des mécanismes d'action de ces molécules, il n'est pas non plus possible de recourir à une méthodologie de priorisation par expertise, telle que celle présentée dans le chapitre 5. Par conséquent, seule une priorisation préliminaire des anticancéreux cytotoxiques basée sur l'exposition et les données de métabolisme disponibles est réalisable et présentée ici.

Les PEC calculées à partir des données de consommation fournies par l'AFSSAPS montrent qu'un nombre important de molécules ont des PEC inférieures à 1 ng/l. Ces PEC surestiment les concentrations réelles dans l'environnement dans la mesure où ni le métabolisme ni les taux d'abattement dans les STEP ne sont pris en compte. Nous considérons que les molécules présentant une PEC inférieure au ng/l sont exclues *a priori* de la liste des molécules prioritaires.

Concernant les molécules avec une PEC supérieure à 1 ng/l, les données de métabolisme ont été revues de manière exhaustive et des PEC plus précises calculées (Tableau 13). Sur cette base, les remarques suivantes peuvent être dégagées :

L'hydroxycarbamide (hydroxyurée) est le composé qui présente la PEC la plus élevée. Il s'agit d'une molécule presque exclusivement délivrée dans les officines de ville. Les données de métabolisme rapportent que 50% de l'hydroxycarbamide sont éliminés inchangés dans les urines, ce qui donne une PEC d'environ 78 ng/l. Cette molécule présentant les concentrations attendues les plus importantes dans le milieu, nous la considérons comme prioritaire.

La capecitabine est la seconde molécule utilisée en terme de quantité. Les données de métabolisme indiquent que 95% de la dose est éliminée dans les urines et seulement 3% sous forme inchangée. La plupart des métabolites sont inactifs à l'exception du 5-fluorouracile qui est également utilisé comme anticancéreux. Malgré sa forte métabolisation, sa PEC finale est de 3.5 ng/l ; ce composé est également retenu comme prioritaire.

Le fluorouracile est le troisième composé en terme de quantité. Les données de métabolisme indiquent que la majeure partie de la dose est éliminée *via* les poumons (60 à 80%), et que moins de 10% de la molécule est éliminée inchangée dans les urines. A ces 10% pourraient s'ajouter la fraction de capecitabine transformée et excrétée sous forme de fluorouracile (environ 10% supplémentaires), qui donne une PEC de 8 ng/l, supérieure aux concentrations mesurées dans les eaux. Nous considérons cette molécule comme prioritaire mais des investigations supplémentaires (présence dans les effluents de STEP et les eaux de surface) doivent être menées.

Molécule	Classe d'anticancéreux	Valeur de PEC (ng/l)	Actions requises
Hydroxycarbamide	-	78	
Fluorouracile	antimétabolite	7.9	
Imatinib	inhibiteur des protéines kinases	5	
Capecitabine	précurseur du fluorouracile	3.5	confirmer la présence environnementale, développer des essais écotoxicologiques chroniques
Mitotane		3.2	
Cyclophosphamide	agent alkylant	> 1.75	
Methotrexate	antimétabolite	1.5	
Ifosfamide	agent alkylant	1.4	

Tableau 14 : Liste indicative des anticancéreux cytotoxiques à rechercher dans l'environnement et à évaluer pour leur écotoxicité.

L'imatinib est le quatrième composé consommé en terme de quantité au niveau national. Les données de métabolisme indiquent qu'environ 25% de la molécule sont retrouvés inchangés dans les urines, ce qui conduit à une PEC d'environ 5 ng/l. La PEC est faible mais elle est toutefois supérieure au ng/l. Nous conservons cette molécule comme prioritaire. Comme précédemment, il sera nécessaire de confirmer sa présence dans l'environnement.

Le cyclophosphamide et *l'ifosfamide* ont déjà été retrouvées dans les eaux de surface. Les PEC tenant compte du métabolisme pour ces deux molécules sont de l'ordre de grandeur des valeurs retrouvées dans les eaux de surface, 1.75 ng/l pour le cyclophosphamide et 1.4 ng/l pour l'ifosfamide. Ces deux molécules ayant déjà été retrouvées dans l'environnement, nous les considérons comme prioritaires.

Le méthotrexate est très peu métabolisé : 60 à 80% de la molécule sont excrétés inchangés dans les urines, ce qui conduit à une PEC approximative de 1.5 ng/l. Cependant Zuccato et al. (2005) n'ont pas retrouvé de méthotrexate dans les eaux de surface en Italie. En France, aucune étude d'occurrence n'a été menée. D'autre part, l'utilisation du méthotrexate en France a diminué depuis 2004 de près de 40% (Tableau 21, annexe G). Par précaution, nous considérons cette molécule comme prioritaire mais sa présence environnementale doit être confirmée, et la baisse de son utilisation prise en compte.

La gemcitabine est fortement métabolisée en dérivé ne présentant pas d'activité, seul 10% de cette molécule sont excrétés sous forme inchangée dans les urines. La PEC de cette molécule étant donc inférieure au ng/l, nous ne considérons pas cette molécule comme prioritaire.

L'etoposide présentait une PEC d'environ 3 ng/l en 2004, depuis, son utilisation a diminué et sa PEC tombe en dessous du ng/l. Cette molécule que nous avions à l'origine considérée comme prioritaire (Besse et Garric 2007) ne l'est plus aujourd'hui.

La cytarabine ; moins de 10% sont excrétés sous forme inchangée dans les urines, ce qui fait chuter sa PEC à moins de 0.3 ng/l. En conséquence, cette molécule n'est pas considérée comme prioritaire

La mercaptopurine n'est excrétée qu'à hauteur de 7% sous forme inchangée dans les urines. Les autres métabolites sont rapportés comme étant inactifs. Les concentrations attendues étant inférieures au ng/l, nous ne retenons pas cette molécule comme prioritaire.

Le mitotane, est excrété jusque à 60% sous forme inchangée dans les fèces. Sa PEC est de 3 ng/l. De plus, sa consommation a plus que doublé depuis 2004, par conséquent, nous considérons cette molécule comme prioritaire.

Pour les autres molécules dont la PEC est supérieure au ng/l, les données de métabolisme sont trop limitées pour permettre de conclure.

4.2. Métabolites des cytotoxiques

Le métabolisme des anticancéreux est complexe et conduit à la formation de multiples métabolites actifs et inactifs (Tableau 22, annexe G). Les données disponibles sont trop limitées, en termes quantitatifs, pour permettre de faire des pronostics sur la présence et les effets biologiques des métabolites dans le milieu récepteur. Pour les métabolites, il n'est pas possible de conclure.

4.3. Liste finale

Une liste de molécules anticancéreuses prioritaires et à évaluer pour leur risque est donnée dans le Tableau 14 avec les valeurs de PEC correspondantes. Cette liste ne doit être considérée que comme indicative dans la mesure où aucune donnée écotoxicologique n'est disponible.

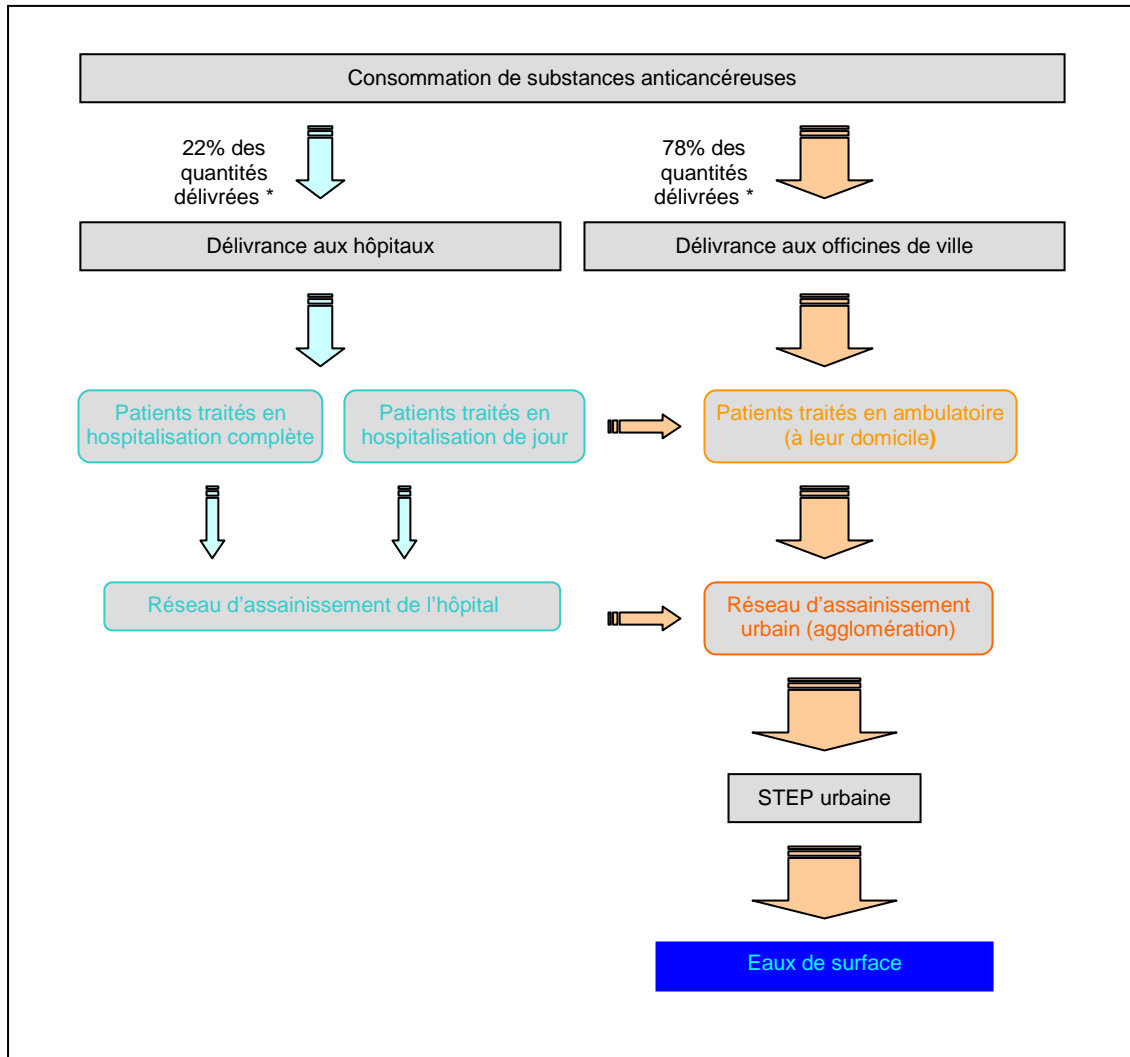


Figure 9 : Circuit des molécules anticancéreuses depuis leur délivrance jusqu'à leur rejet dans le milieu récepteur.

* sur la base des données fournies par l'AFSSAPS (AFSSAPS 2009).

5. Discussion

5.1. Rejet des médicaments anticancéreux dans l'environnement

5.1.1. Exploitation des données de consommation nationales

Les données fournies par l'AFSSAPS, permettent de suivre l'évolution des consommations entre les années 2004 et 2008, et également de suivre l'évolution de la répartition des ventes des cytotoxiques (Tableau 20, annexe G) entre les hôpitaux et les officines de ville. Suite à la sortie des médicaments cytotoxiques de la réserve hospitalière, sortie initiée en 2004, et au développement des hospitalisations à domicile, plusieurs molécules anticancéreuses initialement réservées à l'usage hospitalier peuvent désormais être délivrées en officine, ce qui se traduit par une évolution des voies d'entrées des cytotoxiques dans l'environnement.

Si l'on étudie la répartition de la consommation à l'officine et à l'hôpital, on constate une nette évolution des profils de consommation. En terme de quantité, en 2004, 81% des molécules cytotoxiques étaient délivrés en milieu hospitalier (sans tenir compte de l'hydroxycarbamide ; cette proportion tombant à 47% si l'on tient compte de cette molécule) alors qu'en 2008, cette proportion n'est plus que 34.8% (22.1% avec l'hydroxycarbamide).

5.1.2. Exploitation des données de consommation locales

Les données de consommation fournies par le Centre Léon Bérard (CLB) permettent d'étudier la répartition de la consommation dans un établissement hospitalier en fonction du type d'hospitalisation : hospitalisation complète et hôpital de jour (Tableau 23, annexe G).

Le type d'hospitalisation influe sur la voie d'entrée de ces molécules dans le réseau d'assainissement. Ainsi les molécules consommées par les patients lors d'une hospitalisation complète se retrouvent directement dans les effluents du CLB avant d'être diluées dans les eaux usées et de rejoindre les STEP. Les molécules consommées en hospitalisation de jour sont quand à elles consommées à hauteur de 20% au CLB et sont éliminées avec les évacuations du centre (Jean-François Latour, communication personnelle) ; les 80% restant sont consommés par les patients à leur domicile et se retrouvent dans les eaux usées de manière diffuse sur l'ensemble de l'agglomération Lyonnaise avant de gagner également les STEP. En définitive, en 2005, un peu plus de 40% de l'utilisation des anticancéreux délivrés au CLB ne se fait pas sur place et n'est pas rejetée avec les effluents du centre.

5.1.3. Voies d'entrée des cytotoxiques dans l'environnement

Les données de l'AFSSAPS et celles du CLB montrent qu'en terme de quantité, les effluents hospitaliers ne représentent plus nécessairement la principale source de rejet de molécules cytotoxiques. La sortie de la réserve hospitalière de plusieurs produits et le développement croissant de l'hospitalisation à domicile font que la fraction de médicaments directement évacuée avec les effluents hospitaliers diminue progressivement.

Si les effluents hospitaliers restent le point d'entrée privilégié dans le réseau d'assainissement urbain des molécules dont l'usage est réservé à l'hôpital, le principal point d'entrée des anticancéreux dans les eaux de surface (rivières) reste la STEP (Figure 9) :

- d'une part, les résidus des molécules consommées en ambulatoire sont rejetés de manière diffuse sur l'ensemble du réseau d'assainissement dont les eaux usées sont collectées au niveau de la STEP urbaine ;
- d'autre part, les effluents des établissements hospitaliers sont directement reliés au réseau d'assainissement urbain et donc se retrouvent également au niveau des STEP urbaines, d'où ils peuvent contaminer le milieu récepteur.

5.2. Evaluation du risque des médicaments anticancéreux

Compte tenu du faible nombre de données d'occurrence disponibles et des très faibles niveaux de concentration rapportés pour les cytotoxiques, il est nécessaire de confirmer leur présence dans l'environnement aquatique, une telle démarche risquant d'être confrontée à des problèmes d'ordre analytique puisque pour le plupart des molécules, les concentrations attendues sont inférieures au ng/l.

A l'heure actuelle, on ne sait rien des possibles effets liés à l'exposition chronique des organismes aquatiques à de très faibles niveaux de concentration en anticancéreux, on ne peut donc pas conclure sur le risque que posent ces molécules, ce qui rejoint les conclusions émises par Johnson et al. (2008a) ; le risque aigu étant, comme pour les autres classes médicamenteuses, négligeable.

Pour avoir une idée du risque que peuvent présenter les cytotoxiques, il serait nécessaire de réaliser des essais écotoxicologiques chroniques pour évaluer les effets à long terme de ces composés. Encore une fois, ce sont les effets liés à l'exposition à un mélange de plusieurs molécules, chacune à des concentrations très faibles, de l'ordre du ng/l, qu'il faut évaluer. Les essais sur molécules isolées, surtout si les gammes de concentrations sont très supérieures aux concentrations environnementales, n'apportant aucune information exploitable.

Les essais sur des mélanges pourraient être mis en place selon deux approches (ou selon une combinaison des deux) :

- une approche « environnementale » prenant en compte les molécules les plus présentes (ou les plus susceptibles d'être présentes) dans l'environnement ;
- une approche « pharmacologique » se basant sur les associations de molécules employées dans les traitements anticancéreux : les protocoles de chimiothérapie se basent souvent sur des combinaisons de plusieurs molécules jouant sur des mécanismes ou des cinétiques d'actions différents dans le but d'obtenir des effets additifs ou synergiques et d'améliorer le bénéfice thérapeutique. La prise en compte de ce type de démarche pourrait permettre la mise en place d'essais sur des mélanges pertinents.

5.3. Conclusion

L'état des connaissances sur la présence et les effets des anticancéreux cytotoxiques dans les eaux de surface est à l'heure actuelle insuffisant pour permettre de conclure. Ces substances ne sont escomptées être présentes qu'à de très faibles niveaux de concentrations dans le milieu mais la possibilité d'effets à long terme ne peut-être exclue. Des efforts devraient être fournis pour :

- mieux évaluer l'état de la contamination ;
- évaluer les effets de mélanges d'anticancéreux, à des concentrations d'exposition réalistes.

Chapitre 9.

Discussion sur les différents paramètres utilisés pour estimer l'exposition et les effets des médicaments sur les écosystèmes aquatiques d'eau douce

*Environmental risk assessment and prioritization strategies for human pharmaceuticals, review and discussion (Version non définitive). In B. Roig and E. Touraud, Eds, *Pharmaceutical in the Environment: current knowledge and need assessment to reduce presence and impact*. IWA Publishing, à paraître.*

Dans les chapitres précédents, nous avons défini, pour un peu plus de 300 molécules parentes et pour une cinquantaine de métabolites humains, des listes de molécules prioritaires, sur la base de critères d'exposition et d'effets, scientifiques et pragmatiques ; et nous avons également discuté de la pertinence et de la validité de certains de ces critères.

Dans ce chapitre, nous proposons une discussion de l'ensemble des méthodes et paramètres utilisés par les différentes équipes de chercheurs, pour évaluer l'exposition et les effets biologiques des substances pharmaceutiques dans les eaux de surface.

Cette discussion se présente en deux parties ; la première est consacrée aux paramètres, incertitudes et limites dans l'évaluation de l'exposition pour les substances pharmaceutiques, et aborde les notions suivantes :

- quantités consommées ;
- prise en compte de l'activité au travers de la DDD (Defined Daily Dose) ;
- incertitudes sur les quantités réellement consommées, liées à la non observance des patients et à la fraction non utilisée ;
- variation des quantités consommées au cours de l'année et en fonction de la zone géographique ;
- importance du métabolisme humain ;
- dégradation dans les STEP et comportement dans l'environnement des substances pharmaceutiques ;
- limites du calcul de l'exposition pour le compartiment sédimentaire ;
- intérêts et limites de l'utilisation de valeurs modélisées (biodégradation et dégradation dans les STEP) à l'aide des modèles de base.

La seconde partie est consacrée à l'évaluation de l'effet et traite du manque de données écotoxicologiques et du recours à divers paramètres pour estimer les effets biologiques des substances pharmaceutiques et définir un risque pour les organismes aquatiques :

- modélisation de la toxicité sur les organismes aquatiques par QSAR ;
- recours aux critères de Persistance, Biodégradabilité et Toxicité (PBT) tels que définis par la convention OSPAR ;
- potentiel de bioaccumulation ;
- utilisation des données pharmacologiques :
 - mécanisme d'action,
 - effets secondaires,
 - activité enzymatique,
 - concentrations thérapeutiques plasmatiques ;
- utilisation des approches évolutives pour identifier des cibles moléculaires communes aux médicaments entre l'homme et les organismes aquatiques.

Cette discussion est présentée sous la forme du second extrait du chapitre « *Environmental risk assessment and prioritization strategies for human pharmaceuticals, review and discussion* » extrait de l'ouvrage à paraître : « *Pharmaceutical in the Environment: current knowledge and need assessment to reduce presence and impact* ».

Discussion on effect and exposure assessment for pharmaceuticals

Several risk assessment and prioritization strategies have been conducted for the last ten years, especially in the last two years. Here are discussed the different methodologies and the perspectives given by these different works with regard to exposure and effect assessment.

1 Exposure assessment

Determining which compounds and in which concentrations they can reach the aquatic environment is obviously the first step of any ERA/prioritization strategy. To do so, a number of parameters are to be considered. Figure 3 summarizes the different factors that can modify the quantities of pharmaceuticals reaching wastewaters and surface waters.

1.1 Accuracy of PEC calculation for surface water with field measurements

Most of the conducted studies are based, for the exposure assessment, on the EMEA guideline. The exposure assessment for surface water seems to be quite well estimated. Comparison of PECs with field measurements is generally in good agreement, especially if we consider the simplicity of the models used and the remaining uncertainties. A number of authors agree with this conclusion (Bound and Voulvoulis 2006; Besse et al., 2008; Castiglioni et al., 2004; Huschek et al., 2004; Carlsson et al., 2006). Conversely, some other studies highlight the limits of such predictions at a local scale (Coetsier et al., 2009) or for specific pharmaceuticals (Siemens et al., 2008). Indeed, some uncertainties are to be taken into consideration in the assessment of the exposure, and are discussed below.

1.2 Parameters, uncertainties and limitations in the exposure assessment for surface water

Consumption amounts: In every study, the basis of the exposure assessment is the actual amounts of pharmaceuticals dispensed over a year. These actual amounts can be found in tonnage (kg), number of DDDs for every single active molecule, or even in terms of total dollar value of product sold; depending on the availability of the data.

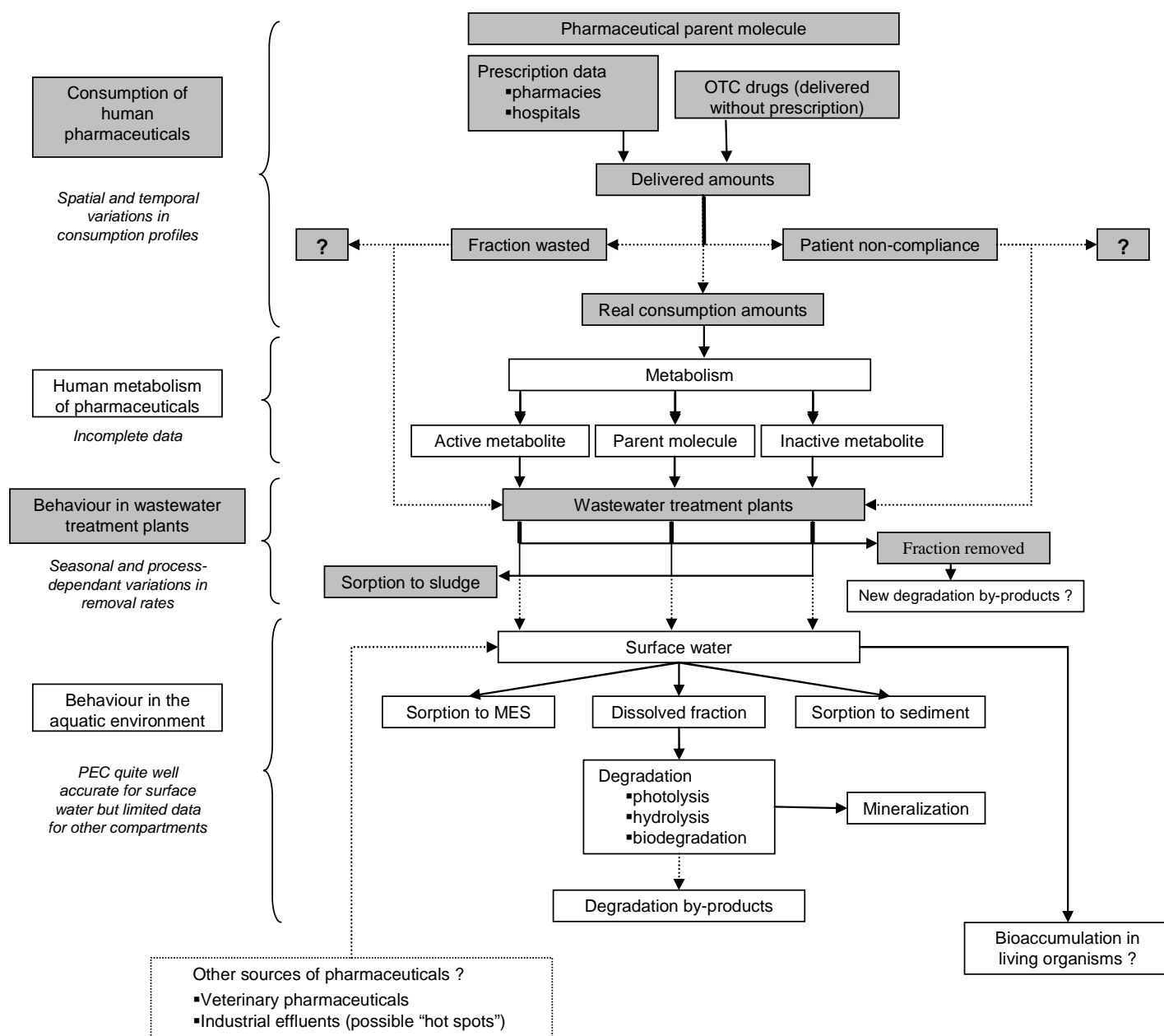


Figure 3 : Factors that can affect the quantities of pharmaceuticals reaching the aquatic environment.

About the consumption data, there is a need to carefully consider whether or not, the consumption amounts are based on prescription data only, or also include over-the-counter (OTC) drugs (drugs which are delivered without prescription) as this can lead to large discrepancies in the estimation of concentrations entering the environment.

Actual amounts in terms of tonnage are the most simple and direct to use, however, the availability of such data depends on the existence of regulatory agencies in a country and the possibility to share such data. It is to be noted that an assessment of pharmaceuticals based on

the most consumed pharmaceuticals in terms of tonnage can ignore molecules used in low tonnages but with a high activity and concern for the environment (as ethinylestradiol).

Consumption data can also be found in number of DDD. As it exist standardized DDD values (WHO, www.whooc.no/atcddd/indexdatabase) for each active molecule, it is possible to simply convert number of DDD in tonnage of active molecule. However, more than one DDD can be found for the same active substance, depending on the indication and way of administration. Therefore, there is a need to carefully choose the DDD value. One advantage of DDD is that it can be considered as representative of the activity of the molecule (Besse and Garric, 2008); number of DDDs can therefore be considered as a normalization of the quantity by the potency (with regard to the human situation) for an active molecule. Thus it gives the number of active doses that can reach the aquatic environment.

Moreover, considering numbers of DDD allow to take into account pharmaceuticals with low tonnage but high activity. As an example, ethinylestradiol which is consumed in low amounts due to its very low DDD (25 µg per day for contraception use) rises in the most consumed pharmaceuticals when numbers of DDDs are considered.

Finally, it should be considered that if consumption amounts are likely to correlate with environmental concentrations, it is not always the case as a number of parameters can modify environmental concentrations, e.g. human metabolism, STP removal, biodegradation and so on. Therefore, even if consumption is the basis of any exposure assessment, PEC calculations must not rely on this sole parameter.

Patient non-compliance / Wasted fractions of pharmaceuticals: Another major uncertainty remains on the quantity actually consumed by patients. Data provided by regulatory agencies give information on the quantities delivered in hospitals and pharmacies per year but cannot give any information on the patient compliance. Patient non-compliance can be quite large, and quantities actually consumed by people may be lower than the quantities delivered, especially for drugs which do not require medical prescription such as antiphlogistics and non-steroidal anti-inflammatories (Bound and Voulvoulis, 2006; Besse et al., 2008).

Furthermore, wasted fractions of pharmaceuticals can play a role in the environmental contamination by pharmaceuticals. The study of Kostich and Lazorchak (2008) is the only one which takes into account the disposal of unused medicines. Authors quote the fact that accounting for disposal is important, especially for pharmaceuticals where metabolic inactivation is nearly complete, as it can avoid the underestimation of PEC vales for such molecules. The study assumes three different values for wasted fraction, for short-term therapy,

long-term therapy and topical medicines, considered as conservative by the authors. It is to be noticed that all wasted fractions are assumed to reach wastewaters, which is a worst-case hypothesis and may not reflect the reality: indeed, in several countries measures are implemented to collect and reuse unused drugs, which therefore contribute to limit the environmental contamination.

Temporal and spatial variations in consumption: PEC values are generally calculated using national-scale human consumption data over 1 year, which give an average consumption for the year. Therefore neither spatial variations nor temporal variations can be taken into account.

Spatial variations can include specific local consumption of pharmaceuticals, which may differ from one region to another. Therefore calculated PECs with national consumption amounts may somewhat vary from local field measurement. Moreover, at a national scale, it should be considered that consumption profiles are likely to differ from a country to another. Therefore, a priority list implemented from a country should not automatically stand for another one.

Temporal variations especially concern pharmaceuticals used in acute treatments, such as antibiotics or antihistaminics : quantities consumed vary over the year and can present seasonal outbreaks. Consequently aquatic concentrations can change throughout the year. This has been recently shown for antihistaminics (Kosonen and Kronberg 2009). Finally, it should be considered that consumption of pharmaceuticals will also vary over years, as some new marketed drugs take over from more ancient ones; PECs, ERAs and priority lists have therefore to be updated accordingly and regularly.

Metabolism of pharmaceuticals: Human metabolism is an important step which must be taken into account for several reasons:

1. Metabolism is the primary transformation and inactivation process that undergo pharmaceuticals; therefore, metabolism can lead to drastically reduced amounts of parent pharmaceuticals reaching wastewaters.
2. Metabolism can give rise to new molecules that have can be of environmental concern if excreted in significant amounts.
3. Parent compounds and active metabolites with the same MoA are likely to act additively.

Some suggestions have been made in order to include metabolites in ERA procedures (Besse et al., 2008):

- Metabolites should be considered for ERA, unless they are excreted at low rates. Because it is not possible to propose a threshold excretion value using available data (metabolism, occurrence, and ecotoxicity), a threshold value of 10% could be assumed, which is the value proposed by the EMEA (EMEA 2006) to assess the relevance of a metabolic fraction of a pharmaceutical compound.
- Active metabolites with the same mechanism of action than parent compounds should be considered when implementing ERA for pharmaceuticals: PEC of active metabolites should be added to PEC of parent compounds when assessing the environmental risk.
- Metabolites (pharmacologically active or not) with an excretion fraction greater than the parent compound should be considered relevant for the aquatic environment.

Moreover, it should be noted that activity of a metabolite is generally considered according to its activity in mammals and especially humans (i.e. pharmacological activity). However the fact that a metabolite is “pharmacologically inactive” does not necessarily mean that such a compound has no effects on non-target aquatic organisms. Therefore, and because there are no data on the toxicity of pharmacologically inactive metabolites on such organisms, metabolites should be considered on a case-by case approach considering the amount of parent compound and their excretion fraction.

Metabolism data are generally available for pharmaceuticals; however, data can be scarce and incomplete, which sometimes hinder the calculation of reliable excretion rates values (Besse et al, 2008; Huschek et al., 2004).

Industrial sources of pharmaceuticals: The large majority of studies focus on environmental contamination through STP and originating from human consumption. However, other sources of contamination such as industrial effluents (production facilities and conditioning facilities) should be considered: such sources could result in hot spots of contamination and therefore increase environmental concentrations at a local scale. A study on pharmaceuticals occurrence in STP effluent serving about 90 bulk drug manufacturers in India revealed extremely high levels of drugs: from 90 µg/L for ranitidin up to 31 mg/L for ciprofloxacin (Larsson et al., 2007).

Veterinary pharmaceuticals: As some pharmaceutical compounds are used both in human and veterinary medicine, there are still uncertainties about the actual amounts of pharmaceuticals reaching surface waters. This is particularly the case for antibiotic and antiprotozoal compounds. Theoretically, including veterinary consumption is likely to ensure a more comprehensive PEC. However, routes of administration and ways of reaching the aquatic environment differ between veterinary and human pharmaceuticals (Besse et al., 2008); therefore, specific methodologies for assessing exposure for veterinary compounds are needed. Several studies have focused on these latter compounds (Kools et al., 2008; Capleton et al., 2006; Boxall et al., 2003).

Removal in STPs: Uncertainties also lie in the removal rates of pharmaceuticals in STPs. Review of available data shows that existing values are scarce and that there is a high heterogeneity in removal rates. STP efficiency toward pharmaceuticals can be influenced by the season (Castiglioni et al. 2006), and also by the processes used (Miège et al., 2008), therefore leading to varying surface water concentrations among the year. As most of the values reported in the literature are “snapshots” removal rates, i.e. generally based on a grab or 24h composite sample, and with regard to a specific season and STP process, it is difficult to obtain universal values to include in PEC calculations. The extensive review of Onesios et al. (2008) on STP removal rates for pharmaceuticals is a good example of the variability of such measured rates.

Finally, results of a study (Yu et al., 2006) on 12 pharmaceuticals belonging to different therapeutical classes suggested that the extents of removals were highly variable and could not be correlated to drug classification or structure.

Degradation of pharmaceuticals in the environment: Abiotic and biotic degradation processes that can occur in surface waters are also important factors to consider. Like human metabolism, such processes are able to modify environmental concentrations and/or lead to the formation of by-products of potential concern. As an example, it has been shown that some photodegradation metabolites could be more toxic than the parent compounds (Isidori et al. 2006; 2005; DellaGreca et al., 2004).

Abiotic processes are reported to be most important ones (Fent et al. 2006). Photolysis and hydrolysis were suggested to be rapid ways of removal of amoxicillin in the environment (Andreozzi et al. 2004). This statement was supported by the fact that amoxicillin was only detected in surface waters at low levels (Zuccato et al. 2005; Paffoni et al. 2006). The β -blocker

propranolol was reported to be rapidly photodegraded and therefore was not expected to be persistent in surface waters (Qin-Tao and Williams 2007).

Conversely, results from a study assessing the biodegradability of pharmaceuticals in batch experiments (Yu et al., 2006) showed that if abiotic degradation was low, biotic degradation for some pharmaceuticals was important (for aerobic biodegradation experiments of selected pharmaceuticals, 8 of the 12 drugs tested exhibited a biotransformation rate greater than 80% after 50 days of incubation).

On the other hand, most of the pharmaceuticals are continuously released in the environment. This fact could balance the environmental degradation processes in the environment, therefore some authors have suggested that pharmaceuticals should be considered as “pseudo-persistent” contaminants, due to this continuous release (Daughton and Ternes 1999). Moreover, some pharmaceuticals such as carbamazepine are known to persist in surface waters.

Default values used in PEC calculation: Other great uncertainties lie in the default values proposed by the model used to calculate PECs, such as volume of wastewater and dilution factor used in the EMEA guideline. As an example for France, the default value for quantities of effluent is set to $200 \text{ L.inhab}^{-1}.\text{day}^{-1}$ which is a mean value that can be accepted at the national scale. However, for some specific regions, this value may drop to $150 \text{ L.inhab}^{-1}.\text{day}^{-1}$ or even lower; resulting in higher PEC values. Moreover, dilution factor from STP to surface waters is often set at a default value (10) which is not representative for local specifications. To this extent, PEC values calculated for the STP effluents are more reliable than surface water PECs (Besse et al., 2008). This was recently highlighted in the study of Coetsier et al. (2009): if the authors found a good agreement between predicted and measured concentrations in STP effluent, not such a good match was observed for surface waters.

1.3 Calculation of PEC for other compartments (sludge and sediment)

PECs are often calculated for surface waters but more rarely for sewage sludge, suspended matter or sediment. (Stuer-lauridsen et al., 2000 ; Jones et al., 2002). In their risk assessment for pharmaceuticals, Stuer-lauridsen et al. (2000) calculated predicted concentrations for sludge using estimated and calculated K_d (partition coefficient). Results showed that there were large differences (several orders of magnitude) in the values of PEC depending on the way of calculation and the K_d value (Table 10).

To our knowledge, no PEC calculation has been conducted for water sediment. This is a gap as some pharmaceuticals can be found in sediment. (Feitosa-Felizzola and Chiron, 2009; Petrovic et al., 2002; Daughton and Ternes, 1999).

Table 10. Predicted concentration in sludge based on estimated and experimental Kd (Stuer-lauridsen et al., 2000).

Predicted concentration in sludge based on estimated and experimental Kd (µg/kg)			
	Kd estimated from Kow	Kd estimated from Dow	experimental Kd
Furosemide	150	0,012	1470
Ibuprofen	34210	180	20330
Oxytetracycline	0.026	-	1990
Ciprofloxacin	0.00095	-	130

1.4. Use of calculated and modelled values to assess the environmental behaviour of pharmaceuticals

Modelled biodegradation of pharmaceuticals: Relative biodegradabilities of chemicals can be predicted using softwares such as the BIOWIN program (USEPA). This program was reported to have shown positive results for predicting biodegradability for some antibiotics and pharmaceuticals (Boethling et al., 2004): readily biodegradable nature of about 60 pharmaceuticals has been shown to be predicted with BIOWIN submodels 5 and 6 with reasonable accuracy (respectively 83 and 87%).

Conversely, another study (Yu et al., 2006) reported inconsistencies between predicted and experimental results (batch experiments). Two submodels of the BIOWIN software (1 and 2) tended to overestimate biodegradability while the remaining two submodels (5 and 6) tended to underestimate it. Author concluded that within the different submodels used by BIOWIN, the non-linear one (submodel 2) seemed to correspond better with the experimental data.

Modelled removal rates in STP: Existing measured removal rates still concern a limited number of pharmaceuticals, therefore modelled values can be used as a surrogate. A number of studies have used modelling software such as STPWIN from the USEPA (Jones et al., 2002) or Simple treat, recommended by EMEA guideline (Carlsson et al., 2006), to predict removal rates in STP for pharmaceuticals.

In their study, Jones et al. (2008) used the worst-case STPwin model which assumes no biodegradation in STP. Results from table 11 show that such a worst-case scenario largely underestimates removal rates in STP.

For a few compounds, we run the STPWIN software to compare mean and maximal measured removal rates (data from Miège et al., 2008) observed for some pharmaceuticals with modelled values. Results (Table 11) show that there are inconsistencies between modelled and measured values, especially for antibiotics. It is probable that STPWIN can make reasonable predictions for pharmaceuticals within the applicability of the models used, and less reasonable or wrong predictions for compounds which fall outwith the domain of the models.

Table 11. Comparison of measured removal rates and modelled values from STPWIN for some pharmaceuticals.

Name	Measured removal rates ^{a,b}				modelled removal rates ^{a,c}			
	Mean	SD ^d	n	Max	assuming no biodegradation		assuming biodegradation	
					total ^e	bio ^f	total ^e	bio ^f
17 α -ethinylestradiol	68	22.33	46	98	17.51	0.22	31.23	15.24
Aspirin	83	2.12	2	84	1.91	0.09	92.11	91.74
Atenolol	8	4.35	29	10	1.85	0.09	21.99	20.54
Azithromycin	47	0.00	6	47	30.99	0.33	30.99	0.33
Carbamazepine	9	8.91	42	53	2.96	0.1	24.51	22.09
Ciprofloxacin	73	13.98	16	81	1.85	0.09	8.79	7.13
Clarithromycin	45	0.00	6	45	7.3	0.14	7.3	0.14
Diclofenac	32	19.14	79	80	56.55	0.53	86.57	46.94
Ibuprofen	74	28.58	125	100	28.72	0.31	94.93	80.36
Ketoprofen	38	25.67	70	100	6.85	0.13	82.89	79.26
Metoprolol	10	14.42	30	83	2.15	0.09	22.67	20.96
Naproxen	76	16.66	68	98	7.55	0.14	83.68	79.66
Roxithromycin	37	9.03	3	44	4.05	0.11	4.05	3.94
Sulfamethoxazole	59	21.99	6	96	1.88	0.09	22.05	20.55
Trimethoprim	16	20.33	35	83	1.88	0.09	8.83	7.15

^a All values are given as % of removal rates.

^b All measured data are taken from Miège et al. (2008).

^c All calculations were run with default treatment system properties.

^d SD: standard deviation.

^e total modelled removal rate (biodegradation and sludge adsorption).

^f proportion of the compound's biodegradation in STP.

NB: it is not the aim of the authors to judge or make an appraisal of modelling softwares. However, we consider that modelled results have to be considered carefully for pharmaceuticals and especially that expert judgement is required to ascertain if models are appropriate in this case.

Use of Kow to assess partition to sludge and sediment: Partition is generally assessed by the Koc coefficient, as experimental values of Koc are scarce. However, as Kd (or Koc) modelling is mainly based on the Kow, such estimated values may be inaccurate in the case of pharmaceuticals. As quoted by several authors (Fent et al., 2006; Wells, 2006; Tolls 2001), Kow may not be an accurate descriptor of the environmental behavior (sorption and bioaccumulation) of pharmaceuticals in the environment. As the majority of pharmaceuticals are polar ionisable compounds, the assumption that only the hydrophobic sorption performed by uncharged molecules is significant in the environment, may be the exception rather than the rule. For ionisable compounds, a correction of the Kow by the pKa (i.e. Dow) is recommended (Stuer-Lauridsen et al., 2000; Wells 2006), however, even in this case, there is a need to assess logDow accuracy as a descriptor of pharmaceuticals environmental behaviour.

Use of pharmacological data to assess the environmental behaviour of pharmaceuticals: As Kd / Koc values are lacking, some authors have investigated alternative ways to assess the environmental behaviour of pharmaceuticals. As the pharmacokinetic behavior of pharmaceuticals is influenced by the same parameters that can modify environmental behavior such as pH and pKa, it makes sense to draw a parallel between pharmacokinetic and environmental criteria. Williams et al. (2006) studied the correlation between the environmental partitioning coefficient Kd and the distribution volume Vd, which measures the distribution of a pharmaceutical within the body. Results from this study suggest that pharmacokinetic parameters could be helpful to estimate environmental behaviour for pharmaceuticals.

2 Effect assessment

The environmental effects for human pharmaceuticals are much more difficult to assess than the environmental exposure. The different parameters and approaches used to assess the environmental effects of pharmaceuticals are depicted below. Table 12 summarizes the main parameters considered in the different assessment strategies.

2.1 Ecotoxicological data

Experimental data: To assess the risk for the aquatic environment, the most classical approach is to calculate PEC/PNEC risk quotients.

Data	Strategy	Criteria	Commentary ^a	Reference
Ecotoxicological data	Experimental data	Acute tests	Some data are available, but the acute risk for pharmaceuticals is negligible. Can be used to derive chronic PNEC values but relevance is questionable.	Besse et al., 2008; Carlsson et al., 2006; Jones et al., 2002 ; Stuer- lauridsen et al., 2000
		Chronic tests	The more representative of aquatic hazard for pharmaceuticals but data are lacking.	
	QSAR modelling	ECOSAR parameters	Predict acute toxicity and do not take into account specific mechanism of action (only account for baseline toxicity). May not be accurate for pharmaceuticals.	Sanderson et al., 2004a,b; Cooper et al., 2008; Madden et al., 2009
		Lipophilicity	Take into account and add the toxic potential of parent drug and metabolites in the PNEC calculation. Predict acute and baseline toxicity.	
	OSPAR dynamec	Persistence	Based on experimental data or BIOWIN model. Modelled values remain to be investigated for accuracy.	www.janusinfo.se; van wezel and Jager (2002)
		Bioaccumulation	Only a few measured values of BCF are available. Use of Kow to estimate bioaccumulation may be inaccurate for pharmaceuticals.	
		Toxicity	Based on acute data or chronic ecotoxicological data.	
	Calculated values	Bioaccumulation	Bioaccumulation is a potential risk due to continuous exposure to pharmaceuticals. Only a few measured values of BCF are available. Relevance of calculated values based on log Dow needs to be investigated.	Jean 2008

Table 12: Review of existing strategies for assessing the biological effects of pharmaceuticals on aquatic species.

Data	Strategy	Criteria	Commentary ^a	Reference
Pharmacological data	Human and mammalian data ^b	Mechanism of action (MoA)	Can give information on biological effects and toxicity when some similar MoA are identified in human and aquatic species.	Besse and Garric, 2008
		CYP 450 modulation	CYP 450 modulation can interfere with homeostatis in no-target species.	
		P-gp modulation	P-gp modulation can result in enhance sensitivity of organism to environmental pollutants.	
		Human side effects	Can help to understand some observed toxic effect in non-target species.	
		Therapeutic plasma concentration	Proposed to estimate response in fish. Relevance of this criteria needs to be better investigated.	Huggett et al., 2003, Kostich and Lazorchak, 2008
	For antimicrobials, suggested to estimate the response in aquatic organisms (other than microbes).		Kostich and Lazorchak, 2008	
Antimicrobial sensitivity ^b	Inhibitory concentration for antibiotics	Can provide information on environmental effects of antibacterial pharmaceuticals (antimicrobial resistance and growth inhibition of beneficial microbes).	Kostich and Lazorchak 2008	
Other data	Evolutionary approach	Conservation of human drug targets in aquatic organisms	Can provide indication on pharmaceuticals molecular targets and taxa of concern, Can be used to assess relevance of ecotoxicological data and to select relevant species for bioassays.	Kostich and Lazorchak 2008; Gunnarsson et al., 2008

Table 12. Review of existing strategies for assessing the biological effects of pharmaceuticals on aquatic species (continued).

^a commentaries reflect the point of view of the authors of the current chapter.

^b accuracy of pharmacological data for the assessment of pharmaceuticals are to be more investigated.

The EMEA guideline describes the way to calculate PNEC values; this approach is similar to that proposed by the European TGD (EU 2003). Unlike TGD, the EMEA guideline (EMEA 2006) enforces the use of chronic toxicity data and requires long-term NOEC for the base set (i.e. three NOEC values from three different trophic levels, applying an assessment factor of 10 to the lowest value). Nevertheless, only very few compounds bring together the conditions required by the EMEA guideline.

Extensive review of available ecotoxicity data already exist (Crane et al., 2006; Fent et al., 2006), but what such reviews show above all is that ecotoxicological data are still limited, therefore precluding the calculation of risk quotients. Indeed the lack of chronic ecotoxicological data has been clearly highlighted by the several risk assessment and prioritization strategies implemented for the last ten years (Cooper et al., 2008; Besse et al., 2008; Jjemba 2006; Carlsson et al., 2006; Jones et al., 2002; Stuer-Lauridsen et al., 2000).

In order to accurately assess the environmental risk for pharmaceuticals, there is a need to acquire ecotoxicological data; however due to the high number of existing pharmaceuticals, it seems rather difficult, indeed impossible to build extensive toxicity data.

Moreover, if data required in ERA procedures concern ecotoxicity of single substances, the main risk for pharmaceuticals (and other chemicals) is probably linked to mixtures but studies carried out on topic are still few (Quinn et al., 2009; Laird et al., 2007; Cleuvers 2003; Fraysse and Garric, 2005 ; Eguchi 2004).

Modelling of ecotoxicological data with ECOSAR software: ECOSAR is a freely downloadable software from the USEPA website, which has been recognized useful for predicting the environmental effects of some chemicals. As ecotoxicological data are lacking for pharmaceuticals, some authors have investigated the use of the ECOSAR software to predict acute toxicity for pharmaceuticals and to rank pharmaceuticals accordingly (Sanderson et al., 2004a; 2004b; Cooper et al., 2008).

However, there are two limits in the use of ECOSAR software applied to pharmaceuticals. First, QSARs only allow the modelling of acute toxicity data, which are of limited relevance as it is established that the risk linked to pharmaceuticals is chronic (Carlsson et al., 2006, Fent et al., 2006). Second, ECOSAR toxicity assessment is mainly base on Log Kow value meaning that predictions only account for non-specific narcosis endpoints, which may be not relevant for pharmaceuticals.

An assessment of Serotonergic antidepressant (SSRI) toxicity on algae showed that ECOSAR modelled values were not in accordance with experimental ones and could not

account for differences in algae species sensitivity (Johnson et al., 2007). Furthermore, in a recent paper, Madden et al. (2009) assessed ECOSAR's accuracy for pharmaceuticals and notably if the assigned chemical classes, whereby models are based, were representative of the pharmaceuticals. Authors conclude that if ECOSAR has been shown to be useful in predicting aquatic ecotoxicity of industrial chemicals, it might be used with caution for pharmaceuticals as many of them fall outside the applicability domain of the models.

In a same way, in the screening tool proposed by Lienert et al. (2007), some uncertainties exist due to limitation of QSAR modelling when considering very hydrophilic and ionisable drugs and due to possible specific toxicity (e.g. sulfamethoxazole showed specific toxicity in algae) which is not accounted for when one models the baseline toxicity.

2.3. PBT criteria

The OSPAR dynamec (OSPAR 2006, 2002) approach includes a ranking classification for single substances based on three criteria (PBT criterion). This approach has been used to describe the hazard of pharmaceuticals in the environment (www.janusinfo.se/). Persistence in the environment (based on degradation time DT_{50}), Bioaccumulation potential (based on BCF or $\log K_{ow}$) and Toxicity (CL_{50} or NOEC).

Estimation of the toxicity is based on available ecotoxicological data, therefore this approach meets the same limitation (data gaps) as the risk quotients approach. Estimation of persistency is based on experimental data, but in the absence of such data, the dynamec guidance document recommends the use of the BIOWIN model to estimate the persistency. Estimation of the bioaccumulation is based on $\log K_{ow}$, which could be inaccurate for pharmaceuticals:

- A study conducted in 2002 (van Wezel and Jager, 2002) suggested that the OSPAR dynamec was not adapted for pharmaceuticals. $\log K_{ow}$ for pharmaceuticals are often lower than 3 (cut-off value selected by the authors for bioaccumulation), which prevented an efficient discrimination between molecules with regard to the estimated bioaccumulation potential.
- As discussed above in the exposure assessment, $\log K_{ow}$ might not be a good descriptor for environmental considerations on pharmaceuticals, this assertion is also valid for the use of K_{ow} to estimate the bioaccumulation potential of pharmaceuticals.

2.4 Liability to bioaccumulate

For some authors (Jean 2008), one of the main risk, through continuous exposure to low concentrations of pharmaceuticals, is the risk of bioaccumulation in living organisms which could result in toxic effects. Bioaccumulation is estimated by the Bioaccumulation Factor (BCF) which takes into account the hydrophobicity of the molecule and the living organism considered. If some studies have focused on pharmaceuticals bioaccumulation (Paterson and Metcalfe 2008; Mimeault et al., 2005), there is still a lack of experimental values for BCF. Therefore, bioaccumulation can only be afforded through calculated values. In his study, Jean (2008) used calculated values from the CAS database®, mainly based on log Dow (log Kow value corrected by pH); environmental relevance of such calculated values must be investigated.

2.5 Pharmacological data

Several authors consider that the use of existing pharmacological, toxicological and pharmacokinetic data is likely to be helpful in assessing the risk of pharmaceuticals, as they could provide a better understanding of the fate and effect of pharmaceuticals in the aquatic environment (Besse and Garric 2008; Fent et al. 2006; Jjemba 2006; Lange and Dietrich 2002; Seiler 2002). Pharmacological data alone are not sufficient enough to assess the risk for the aquatic environment; however, such data can give information on the mechanism of action (MoA) and the toxicity of the pharmaceuticals.

Mammalian pharmacological and toxicological data: The use of mammalian pharmacological and toxicological data was proposed to help to prioritize the potential impacts of pharmaceuticals to fish (Huggett et al. 2003). One of the key assumption of this model is that many enzyme/receptor systems are conserved between mammalian and teleost fish. The model requires comparison of human plasma concentration, HssPC, (i.e. the highest plasma concentration that corresponds to NOEC) and aquatic vertebrate plasma concentration, FssPC, (derived from environmental exposure). If these data are available, a safety margin can be calculated (Equation 18).

$$\text{Margin of safety}_{PB} = \frac{H_{ssPC} \text{ NOEC}}{F_{ssPC}} \quad \text{Equation 18}$$

Margin of safety_{PB}: plasma based margin of safety. **H_{ssPC} NOEC**: highest human plasma steady state concentration that corresponds to a NOEC. **F_{ssPC}**: fish plasma concentration derived from environmental exposure.

As an alternative to this model, if some data are unavailable, a measured human therapeutic plasma concentration (H_TPC) can be used instead of H_{ssPC}, and a ER (Effect Ratio) is calculated (Equation 19). The lower the ER, the greater the potential for a biological response in fish is.

$$\text{ER} = \frac{H_T\text{PC}}{F_{ssPC}} \quad \text{Equation 19}$$

ER: Effect Ratio. **H_TPC**: highest therapeutic plasma concentration. **F_{ssPC}**: fish plasma concentration derived from environmental exposure.

A major key assumption of this model is that pharmaceutical absorption from water to fish is driven by hydrophobicity, i.e. only passive mechanism are taken into account. F_{ssPC} are therefore calculated according to Equation 20 and 21, based on log Kow once more.

$$F_{ssPC} = EC \times P_{\text{Blood:water}} \quad \text{Equation 20}$$

EC: Predicted/measured environmental concentration of a pharmaceutical.

$$\text{Log } P_{\text{Blood:water}} = 0.73 \times \text{log } Kow - 0.88 \quad \text{Equation 21}$$

Log P_{Bloodwater}: Partitioning between aqueous phase and arterial blood.

This conceptual model is interesting, however, the assumption of passive equilibration may be inaccurate:

- Some active physiological mechanisms are probably involved in the absorption/concentration/elimination of pharmaceuticals by living organisms.
- Other ways of contamination such as accumulation *via* the food chain or due to contact with sediments are not taken into account.
- Limits of the log Kow as a descriptor of environmental behaviour have been discussed previously.

Use of free plasma concentrations of pharmaceuticals in human have recently been suggested to assess the critical concentrations in aquatic organisms (Kostich and Lazorchak, 2008). As Huggett et al. (2003), authors assume that exposure to non-target organisms would occur *via* passive equilibration with wastewater. Authors assumed, as a conservative hypothesis, that the concentration of pharmaceutical dissolved in the modelled organism's extracellular fluid would approach the dissolved concentration in wastewater. Therefore, comparing wastewater concentrations and human plasma concentrations after therapeutic dosing could suggest whether or not a significant effect in an aquatic organism would occur. As said above, such assumption and especially the exposure way (passive equilibration) remains to be confirmed.

Mechanism of action (MoA): Mechanism of action of pharmaceuticals may provide useful information regarding the potential toxic effects on environmental targets. Pharmaceuticals, unlike other pollutants such as polycyclic aromatic hydrocarbons or pesticides, are molecules designed to exert a specific mode of action with a limited toxicity. Extensive metabolic and toxicological studies are central to the development of drugs and can provide valuable information to guide ecotoxicological studies (Owen et al., 2007).

For non-mammalian species with receptors similar to those of mammals, similar biological effects or adverse reactions may occur; it was recently suggested that cardiovascular dysfunction could be one of the consequence of the waterborne exposure of fish to β -blockers (Owen et al., 2007). On the other hand, unexpected chronic effects may occur in lower organisms due to biological differences in pharmacodynamics and physiology (Fent et al., 2006; Seiler, 2002; Lange and Dietrich, 2002).

Side effects: Known side effects of pharmaceuticals may also be valuable to indicate potential harmful effects on non-target organisms as it as already been shown for diclofenac in vultures (Oaks et al., 2004), and in fish (Schwaiger et al., 2004; Triebkorn et al., 2004). Taking into account such effects could make it possible to target the harmful impacts of these compounds, at least on non-target vertebrates. Side effects have been used as an effect criteria in the prioritization strategy from Besse and Garric (2008).

Cytochrome P-450 modulation: Several drugs are known enzymatic inductors or inhibitors of the cytochrome P-450. P-450 isoforms are involved in a number of physiological reactions: transformation of both endogenous compounds and xenobiotics, synthesis and

degradation of several steroids, prostaglandins, fatty acids, and other endogenous molecules (Stegeman et al., 1992). Therefore, modulation of the enzymatic response may lead to disruption in the homeostasis of non-target organisms (Besse and Garric 2008). Interference between pharmaceuticals and the metabolizing enzyme have been shown *in vitro* (Thibaut et al., 2006).

Para glycoprotein-P (P-gp) modulation: Several pharmaceuticals are known to interact with P-glycoprotein (P-gp). P-gp is a protein acting as a multidrug transporter that actively transports xenobiotics out of the cell, preventing the accumulation of toxic compounds (Endicoot and Ling, 1989; Tutundjian and Minier, 2002). Glycoprotein P is involved in the multi-xenobiotic resistance (MXR) system. Increases in P-gp expression have been reported for aquatic organisms from polluted areas (Toomey and Epel, 1993; Britvic and Kurelec, 1999). As P-gp could play an important role in the protection of the organism from toxic effects caused by xenobiotics, a modulation in the expression of the P-gp and particularly an inhibition of its expression by a specific drug could result in enhancing the sensitivity of organisms. P-gp modulation by pharmaceuticals in aquatic species remains to be studied.

Comparative pharmacology: Comparative pharmacology could also be useful to understand toxicity pathways of pharmaceuticals. At the moment, studies have only considered the major MoA of pharmaceuticals in ecotoxicity assays. However, evidence shows that compounds belonging to same pharmacological and chemical classes (i.e. compounds with same mechanisms of action), can display a high variability in toxic values on same species and endpoints (Garric et al., 2006; Dzialowski et al., 2006; Henry et al., 2004). Indeed, pharmaceuticals are not only characterized by their principal MoA but also by some additional pharmacological characteristics that should be taken into account.

In the case of β -blockers, several authors (Fraysse and Garric 2005; Fent et al., 2006) have suggested that differences in toxicity should be partially explained by pharmacological properties specific to these compounds such as receptor selectivity or membrane-stabilizing activity.

Several studies have shown that serotonergic antidepressants (SSRIs) effective concentrations ranged over several order of magnitudes, in crustaceans (Henry et al., 2004) and algae (Johnson et al., 2007), despite their same MoA. Actually, pharmacological data indicate that even if SSRIs have a greater selectivity for blocking serotonin reuptake (their

principal MoA), they also have affinities to some other receptors and reuptake inhibitor activities on other systems such as the noradrenergic or dopaminergic systems, (Hyttel 1993; Dulin et al., 2002). Even if designed to exert specific MoAs, pharmaceuticals have generally more than one target. “Secondary” MoAs could help to understand such differences in toxic responses for pharmaceuticals (Besse et al., 2008).

Antimicrobial potency of antibiotic agents: Selection of resistant strains of bacteria due to the release of antibiotics in the environment is a crucial issue. Kostich and Lazorchak (2008) suggested that MIC (Minimum Inhibitory Concentration) of antibacterials could be used as an estimation of the critical concentrations inducing microbial effects in the environment, in particular antimicrobial resistance and growth inhibition of beneficial microbes. By comparing PECs and MICs, authors suggested that wastewater concentrations for pharmaceuticals were sufficient to impair growth or select for low-level resistance in microorganisms. Accuracy of such an approach must be confirmed as mechanisms of selection of resistant bacteria in the environment remain unclear.

2.5. Evolutionary approaches

Activity of a pharmaceutical (or its metabolite) is generally considered with respect to its activity in mammals and especially in humans (i.e. pharmacological activity). However the fact that a molecule display biological effects in mammals doesn't mean that it is able to display the same effects in other species (especially invertebrates and plants) indeed any effect. Inversely, a “pharmacologically inactive” compound does not necessarily mean that such a metabolite has no effects on an aquatic organism. There is therefore a need to better understand how drug targets, and physiological functions driven by such targets are conserved or not from a specie to another.

Evolutionary conservation of drug targets have been investigated (Gunnarsson et al., 2008), by prediction of orthologs (proteins derived from a common ancestral protein at the time of speciation). Ortholog were compiled for 1318 human drug targets (see Gunnarsson et al., 2008 for details) and predicted for 16 species, including species used in risk assessment. Prediction results estimated to 86% the homology of drug targets for the zebrafish, to 35% for daphnia and to 35% for green alga. For some pharmaceuticals, individual targets such as enzymes are well conserved, suggesting that tests on evolutionary distant organisms would be highly relevant for these drugs.

Authors suggest that the applied methodology could be useful to i) guide ERA by identifying sensitive species, and ii) interpret the relevance of existing ecotoxicological data. The same general conclusions were drawn in the study of Kostich and Lazorchak (2008), in which the sequence conservation in drug target was proposed as a guidance on the range of species and endpoints that should be considered in chronic ecotoxicity studies.

Therefore, assessment of evolutionary conservation of drug targets could be of great significance as it could ensure:

- Identification of drugs with the most potential to elicit adverse effects on non-target organisms.
- Interpretation and assessment of ecotoxicological and pharmacological data.
- Improvement of the possibilities to identify which pharmaceuticals may pose a risk to certain type of species (or inversely identification of specific sensitive species to certain compounds).
- Selection of relevant species and/or endpoints for ecotoxicological studies.

Nevertheless, one must keep in mind that the presence of a similar drug receptor in a specie does not mean that a functional interaction with the drug can occur; moreover, receptors structurally similar may display different biological functions in different species. Inversely a functional interaction between a drug and another non-similar receptor cannot be excluded.

3. Conclusion

Prioritization of human pharmaceuticals is necessary due to the high number of pharmaceuticals used, which hinders the possibility to assess the ecotoxicity of every compound. To implement a relevant prioritization strategy, there is a need to accurately assess the environmental exposure and the environmental effects. From the review of environmental risk assessments (ERA) and prioritization strategies conducted in the last ten years, it is possible to highlight the following parameters and to propose some concluding remarks:

For the exposure assessment:

- The use of simple models, such as the EMEA model, to calculate PECs for surface water is in general in good agreement with field measurements.
- Actual and accurate consumption amounts are essential, but data are sometimes unavailable, depending on the country.
- Metabolism data and excretion rates are essential but data are sometimes incomplete or unavailable.
- STP removal rates are lacking which is a major limitation for the accuracy of ERA.
- Data on environmental behaviour and degradation by-products are scarce.
- PEC for other compartments than water column are not well assessed yet.
- Bioaccumulation of pharmaceuticals remains to be more studied.

For the effect assessment:

- Due to low concentrations in surface waters, acute effects of pharmaceuticals can be ruled out.
- Chronic ecotoxicological data are lacking.
- Due to gaps in ecotoxicological data for pharmaceuticals (in connection with the high number of pharmaceuticals), alternative ways of assessing the effects of pharmaceuticals have to be investigated and validated.
- Pharmacological data can be useful to estimate the biological effects on aquatic organisms however, i) the access to such data is sometimes not possible, ii) the relevance of such data for environmental considerations remains to be confirmed.
- Investigation of the evolutionary conservation of drug targets is important information that can help for a relevant use of pharmacological data, and for targeting sensitive species in bioassays.

To conclude, it becomes necessary to harmonize the different prioritisation strategies and models now available in European countries. As pharmacological and toxicological data are not easily available, the ERA of old pharmaceuticals at least, could greatly benefit from the development of a database with extensive consumption, pharmacological, toxicological and ecotoxicological data.

References

- Andreozzi R., Caprio V., Ciniglia C., De Champdore M., Lo Giudice R., Marotta R., Zuccato E. (2004). Antibiotics in the environment: Occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin. *Environmental Science and Technology* 38(24):6832-6838.
- 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* 333:167–184.
- Bendz, D., Paxeus, N.A., Ginn, T.R., Loge, F.J. (2005). Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials* 122:195–204.
- Besse, J.-P., Kausch-Barreto, C., Garric, J. (2008). Exposure assessment of pharmaceuticals and their metabolites in the aquatic environment: Application to the French situation and preliminary prioritization. *Human and Ecological Risk Assessment* 14 (4): 665-695.
- Besse, J.-P., Garric, J. (2008) Human pharmaceuticals in surface waters. Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. *Toxicology Letters* 176 (2):104-123.
- Boethling, R.S., Lynch, D.G., Jaworska, J.S., Tunkel, J.L., Thom, G.C., Webb, S. (2004). Using Biowin™, Bayes, and batteries to predict ready biodegradability. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (4):911-920.
- Bound J.P., Voulvoulis N. (2006). Predicted and measured concentrations for selected pharmaceuticals in UK rivers: Implications for risk assessment. *Water research* 40:2885-2892.
- Boxall, A.B.A., Fogg, L.A., Kay, P., Blackwell, P.A., Pemberton, E.J., Croxford, A. (2003). Prioritisation of veterinary medicines in the UK environment. *Toxicology Letters* 142 (3):207-218.
- Britvic S., Kurelec B. (1999). The effect of inhibitor of multixenobiotic resistance mechanism on the production of mutagens by *Dreissena polymorpha* in waters spiked with premutagens. *Aquatic Toxicology* 47:107-116.
- Budzinski, H., Togola, A. (2006). Présence des résidus de médicaments dans les différents compartiments du milieu aquatique. *Environnement Risques et Santé* 5:248–252.
- Capleton, A.C., Courage, C., Rumsby, P., Holmes, P., Stutt, E., Boxall, A.B.A., Levy, L.S. (2006). Prioritising veterinary medicines according to their potential indirect human exposure and toxicity profile. *Toxicology Letters* 163 (3):213-223.

- Carlsson C., Johansson A.K., Alvan G., Bergman K., Kuhler T. (2006) Are pharmaceuticals potent environmental pollutants?: Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Science of The Total Environment* 364 (1-3):67-87.
- Castiglioni, S., Fanelli, R., Calamari, D., Bagnati, R., Zuccato, E. (2004). Methodological approaches for studying pharmaceuticals in the environment by comparing predicted and measured concentrations in River Po, Italy. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 39 (1):25-32.
- Castiglioni S., Bagnati R., Fanelli R., Pomati F., Calamari D., Zuccato E. (2006). Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environmental Science and Technology* 40 (1):357-363.
- Chang, H., Hu, J., Shao, B. (2007). Occurrence of natural and synthetic glucocorticoids in sewage treatment plants and receiving river waters. *Environmental Science and Technology* 41: 3462–3468.
- Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters* 142 (3):185-194.
- Coetsier, C.M., Spinelli, S., Lin, L., Roig, B., Touraud, E. (2009). Discharge of pharmaceutical products (PPs) through a conventional biological sewage treatment plant: MECs vs PECs? *Environment International*. Article in press.
- Cooper, E.R., Siewicki, T.C., Phillips, K. (2008). Preliminary risk assessment database and risk ranking of pharmaceuticals in the environment. *Science of the Total Environment* 398 (1-3): 26-33.
- 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.
- Daughton C.G., Ternes T.A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives* 107 Supplement 6:907-938.
- DellaGreca, M., Fiorentino, A., Isidori, M., Lavorgna, M., Previtera, L., Rubino, M., Temussi, F. (2004). Toxicity of prednisolone, dexamethasone and their photochemical derivatives on aquatic organisms. *Chemosphere* 54(5) :629-637.
- Dulin R., Silberstein N., Bonnin M., Saux MC. (2002). Comparison and practical guidelines of selective serotonin reuptake inhibitors [Comparaison et critères de choix des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine]. *Journal de Pharmacie Clinique* 21:39-46.

Dzialowski EM, Turner PK, Brooks BW. (2006). Physiological and reproductive effects of beta adrenergic receptor antagonists in *Daphnia magna*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 50 (4):503-510.

Eguchi, K., Nagase, H., Ozawa, M., Endoh, Y.S., Goto, K., Hirata, K., Miyamoto, K., Yoshimura, H. (2004). Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. Chemosphere 57 (11) :1733-1738.

EMEA (2000) European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Guideline on environmental impact assessment (EIAS) for veterinary medicinal products—phase I. CVMP/VICH/592/98—Final. London: EMEA.

EMEA (2001) European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Discussion paper on environmental risk assessment of non-genetically modified organism (non-GMO) containing medical products for human use. CPMP/SWP/4447/00 draft corr. London: EMEA.

EMEA (2003) European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Note for guidance on environmental risk assessment of medical products for human use. CPMP/SWP/4447/00 draft. London: EMEA.

EMEA 2006. Note for guidance on environmental risk assessment of medicinal products for human use. Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/4447/00. Committee for proprietary medicinal products. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, London, UK. <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/444700en.pdf>.

Endicoot J.A., Ling V. (1989). The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. Annual review of biochemistry 58:137-171.

Escher, B.I., Bramaz, N., Richter, M., Lienert, J. (2006). Comparative ecotoxicological hazard assessment of beta-blockers and their human metabolites using a mode-of-action-based test battery and a QSAR approach. Environmental Science and Technology 40 (23): 7402-7408.

EU (1994). Assessment of potential risks to the environment posed by medicinal products for human use, excluding products containing live genetically modified organisms. EU. Ad Hoc Working Party, III/5504/94 Draft 4.

EU (1996). Technical guidance document in support of commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and commission regulation (EC) No 1488/94 on risk assessment for existing substances, Part II.

EU (2003). TGD Technical Guidance Document. Technical Guidance Document in support of Council Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission

Regulation (EC) 1488/94 on risk assessment for existing substances. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

Feitosa-Felizzola, J., Chiron, S. (2009). Occurrence and distribution of selected antibiotics in a small Mediterranean stream (Arc River, Southern France). *Journal of Hydrology* 364 (1-2): 50-57.

Fent K, Weston AA, Caminada D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 76 (2):122-159.

Ferrari B, Mons R, Vollat B, Fraysse B, Paxeus N, Lo Giudice R, Pollio A, Garric J. (2004). Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: Are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (5):1344-1354.

Fraysse B, Garric J. (2005). Prediction and experimental validation of acute toxicity of β -blockers in *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24 (10):2470-2476.

Garric J., Ferrari B., Fraysse B., Mons R., Vollat B. (2006). Effects of some human pharmaceutical on freshwater organisms | [Impact de médicaments à usage humain sur les organismes aquatiques d'eau douce]. *Environnement, Risques et Sante* 5 (4):290-295.

Gunnarsson, L., Jauhainen, A., Kristiansson, E., Nerman, O., Larsson, D.G.J. (2008). Evolutionary conservation of human drug targets in organisms used for environmental risk assessments. *Environmental Science and Technology* 42 (15):5807-5813

Henry TB, Kwon JW, Armbrust KL, Black MC. (2004). Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (9):2229-2233.

Hilton M.J., Thomas K.V., Ashton D. (2003). Targeted monitoring programme for pharmaceuticals in the aquatic environment. R&D Technical report P6-012/06/TR UK Environment Agency.

Huggett D.B., Cook J.C., Ericson J.F., Williams R.T. (2003). A theoretical model for utilizing mammalian pharmacology and safety data to prioritize potential impacts of human pharmaceuticals to fish. *Human and Ecological Risk Assessment* 9 (7):1789-1799.

Huschek, G., Hansen, P.D., Maurer, H.H., Kregel, D., Kayser, A.(2004). Environmental risk assessment of medicinal products for human use according to European Commission recommendations. *Environmental Toxicology* 19:226-240.

Hyttel J. (1993). Comparative pharmacology of selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs). *Nordisk Journal of Psychiatry* 47 (30):5-12.

- Isidori M., Lavorgna M., Nardelli A., Parrella A., Previtiera L., Rubino M. (2005). Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. *Science of the Total Environment* 348 (1-3):93-101.
- Isidori M., Nardelli A., Parrella A., Pascarella L., Previtiera L. (2006). A multispecies study to assess the toxic and genotoxic effect of pharmaceuticals: Furosemide and its photoproduct. *Chemosphere* 63 (5):785-793.
- Jean J. (2008). Identification et hiérarchisation des substances médicamenteuses bioaccumulables rejetées dans les effluents hospitaliers. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Thèse n° 48-2008. Université Claude Bernard-Lyon 1. Faculté de pharmacie. LYON.
- Jjemba P.K. (2006). Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63 (1):113-130.
- Jones O.A.H, Voulvoulis N., Lester J.N. (2001). Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a review. *Environmental Science and Technology* 22:1383-1394.
- Jones O.A.H, Voulvoulis N., Lester J.N. (2002). Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals, *Water Research* 36: 5013-5022.
- Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance. *Environmental Science and Technology* 36:1202–1211.
- Kools, S.A., Boxall, A., Moltmann, J.F., Bryning, G., Koschorreck, J., Knacker, T. (2008). A ranking of European veterinary medicines based on environmental risks. *Integrated environmental assessment and management* 4 (4):399-408.
- Kosonen, J., Kronberg, L. (2009). The occurrence of antihistamines in sewage waters and in recipient rivers. *Environmental Science and Pollution Research* :1-10. Article in Press.
- Kostich, M.S., Lazorchak, J.M. (2008). Risks to aquatic organisms posed by human pharmaceutical use. *Science of the Total Environment* 38:329-339.
- Laird, B.D., Brain, R.A., Johnson, D.J., Wilson, C.J., Sanderson, H., Solomon, K.R. (2007). Toxicity and hazard of a mixture of SSRIs to zooplankton communities evaluated in aquatic microcosms. *Chemosphere* 69 (6):949-954.
- Lange R., Dietrich D. (2002). Environmental risk assessment of pharmaceutical drug substances--conceptual considerations. *Toxicology Letters* 131(1-2):97-104.
- Larsson, D.G.J., de Pedro, C., Paxeus, N. (2007). Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *Journal of Hazardous Materials* 148 (3):751-755.

- Lienert, J., Güdel, K., Escher, B.I. (2007). Screening method for ecotoxicological hazard assessment of 42 pharmaceuticals considering human metabolism and excretory routes. *Environmental Science and Technology* 41 (12):4471-4478.
- Madden, J.C., Enoch, S.J., Hewitt, M., Cronin, M.T.D. (2009). Pharmaceuticals in the environment: Good practice in predicting acute ecotoxicological effects. *Toxicology Letters* 185 (2):85-101.
- Miège, C., Choubert, J.M., Ribeiro, L., Eusèbe, 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 (5):1721-1726.
- Mimeault, C., Woodhouse, A.J., Miao, X.-S., Metcalfe, C.D., Moon, T.W., Trudeau, V.L. (2005). The human lipid regulator, gemfibrozil bioconcentrates and reduces testosterone in the goldfish, *Carassius auratus*. *Aquatic Toxicology* 73 (1):44-54.
- Oaks J.L., Gilbert M., Virani M.Z., Watson R.T., Meteyer C.U., Rideout B.A., Shivaprasad H.L., Ahmed S, Chaudhry M.J.I., Arshad M. and others. (2004). Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427(6975):630-633.
- Onesios, K.M., Yu, J.T., Bouwer, E.J. (2008). Biodegradation and removal of pharmaceuticals and personal care products in treatment systems: a review. *Biodegradation* :1-26. Article in Press.
- OSPAR (2002). Dynamic Selection and Prioritisation Mechanism for Hazardous Substances (DYNAMEC).http://www.ospar.org/documents/dbase/publications/p00146_DYNAMEC%20Manual.pdf.
- OSPAR (2006) Dynamic Selection and Prioritisation Mechanism for Hazardous Substances (New DYNAMEC Manual).
http://www.ospar.org/documents%5Cdbase%5Cpublications%5Cp00256_New%20DYNAMEC%20Manual.pdf
- Owen S.F., Giltrow E., Huggett D.B., Hutchinson T.H., Saye J., Winter M.J., Sumpter J.P. (2007). Comparative physiology, pharmacology and toxicology of β -blockers: mammals versus fish. *Aquatic Toxicology* 82:145–162.
- Paffoni C., Welte B., Gousailles M., Montiel A. (2006). Nouvelles molécules mises en cause par les directives Européennes : de la station d'épuration à l'usine de traitement d'eau potable. *Journal Européen d'Hydrologie*. 37 (1):21-38
- Paterson, G., Metcalfe, C.D. (2008). Uptake and depuration of the anti-depressant fluoxetine by the Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 74 (1):125-130.

- Petrovic M., Solé M., Lopez de Alda M.J., Barcelo D. (2002). Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving water and sediments, integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21:2146-2156.
- PNSE (2004). Plan National Santé Environnement. Ministère de la Santé et de la Protection sociale. Ministère de l'Ecologie et du Développement durable. Ministère de l'Emploi, du Travail et de la Cohésion sociale. Ministère délégué à la Recherche. Available at <http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/pnse/rapport.pdf>.
- Qin-Tao L, Williams HE. (2007). Kinetics and degradation products for direct photolysis of β - blockers in water. *Environmental Science and Technology* 41:803-810.
- Quinn, B., Gagné, F., Blaise, C. (2009). Evaluation of the acute, chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of the Total Environment* 407 (3):1072-1079.
- Sanderson H., Brain R.A., Johnson D.J., Wilson C.J., Solomon K.R. (2004a). Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. *Toxicology* 203 (1-3):27-40.
- Sanderson H., Johnson D.J., Reitsma T., Brain R.A., Wilson C.J., Solomon K.R. (2004b). Ranking and prioritization of environmental risks of pharmaceuticals in surface waters. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 39 (2):158-183.
- 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.
- Seiler J.P. (2002). Pharmacodynamic activity of drugs and ecotoxicology--can the two be connected? *Toxicology Letters* 131(1-2):105-115.
- Siemens, J., Huschek, G., Siebe, C., Kaupenjohann, M. (2008). Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, Mexico City-Mezquital Valley. *Water Research* 42 (8-9):2124-2134.
- Stegeman J.J., Brouwer M., Richard T.D.G., Förlin L., Fowler B.A., Sanders B.M., van Veld P.A. (1992). Molecular responses to environmental contamination : enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. in Hugget R.J., Kimerly R.A. (Eds.), *Biomarkers : biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress*. Lewis publishers, Chelsea, MIn USA, pp. 235-335.
- Struijs J., Stoltenkamp J., van de Meent D. (1991). A spreadsheet based box model to predict the fate of xenobiotics in a municipal wastewater treatment plant. *Water Research* 25:891-900.

- Stuer-Lauridsen F, Birkved M, Hansen LP, Holten Lutzhoft HC, Halling-Sorensen B. (2000). Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use. *Chemosphere* 40 (7):783-793.
- Ternes, T.A., (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research* 32: 3245–3260.
- Thibaut R., Schnell S., Porte C., (2006). The interference of pharmaceuticals with endogenous and xenobiotic metabolizing enzymes in carp liver: an *in vitro* study. *Environmental Science and Technology* 40:5154–5460.
- Togola, A., Bristeau, S., Amalric, L. (2007). Occurrence of pharmaceuticals in aquatic systems of Loire-Brittany Basin (France). Poster communication. ERAPharm International Conference on Pharmaceuticals in the Environment. Lakeside Conference Centre, York, UK.
- Tolls J. (2001). Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environmental Science and Technology* 35 (17):3397-3406.
- Toomey B.H., Epel D. (1993). Multixenobiotic resistance in *Urechis caupo* embryos: protection from environmental toxins. *Biology Bulletin* 185:355-364
- Triebkorn 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.
- Tutundjian R., Minier C. (2002). Les protéines de résistance multiple et leur exploitation pour la biosurveillance chez les organismes aquatiques. *Regard sur la biochimie* 4:37-50.
- USEPA. Estimation Programs Interface Suite™ for Microsoft® Windows. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA.
- van Wezel AP, Jager T. (2002). Comparison of two screening level risk assessment approaches for six disinfectants and pharmaceuticals. *Chemosphere* 47 (10):1113-1128.
- Vasskog, T., Berger, U., Samuelsen, P.J., Kallenborn, R., Jensen, E. (2006). Selective serotonin reuptake inhibitors in sewage influents and effluents from Tromsø, Norway. *Journal of Chromatography A* 1115:187–195.
- Wells M.J.M. (2006). Log Dow: Key to understanding and regulating waste-water-derived contaminants. *Environmental Chemistry* 3:439-449.
- Wiegel, S., Aulinger, A., Brockmeyer, R., Harms, H., Löffler, J., Reincke, H., Schmidt, R., Stachel, B., Von Tümpling, W., Wanke, A. (2004). Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries. *Chemosphere* 57:107–126.

Williams M., Saison C.L.A., Williams D.B., Kookana R.S. (2006). Can aquatic distribution of human pharmaceuticals be related to pharmacological data? *Chemosphere* 65:2253-2259.

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* 86:72-80.

Zuccato E, Castiglioni S, Fanelli R. (2005). Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials* 122 (3):205-209.

Chapitre 10.

Discussion générale et conclusion

1. Etablissement de listes de molécules prioritaires	241
2. Evaluation du risque pour le milieu aquatique.....	241
2.1. Perspectives dans l'évaluation de l'exposition	242
2.2. Perspectives pour l'évaluation des effets	242
2.3. Conclusion pour l'évaluation de risque.....	245
3. Gestion du risque	245
3.1. Au niveau des pouvoirs publics.....	245
3.2. Au niveau des agglomérations (traitement des effluents et des eaux usées)	247
3.3. Au niveau des établissements de soin	247
3.4. Au niveau industriel	247
3.5. Au niveau des personnels de santé et des patients	248
3.6. Conclusion pour la gestion du risque	248
4. Les médicaments à usage humain, des contaminants de l'environnement... parmi beaucoup d'autres.....	248
5. Conclusion.....	250

1. Etablissement de listes de molécules prioritaires

Le but de ce travail, qui était de proposer une liste de substances médicamenteuses prioritaires à rechercher dans l'environnement a été atteint. Plus de 300 molécules parentes ainsi qu'une cinquantaine de métabolites humains ont été criblés sur la base de critères d'exposition et d'effets, et différentes listes ont été définies, qui peuvent servir de base à la mise en place de programmes d'analyse chimiques ou d'évaluation écotoxicologique. Ces listes permettent :

- de faire un choix raisonné de molécules à intégrer dans un programme de surveillance, sur des bases scientifiques et pragmatiques ;
- de donner une estimation correcte des niveaux de concentrations attendus pour les résidus médicamenteux dans les effluents de STEP et les eaux de surface ;
- d'orienter les recherches vers des composés potentiellement à risque pour le milieu récepteur, par leurs niveaux de concentration (piracetam, oxazepam, venlafaxine...), et/ou par leurs effets biologiques (nifuroxazide, bisphosphonates, venlafaxine...) ;
- de déterminer, pour la mise en place d'essais écotoxicologiques, des gammes de concentrations d'exposition cohérentes avec la réalité environnementale.

Les listes de molécules prioritaires ont été dressées pour un grand nombre de classes thérapeutiques et chimiques : anti-infectieux, anti-inflammatoires, analgésiques, médicaments du système cardio-vasculaire (anti-hypertenseurs et hypolipémiants), médicaments du système nerveux (antidépresseurs, anxiolytiques, anticonvulsivants), médicaments du système osseux (bisphosphonates), hormones stéroïdiennes (progestatifs), et molécules anticancéreuses. En fonction des données et des connaissances disponibles, ces listes ont pu être bâties selon différents critères :

- exposition seule pour les anticancéreux cytotoxiques ;
- exposition et activité sur les fonctions de reproduction pour les progestatifs ;
- exposition et effets biologiques estimés à partir des données pharmacologiques pour les autres classes de molécules.

Un certain nombre de substances, médicamenteuses ou apparentées, n'a cependant pas été abordé dans ce travail. Il s'agit des biocides, des produits de contraste iodés et des excipients utilisés dans la formulation des médicaments, et pour lesquels la question de l'impact environnemental doit également être posée. Ces substances sont présentées dans l'annexe H du manuscrit. Par ailleurs, pour les antiviraux, traités de manière succincte dans la démarche de priorisation par expertise, nous rappelons ici que les données sont quasi inexistantes et qu'il serait nécessaire de mettre en place une évaluation de leurs effets biologiques sur des organismes aquatiques, basée sur des critères pertinents en rapport avec leurs mécanismes d'action.

Enfin, le travail réalisé ici a permis de dresser un bilan des connaissances actuelles sur la présence et les effets environnementaux des médicaments, de discuter des méthodes d'évaluation de l'exposition et de leurs effets pour les eaux de surface, d'identifier les inconnues et les manques à combler sur le plan scientifique, et de proposer des perspectives de recherche pour leur évaluation de risque.

2. Evaluation du risque pour le milieu aquatique

Les analyses chimiques réalisées depuis maintenant une vingtaine d'années montrent que les médicaments sont ubiquitaires dans le milieu aquatique ; et que du fait de leur activité biologique, le risque environnemental doit être évalué. Dans ce domaine, les connaissances sont encore restreintes, notamment concernant les effets biologiques et toxiques sur les organismes aquatiques.

A l'heure actuelle, on peut seulement s'accorder sur le fait que les médicaments sont des contaminants de l'environnement, que le risque aigu associé pour les écosystèmes est négligeable, et que le risque chronique ne peut-être exclu. Plusieurs axes de recherche peuvent être poursuivis dans le cadre de cette problématique.

2.1. Perspectives dans l'évaluation de l'exposition

De nombreuses molécules n'ayant pas encore fait l'objet de campagnes de mesure, il est nécessaire de poursuivre les programmes de surveillance de la qualité des milieux environnementaux au regard des médicaments. Le nombre de substances pharmaceutiques étant très élevé, la mise au point de campagnes d'analyses pour l'ensemble des molécules mises sur le marché se heurte à des problèmes financiers et méthodologiques. Des méthodes alternatives à l'analyse systématique peuvent donc être envisagées, comme le recours à des traceurs chimiques spécifiques d'une contamination par les médicaments (qui restent à définir), ou encore l'utilisation de modèles permettant d'estimer les concentrations dans l'environnement (Johnson et al. 2008b). Dans le cas des médicaments humains, sur la base d'un modèle simple et en disposant des données appropriées, il est relativement aisé d'estimer les concentrations attendues dans les effluents de STEP et les eaux de surface.

L'étude du comportement et du devenir des médicaments dans l'environnement, ainsi que la compréhension des mécanismes qui les sous-tendent, sont des domaines où les connaissances sont encore restreintes. Il est nécessaire de développer des travaux de recherche sur :

- l'étude de la dégradation des médicaments dans l'environnement, pour laquelle les données sont très limitées. Les mesures et la mise en place d'essais de dégradation systématiques pour les substances pharmaceutiques apparaissant difficilement réalisable, le développement de modèles prédictifs adaptés, comme il en existe pour d'autres catégories de polluants, est une voie à explorer ;
- l'étude de la sorption des médicaments aux matières en suspension et au sédiment, où, là encore, le développement de modèles est une alternative à la mesure systématique.

Les modèles prédictifs disponibles à l'heure actuelle sont construits pour évaluer le devenir de molécules à caractère hydrophobe, et ne sont pas adaptés à la très grande majorité des médicaments. Pour les composés hydrophobes, un paramètre, le log Kow, a pu être identifié pour servir de base à une estimation correcte de leur comportement. Dans le cas des médicaments, molécules polaires et ionisables, le Kow n'est pas adapté. Le recours à des paramètres comme le volume de distribution (paramètre pharmacocinétique) ou le log Dow sont des voies intéressantes mais qui requièrent des travaux complémentaires.

2.2. Perspectives pour l'évaluation des effets

2.2.1. Essais sur des substances isolées

Le jeu de données écotoxicologiques est encore trop limité :

Quantitativement, il ne couvre qu'une très faible part des classes médicamenteuses. De plus, on observe un déséquilibre notable avec d'une part, un nombre restreint de molécules auxquelles sont consacrées beaucoup de travaux (carbamazépine, fluoxétine et propranolol), et d'autre part des molécules identifiées comme potentiellement à risque, mais pour lesquelles aucune donnée écotoxicologique n'est disponible.

Qualitativement, on trouve un certain nombre de données qui ne sont pas exploitables ou d'un intérêt discutable, par exemple les données de toxicité aiguë, qui continuent à être produites alors que le risque aigu pour les médicaments à usage humain est écarté, et dont l'utilisation dans des démarches d'évaluation de risque est limitée.

Pour évaluer les effets des médicaments, il est donc nécessaire de développer des essais de toxicité chronique, à des gammes de concentrations réalistes du point de vue environnemental ; la sélection des molécules et des concentrations d'exposition devant être faites sur la base des résultats de campagnes d'analyse ou à partir de listes de priorisation.

2.2.2. Ecotoxicité des mélanges de substances pharmaceutiques

Un autre axe d'étude à développer, car dans ce domaine les travaux sont encore trop peu nombreux, est l'évaluation de la toxicité des mélanges de médicaments. En effet, dans l'environnement, on ne retrouve pas les substances pharmaceutiques de manière isolée, mais associées à de nombreux autres contaminants. Or, il a été montré que :

- d'une part, les mélanges de médicaments sont plus toxiques que les substances isolées (Yang et al. 2009 ; Fraysse et Garric 2005 ; Eguchi et al. 2004 ; Clevers 2003) ;
- et que d'autre part, dans le cas de mélanges de contaminants en général, des effets peuvent être observés pour des concentrations inférieures aux concentrations sans effet (NOEC) déterminées pour les substances isolées (Backhaus et al. 2003 ; 2000).

Les essais sur substances isolées sont donc limités du point de vue de la réalité environnementale. En conséquence, et bien que les essais portant sur des mélanges posent des problèmes au niveau de la mise en place et de l'interprétation, il est nécessaire de développer ce type d'approche si l'on veut commencer à identifier et comprendre l'impact des contaminants sur notre environnement, et définir des seuils de concentrations réellement protecteurs pour les écosystèmes.

Dans le cas des médicaments, plusieurs pistes peuvent être envisagées pour déterminer les mélanges à tester :

- molécules appartenant à la même classe thérapeutique et agissant *via* le même mode d'action ;
- molécules parentes et leur(s) métabolite(s) actif(s) (et/ou excrétés de manière significative), pour évaluer correctement le risque lié à une molécule (Escher et al. 2009) ;
- molécules susceptibles d'interagir entre elles, sur la base de leurs interactions connues *via* les données cliniques et pharmacologiques, certaines associations étant rapportée être dangereuses chez l'homme ;
- substances médicamenteuses et autres contaminants de l'environnement (métaux, hydrocarbures, pesticides...).

Le développement de modèles prédictifs de la toxicité de mélanges, afin de dériver des valeurs limites environnementales pour les écosystèmes, est également une voie à explorer (Chèvre et al. 2008).

2.2.3. Utilisation des données pharmacologiques

La recherche de relations entre données pharmacologiques et écotoxicologiques a été proposée par plusieurs auteurs, et les mécanismes d'action ainsi que les concentrations plasmatiques thérapeutiques ont été utilisés pour estimer le risque et les effets des médicaments sur des espèces aquatiques (Besse et Garric 2008 ; Kostich et Lazorchak 2008 ; Huggett et al. 2003 ; Seiler 2002 ; Länge et Dietrich 2002). Les données pharmacologiques peuvent permettre de mieux comprendre les effets déjà observés sur des organismes non-cibles, et de sélectionner des espèces ou des critères d'essais pertinents pour la mise en place d'essais écotoxicologiques, par l'identification de cibles moléculaires communes entre l'homme et d'autres organismes.

Ordre de priorité	Action
1	- Restreindre autant que possible la dissémination environnementale.
2	- Etablir une base de données actualisée des quantités de médicaments mis sur le marché et établir des listes prioritaires de molécules à rechercher dans l'environnement.
3	- Surveiller la qualité des milieux environnementaux au regard des médicaments : <ul style="list-style-type: none"> - définir des indicateurs chimiques et/ou pharmacologiques, - surveiller d'éventuel effets <i>in situ</i>, - étudier la biotransformation des médicaments dans l'environnement, - étudier les niveaux de contamination des aliments « sensibles » pour l'homme.
4	- Evaluer les expositions potentielles pour les êtres humains.
6	- Développer dans le cadre des dossiers d'AMM, des approches évaluatives des effets potentiels des résidus médicamenteux sur les écosystèmes.
7	- Procéder à une approche globale d'évaluation des risques pour l'environnement à partir des données précédentes.
8	- Développer de nouvelles technologies ou de nouveaux procédés dans le cadre d'une aide à la gestion des déchets.

Tableau 15 : Perspectives et nécessité de programmes d'action, ordre de priorité proposé par l'Académie Nationale de Pharmacie (2008).

Dans le cas des médicaments, la prise en compte des données pharmacologiques devrait être incluse aux stratégies d'évaluation du risque. Les travaux dans ce domaine sont encore récents et il est nécessaire de les poursuivre et de développer l'*éco-pharmacotoxicologie*, afin de pouvoir extrapoler les effets des médicaments sur l'environnement à partir des données pharmacologiques (Académie Nationale de Pharmacie 2008).

2.3. Conclusion pour l'évaluation de risque

Compte tenu des nombreuses perspectives qui s'offrent dans ce domaine, la question se pose de savoir ce qu'il faut privilégier dans un premier temps, à cet effet, un ordre de priorité a été suggéré par l'Académie Nationale de Pharmacie (Tableau 15).

Au vu des résultats apportés et des connaissances synthétisées dans ce travail, nous considérons que les efforts principaux doivent porter sur les points suivants :

- mise en place de modèles permettant une bonne évaluation de l'exposition dans les différents compartiments aquatiques (colonne d'eau et sédiment) ;
- compréhension, et si possible développement de modèles de prédiction du comportement des médicaments dans l'environnement ;
- évaluation des effets des mélanges et interactions avec d'autres contaminants ;
- investigation de l'utilité des données pharmacologiques pour comprendre voire estimer des effets sur des organismes aquatiques ;
- développement et à mise à jour des listes prioritaires.

L'estimation des concentrations dans le milieu récepteur passant par la mise à disposition de données de consommation et de données pharmacocinétiques, et l'investigation des données pharmacologiques passant par la disponibilité de celles-ci, il apparaît nécessaire que de telles données puissent être collectées, mises à jour et être accessibles aux professionnels de la santé, aux chercheurs, voire aux usagers ; ce qui nécessite une implication des agences publiques comme l'AFSSAPS, l'AFSSET et l'AFSSA mais également une collaboration active des industriels de la pharmacie.

3. Gestion du risque

Afin de limiter le risque pour les écosystèmes, une diminution de la dissémination environnementale des médicaments doit être envisagée. A cet effet, plusieurs mesures sont réalisables à différents niveaux (Tableau 16).

3.1. Au niveau des pouvoirs publics

Au niveau réglementaire, les industriels sont à présent tenus de réaliser une évaluation du risque environnemental pour les nouvelles molécules mises sur le marché. La procédure de l'EMA (2006) propose, pour un médicament dont le risque environnemental ne peut-être exclu, de faire figurer sur sa notice ou son conditionnement, une indication informative des risques potentiels pour l'environnement, ainsi qu'une information engageant les patients et les professionnels de santé à mieux contribuer à la collecte et au recyclage des médicaments inutilisés, de façon à limiter les rejets intempestifs dans l'environnement. Il s'agit là à l'heure actuelle de la seule mesure préconisée dans le cadre de la procédure de l'EMA.

Sur le plan politique, des actions envers la population et les industriels peuvent également être envisagées : campagnes d'information pour le grand public sur les liens étroits entre santé publique et environnementale, et mesures incitatives pour l'industrie pharmaceutique à développer des technologies plus respectueuses de l'environnement.

Acteur	Mesures et actions envisageables
Industrie pharmaceutique	<ul style="list-style-type: none"> - Partage des données nécessaires aux démarches d'évaluation de risque et permettant une meilleure gestion des risques. - Publication des méthodes analytiques et de certains résultats. - Prise en compte des aspects environnementaux dans le développement de nouveaux produits, développement de la chimie verte. - Information appropriée des professionnels de santé et des patients.
Patients	<ul style="list-style-type: none"> - Amélioration de l'observance des traitements. - Utilisation raisonnée des médicaments. - Retour des médicaments non utilisés aux circuits de collecte et de recyclage.
Pharmaciens	<ul style="list-style-type: none"> - Information et éducation des patients. - Participation active à la collecte des médicaments non utilisés.
Médecins	<ul style="list-style-type: none"> - Information et éducation des patients. - Prescription des médicaments en fonction de critères environnementaux, lorsque ceux-ci existent (www.janusinfo.se/environnement).
Universités	<ul style="list-style-type: none"> - Formation des étudiants (pharmaciens, médecins et vétérinaires) à la composante environnementale.
Hôpitaux	<ul style="list-style-type: none"> - Information et éducation des patients. - Utilisation raisonnée des médicaments.
Exploitants de STEP	<ul style="list-style-type: none"> - Amélioration des procédés.
Politiques	<ul style="list-style-type: none"> - Prise en compte des médicaments dans la législation environnementale. - Inclusion de critères environnementaux dans les dossiers d'homologation. - Incitations pour la mise en place de méthodes industrielles durables (chimie verte). - Information du public sur la problématique des rejets médicamenteux.

Tableau 16 : Actions possibles pour limiter la dissémination environnementale des médicaments (d'après Kümmerer 2009a).

3.2. Au niveau des agglomérations (traitement des effluents et des eaux usées)

Les STEP urbaines représentent à la fois la dernière barrière entre les eaux usées contaminées et le milieu récepteur, et le principal point d'entrée des médicaments dans les eaux de surface. L'élimination des médicaments dans les STEP à boues activées, technologie la plus répandue en France, n'est pas complète. Par ailleurs, l'élimination varie d'un composé à un autre, ainsi qu'en fonction des saisons (Castiglioni et al. 2006 ; Clara et al. 2005 ; Paxeus et al. 2004). A titre d'exemple, les rendements épuratoires sont très élevés pour les AINS de type ibuprofène (supérieur à 90%), mais très faibles pour la carbamazépine (inférieur à 10%).

Une solution à envisager pour limiter les rejets est donc l'amélioration des procédés d'épuration. De nouvelles techniques, plus efficaces dans l'élimination des contaminants sont à l'étude : oxydation, ozonation, utilisation de charbon activé, filtration sur membrane... (voir Wenzel et al. 2008 pour revue). Néanmoins, l'application à grande échelle de tels procédés doit être discutée, d'une part en terme de contribution à la limitation de la toxicité des rejets (donc de diminution de l'impact sur le milieu récepteur), mais également en terme de coût et de consommation d'énergie ; un équilibre devant être trouvé entre ces différents facteurs. Par ailleurs, la formation de sous-produits de dégradation doit être évaluée : ainsi le procédé d'ozonation, au demeurant très efficace pour réduire la toxicité d'un effluent, peut générer des nitrosamines et des bromates cancérigènes, provenant de la dégradation respective des composés azotés et bromés (Hollender et Escher 2009).

En définitive, si les rendements épuratoires des STEP peuvent être améliorés, et si il est important de développer de nouvelles technologies de gestion et de traitement des effluents plus efficaces, les efforts en terme de réduction de rejets toxiques ne doivent pas se limiter à cette seule optique.

Une autre alternative proposée dans la gestion des eaux usées est la séparation à la source, qui peut permettre un traitement adéquat des effluents en rapport avec leurs caractéristiques. L'approche la plus communément proposée est la séparation des urines du reste des eaux usées domestiques. Ce type de procédé est encore à l'étude (Larsen et al. 2009 ; Peter-Frölich et al. 2007). Dans le cas des médicaments toutefois, la séparation des urines peut contribuer à limiter les rejets de substances médicamenteuses, mais pas en totalité, car une part non négligeable et variable en fonction du composé, peut également être également excrétée *via* les fécès.

3.3. Au niveau des établissements de soin

Au niveau des hôpitaux, se pose également la question de la mise en place de traitements *in situ* des effluents. Ceci pouvant nécessiter un investissement important pour l'hôpital, il semble dans un premier temps nécessaire d'évaluer de manière plus précise les dangers liés aux effluents hospitaliers : évaluation des quantités rejetées, de la toxicité des effluents, de leur mutagénicité... Par ailleurs, il est à présent établi que les rejets liés aux effluents hospitaliers ne représentent qu'une faible part des rejets totaux au niveau de l'agglomération, moins de 10%, voir 3% pour certaines molécules (Kümmerer 2009a), ce qui, associé à la sortie de la réserve hospitalière de plus en plus de molécules médicamenteuses et au développement des traitements ambulatoires, contribue à limiter les quantités rejetées *via* les effluents hospitaliers. L'utilité d'une telle démarche doit donc être discutée.

3.4. Au niveau industriel

Les effluents des industries pharmaceutiques peuvent représenter des sources de contamination ponctuelle du milieu aquatique, et les concentrations mesurées peuvent être élevées (Larsson et al. 2007). Une évaluation plus poussée de la qualité des rejets devrait être réalisée et le cas échéant, des traitements *in situ* installés.

Cependant, le fait qu'une partie non négligeable des activités de production soit localisée dans des pays où la réglementation encadrant les rejets est plus permissive peut limiter ce type de démarche.

Le développement de la chimie dite verte (Anastas et Warner 1998), est une autre solution pouvant contribuer à diminution de rejets de contaminants :

- par la réduction des quantités de produits chimiques utilisés et rejetés par les activités de production (solvants, matières premières, adjuvants de synthèses...);
- par le développement de nouvelles molécules médicamenteuses plus facilement dégradables.

Dans le cas des médicaments, seul le premier niveau semble réalisable à court terme. La synthèse de nouvelles molécules pharmaceutiques à la fois efficaces et biodégradables peut être ardue et se heurter à des contraintes économiques; toutefois, la modification de molécules déjà existantes, de manière à les rendre dégradables, peut-être une voie à explorer (Kümmerer 2009a).

3.5. Au niveau des personnels de santé et des patients

La formation des professionnels de santé (médecins et pharmaciens) à cette problématique, peut également contribuer à limiter les rejets dans l'environnement, notamment par l'information et l'éducation des patients, ainsi que par une meilleure gestion des médicaments non utilisés.

Par ailleurs, une diminution de la consommation de médicaments est une solution qui ne doit pas être écartée, bien qu'une telle démarche passe avant tout par une prise de conscience et une contribution active de la part de la population. Les quantités de médicaments consommées sont en effet très importantes dans nos pays industrialisés; à titre d'exemple, en 2004 en France, 3000 tonnes de paracétamol et plus de 300 tonnes d'amoxicilline (AFSSAPS 2006) avaient été délivrées. Or, il n'est pas exclu que cette forte consommation, qui contribue à la contamination des eaux, pose également à terme des problèmes de santé publique comme le développement de phénomènes de multirésistance aux antibiotiques, en partie lié à la trop forte utilisation de ces molécules (Trémolières et al. 2006).

3.6. Conclusion pour la gestion du risque

La diminution des rejets médicamenteux doit être une priorité et plusieurs optiques peuvent être envisagées pour contribuer à restreindre la dissémination environnementale. La diminution passe par une amélioration des procédés de traitement et de gestion des eaux, mais également par une sensibilisation et une éducation des professionnels de santé et de la population à la problématique environnementale liée à l'usage des médicaments, et à l'importance de la préservation des ressources en eau en général.

4. Les médicaments à usage humain, des contaminants de l'environnement... parmi beaucoup d'autres

Il est donc acquis que les médicaments à usage humain peuvent contaminer l'environnement et que leur entrée dans le milieu aquatique se fait essentiellement par l'intermédiaire des rejets de STEP urbaines. Les médicaments sont cependant loin d'être les seuls contaminants à être présents dans les effluents de STEP et les eaux de surface. A titre d'exemple, un aperçu très succinct de micropolluants autres que les médicaments, mesurés en entrée et sortie de STEP est donné en annexe I. Au regard de notre problématique, cette multi-contamination du milieu aquatique pose donc les questions suivantes :

- est-il pertinent de s'intéresser de manière spécifique aux médicaments ?
- Quelle est la contribution des médicaments à l'impact de cette multi-contamination ?

Du point de vue de l'impact environnemental, il est discutable de considérer séparément les médicaments des autres contaminants. D'une manière générale, on peut se demander s'il est justifié d'évaluer le risque lié à des contaminants spécifiques sans chercher à comprendre l'existence et la nature de leurs interactions avec les autres contaminants. Cependant à l'heure actuelle, seules les molécules isolées sont prises en compte dans les démarches d'évaluation de risque réglementaires, et aucune législation n'encadre le problème des mélanges (Mc Carty et Borgert 2006).

Pour les médicaments à usage humain, la question de l'impact environnemental ne devrait donc pas être dissociée de celle des autres contaminants transitant par les STEP urbaines. Il serait par conséquent plus approprié de traiter cette problématique sous l'angle plus général des effets liés aux rejets des systèmes d'assainissement. Sur cette question, on sait encore peu de choses : les outils permettant à la fois de mesurer une altération des milieux mais également de discriminer entre les différentes causes (chimiques ou non) à l'origine de cette dégradation sont encore au stade du développement. En fait à l'heure actuelle, on dispose de deux grands types d'outils :

- d'une part, des indices écologiques qui mesurent l'état des communautés et diagnostiquent une altération, mais qui n'ont pas été développés pour établir des liens de causalité à une exposition à des toxiques chimiques ;
- et d'autre part, des outils de toxicologie environnementale (biotests) qui permettent de relier exposition à un toxique isolé et effet observé sur une espèce modèle en laboratoire, mais qui ne peuvent pas prendre en compte l'influence des conditions environnementales, la qualité et les contraintes du milieu, et donc qui ne permettent pas d'extrapoler les résultats obtenus à la réalité du terrain.

De nouveaux outils comme les approches écotoxicologiques *in situ* (par exemple l'exposition d'organismes encagés), ou les indices écologiques multimétriques présentent un intérêt plus grand dans l'évaluation d'une altération du milieu et de ses causes, mais sont encore au stade de développement. Ces outils nécessitent encore des retours d'expérience quand à leur fiabilité pour rendre compte d'un risque environnemental de nature chimique sur les milieux (Besse et al. 2009a ; 2009b).

Du point de vue de la surveillance de la qualité des milieux et de l'évaluation de l'exposition, il est par contre pertinent de s'intéresser aux médicaments de manière spécifique et de poursuivre les programmes de surveillance afin de disposer de la « cartographie » la plus précise possible de la contamination. Cette cartographie s'avérant nécessaire pour :

- relier un impact observé aux contaminants qui en sont à l'origine ;
- idéalement, identifier des molécules prioritaires en terme de contribution à cet impact, pour en limiter la dissémination environnementale.

Dans cette optique, plus que l'analyse chimique, ce sont les modèles d'évaluation de l'exposition qui sont à développer. Moins coûteux que l'analyse systématique et applicables à un grand nombre de molécules, ils peuvent en outre servir à orienter des analyses chimiques ultérieures. L'utilisation de données modélisées est donc une alternative nécessaire aux campagnes de mesures, même si la chimie reste indispensable pour évaluer précisément l'ampleur d'une contamination (Johnson et al. 2008b).

L'impact environnemental des médicaments s'inscrit donc dans une problématique plus large, à laquelle on ne sait encore répondre que de manière incomplète. D'une manière générale, il apparaît aujourd'hui important de se focaliser sur la compréhension des effets des mélanges en laboratoire, et en parallèle de poursuivre le développement d'outils *in situ* de mesure d'un effet toxique « global » et prenant en compte la complexité du terrain.

5. Conclusion

Les médicaments à usage humain sont donc des contaminants de l'environnement, au même titre que les pesticides ou les métaux ; mais leur caractère particulier de produits de santé, ainsi que le bénéfice qu'ils nous apportent, en font des composés dont la gestion du risque doit être établie de manière raisonnée et pragmatique : on imagine difficilement à l'heure actuelle le retrait d'une molécule en raison de sa trop forte nocivité pour les écosystèmes. Néanmoins, un impact des médicaments sur l'environnement ne peut-être écarté et est même établi dans le cas de l'éthinylestradiol. Il est donc nécessaire de poursuivre les efforts dans le but de mieux comprendre et estimer le risque pour les écosystèmes, et d'agir de manière à limiter la dissémination environnementale.

Toutefois, les médicaments ne représentent qu'une fraction de la charge totale en contaminants d'origine anthropique, et en ce qui concerne l'impact sur le milieu récepteur, il est discutable de dissocier les substances médicamenteuses de l'ensemble des autres contaminants.

Pour conclure sur cette problématique, on peut dire que :

- en terme de gestion du risque, il faut limiter le plus possible les rejets des substances médicamenteuses dans l'environnement ;
- en terme d'évaluation de l'ampleur de la contamination, il faut poursuivre la surveillance des milieux mais surtout continuer à développer des modèles afin d'estimer de manière précise les niveaux de concentrations et le devenir dans l'environnement ;
- en terme d'évaluation des effets sur l'environnement, le point d'entrée principal étant les stations d'épuration urbaines et les médicaments y étant associés à de nombreux autres contaminants, cette évaluation devrait se faire sous l'angle plus général de l'impact des rejets des systèmes d'assainissement ; les outils permettant de déterminer et de mesurer un tel impact restant encore à développer.

Bibliographie

Académie Nationale de Pharmacie. 2008. Médicaments et Environnement. 103 p. www.acadpharm.org.

AFSSAPS 2009. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Données de consommation des molécules anticancéreuses pour l'année 2008. Communication personnelle.

AFSSAPS 2006. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Données de consommation des molécules pharmaceutiques, toutes classes confondues, pour l'année 2004. Communication personnelle.

Agence Danoise pour l'Environnement. 2006. rapport sur l'évaluation du risque des médicaments, communication personnelle.

Aherne, G.W., Hardcastle, A., Nield, A.H. 1990. Cytotoxic drugs and the aquatic environment. Estimation of Bleomycin in river and water samples. *Journal of Pharmacy and pharmacology* 42(10):741-742.

Allain P. Ed. Pharmacologie, les médicaments. 3rd Ed. CdM 2000.

Alliance-Santé Rhône-Alpes 2006. Répartiteur pharmaceutique, communication personnelle.

Anastas, P.T., Warner, J.C. 1998. Green chemistry. Theory and practice. Oxford University press. Oxford, New-York.

Ankley G.T., Jensen K.M., Durhan E.J., Makynen E.A., Butterworth B.C., Kahl M.D., Villeneuve D.L., Linnum A., Gray L.E., Cardon M., Wilson, V.S. 2005. Effects of two fungicides with multiple modes of action on reproductive endocrine function in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Toxicological Sciences* 86 (2):300-308.

Andersen H.R., Wollenberger L., Halling-Sorensen B., Kusk K.E. 2001. Development of copepod nauplii to copepodites. A parameter for chronic toxicity including endocrine disruption. *Environmental toxicology and chemistry* 20(12):2821-2829.

Andreozzi, R., Caprio, V., Ciniglia, C., De Champdore, M., Lo Giudice, R., Marotta, R., Zuccato, E. 2004. Antibiotics in the environment: Occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin. *Environmental Science and Technology* 38(24):6832-6838.

Ashton, D., Hilton, M., Thoma, KV. 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *The Science of the Total Environment* 333:167-184.

Auriol, M., Filali-Meknassi, Y., Tyagi, R.D. 2007. Occurrence and fate of steroid hormones in wastewater treatment plants | [Présence et devenir des hormones stéroïdiennes dans les stations de traitement des eaux usées]. *Revue des Sciences de l'Eau* 20 (1):89-108

Ayscough, N.J., Fawell, J., Franklin, G. and Young, W. 2000. Review of human pharmaceuticals in the environment. R&D. Technical report P390. Water Research Centre, Environment Agency, R&D.

Backhaus, T., Altenburger, R., Arrhenius, A., Blanck H., Faust, M., Finizio, A., Gramatica, P., Grote, M., Junghans, M., Meyer, W., Pavan, M., Porsbring, T., Scholze, M., Todeschini, R., Vighi, M., Walter, H., Horst Grimme, L. 2003. The BEAM-project: prediction and assessment of mixture toxicities in the aquatic environment. *Continental Shelf Research* 23(17-19):1757-1769

Backhaus, T., Altenburger, R., Boedecjer, W., Faust, M., Scholze, M., Grimme, L.H. 2000. Predictability of the toxicity of multiple mixture of dissimilarly acting chemicals to *Vibrio fischerii*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19:2348-2356.

Backhaus, T., Grimme, L.H. 1999. The toxicity of antibiotic agents to the luminescent bacterium *Vibrio fischerii*. *Chemosphere* 38(14):3291.

Balmer, M., Buser, H., Müller, M., Poiger, T. 2005. Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes. *Environmental Science and Technology* 39(4):953-962.

- Bangsgaard, K., Madsen, S.S., Korsgaard, B. 2006. Effect of waterborne exposure to 4-tert-octylphenol and 17 β -estradiol on smoltification and downstream migration in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquatic Toxicology* 80(1):23-32.
- Bantle, J.A., Burton, D.T., Dawson, D.A., Dumont, J.N., Finch, R.A., Fort, D.J., Linder, G., Rayburn, J.R. 1994. Fetax interlaboratory validation study: phase II testing. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13(10):1629-1637.
- BCB 2009 Banque Claude Bernard. <http://www.resip.fr>
- Bendz D., Paxeus N.A., Ginn T.R., Loge F.J. 2005. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Hje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials* 122:195-204.
- Benner, J., Salhi, E., Ternes, T., von Gunten, U. 2008. Ozonation of reverse osmosis concentrate: Kinetics and efficiency of beta blocker oxidation. *Water Research* 42 (12): 3003-3012.
- Besse, J.P., Archaimbault, V., Montuelle, B., Garric, J. 2009a. Evaluation de l'impact des activités d'assainissement sur les milieux aquatiques. Rapport phase I, 2^{ème} partie. Revue des outils disponibles : mesured e la présence des micropolluants, évaluation de la toxicité de l'effluent, outils écologiques d'évaluation de l'état du milieu récepteur, approches écotoxicologiques in situ. Convention VERI-Cemagref. Cemagref, Lyon. 205 pages.
- Besse, J.P., Montuelle, B., Garric, J. 2009b. Evaluation de l'impact des activités d'assainissement sur les milieux aquatiques. Rapport phase II. Proposition de recherche sur le développement d'une méthodologie d'évaluation de l'impact. Convention VERI-Cemagref. Cemagref, Lyon. 25 pages.
- Besse, J.-P., Garric, J. 2008. Human pharmaceuticals in surface waters. Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. *Toxicology Letters* 176 (2):104-123.
- Besse, J.-P., Kausch-Barreto, C., Garric, J. 2008. Exposure assessment of pharmaceuticals and their metabolites in the aquatic environment: Application to the French situation and preliminary prioritization. *Human and Ecological Risk Assessment* 14 (4):665-695.
- Besse, J.P., Garric J. 2007. Médicaments à usage humain : risque d'exposition et effets sur le milieu récepteur. Proposition d'une liste de médicaments à usage humain à surveiller dans les eaux de surface continentales. Agence de l'Eau RM&C, Lyon. 241 pages.
- Besse, J.P., Vasseur, P., Riou, C. 2005. Rapport de synthèse sur les perturbateurs endocriniens, analyse bibliographique, évaluation du risque pour les écosystèmes aquatiques. Document pour l'Agence de l'Eau. Agence de l'Eau Rhin-Meuse.
- Bester, K., Scholes, L., Wahlberg, C., McArdell, C. 2008. Sources and mass flows of xenobiotics in urban water cycles-an overview on current knowledge and data gaps. *Water, Air, and Soil Pollution: Focus* 8(5-6):407-423.
- BIAM 2009. Banque de données automatisée sur les médicaments. <http://www.biam2.org/>.
- Boxall, A.B.A., Fogg, L.A., Kay, P., Blackwel, P.A., Pemberton, E.J., Croxford, A. 2003. Prioritisation of veterinary medicines in the UK environment. *Toxicology Letters* 142(3):207-218.
- Bound, J.P., Voulvoulis, N. 2004. Pharmaceuticals in the aquatic environment - a comparison of risk assessment strategies. *Chemosphere* 56(11):1143-1155.
- Boyd, G.R., Reemtsma, H., Grimm, D.A., Mitra, S. 2003. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *The Science of the Total Environment* 311:135-149.
- Brain, R.A., Johnson, D.J., Richards, S.M., Hanson, M.L., Sanderson, H., Lam, M.W., Young, C., Mabury, S.A., Sibley, P.K., Solomon, K.R. 2004a. Microcosm evaluation of the effects of an eight pharmaceutical mixture to the aquatic macrophytes *Lemna gibba* and *Myriophyllum sibiricum*. *Aquatic Toxicology* 70(1):23-40.
- Brain, R.A., Johnson, D.J., Richards, S.M., Sanderson, H., Sibley, P.K., Solomon, K.R. 2004b. Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23(2):371-382.
- Brennan, S.J., Brougham, C.A., Roche, J.J., Fogarty, A.M. 2006. Multi-generational effects of four selected environmental oestrogens on *Daphnia magna*. *Chemosphere* 64 (1):49-55.

- Brigante, M., DellaGreca, M., Previtiera, L., Rubino, M., Temussi, F. 2005. Degradation of hydrochlorothiazide in water. *Environmental Chemistry Letters* 2 (4):195-198.
- Brooks, B.W., Chambliss, C.K., Stanley, J.K., Ramirez, A.J., Banks, K.E., Johnson, R.D., Lewis R.J. 2005. Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. *Environmental Toxicology & Chemistry* 24:464-469.
- Brooks, B.W., Turner, P.K., Stanley, J.K., Weston, J.J., Glidewell, E.A., Foran, C.M., Slattery, M., La Point, T.W., Huggett, D.B. 2003. Waterborne and sediment toxicity of fluoxetine to select organisms. *Chemosphere* 52(1):135-142.
- Budzinski, H., Togola, A. 2006. Présence des résidus de médicaments dans les différents compartiments du milieu aquatique. *Environnement Risques et Santé* 5:248-252.
- Buerge, I.J., Buser, H.-R., Poiger, T., Müller, M.D. 2006. Occurrence and fate of the cytostatic drugs cyclophosphamide and ifosfamide in wastewater and surface waters. *Environmental Science and Technology* 40 (23): 7242-7250.
- Burdorf, A., Nieuwenhuijsen, J.J. 1999. Endocrine disrupting chemicals and human reproduction: Fact or fiction? *Annals of Occupational Hygiene* 43 (7):435-437.
- Buser, H.R., Poiger, T. and Müller, M.D. 1998. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: Rapid photodegradation in a lake. *Environmental Science and Technology* 32:3449-3456.
- Calabrese, E.J., Baldwin, L.A. 2002. Defining hormesis. *Human and Experimental Toxicology* 21(2):91-97.
- Caldwell, D.J., Mastrocco, F., Hutchinson, T.H., Länge, R., Heijerick, D., Janssen, C., Anderson, P.D., Sumpter, J.P. 2008. Derivation of an aquatic predicted no-effect concentration for the synthetic hormone, 17 α -ethinyl estradiol. *Environmental Science and Technology* 42 (19):7046-7054.
- Calvet, R. 2005. Les pesticides dans le sol. conséquences agronomiques et environnementales. Edition France Agricole.
- Capleton, AC, Courage, C, Rumsby, P, Holmes, P, Stutt, E, Boxall, ABA, Levy, LS. 2006. Prioritising veterinary medicines according to their potential indirect human exposure and toxicity profile. *Toxicology Letters* 163(3):213-223.
- Cargouët, M., Perdiz, D., Mouatassim-Souali, A., Tamisier-Karolak, S., Levi, Y. 2004. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Science of The Total Environment* 324(1-3):55-66.
- Carlsson, G., Örn, S. Larsson, D.G.J. 2009. Effluent from bulk drug production is toxic to aquatic vertebrates. *Environmental Toxicology & Chemistry* 28:2656-2662.
- Carlsson, C., Johansson, A.K., Alvan, G., Bergman, K., Kuhler, T. 2006a. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants?: Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Science of The Total Environment* 364(1-3):67-87.
- Carlsson, C., Johansson, A.K., Alvan, G., Bergman, K., Kuhler, T. 2006b. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants?: Part II: Environmental risk assessments of selected pharmaceutical excipients. *Science of The Total Environment* 364(1-3):88-95.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D., Zuccato, E. 2006. Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environmental Science and Technology* 40(1):357-363.
- Castiglioni, S., Fanelli, R., Calamari, D., Bagnati, R., Zuccato, E. 2004. Methodological approaches for studying pharmaceuticals in the environment by comparing predicted and measured concentrations in River Po, Italy. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 39(1):25-32.
- Cermola, F., DellaGreca, M., Iesce, M.R., Montanaro, S., Previtiera, L., Temussi, F., Brigante, M. 2007. Irradiation of fluvastatin in water. Structure elucidation of photoproducts. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 189 (2-3):264-271.
- Chang, H., Wu, S., Hu, J., Asami, M., Kunikane, S. 2008. Trace analysis of androgens and progestogens in environmental waters by ultra-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1195 (1-2):44-51.

- Chèvre, N., Maillard, E., Loepfe, C., Becker-van Slooten, K. 2008. Determination of water quality standards for chemical mixtures: Extension of a methodology developed for herbicides to a group of insecticides and a group of pharmaceuticals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71:740-748.
- 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 (1-3):120-128.
- Christensen, F.M. 1998. Pharmaceuticals in the environment-A human risk? *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 28:212-221.
- Clara, M., Scharf, S., Scheffknecht, C., Gans, O. 2007. Occurrence of selected surfactants in untreated and treated sewage. *Water Research* 41(19):4339-4348.
- Clara M., Strenn B., Gans O., Martinez E., Kreuzinger N., Kroiss H. 2005. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Research* 39:4797-4807.
- Cleuvers, M. 2005. Initial risk assessment for three [beta]-blockers found in the aquatic environment. *Chemosphere* 59(2):199-205.
- Cleuvers, M. 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters* 142(3):185-194.
- Clubbs, R.L., Brooks, B.W. 2007. *Daphnia magna* responses to a vertebrate estrogen receptor agonist and an antagonist: A multigenerational study. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67 (3): 385-398.
- Coetsier, C.M., Spinelli, S., Lin, L., Roig, B., Touraud, E. 2009. Discharge of pharmaceutical products (PPs) through a conventional biological sewage treatment plant: MECs vs PECs? *Environment International* 35 (5):787-792.
- Colborn, T., Vom Saal, F.S., Soto, A.M. 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives* 101 (5), pp. 378-384.
- Colborn, T., Clément, C. 1992. Chemically-induced alterations in sexual and functional development : the wildlife/human connection. Princeton Scientific Publishing, Princeton.
- Colimon 2002. Antiviraux. Disponible à l'adresse www.med.univ-rennes1.fr/.../antiviraux.html.
- Cooper, E.R., Siewicki, T.C., Phillips, K. 2008. Preliminary risk assessment database and risk ranking of pharmaceuticals in the environment. *Science of the Total Environment* 398 (1-3): 26-33.
- CPAM 2006. Service gestion du risque et statistiques, Laurent Ellul, communication personnelle.
- 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.
- D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., Mancini, R., Mastropasqua, R., Nazzari, M., Samperi, R.. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. 2003. *The Science of the Total Environment* 302:199-209.
- Dargnat, C., Teil, M., Chevreuil, M., Blanchard, M. 2009. Phthalate removal throughout wastewater treatment plant. Case study of Marne Aval station (France). *Science of the Total Environment* 407(4):1235-1244.
- Daughton, C.G., Ternes, T.A. 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives* 107 Supplement 6:907-938.
- De Mes, T., Zeeman, G., Lettinga, G. 2005. Occurrence and fate of estrone, 17 β -estradiol and 17 α -ethynylestradiol in STPs for domestic wastewater Re-views in *Environmental Science and Biotechnology* 4(4):275-311.
- De Young D.J., Bantle J.A., Hull M.A., Burks S.L. 1996. Differences in sensitivity to developmental toxicants as seen in *Xenopus* and *Pimephales promelas* embryos. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology* 56(1):143-150.
- Debernard S., Rossignol F., Couillaud F. 1994. HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin inhibits insect juvenile-hormone biosynthesis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 95 (1):92-98.

- DellaGreca, M., Iesce, M.R., Isidori, M., Montanaro, S., Previtera, L., Rubino, M. 2007a. Phototransformation of amlodipine in aqueous solution: Toxicity of the drug and its photoproduct on aquatic organisms. *International Journal of Photoenergy* 2007, art. no. 63459.
- DellaGreca, M., Iesce, M.R., Isidori, M., Montanaro, S., Previtera, L., Rubino, M. 2007b. Phototransformation products of tamoxifen by sunlight in water. Toxicity of the drug and its derivatives on aquatic organisms. *Chemosphere* 67 (10):1933-1939.
- DellaGreca, M., Fiorentino, A., Isidori, M., Lavorgna, M., Previtera, L., Rubino, M., Temussi, F. 2004. Toxicity of prednisolone, dexamethasone and their photochemical derivatives on aquatic organisms. *Chemosphere* 54(5):629-637.
- Desbrow, C., Routledge, E.J., Brighty, G.C., Sumpter, J.P., Waldock, M. 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent.1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environmental Science and Technology* 32:1549-1558.
- Dobbins, L., Usenko, S., Brain, R.A., Brooks, B.W. 2009. Probabilistic ecological hazard assessment of parabens using *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28(12):2744-2753.
- Dorosz 2007. *Guide Pratique des Médicaments*. 27 ed. Maloine editions.
- Drees 2006. le marché du médicament dans cinq pays européens, structure et évolution en 2004. Marie-Emilie Clerc, Céline Pereira, Marie Podevin et Sébastien Villeret, DREES N°502, juillet 2006.
- Drillia, P., Stamatelatos, K., Lyberatos, G. 2005. Fate and mobility of pharmaceuticals in solid matrices. *Chemosphere* 60 (8):1034-1044.
- Drugs.com 2009. Prescription Drug Information, Side Effects, Interactions. www.drugs.com.
- Dullin, R., Silberstein, N., Bonnin, M., Saux, M.C., 2002. Comparaison et critères de choix des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine. *Journal de Pharmacie Clinique* 21:39-46.
- Dzialowski, EM, Turner, PK, Brooks, BW. 2006. Physiological and reproductive effects of beta adrenergic receptor antagonists in *Daphnia magna*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 50(4):503-510.
- Eguchi K., Nagase, H., Ozawa, M., Endoh, Y.S., Goto, K., Hirata, K., Miyamoto, K., Yoshimura, H. 2004. Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae *Chemosphere* 57 (11):1733-1738 .
- Escher, B.I, Bramaz, N., Lienert, J., Neuwoehner, J., Straub, J.O., 2009. Mixture toxicity of the antiviral drug Tamiflu® (oseltamivir ethylester) and its active metabolite oseltamivir acid. *Aquatic Toxicology*, In Press.
- EMA 2006. Note for guidance on environmental risk assessment of medicinal products for human use. Doc. Ref. EMA/CHMP/SWP/4447/00. Committee for proprietary medicinal products. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, London, UK. <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/444700en.pdf>
- FDA. 1998. Guidance for Industry-Environmental Assessment of Human Drugs and Biologics Applications, Revision 1. FDA Center for Drug Evaluation and Research, Rockville.
- FDA. 1996. Retrospective review of ecotoxicity data submitted in environmental assessments. FDA Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD, USA (docket N 96N-0057).
- Feitosa-Felizzola, J., Chiron, S. 2009. Occurrence and distribution of selected antibiotics in a small Mediterranean stream (Arc River, Southern France). *Journal of Hydrology* 364 (1-2):50-57.
- Fent, K., Weston, A.A., Caminada, D. 2006a. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 76(2):122-159.
- Fent, K., Escher, C. Caminada, D. 2006b. Estrogenic activity of pharmaceuticals and pharmaceutical mixtures in a yeast reporter gene system. *Reproductive Toxicology* 22:175-185.
- Ferrari, B, Mons, R, Vollat, B, Frayss,e B, Paxeus, N, Lo Giudice, R, Pollio, A, Garric, J. 2004. Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: Are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environmental Toxicology and Chemistry* 23(5):1344-1354.

- Flippin, J.L., Huggett, D., Foran, C.M. 2007. Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquatic Toxicology* 81:73-78.
- Fong, P.P. 1998. Zebra mussel spawning is induced in low concentrations of putative serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). *Journal of Experimental Zoology* 280(3):260-264.
- Foran, CM, Weston, J, Slattery, M, Brooks, BW, Huggett, DB. 2004. Reproductive Assessment of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) Following a Four-Week Fluoxetine (SSRI) Exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 46(4):511-517.
- Fraysse, B, Garric, J. 2005. Prediction and experimental validation of acute toxicity of B-blockers in *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24(10):2470-2476.
- Gabet, V., Miège, C., Choubert, J.M., Martin-Ruel, S., Coquery, M. 2009. Devenir d'oestrogènes et de bêtabloquants dans les filières eau de dix stations d'épuration biologiques des eaux résiduaires urbaines Françaises. *Techniques hospitalières* 717: 61-66.
- Garcia-Ac, A., Segura, P.A., Gagnon, C., Sauvé, S. 2009. Determination of bezafibrate, methotrexate, cyclophosphamide, orlistat and enalapril in waste and surface waters using on-line solid-phase extraction liquid chromatography coupled to polarity-switching electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Environmental Monitoring* 11 (4):830-838.
- Garric J., Ferrari B., Fraysse B., Mons R., Vollat B. 2006. Effects of some human pharmaceutical on freshwater organisms | [Impact de médicaments à usage humain sur les organismes aquatiques d'eau douce]. *Environnement, Risques et Sante* 5 (4):290-295.
- Garric, J., Ferrari, B. 2005. Pharmaceuticals in aquatic ecosystems. Levels of exposure and biological effects: A review | [Les substances pharmaceutiques dans les milieux aquatiques. Niveaux d'exposition et effet biologique: Que savons-nous?]. *Revue des Sciences de l'Eau* 18 (3):307-330.
- Gasperi, J., Garnaud, S., Rocher, V., Moilleron, R. 2008. Priority pollutants in wastewater and combined sewer overflow. *Science of the Total Environment* 407 (1), pp. 263-272.
- Gimeno S., Komen H., Gerritsen A.G.M., Bowmer T. 1998. Feminisation of young males of the common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during sexual differentiation. *Aquatic Toxicology* 43(2-3):77-92.
- Golet E.M., Xifra I., Siegriest H, Alder A. and Giger W. 2003. Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. *Environ. Sci. Technol.* 37:3243-3249.
- Gros, M., Pizzolato, T.-M., Petrović, M., de Alda, M.J.L., Barceló, D. 2008. Trace level determination of β -blockers in waste waters by highly selective molecularly imprinted polymers extraction followed by liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1189 (1-2):374-384.
- Gunnarsson, L., A., Kristiansson, E., Rutgersson, C., Sturve, J., Fick, J., Förlin, L., Larsson, D.G.J. 2009. Pharmaceutical industry effluent diluted 1:500 affects global gene expression, cytochrome P450 1A activity, and plasma phosphate in fish.
- Gunnarsson, L., Jauhiainen, A., Kristiansson, E., Nerman, O., Larsson, D.G.J. 2008. Evolutionary conservation of human drug targets in organisms used for environmental risk assessments. *Environmental Science and Technology* 42 (15):5807-5813.
- Halling-Sørensen, B. 2000. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming. *Chemosphere* 40(7):731-739.
- Halling-Sørensen B., Nors Nielsen S., Lanzky P.F., Ingerslev F., Holten Lützhøft H.C., Jørgensen S.E. 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere* 36(2):357-393
- Heberer, T. 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters* 131:5-17.
- Heckmann, L.-H., Callaghan, A., Hooper, H.L., Connon, R., Hutchinson, T.H., Maund, S.J., Sibly, R.M. 2007. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology Letters* 172 (3):137-145

- Henry, T.B., Black, M.C. 2008. Acute and chronic toxicity of fluoxetine (selective serotonin reuptake inhibitor) in western Mosquitofish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54 (2):325-330.
- Henry, TB, Kwon, JW, Armbrust, KL, Black, MC. 2004. Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23(9):2229-2233.
- Hernando, M.D., Mezcuca, M., Fernandez-Alba, A.R., Barcelo, D. 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* 69(2):334-342.
- Hernando, M.D., Petrovic, M., Fernández-Alba, A.R., Barceló, D. 2004. Analysis by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for β -blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples. *Journal of Chromatography A* 1046 (1-2):133-140.
- Hignite, C., et Aznaroff, D.L. 1977. Drugs and drugs metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutirate and salicylic acid in sewage effluent. *Life Sciences* 20:337-341.
- Hilton M.J., Thomas K.V., Ashton D. 2003. Targeted monitoring programme for pharmaceuticals in the aquatic environment. R&D Technical report P6-012/06/TR UK Environment Agency.
- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., Kratz, K.L. 1999. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science of the Total Environment* 225:109-118.
- Hofnung, M., Quillardet, P., Michel, V., Touati, E. 2002. Genotoxicity of 2-nitro-7-methoxy-naphtho[2,1-b]furan (R7000): A case study with some considerations on nitrofurantoin and nifuroxazide. *Research in Microbiology* 153 (7):427-434.
- Hollander, J. Escher, B. 2009. Eliminer des micropolluants: contrôle d'efficacité. EAWAG news 271. www.eawag.ch/medien/publ/eanews/news_67/en67f_hollender.pdf
- Holten-Lützhøft, H.C., Halling-Sørensen, B., Jørgensen, S.E. 1999. Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 36(1):1-6.
- Huggett D.B., Cook J.C., Ericson J.F., Williams R.T. 2003. A theoretical model for utilizing mammalian pharmacology and safety data to prioritize potential impacts of human pharmaceuticals to fish. *Human and Ecological Risk Assessment* 9 (7):1789-1799.
- Huggett, D.B., Brooks, B.W., Peterson, B., Foran, C.M., Schlenk, D. 2002. Toxicity of select beta adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (B-blockers) on aquatic organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 43(2):229-235.
- Hummel, D., Löffler, D., Fink, G., Ternes, T.A. 2006. Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environmental Science and Technology* 40 (23):7321-7328.
- Huschek, G., Hansen, P.D., Maurer, H.H., Kregel, D., Kayser, A. 2004. Environmental risk assessment of medicinal products for human use according to European Commission recommendations. *Environmental Toxicology* 19 (3):226-240.
- Hutchinson, T.H., Yokota, H., Hagino, S., Ozato, K. 2003. Development of fish tests for endocrine disruptors. *Pure and Applied Chemistry* 75:2343-2353.
- HSDB 2009. Hazardous Substances Databank. <http://www.toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>
- Hyttel, J. 1993. Comparative pharmacology of selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs). *Nordisk Journal of Psychiatry* 47(30):5-12.
- Ibáñez, M., Guerrero, C., Sancho, J.V., Hernández, F. 2009. Screening of antibiotics in surface and wastewater samples by ultra-high-pressure liquid chromatography coupled to hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216 (12):2529-2539.
- Imai, S., Koyama, J. Fujii, K. 2005. Effects of 17- β -estradiol on the reproduction of Java-medaka (*Oryzias javanicus*), a new test fish species. *Marine pollution Bulletin* 51-8-12):708-714.

- Isidori, M., Bellotta, M., Cangiano, M., Parrella, A. 2009a. Estrogenic activity of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Environment International* 35 (5):826-829.
- Isidori, M., Parrella, A., Pistillo, P., Temussi, F. 2009b. Effects of ranitidine and its photoderivatives in the aquatic environment. *Environment International* 35 (5):821-825.
- Isidori, M., Nardelli, A., Pascarella, L., Rubino, M., Parrella, A. 2007. Toxic and genotoxic impact of fibrates and their photoproducts on non-target organisms. *Environment International* 33 (5), pp. 635-641.
- Isidori, M., Nardelli, A., Parrella, A., Pascarella, L., Previtiera, L. 2006. A multispecies study to assess the toxic and genotoxic effect of pharmaceuticals: Furosemide and its photoproduct. *Chemosphere* 63(5):785-793.
- Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., Parrella, A. 2005a. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the Total Environment* 346(1-3):87-98.
- Isidori, M., Lavorgna M., Nardelli, A., Parrella, A., Previtiera, L., Rubino, M. 2005b. Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. *Science of the Total Environment* 348(1-3):93-101.
- Jean, J. (2008). Identification et hiérarchisation des substances médicamenteuses bioaccumulables rejetées dans les effluents hospitaliers. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Thèse n°48-2008. Université Claude Bernard-Lyon 1. Faculté de pharmacie. LYON.
- Jjemba, P.K. 2006. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63(1):113-130.
- Johnson, A.C., Jürgens, M.D., Williams, R.J., Kümmerer, K., Kortenkamp, A., Sumpter, J.P. 2008a. Do cytotoxic chemotherapy drugs discharged into rivers pose a risk to the environment and human health? An overview and UK case study. *Journal of Hydrology* 348 (1-2):167-175.
- Johnson, A.C., Ternes, T., Williams, R.J., Sumpter, J.P. 2008b. Assessing the concentrations of polar organic microcontaminants from point sources in the aquatic environment: measure or model? *Environmental Science and Technology* 42(15):5390-5399.
- Johnson, D.J., Sanderson, H., Brain, R.A., Wilson, C.J., Solomon, K.R. 2007. Toxicity and hazard of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants fluoxetine, fluvoxamine, and sertraline to algae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67 (1):128-139.
- Johnson, A.C., Williams, R.J. 2004. A model to estimate influent and effluent concentrations of estradiol, estrone, and ethinylestradiol at sewage treatment works. *Environmental Science and Technology* 38(13):3649-3658.
- 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.
- Jones, O.A.H., Voulvoulis N., Lester J.N. 2001. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a review. *Environmental Science and Technology* 22:1383-1394.
- Jukosky, J.A., Watzin, M.C., Leiter, J.C. 2008. Elevated concentrations of ethinylestradiol, 17 β -estradiol, and medroxyprogesterone have little effect on reproduction and survival of *Ceriodaphnia dubia*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 81 (3):230-235.
- Kanda R., Griffin P., James H.A., Fothergill J. 2003. Pharmaceutical and personal care products in sewage treatment works. *Journal of Environmental Monitoring*. 5(5):823-830.
- Kashian, D.R., Dodson, S.I. 2004. Effects of vertebrate hormones on development and sex determination in *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23:1282-1288
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J. 2008. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Research* 42 (13):3498-3518.
- Kim, S.-C., Carlson, K. 2006. Occurrence of ionophore antibiotics in water and sediments of a mixed-landscape watershed. *Water Research* 40 (13):2549-2560.

- Kinnberg K., Holbech H., Petersen G.I., Bjerregaard P. 2007. Effects of the fungicide prochloraz on the sexual development of zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* 145(2):165-170.
- Kolodziej, E.P., Gray, J.L., Sedlak, D.L. Quantification of steroid hormones with pheromonal properties in municipal wastewater effluent. 2003. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22(11):2622-2629.
- Kolpin, D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B., Buxton H.T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. Streams, 199-2000: a national reconnaissance. *Environ. Science and Technology* 36:1202-1211.
- Kostich, M.S., Lazorchak, J.M. 2008. Risks to aquatic organisms posed by human pharmaceutical use. *Science of the Total Environment* 389 (2-3):329-339.
- Kümmerer, K. 2009a. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use - present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management* 90 (8):2354-2366.
- Kümmerer, K. 2009b Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. *Chemosphere* 75 (4):417-434.
- Kümmerer, K., 2005. *Pharmaceuticals in the Environment*, 2nd ed. Springer-Verlag.
- Kümmerer, K., Helmers, E. 2000. Hospital effluents as a source of gadolinium in the aquatic environment. *Environmental Science and Technology* 34:573-577.
- Kümmerer, K., Helmers, E. 1997. Hospital effluents as a source for platinum in the environment. *Science of the Total Environment* 193 (3):179-184.
- Kümmerer K., Al-Ahmad A. 1997. Biodegradability of the anti-tumour agents 5-fluorouracil, cytarabine and gemcitabine: Impact of the chemical structure and synergistic toxicity with hospital effluent. *Acta hydrochi. hydrobiol.* 25:166-172.
- Labadie, P., Budzinski, H. 2005. Determination of steroidal hormone profiles along the Jalle d'Eysines river (near Bordeaux, France). *Environmental Science and Technology* 39(14):5113-5120.
- Lajeunesse, A., Gagnon, C., Sauvé, S. 2008. Determination of basic antidepressants and their N-desmethyl metabolites in raw sewage and wastewater using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 80 (14):5325-5333.
- Lam, M.W., Mabury, S.A. 2005. Photodegradation of the pharmaceuticals atorvastatin, carbamazepine, levofloxacin, and sulfamethoxazole in natural waters. *Aquatic Sciences* 67 (2):77-188.
- Lam, M.W., Young, C.J., Brain, R.A., Johnson, D.J., Hanson, M.A., Wilson, C.J., Richards, S.M., (...), Mabury, S.A. 2004. Aquatic persistence of eight pharmaceuticals in a microcosm study. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (6):431-1440.
- Länge, I.G., Daxenberger, A., Schiffer, B., Witters, H., Ibarreta, D., Meyer, H.H.D. 2002. Sex hormones originating from different livestock production systems: Fate and potential disrupting activity in the environment. *Analytica Chimica Acta* 473 (1-2):27-37.
- Länge, R., Dietrich, D. 2002. Environmental risk assessment of pharmaceutical drug substances--conceptual considerations. *Toxicology Letters* 131(1-2):97-104.
- Länge, R., Hutchinson, T.H., Croudace, C.P., Siegmund, F., 2001. Effects of the synthetic estrogen 17 alpha-ethinylestradiol on the life-cycle of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 20(6):1216-1227.
- Längin, A., Alexy, R., König, A., Kümmerer, K. 2009. Deactivation and transformation products in biodegradability testing of β -lactams amoxicillin and piperacillin. *Chemosphere* 75 (3):347-354.
- Larsen, T.A., Adler, A.C., Eggen, R.I.L., Maurer, M., Lienert, J. 2009. Source separation: will we see a paradigm shift in wastewater handling ? *Environmental Science and Technology* 43:6121-6125.
- Larsson, D.G.J., de Pedro, C., Paxeus, N. 2007. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *Journal of Hazardous Materials* 148 (3):751-755.
- Latch, D.E., Stender, B.L., Packer, J.L., Arnold, W.A., McNeill, K. 2003. Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Cimetidine and ranitidine *Environmental Science and Technology* 37(15):3342-3350

- Laville, N., Ait-Aissa, S., Gomez, E., Casellas, C., Porcher, J.M. 2004. Effects of human pharmaceuticals on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in fish hepatocytes. *Toxicology* 196(1-2):41-55.
- Leclercq, M., Mathieu, O., Gomez, E., Casellas, C., Fenet, H., Hillaire-Buys, D. 2009. Presence and fate of carbamazepine, oxcarbazepine, and seven of their metabolites at wastewater treatment plants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56 (3):408-415.
- Li, B., Zhang, T., Xu, Z., Fang, H.H.P. 2009. Rapid analysis of 21 antibiotics of multiple classes in municipal wastewater using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 645 (1-2):64-72.
- Lienert, J., Bürki, T.I., 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.
- Lindström, A., Buerge, I., Poiger, T., Bergqvist, P., Müller, M., Buser, H. 2002. Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater. *Environmental Science and Technology* 36(11): 2322-2329.
- Liu, Z.-h., Kanjo, Y., Mizutani, S. 2009. Urinary excretion rates of natural estrogens and androgens from humans, and their occurrence and fate in the environment: A review. *Science of the Total Environment* 407 (18):4975-4985.
- López de Alda, M.J., Gil, A., Paz, E., Barceló, D. 2002. Occurrence and analysis of estrogens and progestogens in river sediments by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry *Analyst* 127(10):1299-1304.
- Maghalaes-Antoine, L. 2004. Développement d'un test d'agglutination pour la détection in situ de la vitellogénine : biomarqueur de la contamination des écosystèmes aquatiques par les oestrogènes mimétiques. Thèse de doctorat. Université de Metz.
- Mahnik S.N., Rizowski B., Fuerhacker M., Mader R.M. 2004. Determination of 5-fluorouracil in hospital.
- Martindale 2002. The complete drug reference. 33 ed. Sean C Sweetman ed.
- Martínez-Carballo, E., González-Barreiro, C., Sítka, A., Scharf, S., Gans, O. 2007. Determination of selected organophosphate esters in the aquatic environment of Austria. *Science of the Total Environment* 388(1-3): 290-299.
- Mascolo, G., Balest, L., Cassano, D., Laera, G., Lopez, A., Pollice, A., Salerno, C. 2009. Biodegradability of pharmaceutical industrial wastewater and formation of recalcitrant organic compounds during aerobic biological treatment. *Bioresource Technology*, In Press, Corrected Proof.
- Matthiessen, P. 2008. An assessment of endocrine disruption in mollusks and the potential for developing internationally standardized mollusk life cycle test guidelines. *Integrated environmental assessment and management* 4 (3): 274-284.
- Matthiessen, P., Gibbs, P. 1998. Critical appraisal of the evidence for the tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17:37-43.
- McCarty, L.S., Borgert, C.J. 2006. Review of the toxicity of chemical mixtures: Theory, policy, and regulatory practice. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 45(2): 104-118.
- McCracken, R.J., van Rhijn, J.A., Kennedy, D.G. 2005. The occurrence of nitrofurans metabolites in the tissues of chickens exposed to very low dietary concentrations of the nitrofurans. *Food Additives and Contaminants* 22 (6):567-572.
- Medicam 2009. Données statistiques relatives à la consommation et à l'offre de soins (CMU - Médicament - Professions de santé - Produits de santé hors médicaments). www.ameli.fr/l-assurance-maladie/statistiques-et-publications/donnees-statistiques/medic-am-generic-am-biolam-lpp-am/lpp-am-2006-2007.php.
- Merck 2001. The Merck Index. 13th ed. Merck Publication, London UK.
- Metcalfe, C.D., Koenig, B.G., Bennie, D.T., Servos, M., Ternes, T.A., Hirsch, R. 2003. Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of canadian sewage treatment plants. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22(12):2872-2880.

- Metcalfe, C.D., Metcalfe, T.L., Kiparissis, Y., Koenig, B.G., Khan, C. Hughues R.J. 2001. Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plants as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 20:297-308.
- Micromedex Drugdex®, 2006. Thomson micromedex®. Healthcare series vol. 129 and 130. <http://www.micromedex.com/products/drugdex/>
- Miège, C., Favier, M., Brosse, C., Canler, J-P, Coquery, M. 2006. Occurrence of betablockers in effluents of wastewater treatment plants from the Lyon area (France) and risk assessment for the downstream rivers. *Talanta* 70(4):739-744.
- Mills, L.J., Chichester, C. 2005. Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? *Science of The Total Environment* 343(1-3):1-34
- Mimeault, C., Trudeau, V.L., Moon, T.W. 2006. Waterborne gemfibrozil challenges the hepatic antioxidant defense system and down-regulates peroxisome proliferator-activated receptor beta (PPAR β) mRNA levels in male goldfish (*Carassius auratus*). *Toxicology* 228(2-3):140-150.
- Mimeault, C., Woodhouse, A.J., Miao, X.-S., Metcalfe, C.D., Moon, T.W., Trudeau, V.L. 2005. The human lipid regulator, gemfibrozil bioconcentrates and reduces testosterone in the goldfish, *Carassius auratus*. *Aquatic Toxicology* 73 (1):44-54.
- Mukherjee, U., Bhattacharya, R., Chatterjee, S.N. 1993. Effects of nitrofurantoin on viability, DNA synthesis and morphology of *Vibrio cholerae* cells. *Indian Journal of Experimental Biology* 31 (10):808-812.
- Nunes, B., Carvalho, F., Guilhermino, L. 2005. Acute toxicity of widely used pharmaceuticals in aquatic species: *Gambusia holbrooki*, *Artemia parthenogenetica* and *Tetraselmis chuii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61(3):413-419.
- Oaks, J.L., Gilbert, M., Virani, M.Z., Watson, R.T., Meteyer, C.U., Rideout, B.A., Shivaprasad, H.L., Ahmed, S, Chaudhry, M.J.I., Arshad, M. and others. 2004. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427(6975):630-633.
- Onesios, K.M., Yu, J.T., Bouwer, E.J. 2009. Biodegradation and removal of pharmaceuticals and personal care products in treatment systems: A review. *Biodegradation* 20 (4):441-466
- Paffoni, C., Welte, B., Gousailles, M., Montiel, A. 2006. Nouvelles molécules mises en cause par les directives Européennes : de la station d'épuration à l'usine de traitement d'eau potable. *Journal Européen d'Hydrologie*. 37(1):21-38
- Pan, B., Ning, P., Xing, B. 2009. Part V - Sorption of pharmaceuticals and personal care products. *Environmental Science and Pollution Research* 16:106-116.
- Pascoe, D., Karntanut, W., Muller, C.T. 2003. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere* 51(6):521-528.
- Paxeus, N. 2004 Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, β -blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water Science and Technology* 50(5):253-260.
- Pérez, S., Barceló, D. 2007. Fate and occurrence of X-ray contrast media in the environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387:1235-1246.
- Peter-Frölich, A., Pawlowski, L., Bonhomme, A., Oldenburg, M. 2007. EU demonstration project for separate discharge and treatment of urine, faeces and greywater - Part 1: Results. *Water Science and Technology* 5:239-249.
- Petrovic, M., Eljarrat, E., Lopez De Alda, M.J., Barceló, D. 2004. Endocrine disrupting compounds and other emerging contaminants in the environment: A survey on new monitoring strategies and occurrence data. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 378 (3):549-562.
- Petrovic, M., Solé, M., Lopez de Alda, M.J., Barcelo, D. 2002. Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving water and sediments, integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21:2146-2156.

- Posthuma, L., Traas, T., Sutter II, G.W. 2002. General introduction to species sensitivity distributions. In L. Posthuma, G.W. Sutter II 1 T.P. Traas (Eds). Species sensitivity distributions in ecotoxicology. Boca Raton, FL. Lewis publishers.
- Pounds, N., Maclean, S., Webley, M., Pascoe, D., Hutchinson, T. 2008. Acute and chronic effects of ibuprofen in the mollusc *Planorbis carinatus* (Gastropoda: Planorbidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70 (1):47-52.
- Preston B.L., Snell T.W., Robertson T.L., Dingmann B.J. 2000. Use of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in screening assay for potential endocrine disruptors. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19(12):2923-2928.
- Quillardet, P., Arrault, X., Michel, V., Touati, E. 2006. Organ-targeted mutagenicity of nitrofurantoin in Big Blue transgenic mice. *Mutagenesis* 21 (5):305-311.
- Quinn, B., Gagné, F., Blaise, C. 2009. Evaluation of the acute, chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of the Total Environment* 407 (3):1072-1079.
- Quinn, B., Gagné, F., Blaise, C. 2008. The effects of pharmaceuticals on the regeneration of the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of the Total Environment* 402 (1): 62-69.
- Ramirez, A.J., Brain, R.A., Usenko, S., Mottaleb, M.A., O'Donnell, J.G., Stahl, L.L., Wathen, J.B., Snyder, B.D., Pitt, J.L., Perez-Hurtado, P., Dobbins, L.L., Brooks, B.W., Chambliss, C.K. 2009. Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in fish: results of a national pilot study in the United States. *Environmental Toxicology & Chemistry* 28(12):2587-2597.
- Raldúa, D., André, M., Babin, P.J. 2008. Clofibrate and gemfibrozil induce an embryonic malabsorption syndrome in zebrafish. *Toxicology and Applied Pharmacology* 228 (3):301-314.
- Refsdal, A.O. 2000. to treat or not to treat : a proper use of hormones and antibiotics. *Animal eproduction Science* 60/61:109-119.
- Reifferscheid, G., Grummt, T. 2000. Genotoxicity in German surface waters - Results of a collaborative study. *Water, Air, and Soil Pollution* 123(1-4):67-79.
- Roberts P.H., Thomas K.W. 2006. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Science of the Total Environment* 356:143-153.
- Robinson, A.A., Belden, J.B., Lydy, M.J. 2005. Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24(2):423-430.
- Roepke, T.A., Snyder, M.J., Cherr, G.N. 2005. Estradiol and endocrine disrupting compounds adversely affect development of sea urchin embryos at environmentally relevant concentrations. *Aquatic Toxicology* 71 (2):155-173.
- Schorderet, M. 1998. *Pharmacologie : Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques* 3 ed. Sous la direction de Michel Schorderet. Frison roche ed. (France). Slatkine ed. (Suisse).
- Schulman, L.J., Sargent, E.V., Naumann, B.D., Faria, E.C., Dolan, D.G., J. P Wargo, 2002. A Human Health Risk Assessment of Pharmaceuticals in the Aquatic Environment. *Human and Ecological Risk Assessment* 8: 657-680.
- 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.
- Seiler, J.P. 2002. Pharmacodynamic activity of drugs and ecotoxicology--can the two be connected? *Toxicology Letters* 131(1-2):105-115.
- Siemens, J., Huschek, G., Siebe, C., Kaupenjohann, M. 2008. Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, Mexico City-Mezquital Valley. *Water Research* 42 (8-9):2124-2134.
- Singer, A.C., Nunn, M.A., Gould, E.A., Johnson, A.C. 2007. Potential risk associated with the proposed widespread use of Tamiflu. *Environmental Health Perspectives* 115(1):102-106.

- Singer, H., Müller, S., Tixier, C., et Pillonel, L. 2002. Triclosan: Occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: Field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environmental Science and Technology* 36(23): 4998-5004.
- Sharpe, R.M., Skakkebaek, N.E. 1993. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract?. *Lancet* 341 (8857):1392-1395.
- Schorderet M. 1998. Pharmacologie : Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. 3ème ed. Sous la direction de Michel Schorderet. Frison roche ed. (France). Slatkine ed. (Suisse).
- Sonnenschein, C., Soto, A.M. 1998. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 65:143-150.
- Steger-Hartmann, T., Länge, R., Schweinfurth, H. 1999. Environmental risk assessment for the widely used ionidated X-ray contrast agent iopromide (Ultravist). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 42:274-281.
- Steger-Hartmann, T., Kümmerer, K., Hartmann, A. 1996. Trace analysis of the antineoplasics ifosfamide and cyclophosphamide in sewage water by two step solid phase extraction and gas-chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 726(1-2):179.
- Stein, K., Ramil, M., Fink, G., Sander, M., Ternes, T.A. 2008. Analysis and sorption of psychoactive drugs onto sediment. *Environmental Science and Technology* 42 (17):6415-6423.
- Straub, J.O. 2009. An environmental risk assessment for Oseltamivir (Tamiflu®) for sewage works and surface waters under seasonal-influenza and pandemic-use conditions. *Ecotoxicology and environmental safety* 72:1625-1634.
- Stuer-Lauridsen, F, Birkved, M, Hansen, LP, Holten-Lutzhoft, HC, Halling-Sorensen, B. 2000. Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use. *Chemosphere* 40(7):783-793.
- Stumpf ,M., Ternes, T.A., Wilken, R.D., Vianna Rodrigues, S., Baumann, W. 1999. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil *Science of the Total Environment* 225(1-2):135-141.
- Sumpter, J.P. 2005. Endocrine disrupters in the aquatic environment: An overview. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* 33 (1):9-16.
- Tamtam, F., Mercier, F., Le Bot, B., Eurin, J., Tuc Dinh, Q., Clément, M., Chevreuil, M. 2008. Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions. *Science of the Total Environment* 393 (1), pp. 84-95.
- Taxe-Wuersch, A., De Alencastro, L.F., Grandjean, D., Tarradellas, J. 2006. Trace determination of tamoxifen and 5-fluorouracil in hospital and urban wastewaters. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 86 (7):473-485.
- Ternes, T.A., Stüber, J., Herrmann, N., McDowell, D., Ried, A., Kampmann, M., Teiser, B. 2003. Ozonation: A tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water Research* 37 (8):1976-1982.
- Ternes, T., Bonerz, M., Schmidt, T., 2001. Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 938(1/2):175–185.
- Ternes, T.A. 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research* 32:3245-3260.
- Terzić, S., Senta, I., Ahel, M., Gros, M., Petrović, M., Barcelo, D., Müller, J., (...), Jabučar, D. 2008. Occurrence and fate of emerging wastewater contaminants in Western Balkan Region. *Science of the Total Environment* 399 (1-3):66-77.
- TGD Technical Guidance Document. 2003. Technical Guidance Document in support of Council Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) 1488/94 on risk assessment for existing substances. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

- Togola, A., Bristeau, S., Amalric, L., 2007. Occurrence of pharmaceuticals in aquatic systems of Loire-Brittany Basin (France). Poster communication. ERAPharm International Conference on Pharmaceuticals in the Environment. Lakeside Conference Centre, York, UK.
- Tolls J., 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environmental Science and Technology* 35(17):3397-3406.
- Trémolières, F., Cohen, R., Sclemmer, B. 2006. Requiem pour les antibiotiques. Faut-il craindre une disparition des antibiotiques ? *Médecine thérapeutique* 12 (3):154-159.
- Triebkorn, 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.
- Tyler, C.R., Jobling S., Sumpter J.P. 1998. Endocrine disruption in wildlife, a critical review of the evidence. *Critical Reviews in Toxicology* 28:319-361.
- Van Der Linden, S.C., Heringa, M.B., Man, H.-Y., Sonneveld, E., Puijker, L.M., Brouwer, A., Van Der Burg, B. 2008. Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays. *Environmental Science and Technology* 42 (15):5814-5820.
- VICH 2004. VICH Topic GL 38 (Environmental impact assessments (EIAs)) for veterinary medicinal products (VMPs) – Phase II (CVMP/VICH/790/03-Final).
- VICH, 2000. Environmental impact assessment for veterinary medicinal products Phase I. CVMP/VICH/592/98-final. <http://www.emea.eu.int/pdfs/vet/vich/059298en.pdf>
- Vulliet, E., Wiest, L., Baudot, R., Grenier-Loustalot, M.-F. 2009. Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and ground-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1210 (1):84-91.
- Wells, M.J.M. 2006. Log DOW: Key to understanding and regulating wastewater-derived contaminants. *2006 Environmental Chemistry* 3 (6):439-449.
- Williams, M., Ong, P.H., Williams, D.B., Kookana, R.S. 2009. Estimating the sorption of pharmaceuticals based on their pharmacological distribution. *Environmental Toxicology & Chemistry* 28(12):2572-2579.
- Williams T.D., Caunter J.E., Lillicrap A.D., Hutchinson T.H., Gillings E.D., Duffell S. 2007. Evaluation of the reproductive effects of tamoxifen citrate in partial and full life-cycle studies using fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 26(4):695-707.
- Williams, M., Saison, C.L.A., Williams, D.B., Kookana, R.S. 2006. Can aquatic distribution of human pharmaceuticals be related to pharmacological data? *Chemosphere* (65):2253-2259.
- Winter, M.J., Lillicrap, A.D., Caunter, J.E., Schaffner, C., Alder, A.C., Ramil, M., Ternes, T.A., (...), Hutchinson, T.H. 2008. Defining the chronic impacts of atenolol on embryo-larval development and reproduction in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Aquatic Toxicology* 86 (3):361-369.
- Yamamoto, H., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y., Honda, Y., Tamura, I., Hirata, Y., (...), 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.
- Yamashita, N., Yasojima, M., Nakada, N., Miyajima, K., Komori, K., Suzuki, Y., Tanaka, H. 2006. Effects of antibacterial agents, levofloxacin and clarithromycin, on aquatic organisms. *Water Science and Technology* 53(11):65-72.
- Yang, L.-H., Ying, G.-G., Su, H.-C., Stauber, J.L., Adams, M.S., Binet, M.T. 2009. Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (5):1201-1208.
- Ying, G.G., Kookana, R.S., Ru, Y.J. 2002. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment (Review article). *Environment International* 28:545-551.
- Zapata, R., Piulachs, M.-D., Bellés, X. 2003. Inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase lower fecundity in the German cockroach: Correlation between the effects on fecundity in vivo with the inhibition of enzymatic activity in embryo cells. *Pest Management Science* 59 (10):1111-1117.

Zeilinger, J., Steger-Hartmann, T., Maser, E., Goller, S., Vonk, R., Länge, R. 2009. effects of synthetic gestagens on fish reproduction. *Environmental Toxicology & Chemistry* 28(12):2663-2670.

Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R. 2005. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials* 122(3):205-209.

Zuccato, E., Calamari, D., Natangelo, M., Fanelli, R. 2000. Presence of therapeutic drugs in the environment. *Lancet* 355:1789-1790.

ANNEXES

ANNEXE A. Corrélation des données de consommation pour l'année 2004 entre les données nationales fournies par l'AFSSAPS et celles fournies par la CPAM

L'étude de corrélation entre les données de la CPAM et de l'afssaps a été effectuée sur 100 des molécules ayant fait l'objet de la démarche de priorisation (cf. chapitre 4). La corrélation (Figure 10) est excellente ($R^2 > 0.99$), et il a donc été possible de dériver une équation de régression linéaire nous permettant de corriger les données de consommation de la CPAM pour les molécules non encore traitées.

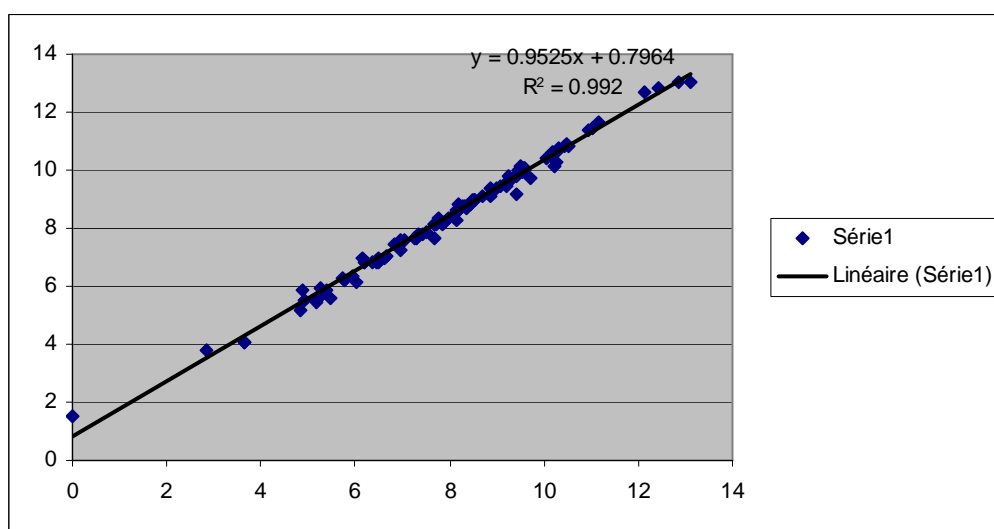


Figure 10 : Corrélation entre les données de consommation de la CPAM et de l'afssaps pour l'année 2004.

Remarques :

- Quatre molécules ont été écartées de la sélection : l'ondansetron, la loxapine, la ceftazidime et le métronidazole. Pour ces molécules, il existe des formes réservées à usage hospitalier et donc non prises en compte dans les données de la CPAM.
- Cette approche a permis de corriger une erreur effectuée sur les quantités consommées de clonazepam qui sont de 275 Kg et non de 21.4 Kg.
- Les quantités de trimébutine calculées à partir des données CPAM sont supérieures à celles calculées à partir des données de l'AFSSAPS, il apparaît que les données CPAM recensent pour cette molécule un plus grand nombre de spécialités différentes que les données fournies par l'AFSSAPS.

ANNEXE B. Evolution des consommations de médicaments entre les années 2004 et 2007

L'évolution des consommations a été faite en rapportant les quantités consommées en 2007 par rapport à celles de 2002, sur la base des données CPAM. L'évolution des consommations a été effectuée pour toutes les molécules traitées à l'exception des anti-inflammatoires (ibuprofène, naproxène, aspirine...) et du paracétamol, molécules souvent délivrées hors prescription et n'étant donc pas prises en compte dans les données de la CPAM.

La consommation des médicaments apparaît relativement stable, avec peu de molécules dont les quantités consommées augmentent ou diminuent de plus de 20%. Pour quelques molécules les quantités diminuent de manière importante (troxérutine, diosmine), mais cette baisse est liée à un déremboursement de ces molécules ; ce qui implique qu'elles ne sont plus prises en compte dans les données de la CPAM, mais pas nécessairement qu'elles sont moins consommées.

A l'inverse, on observe une augmentation des consommations importante pour certaines molécules. On note cependant une augmentation à prendre en compte pour les l'alendronate et le clodronate, la rosuvastatine, le valsartan et le telmisartan.

Dans la plupart des cas il s'agit de molécules relativement récentes et encore peu consommées : bien qu'augmentant dans le temps, les tonnages restent encore faibles en 2007.

L'ensemble des valeurs de PEC pour 2004 et 2007 (calculées sur la base des données CPAM, et ne prenant pas en compte le métabolisme humain) est donné dans le tableau suivant (Tableau 17).

Molécule	Quantité consommée en 2004 (kg)	Rapport des quantités 2007 / 2004	PEC pour l'année 2004 (ng/l)	PEC pour l'année 2007 (ng/l)
ACEBUTOLOL	41776.94	0.952885552	954	908.87
ACETYLCYSTEINE	96758.9	0.002224769	2209	4.91
ALENDRONATE	1028.80	1.558366951	23	36.60
ALFUZOSINE	812.35	1.235412734	19	22.91
ALLOPURINOL	54246.9	1.043564834	1239	1292.47
ALMOTRIPTAN	36.82	2.090277082	1	1.76
ALPRAZOLAM	177.5	1.061879823	4	4.30
AMIODARONE	24317.6	1.040306394	555	577.57
AMISULPRIDE	8305.99	0.940997779	190	178.45
AMLODIPINE	2013.2	1.234551582	46	56.74
AMOXICILLINE	333223.2	1.007429968	7608	7664.36
AMPHOTERICINE B	18179.1	0.468763578	415	194.56
AMPICILLINE	796.61	0.648281184	18	11.79
ATENOLOL	18336.8	0.980616006	419	410.53
ATORVASTATINE	7924.5	1.302151426	181	235.59
AZITHROMYCINE	4073	0.8097865	93	75.30
BACLOFENE	1079.7	1.12777909	25	27.80
BENZAEPRIIL	413.32	0.704316802	9	6.65
BENFLUOREX	40729.5	0.886621121	930	824.47
BETAXOLOL	642.35	1.069590509	15	15.69
BEZAFIBRATE	20852.1	0.71214661	476	339.04
BISOPROLOL	2112.5	1.128902045	48	54.45
BROMAZEPAM	2603.5	0.973123225	59	57.84
BUFLOMEDIL	50957.8	0.50986237	1163	593.18
BUPRENORPHINE	270	1.08834408	6	6.71
CANDESARTAN	2350.16	1.444542958	54	77.51
CAPTOPRIL	4692.33	0.618273332	107	66.24
CARBAMAZEPINE	33514.2	0.913807033	765	699.21
CARVEDILOL	313	1.023790918	7	7.32
CEFACTOR	6537.38	0.812546033	149	121.28
CEFADROXIL	4565.36	0.654915291	104	68.26
CEFALEXINE	1656.66	0.544614945	38	20.60
CEFAZOLINE	116.23	0.006843453	3	0.02
CEFIXIME	4484.98	1.113215581	102	113.99
CEFOTIAM	2549.78	0.694886476	58	40.45
CEFPODOXIME	9283.1	1.162650353	212	246.42
CEFRADINE	1078.95	0.428367954	25	10.55
CEFUROXIME	11401.32	0.771860856	260	200.92
CELIPROLOL	24173.70	0.845042329	552	466.39
CETIRIZINE	1442.1	0.653463681	33	21.52
CIMETIDINE	6175.91	0.784196235	141	110.57
CIPROFIBRATE	6723.28	0.698846942	153	107.27
CIPROFLOXACINE	12186	1.066521375	278	296.73
CITALOPRAM	3486.5	0.71871743	80	57.21
CLARITHROMYCINE	15104.9	1.165901275	345	402.07
CLODRONATE	4050.51	1.274749455	92	117.89
CLOMIPRAMINE	1835.07	0.631853644	42	26.47
CLONAZEPAM	275.3	1.171717451	6	7.36

Tableau 17 : Evolution des quantités consommées et des PEC pour les médicaments entre les années 2004 et 2007.

Molécule	Quantité consommée en 2004 (kg)	Rapport des quantités 2007 / 2004	PEC pour l'année 2004 (ng/l)	PEC pour l'année 2007 (ng/l)
CLOPIDOGREL	16144.28	1.487645226	369	548.33
CLORAZEPATE	2108.9	0.299768631	48	14.43
CYAMEMAZINE	5440.9	1.076073214	124	133.67
DEXTROPROPOXYPHENE	51962	0.973925252	1186	1155.41
DIAZEPAM	526.4	1.134389216	12	13.63
DICLOFENAC	9895.8	1.272411642	226	287.48
DILTIAZEM	28888.68	0.903023967	660	595.60
DIOSMINE	376543.7	0.713520705	8597	6134.06
DOMPERIDONE	5861.1	1.185283125	134	158.61
DOXAZOSINE	167.30	1.178227569	4	4.50
DOXYCYCLINE	6242.9	1.079912046	143	153.92
ELETRIPTAN	233.34	1.678740926	5	8.94
ENALAPRIL	2036.27	0.840689134	46	39.08
EPROSARTAN	4509.95	1.173737297	103	120.86
ERYTHROMYCINE	2676.19	0.993258492	61	60.69
ETIDRONATE	2287.60	0.368744755	52	19.26
FELODIPINE	254.13	0.045389992	6	0.26
FENOFIBRATE	85669.8	0.841550963	1956	1646.02
FLUCONAZOLE	892.7	1.260953465	20	25.70
FLUIDIONE	4099.00	1.260227711	94	117.94
FLUOXETINE	3740.3	0.811528617	85	69.30
FLUVASTATINE	5508.51	1.016725532	126	127.87
FLUVOXAMINE	1121.4	0.699985796	26	17.92
FOSFOMYCINE	6773.9	1.198581198	155	185.37
FOSINOPRIL	765.16	0.84563578	17	14.77
FUROSEMIDE	21288.2	1.13523084	486	551.76
GEMFIBROZIL	7617.15	0.8334101	174	144.94
GENTAMICINE	219.94	0.86696352	5	4.35
GLIBENCLAMIDE	1092.2	0.751362372	25	18.74
GLIMEPIRIDE	394.29	1.03822933	9	9.35
HALOPERIDOL	341.9	0.977769345	8	7.63
HEPTAMINOL	28422	0.101007639	649	65.54
HYDROCHLOROTHIAZIDE	9970.88	1.314645075	228	299.27
HYDROCORTISONE	453.1	1.027694339	10	10.63
HYDROXYZINE	6638.2	1.20483079	152	182.60
IRBESARTAN	49124.22	1.407723148	1122	1578.84
ISOTRETINOÏNE	876.40	0.845929511	20	16.93
ISRADIPINE	95.17	0.952604816	2	2.07
JOSAMYCINE	12802.3	0.888284194	292	259.64
KETOPROFENE	21696.7	1.267250007	495	627.74
LACIDIPINE	64.19	0.776259746	1	1.14
LAMOTRIGINE	3184.20	1.456194418	73	105.86
LERCANDIPINE	1353.78	2.243831329	31	69.35
LEVODOPA	24996	1.11270612	571	635.00
LEVOMEPRMAZINE	1699	0.914866732	39	35.49
LEVOTHYROXINE	58.8	1.237454243	1	1.66
LINCOMYCINE	55.66	0.805571083	1	1.02
LISINOPRIL	2327.52	0.768791642	53	40.85
LOPERAMIDE	317.8	1.11930035	7	8.12

Tableau 17 (suite) : Evolution des quantités consommées et des PEC pour les médicaments entre les années 2004 et 2007.

Molécule	Quantité consommée en 2004 (kg)	Rapport des quantités 2007 / 2004	PEC pour l'année 2004 (ng/l)	PEC pour l'année 2007 (ng/l)
LOPERAMIDE	317.8	1.11930035	7	8.12
LORATADINE	927	0.715800416	21	15.15
LORAZEPAM	584.8	0.885832857	13	11.83
LOSARTAN	11527.59	1.193927935	263	314.23
MANIDIPINE	32.36	12.78464213	1	9.44
MELOXICAM	191.87	1.033681271	4	4.53
METFORMINE	444339.3	1.180262334	10145	11973.45
METOCLOPRAMIDE	912.8	0.970676146	21	20.23
METOPROLOL	8785.8	0.9951494	201	199.62
MIANSERINE	2423.7	1.010426211	55	55.91
MINOCYCLINE	2411.20	0.723103213	55	39.81
MOEXIPRIL	29.74	0.654295607	1	0.44
MOLSIDOMINE	617.77	0.76903096	14	10.85
NADOLOL	938.3	0.868467878	21	18.60
NAFTIDROFURYL	45522.6	0.866205852	1039	900.27
NAPROXENE	37332	0.830462171	852	707.83
NARATRIPTAN	24.19	0.876029454	1	0.48
NETILMYCINE	170.15	1.270897532	4	4.94
NICARDIPINE	7800.3	0.933335082	178	166.22
NIFEDIPINE	1654.53	0.704134006	38	26.60
NIFUROXAZIDE	23879.30	0.827949469	545	451.39
NITRENDIPINE	397.93	0.698942976	9	6.35
NITROFURANTOINE	1483.37	1.011347446	34	34.25
NORDAZEPAM	236.7	0.868024256	5	4.69
NORFLOXACINE	11949.78	0.953726995	273	260.20
OFLOXACINE	4137.2	1.181410299	94	111.59
OLMESARTAN	84.83	27.6599153	2	53.57
OMEPRAZOLE	8044.6	1.13794256	184	209.00
ONDANSETRON	43.7	1.159651263	1	1.16
OXAZEPAM	6194.6	1.099574228	141	155.51
OXCARBAZEPINE	8464.84	1.279800442	193	247.34
OPRENOLOL	376.5	0.81616504	9	7.02
PAMIDRONATE	0.69	0.512386434	0	0.01
PANTOPRAZOLE	5287	1.530913301	121	184.79
PAROXETINE	5515.1	0.897784861	126	113.05
PERINDOPRIL	504.4	1.606562764	12	18.50
PHENOBARBITAL	3915.4	0.863353219	89	77.18
PINDOLOL	148.54	0.795999989	3	2.70
PIRACETAM	116932.64	0.720453126	2670	1923.39
PIROXICAM	2315.35	0.941114473	53	49.75
PRAVASTATINE	10969.1	0.878585119	250	220.03
PRAZEPAM	2165.5	1.067288388	49	52.77
PREDNISOLONE	3742.9	1.303948611	85	111.43
PREDNISONNE	1550.3	1.055825878	35	37.37
PRISTINAMYCINE	39855	1.143728433	910	1040.71

Tableau 17 (suite) : Evolution des quantités consommées et des PEC pour les médicaments entre les années 2004 et 2007.

Molécule	Quantité consommée en 2004 (kg)	Rapport des quantités 2007 / 2004	PEC pour l'année 2004 (ng/l)	PEC pour l'année 2007 (ng/l)
PROPRANOLOL	12486.5	1.026427934	285	292.61
QUINAPRIL	926.71	0.702658574	21	14.87
RABEPRAZOLE	2108.02	1.208245827	48	58.15
RAMIPRIL	1041.7	1.396180413	24	33.21
RANITIDINE	11655	0.832707142	266	221.58
RIFAMPICINE	2383	1.096956203	54	59.68
RISEDRONATE	439.73	1.614183691	10	16.21
ROSUVASTATINE	440.71	4.967158735	10	49.98
ROXYTHROMYCINE	3404.2	0.847813847	78	65.89
SERTRALINE	6224.5	0.824301674	142	117.14
SIMVASTATINE	6943.4	1.073871038	159	170.24
SOTALOL	11275.80	0.990080226	257	254.88
SPIRONOLACTONE	8125.43	0.899645023	186	166.90
SULFAMETHOXAZOLE	16729.8	0.964561174	382	368.42
SUMATRIPTAN	66.19	0.947635539	2	1.43
TAMSULOSINE	42.36	1.405349918	1	1.36
TELMISARTAN	3777.19	1.64654659	86	141.99
TERAZOSINE	46.02	0.712375656	1	0.75
THIOLCHICOSIDE	595.49	0.87903989	14	11.95
TILUDRONATE	135.50	0.59267544	3	1.83
TIMOLOL	12.89	0.78247008	0	0.23
TOBRAMYCINE	53.71	2.875044872	1	3.53
TRAMADOL	25896	1.319352043	591	780.04
TRANDOLAPRIL	102.31	1.502934888	2	3.51
TRETINOINE	13.07	0.910280359	0	0.27
TRIHEXYPHENIDYLE	256.8	0.924093771	6	5.42
TRIMEBUTINE	39786.10	1.15	908	1044.61
TRIMETAZIDINE	16480.1	1.065790774	376	401.01
TRIMETHOPRIME	3346	0.983195213	76	75.11
TROPATEPINE	355	1.077362066	8	8.73
TROXERURTINE	444339.3	0.507525708	10145	5148.71
VALPROATE	112162.5	1.098304448	2561	2812.52
VALSARTAN	25848.25	1.585529818	590	935.69
VENLAFAXINE	10513.11	1.412685664	240	339.08
VERAPAMIL	24624.67	1.035942424	562	582.41
ZOFENOPRIL	528.48	0.794734907	12	9.59
ZOEDRONATE	0.32	1.612574314	0	0.01
ZOLMITRIPTAN	57.66	1.03921387	1	1.37
ZOLPIDEM	3343.8	1.029058115	76	78.56
ZOPICLONE	1948.2	0.98261537	44	43.71
ZUCLOPENTHIXOL	222.36	1.074733208	5	5.46

Tableau 17 (suite) : Evolution des quantités consommées et des PEC pour les médicaments entre les années 2004 et 2007.

En rouge sont indiquées les molécules dont la consommation a augmenté de plus de 20% entre 2004 et 2007, et en vert, celles dont la consommation a baissé de plus de 20%.

ANNEXE C. Corrélation entre les données nationales fournies par l'AFSSAPS et les données locales et régionales

Données locales

La comparaison des données nationales de l'AFSSAPS et celles locales de la CPAM (CPAM 2006) montre que ces données sont très fortement corrélées. Une des raisons de cette bonne corrélation peut-être expliquée par le fait que l'agglomération lyonnaise rassemble un nombre suffisamment important de personnes pour représenter un échantillon représentatif de la population Française. Compte tenu des incertitudes sur les quantités réellement consommées au niveau local (délivrances remboursées par d'autres organismes non prises en compte), les profils de consommation au niveau local et régional peuvent être considérés comme identiques dans notre cas. En l'absence d'un jeu de données complet au niveau local, les données nationales fournies par l'AFSSAPS peuvent être utilisées pour extrapoler des PEC au niveau local pour l'agglomération Lyonnaise.

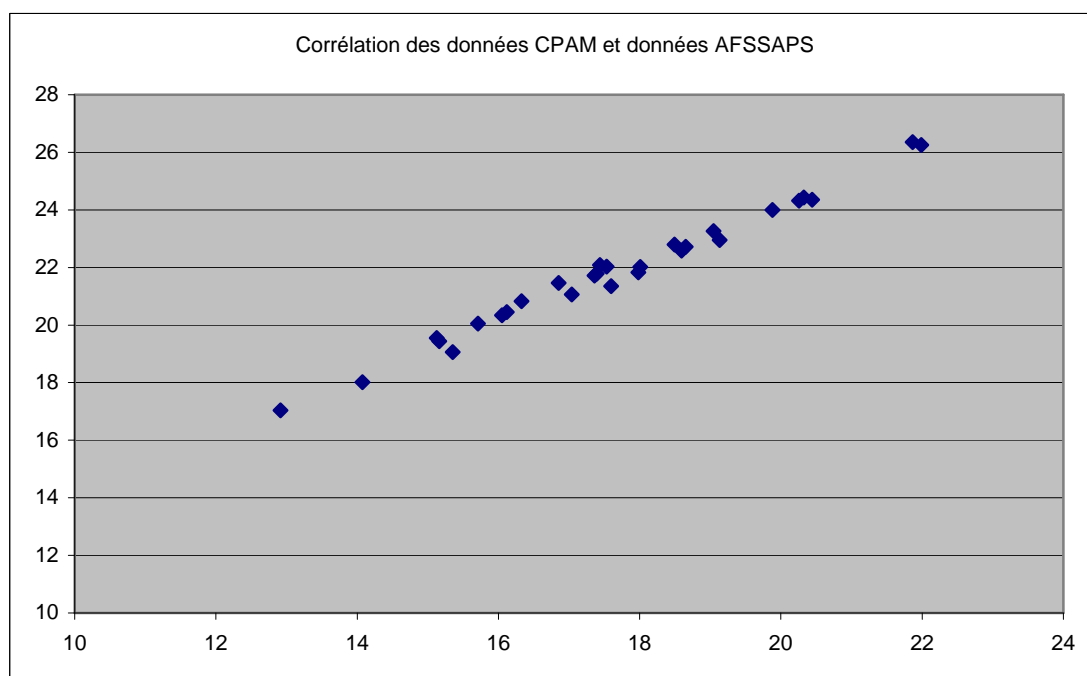


Figure 11 : Corrélation des données locales de la CPAM (année 2005) et des données nationales de l'AFSSAPS (année 2004) pour 28 molécules pour les ventes à l'officine.

Les tonnages sont exprimés sous forme de logarithme népérien, avec en abscisse, les données CPAM et en ordonnée les données AFSSAPS. Les molécules testées correspondent à celles présentes sur les données fournies par la CPAM. La valeur du R^2 calculé est de 0.99.

NB : La figure 11 rapporte les tonnages de vente pour les officines, la corrélation entre données CPAM pour les officines et données AFSSAPS pour l'ensemble de la consommation (officines et hôpitaux) a également été évaluée, la corrélation est élevée ($R^2 = 0.93$). Cette très bonne corrélation vient du fait que la contribution des hôpitaux pour les molécules concernées est faible. Cette bonne corrélation s'observe pour la majorité des molécules consommées en France, à l'exception des anti-infectieux (antibiotiques, antimycotiques) et des anticancéreux.

Données régionales

Sur les trois répartiteurs principaux de la région Rhône-Alpes, seul un nous a répondu favorablement et de manière très rapide, il s'agit d'Alliance-Santé (Alliance-Santé 2006). Les données fournies comprennent leurs ventes de médicaments aux officines pour l'année 2004 sur plusieurs départements de la région Rhône-Alpes : département 69 en totalité et départements 07, 42, 38 et 01 pour partie.

Les données fournies correspondent à un jeu de molécules représentatives sélectionnées à partir des données de l'AFSSAPS : une quinzaine de molécules ont été sélectionnées selon les critères suivants :

- représentativité de la distribution des molécules de l'AFSSAPS,
- faible nombre de génériques,
- nombre limité de dosages et de formes de références (les deux derniers critères correspondent à des aspects pratiques afin de limiter le nombre de données à collecter pour le répartiteur).

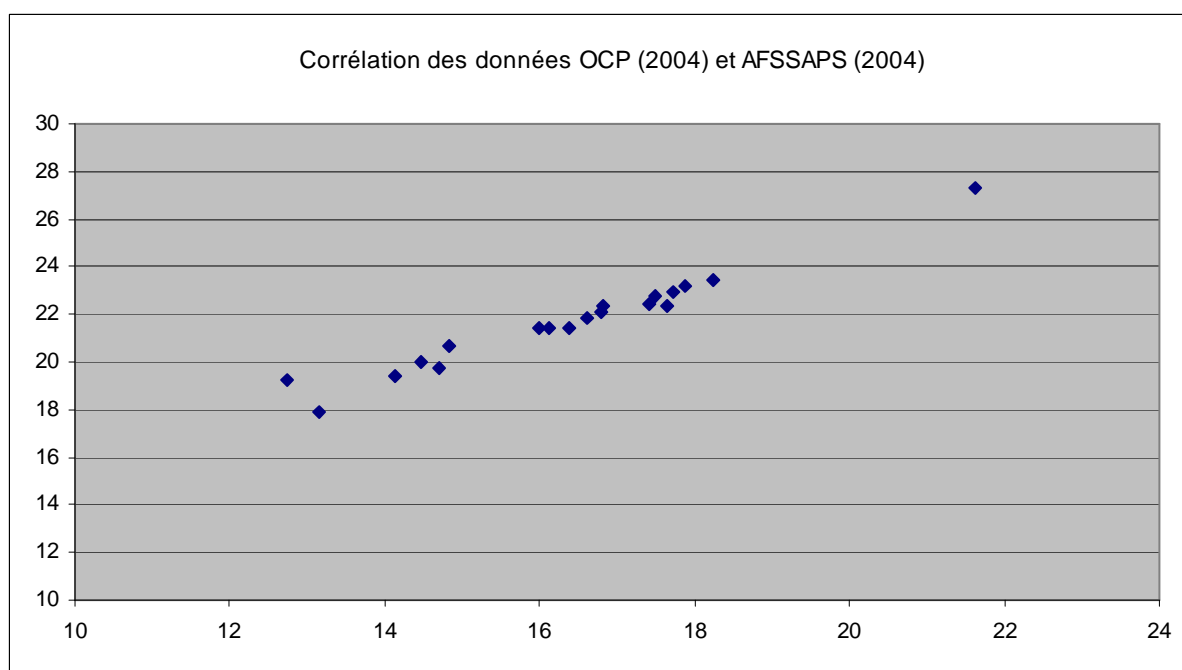


Figure 12 : Corrélation des données locales d'Alliance-Santé (année 2004) et des données nationales de l'AFSSAPS (année 2004) pour 19 molécules et pour les ventes à l'officine.

La valeur du R^2 calculé est de 0.96. Les données sont exprimées sous forme de logarithme népérien avec en abscisse les données OCP et en ordonnée les données AFSSAPS.

De la même manière que pour les données CPAM, les données Alliance-Santé ont été comparées avec celles de l'AFSSAPS. Les résultats obtenus (Figure 12) montrent qu'il y a une très bonne corrélation entre les deux jeux de données. Les données nationales fournies par l'AFSSAPS (AFSSAPS 2006) paraissent donc à la fois représentatives des consommations régionales et des consommations locales pour le cas qui nous intéresse.

ANNEXE D. Compilation de données sur les paramètres physico-chimiques et pharmacocinétiques pour les médicaments à usage humain

Le tableau suivant (Tableau 18) compile des données pharmacocinétiques et physico-chimiques pour une centaine de molécules. Les données compilées sont les suivantes :

- données pharmacocinétiques : biodisponibilité, volume de distribution, liaison aux protéines plasmatiques, demi-vie d'élimination, pic plasmatique ;
- données physico-chimiques : valeurs de Kow, de Dow à pH 7 et 8 et valeurs de Koc.

Les abréviations utilisées dans le tableau sont explicitées ici :

- Vd : volume de distribution ;
- PP : protéines plasmatiques ;
- Biodis : biodisponibilité.

Les valeurs de pharmacocinétiques sont extraites de Micromedex drugdex[®], les valeurs physico-chimiques sont des valeurs calculées et proviennent de la base de données CAS database[®] (SciFinder Scholar).

Molécule	Vd basse	Vd haute	liaison PP basse	liaison PP haute	biodis. basse	biodis. Haute	demi-vie d'élimination haute	demi-vie d'élimination basse	pic plasmatique moyen	Log D pH 7	Log D pH 8	Log Kow	Koc pH 7
unités	L/kg	L/kg	%	%	%	%	h	h	h				L/KgC
Acébutolol	3	3	10	26	40	40	3	4	2.5	-0.11	0.82	1.95	2.36
Allopurinol	1.6	2.43			80	90	1	2		-0.48	-0.51	-0.48	12.90
Alprazolam	1.1	1.2					10	20	1.25	2.50	2.50	2.50	545.00
Amiodarone	65.8	66	96	96			1248	2782	5	6.59	7.51	8.89	8180.00
Amitriptyline	7	22			100	100	9	25		2.79	3.72	4.92	83.30
Amlodipine	21	21	93	98	60	65	35	50	7.5	2.21	3.14	4.15	49.30
Amoxicilline	0.26	0.31	15	25	90	90	1	2	1.5	-2.21	-2.79	0.61	1.00
Amphotéricine B	4	4	90	90			360	360		-1.32	-1.52	1.21	1.00
Aténolol	0.71	1.7	5	5	46	60	6	7	3	-2.02	-1.09	0.10	1.00
Atorvastatine	5.44	8.57	98	98	14	14	7	14	1.5	4.45	0.70	4.13	8.84
Azithromycine	23	31	7	50	37	38	11	68	3	0.58	2.25	3.33	2.73
Baclofène	0.7	0.84			100	100	3	6.8	2	-0.94	-0.94	1.56	1.00
Betaméthasone	1.07	1.14	64	64			5	6		1.87	1.87	1.87	247.00
Betaxolol	4.9	13	50	60	78	90	12	22		0.56	1.50	2.68	5.20
Bezafibrate	0.24	0.24	95	95	100	100	2	2	2	0.03	-0.25	3.46	1.00
Bisoprolol	2.93	3	30	36	82	94	10	12	3.5	0.03	0.97	2.14	2.72
Bromazepam	2.5	2			84	84	8	20	2	2.06	2.06	2.06	315.00
Buflomédil	1.17	1.55	60	80	50	80	2	3	2.75	-0.36	0.35	2.46	1.00
Buprénorphine	1.24	2.67	96	96			2	5		2.11	2.93	3.43	83.40
Carbamazépine	0.8	2	76	76	70	79	12	17	4.5	2.67	2.67	2.67	677.00
Carvédilol	1.64	1.88	95	98	25	35	6	10	1.25	2.93	3.73	4.11	272.00
Ceftriaxone	0.08	0.19	83	96			5.8	8.7		-4.00	-4.49	-0.25	1.00
Cétirizine	0.5	0.8	93	93	100	100	7.4	9	0.75	-0.87	-1.41	2.16	1.00
Cimétidine	1	1	13	26	70	76	2	2	1	-0.45	-0.02	0.07	7.87
Ciprofloxacine	1.2	2.7	20	40	60	80	3	6	1.5	-0.85	-0.95	1.31	1.00
Citalopram	12	15	80	80	80	80	33	37	3	0.06	0.95	2.51	1.94
Clarithromycine	3.47	4	42	50	50	50	3	7	3	1.98	2.77	3.16	82.00
Clobazam	0.87	1.37			87	87	11	77	2	1.60	1.51	1.61	175.00
Clorazépatate	1.05	1.54	97	98	91	91	2	29	1	-0.77	-0.84	2.89	1.00
Desloratadine	40	40	82	87					3	3.90	4.56	6.77	153.00
Diazepam	0.7	3.4	94	99	80	100	20	54	0.5	2.96	2.96	2.96	975.00
Diclofenac	0.12	0.55	99	99	50	50	1	2	2	1.28	0.57	4.05	6.44

Tableau 18 : Compilation de données pharmacocinétiques et physico-chimiques pour des médicaments à usage humain.

Molécule	Vd basse	Vd haute	liaison PP basse	liaison PP haute	biodis. basse	biodis. Haute	demi-vie d'élimination haute	demi-vie d'élimination basse	pic plasmatique moyen	Log D pH 7	Log D pH 8	Log Kow	Koc pH 7
unités	L/kg	L/kg	%	%	%	%	h	h	h				L/KgC
Dompéridone	6.28	6.28	91	93	13	17	7	9	1.25	2.52	3.46	4.50	70.60
Doxépine	9	33	79	84			8	25	0.75	1.72	2.65	3.85	21.60
Fluconazole	0.56	0.82	11	12	90	90	30	30	1.5	0.50	0.50	0.50	44.50
Fluméquine	0.32	0.58					7	7	1.75	1.12	0.16	2.42	24.90
Fluoxétine	20	40	95	95	100	100	96	144	7	1.31	2.06	4.08	6.65
Fluvoxamine	25	25	80	80	53	53	13	15	15	0.80	1.72	3.11	5.73
Fosfomycine	1.31	2.57			34	58	4	4	2	-6.80	-7.28	-2.97	1.00
Furosemide	0.2	0.2	91	99	47	70	0.5	2	1.5	-0.09	-0.15	3.00	1.00
Glibenclamide	0.9	3.94	99	99	92	92	5	10	2.5	2.05	1.79	3.75	51.50
Haloperidol	11	25					10	38	4	1.75	2.57	3.01	56.30
Hydrochlorothiazide	3	4	40	40	60	80	10	12	2	-0.08	-0.15	-0.07	21.40
Hydrocortisone	0.5	0.5	90	90	96	96	1	2		1.43	1.43	1.43	142.00
Hydroxyzine	16	16					3	20	2	1.96	2.02	2.03	259.00
Ibuprofène	0.11	0.18	99	99	71	71	1.8	2	1.5	2.41	3.31	4.80	6.93
Imipramine	10	20	89	89	94	96	6	18	1	1.16	0.36	3.72	39.30
Josamycine	4.28	4.28	15	15			0.9	2	1	3.42	3.87	3.96	979.00
Ketoprofène	0.1	0.1	99	99	90	90	2	4	1.25	0.09	-0.64	2.81	1.52
Levomepromazine	29.8	29.8			20	35	15	30	4	2.68	3.60	4.94	63.80
Lincomycine	0.91	1.5	28	86	98	98	5.4	5.4	3	-0.85	0.07	0.91	1.28
Loméfloxacine	1.82	2.54	10	21	95	98	6.35	8.19	2	0.39	0.19	2.33	4.85
Lorazepam	1	1.3	85	91	90	93	12	20	2	2.47	2.47	2.47	523.00
Losartan	0.5	0.5	99	99	25	33	1.5	2	1.25	1.63	1.57	3.56	24.10
Metformine	0.9	3.94	10	10	50	60	1.5	6.5	2	-4.31	-4.31	-2.13	1.00
Métoclopramide	2	4	30	40	80	80	5	6	2	-0.31	0.57	2.21	1.15
Métoprolol	5.5	5.6	12	12	50	70	3	7	1.5	-0.33	0.60	1.79	1.69
Metronidazole	0.25	0.85	20	20	100	100	6	14	1.5	-0.01	-0.01	-0.01	23.40
Miansérine	0.25	0.55	20	30	90	90	10	40.8	2.5	2.39	3.22	3.67	126.00
Nadolol	2	2	28	30	20	40	20	24	3	-0.83	0.10	1.29	1.00
Naproxène	0.16	0.16	99	99	100	100	12	15	3	0.85	-0.06	2.99	7.26

Tableau 18 (suite) : Compilation de données pharmacocinétiques et physico-chimiques pour des médicaments à usage humain.

Molécule	Vd basse	Vd haute	liaison PP basse	liaison PP haute	biodis. basse	biodis. Haute	demi-vie d'élimination haute	demi-vie d'élimination basse	pic plasmatique moyen	Log D pH 7	Log D pH 8	Log Kow	Koc pH 7
unités	L/kg	L/kg	%	%	%	%	h	h	h				L/KgC
Nicardipine	0.11	0.11	95	95	35	35	8.6	8.6	1.25	4.66	5.05	5.13	4960.00
Nordazepam	1	1					30	150	1.5	3.15	3.15	3.15	1230.00
Norfloxacine	0.35	0.5	10	15	30	40	3	4	1.4	-0.68	-0.78	1.48	1.05
Ofloxacine	2.4	3.5	20	32	90	98	5	8	1.5	-0.50	-1.03	1.60	1.40
Omeprazole	0.34	0.37	95	96	30	40	0.5	1	2	1.46	1.95	2.07	77.40
Ondansetron	2.2	2.5	70	76	56	71	3	5.5	1.5	1.46	1.95	2.07	77.40
Oxazepam	0.67	1.5	96	99	90	95	2.8	8.6	2.5	2.31	2.31	2.31	428.00
Oxprénolol	1.2	1.2	70	78	19	74	1	2	2	0.17	1.10	2.29	3.17
Pantoprazole	0.16	0.33	98	98	77	77	1	1	2.25	1.60	1.19	1.69	161.00
Paracétamol	1	2	10	30	60	98	2	4	1.5	0.34	0.33	0.34	36.30
Paroxétine	8.7	8.7	95	95	100	100	15	22	5.5	1.00	1.68	3.89	3.97
Phénobarbital	0.5	1	20	60	80	100	36	117.6	8	1.62	1.34	1.67	173.00
Pipéracilline	0.18	0.3	16	30			0.5	1	0.66	-1.81	-1.87	1.88	1.00
Piroxicam	0.1	0.2	99	99			30	86	4	-0.75	-1.49	1.71	1.00
Pravastatine	0.46	0.5	43	55	17	17	2.6	3.2	1.25	-1.22	-1.98	1.44	1.00
Prednisolone	1.5	1.5	70	90			2	4	1.5	1.48	1.49	1.49	155.00
Prednisone	0.4	1	70	70	92	91	2.6	3	1.3	1.57	1.57	1.57	170.00
Propranolol	6	6	93	93	30	70	3	4	1.5	1.00	1.93	3.09	9.23
Ranitidine	1.04	4.09	15	15	55	55	1.9	3	2.5	-0.18	0.68	1.23	4.32
Rifampicine	0.8	0.9	60	90	90	95	1.5	5	2.5	-1.28	-1.78	1.08	1.00
Sertraline	20	20	99	99	100	100	24	26	6	2.43	3.33	4.80	40.90
Sotalol	1.2	2.4			60	100	7	18	2.5	-1.82	-0.90	0.32	1.00
Sulfaméthoxazole	0.17	0.25	70	70			9	11		-0.27	-0.90	0.88	5.07
Timolol	1.3	1.7	10	10	61	61	2	4	1.5	-1.77	-0.84	1.95	1.00
Tramadol	2.6	2.9	20	20	70	90	5.6	6.7		0.03	0.91	2.51	1.81
Triméthoprim	0.7	1.5	44	44	90	90	8	10	2.3	0.38	0.73	0.79	24.80
Valproate	0.14	0.23	90	90	100	100	6	17		0.54	-0.36	2.72	4.80
Venlafaxine	7.5	7.5	27	30	92	92	5	5	2.4	0.70	1.63	2.91	5.66
Zolpidem	0.54	0.56	92	92	70	70	2.5	2.5	1.85	2.92	3.05	3.66	794.00
Zopiclone	1.48	1.48	45	45	80	80	3.5	6.5	1.75	0.53	0.72	0.74	37.30

Tableau 18 (suite) : Compilation de données pharmacocinétiques et physico-chimiques pour des médicaments à usage humain.

ANNEXE E. Informations prises en compte dans la démarche de priorisation pour les molécules additionnelles

Les informations prises en compte dans la démarche de priorisation présentée dans le chapitre 5 : valeurs de PEC, effets secondaires, mécanismes d'action et activité enzymatique, sont recensées dans le tableau suivant (Tableau 19).

Molécule	PECa (ng/l)	PECb (ng/l)	Classe	Inducteur	Inhibiteur	Classe thérapeutique / mécanisme d'action	Effets secondaires
Piracetam	2670	2670	IA			-	-
Irbesartan	1122	897	IA		2C9	antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-
Acebutolol	954	544	IA			-	-
Diltiazem	66	3	IIA		3A4/5	inhibiteur calcique	-
Valsartan	590	472	IA			antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-
Vérapamil	562	28	IIA	1A2 ; 3A4/5	P-gp	inhibiteur calcique	-
Celiprolol	552	552	IA			-	-
Nifuroxazide	545	545	IA			antibactérien	généotoxique ; mutagène bactérien ; carcinogène possible
Clopidogrel	375	-	IB		2B6	-	-
Norfloxacine	273	191	IA		1A2	antibiotique fluoroquinolone	-
Losartan	263	13	IIA		2C9	antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-
Cefuroxime	260	260	IA			antibiotique céphalosporine	-
Sotalol	257	257	IA			-	-
Venlafaxine	240	17	IIA		2D6	inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline	hypercholestérolémie en cas d'administration prolongée
Hydrochlorothiazide	228	228	IA			diminution de la réabsorption du Na et du Cl	
Oxcarbazépine	193	1.93	III	1A2 ; 3A4		-	hyponatrémie
Amisulpride	190	152	IA			antagoniste sélectif des récepteurs dopaminergiques D2 et D3	-
Spironolactone	186	1.9	III			-	-
Gemfibrozil	174	-	IIA		2C9 ; 1A2	-	rhabdomyolyse
Cefaclor	149	149	IA			antibiotique céphalosporine	-
Ciprofibrate	153	153	IA			liaison au récepteur de la prolifération des peroxyosomes (PPAR)	rhabdomyolyse
Cimetidine	141	-	IB			-	-
Fluvastatine	126	-	IB		2C9	inhibition de l'HMG-coA reductase	rhabdomyolyse
Captopril	107	54	IIA			inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	-
Cefadroxil	104	104	IA			antibiotique céphalosporine	-
Eprosartan	103	-	IB			antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-
Cefixime	102	-	IB			antibiotique céphalosporine	-
Fluindone	94	-	IIB			-	-

Tableau 19 : Critères pris en considération dans la démarche de priorisation par expertise.

Molécule	PECa (ng/l)	PECb (ng/l)	Classe	Inducteur	Inhibiteur	Classe thérapeutique / mécanisme d'action	Effets secondaires
Clodronate	92	94	IIA			inhibiteur de la résorption osseuse, fixation à l'os	ostéonécrose de la mâchoire ; hypocalcémie sur terrain prédisposé
Telmisartan	86	86	IIA			antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-
Lamotrigine	73	73	IIA			-	-
Erythromycine	61	-	IIB		1A2 ; 3A4 ; P-gp	antibiotique macrolide	-
Cefotiam	58	58	IIA			antibiotique céphalosporine	-
Minocycline	55	-	IIB			antibiotique tétracycline	-
Candesartan	54	44	IIA			antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-
Lisinopril	53	37	IIA			inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	-
Piroxicam	53	-	IIB			-	atteintes rénales
Etidronate	52	52	IIA			inhibiteur de la résorption osseuse, fixation à l'os	ostéonécrose de la mâchoire ; troubles rénaux
Rabeprazole	48	0.48	III			-	-
Enalapril	46	11.6	IIA			inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	-
Clomipramine	42	-	IIB			inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline	troubles de la libido ; impuissance ; galactorrhée
Cefalexine	38	38	IIA			antibiotique céphalosporine	-
Nifedipine	38	-	IIB		3A4/5	inhibiteur calcique	-
Nitrofurantoïne	34	-	IIB			antibactérien génotoxique et mutagène	génotoxique ; mutagène ; carcinogène
Lercandipine	31	-	IIB			inhibiteur calcique	-
Cefradine	25	-	IIB			antibiotique céphalosporine	-
Alendronate	23	23	IIA			inhibiteur de la résorption osseuse, fixation à l'os	ostéonécrose de la mâchoire ; hypocalcémie sur terrain prédisposé
Quinapril	21	-	IIB			inhibiteur calcique	-
Isotrétinoïne	20	-	IIB			rétinoïde	arthralgies ; augmentation du cholestérol ; TERATOGENE
Alfuzosine	19	-	IIB			antagoniste sélectif des récepteurs alpha1 adrénergiques	-
Ampicilline	18	18	IIA			antibiotique pénicilline	-
Fosinopril	17	0.17	III			inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	-

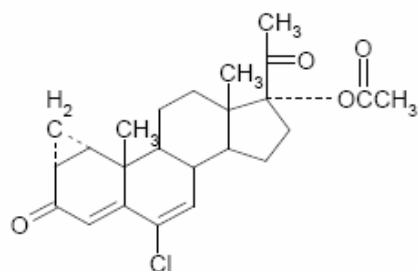
Tableau 19 (suite) : Critères pris en considération dans la démarche de priorisation par expertise.

Molécule	PECa (ng/l)	PECb (ng/l)	Classe	Inducteur	Inhibiteur	Classe thérapeutique / mécanisme d'action	Effets secondaires
Betaxolol	15	2.2	III			-	-
Molsidomine	14	-	IIB			-	-
Thiocolchicoside	14	-	IIB			-	-
Zofenopril	12	-	IIB			inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	-
Rosuvastatine	10	8	III			inhibiteur de l'HMG-CoA reductase	atteintes musculaires (rhabdomyolyse)
Risedronate	10	10	IIA			inhibiteur de la résorption osseuse, fixation à l'os	ostéonécrose de la mâchoire ; troubles rénaux
Benazepril	9	0.5	IV			inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	-
Nitrendipine	9	-	IV		3A4/5	inhibiteur calcique	-
Glimepiride	9	0.09	IV			-	-
Felodipine	6	-	IV			inhibiteur calcique	-
Meloxicam	4	0.09	IV			-	atteintes rénales
Eletriptan	5.33	-	IV			agonistes sélectifs des récepteurs 5 HT1b	affections cardiaques
Zuclopenthixol	5.1	-	IV			antagoniste des récepteurs dopaminergiques D1 et D2	affections endocriniennes et cardiaques
Gentamicine	5	5	IV			antibiotique aminoside	néphrotoxicité ; ototoxicité
Netilmicine	3.88	4.14	IV			antibiotique aminoside	néphrotoxicité ; ototoxicité
Doxazosine	3.82	-	IV			antagoniste des récepteurs adrénergiques alpha-1	-
Pindolol	3.39	1.56	IV			-	-
Tiludronate	3.1	3.1	IV			inhibiteur de la résorption osseuse, fixation à l'os	ostéonécrose de la mâchoire ; troubles rénaux
Trandolapril	2.34	-	IV			inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	-
Isradipine	2.17	-	IV			inhibiteur calcique	-
Olmesartan	1.94	1.94	IV			antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine 2	-
Sumatriptan	1.51	-	IV			agonistes sélectifs des récepteurs 5 HT1b	affections cardiaques
Lacidipine	1.47	-	IV			inhibiteur calcique	-
Zolmitriptan	1.32	-	IV			agonistes sélectifs des récepteurs 5 HT1b	affections cardiaques
Lincomycine	1.27	-	IV			antibiotique	-
Tobramycine	1.23	1.23	IV			antibiotique aminoside	néphrotoxicité ; ototoxicité

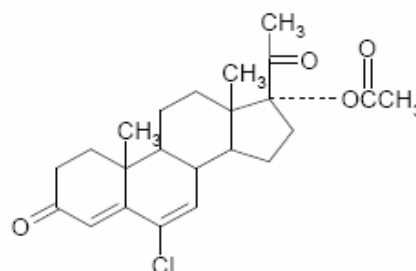
Tableau 19 (suite) : Critères pris en considération dans la démarche de priorisation par expertise.

Molécule	PECa (ng/l)	PECb (ng/l)	Classe	Inducteur	linhibiteur	Classe thérapeutique / mécanisme d'action	Effets secondaires
Terazosine	1.05	-	IV			antagoniste des récepteurs adrénergiques alpha-1	-
Tamsulosine	0.97	-	IV			antagoniste des récepteurs adrénergiques alpha-1	-
Almotriptan	0.84	-	IV			agonistes sélectifs des récepteurs 5 HT1b	affections cardiaques
Manidipine	0.74	-	IV			inhibiteur calcique	-
Moexipril	0.68	-	IV			inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	-
Naratriptan	0.55	-	IV			agonistes sélectifs des récepteurs 5 HT1b	affections cardiaques
Trétinoïne	0.30	-	IV			rétinoïde	-
Timolol	0.29	0.06	IV			-	-
Pamidronate	0.02	0.02	IV			inhibiteur de la résorption osseuse, fixation à l'os	ostéonécrose de la machoire ; troubles rénaux
Zoledronate	0.01	0.01	IV			inhibiteur de la résorption osseuse, fixation à l'os	ostéonécrose de la machoire ; troubles rénaux

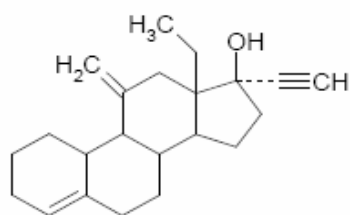
Tableau 19 (suite) : Critères pris en considération dans la démarche de priorisation par expertise.

ANNEXE F. Appendices de l'article paru dans Environmental Pollution**Appendix A**Chemical structures of synthetic progestins.

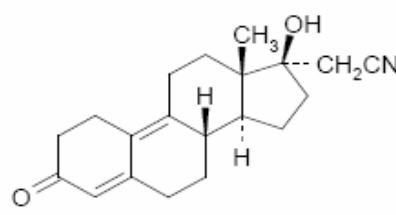
Cyproterone acetate



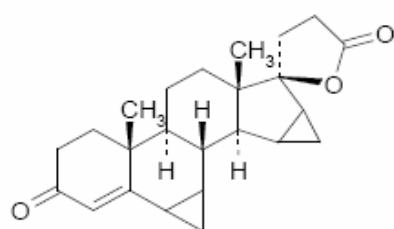
Chlormadinone acetate



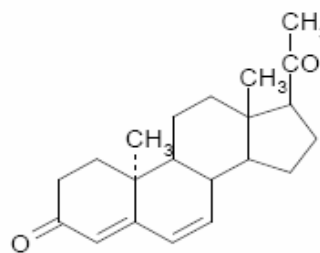
Desogestrel



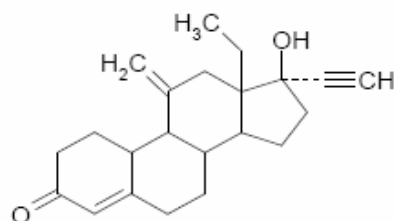
Dienogest



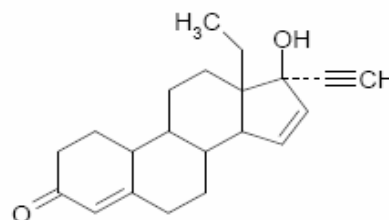
Drospirenone



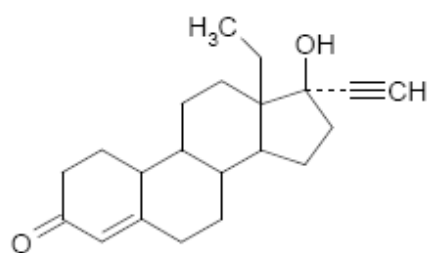
Dydrogesterone



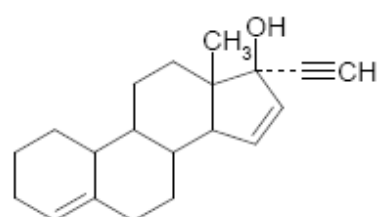
Etonogestrel



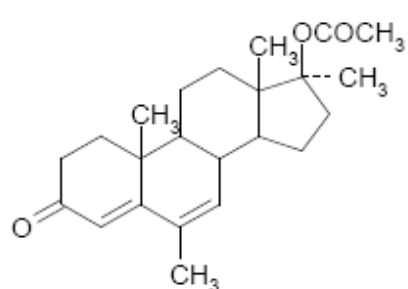
Gestodene



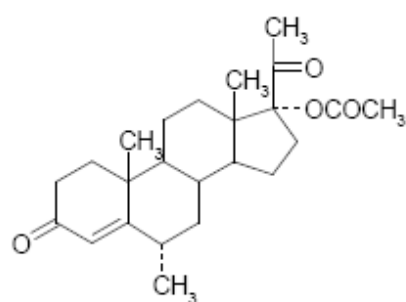
Levonorgestrel



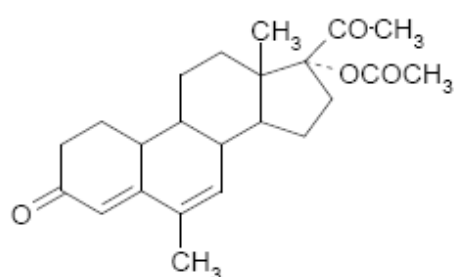
Lynestrenol



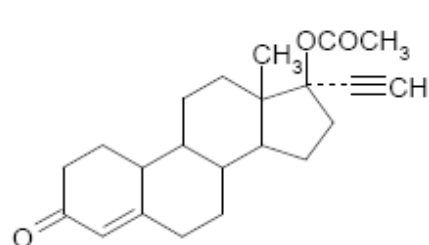
Medrogestone



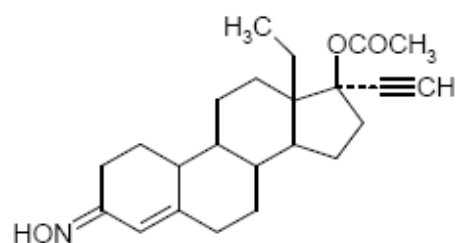
Medroxyprogesterone acetate



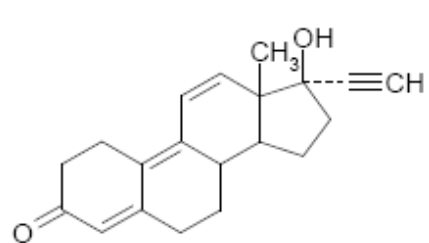
Nomegestrol acetate



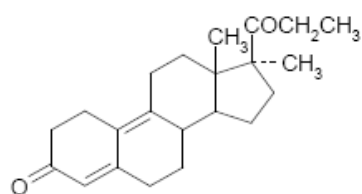
Norethisterone acetate



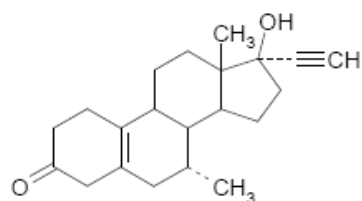
Norgestimate



Norgestrienone

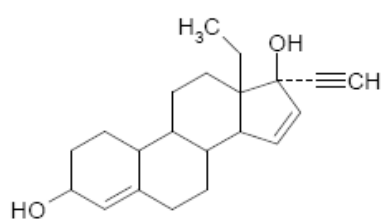


Promegestone

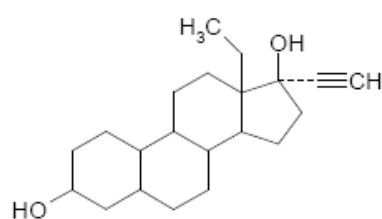


Tibolone

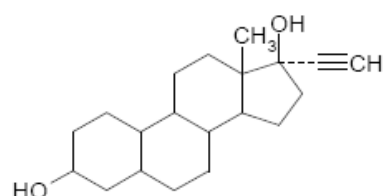
Chemical structure of tetrahydronorethisterone, tetrahydrolevonorgestrel, tetrahydrogestodene and 17- α -ethinylestradiol.



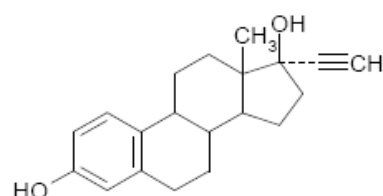
Tetrahydrogestodene



Tetrahydrolevonorgestrel



Tetrahydronorethisterone

17- α -ethinylestradiol

Appendix B

Metabolism data for gestagens

Natural progesterone (P4) is transformed in numerous metabolites, two isomers of dihydroprogesterone, four pregnanolone isomers and eight isomers of pregnanediol (Stanczyk, 2003), which can be conjugated. Among these metabolites, pregnanediol is quantitatively the most important urinary metabolite (Rozenbaum, 2001, Stanczyk, 1996). but is not reported to be pharmacologically active. Other metabolites are 17-hydroxyprogesterone and 20 α -dihydroprogesterone (Drugdex® 2008), pregnanolone and allopregnanedione (Rozenbaum, 2001). The two first metabolites still display a progestagenic activity, whereas the two last are reported to play a role in sleep (Rozenbaum, 2001).

Dydrogesterone (DHG) is a P4 isomer (retroprogesterone) mainly metabolised by reduction at C(20) position into a 20 α -hydroxyderivative, also referred to as DHD which is a potent gestagen (Rozenbaum, 2001). Two other metabolites can be formed by hydroxylation at the C(21) methyl group and at the C13 α -position. DHD and these two last metabolites represent 70% of the urinary excretion (Rozenbaum, 2001). These two last metabolites are reported to have a similar profile as DHG (Schindler et al., 2003), but no relevant data on their activity were found.

Promegestone is metabolised in two main metabolites by hydroxylation on the C(21) position (R and S). Only the S metabolites displays a progestagenic activity.

Medroxyprogesterone acetate (MPA) is derived from 17-hydroxyprogesterone. Very little is known on metabolism of MPA (Stanczyk, 2003). The major metabolites seem to result from modifications of the side chains at C(17) and C(21) of medroxyprogesterone. Minor metabolites consist of modifications at the C(3) and C(6) sites (Drugdex© 2008). No data on the activity of MPA metabolites or excretion fractions are available.

Cyproterone acetate (CPA) is considered the most potent antiandrogenic progestin. CPA is mainly metabolised in 15 β -hydroxy-CPA which as only little progestagenic activity but an anti-androgenic activity similar to CPA (Schindler et al., 2003). Reviewed data on excretion fractions of intact CPA are variable: from 5% of an oral dose is excreted unchanged (Raudrant and Rabe, 2003) to 20% (BCB 2008).

Chlormadinone acetate (CMA) has mild anti-androgenic properties. Once absorbed, it undergoes hydroxylation on the 3-keto group whereas the double bond of the ring A appears to be maintained (Schindler et al., 2003). The most important metabolites are the α and β isomers of the 3 α -hydroxy-CMA and 3 β -hydroxy-CMA is reported to have anti-androgenic activity corresponding to 70% of CMA (Rozenbaum, 2001).

Levonorgestrel (LNG) is mainly metabolised by reduction in the liver, followed by glucuronidation (BCB, 2008). Major reported metabolites are: 3 α ,5 β -tetrahydroLNG, 3 α ,5 β -tetrahydroLNG and 16 β -hydroxytetrahydroLNG (Drugdex© 2008). LNG and metabolites are excreted primarily as conjugates of sulfate (25%) or glucuronide (32%) with about 20% being excreted in an unconjugated form (Drugdex© 2008). According to Stanczyk and Roy (1990), 3 α -5 β -tetrahydroLNG glucuronide is the major urinary metabolite. Tetrahydrometabolites of LNG re reported to be estrogenic in vitro (Garcia-Becerra et al., 2002).

Norgestimate is reported to be a prodrug of levonorgestrel (Rozenbaum, 2001; BCB, 2008). Norgestimate is a complex prodrug that is converted to at least two active metabolites: levonorgestrel 3-oxime also referred as norelgestromine and levonorgestrel.

Norethisterone (NET) can be administered as NET or NET acetate. NET acetate is rapidly hydrolysed in the gastro-intestinal tract and transformed into NET. Like other testosterone derivatives, the primary metabolic pathway for NET is reduction of ketone structure in ring A, producing ring A tetrahydrosteroids which can be conjugated with formation of sulfates (mostly) and glucuronides. Main metabolites are reported to be 5 α -dihydroNET (Rozenbaum, 2001; Schinlder et al., 2003) and 3 α ,5 β -tetrahydroNET, mainly as sulfate and glucuronide conjugates (Stanczyk and Roy, 1990). Tetrahydrometabolites of NET have been shown to be estrogenic in vitro (Larrea et al., 2001).

Lynestrenol is a prodrug of NET and its conversion into NET is almost total (Rozenbaum, 2001).

Desogestrel (DGL) is considered the prodrug of the active form 3-ketodesogestrel, also referred to as etonogestrel (Rozenbaum, 2001). A study of the metabolism of desogestrel in postmenopausal women (Verhoeven et al., 2001) showed that numerous metabolites have been detected in urine and feces only small amounts of etonogestrel glucuronide were found in feces and not in urine. In this study, main fecal metabolite is 3 β ,5 α -tetrahydroetonogestrel whereas main urinary metabolites are glucuronides of C13 and C15 α -hydroxyetonogestrel. No data on the pharmacological activity of such molecules have been found.

For *Gestodene (GSD)*, data report that only 1% of GSD is excreted unchanged in urine (but no data are available on conjugated GSD rates). Main metabolites are reported to be dihydro-GSD, 3,5-tetrahydroGSD and an hydroxylated metabolite (Rozenbaum, 2001).

Dienogest (DNG) has an antiandrogenic effect equivalent to about 40% of the effect of CPA (Rozenbaum, 2001). Dienogest undergoes hydroxylation and conjugation, metabolites are reported to be inactive. It is reported that sizeable amounts of dienogest are found in urine, principally under a conjugated form (Stanczyk, 1996).

Tibolone (TBL) is derived from norethynodrel, and as this last molecule, is a prodrug. TBL is converted in 7 α -methyl-norethisterone (or Δ 4-tibolone) which has progestagenic activity and mild androgenic activity (Rozenbaum 2001). Tibolone also gives rise to two other metabolites 3 α -hydroxyTBL, and 3 β -hydroxyTBL, which display an estrogenic activity. 3 β -hydroxyTBL seems to be excreted in higher amounts than the 3 α isomer, free or as a sulfoconjugate (Vos et al., 2002).

Drospirenone (DSP) has a specific structure as it is derived from the diuretic spironolactone. It has some antiandrogenic activity, with a potency of about 30% of that of CPA, (Rozenbaum, 2001; Sitruk-Ware, 2006). Once administered, DSP is extensively metabolised mainly in the acid form of DSP (by opening of the lactone function) and in 4,5-dihydroDSP sulfate. These two metabolites are reported to be inactive, however no data were found on the potential activity of the unconjugated 4,5-dihydroDSP.

References de l'appendice

BCB, 2008. Banque Claude Bernard. Available at: <http://www.resip.fr>.

Drugdex®, 2008. Thomson Micromedex®. Healthcare series. <http://www.micromedex.com/products/drugdex/> (last accessed November, 2008).

Garcia-Becerra, R., Borja-Cacho, E., Cooney, A.J., Jackson, K.J., Lemus, A.E., Pecrez-Palacios, G., Larrea, F., 2002. The intrinsic transcriptional estrogenic activity of a non-phenolic derivative of levonorgestrel is mediated via the estrogen receptor- α . *J. Steroid. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 82, 333–341.

Larrea, F., García-Becerra, R., Lemus, A.E., García, G.A., Pecrez-Palacios, G., Jackson, K.J., Coleman, K.M., Dace, R., Smith, C.L., Cooney, A.J., 2001. A-ring reduced metabolites of 19-nor synthetic progestins as subtype selective agonists for Era. *Endocrinology* 142, 3791–3799.

Raudrant, D., Rabe, T., 2003. Progestogens with antiandrogenic properties. *Drugs* 63, 463–492.

Rozenbaum, H., 2001. *Les Progestatifs*, second ed. ESKA, Paris.

Sitruk-Ware, R., 2006. New progestagens for contraceptive use. *Hum. Reprod. Update.* 12, 169–178.

Schindler, A.E., Campagnoli, C., Druckmann, R., Huber, J., Pasqualini, J.R., Schweppe, K.W., Thijssen, J.H.H., 2003. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 46 (Suppl. 1), S7–S16.

Stanczyk, F.Z., 1996. Introduction: structure–function relationships, metabolism, pharmacokinetics and potency of progestins. *Drug. Today* 32 (Suppl. H), 1–14.

Stanczyk, F.Z., 2003. All progestins are not created equal. *Steroids* 68, 879–890.

Stanczyk, F.Z., Roy, S., 1990. Metabolism of levonorgestrel, norethindrone, and structurally related contraceptive steroids. *Contraception* 42, 67–96.

Verhoeven, C.H.J., Gludemans, R.H.M., Peeters, P.A.M., Van, J.J., Verheggen, F.T.M., Groothuis, G.M.M., Rietjens, I.M.C.M., Vos, R.M.E., 2001. Excretion and metabolism of desogestrel in healthy postmenopausal women. *J. Steroid. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 78, 471–480.

Vos, R.M.E., Krebbers, S.F.M., Verhoeven, C.H.J., Delbressine, L.P.C., 2002. The in vivo human metabolism of tibolone. *Drug Metab. Dispos.* 30, 106–112.

ANNEXE G. Données de consommation, de métabolisme et valeurs de PEC pour les cytotoxiques.

Dans les tableaux suivants sont données les informations sur les tonnages de consommation des anticancéreux, à l'échelle nationale et locale, les valeurs de PEC déterminées, et les données de métabolisme récupérées.

Molécule	Classe thérapeutique	ATC	Quantités à l'officine (kg) 2004	Quantités à l'hôpital (kg) 2004	TOTAL (kg) 2004	Quantités à l'officine (kg) 2008	Quantités à l'hôpital (kg) 2008	TOTAL (kg) 2008
HYDROXYCARBAMIDE	-	L01XX05	5638,74	117,93	5756,67	6680,87	157,76	6838,63
CAPECITABINE	analogue de la pyrimidine (antimétabolite)	L01BC06	0,00	2620,99	2620,99	5065,14	69,80	5134,94
FLUOROURACILE	analogue de la pyrimidine (antimétabolite)	L01BC02	57,34	1632,90	1690,24	2,60	1730,60	1733,20
IMATINIB	inhibiteur des protéines kinases	L01XE101	575,56	8,12	583,68	866,52	7,38	873,90
GEMCITABINE	analogue de la pyrimidine	L01BC05	0,00	339,21	339,21	0,00	379,28	379,28
CYCLOPHOSPHAMIDE	analogue de moutarde à l'azote	L01AA01	45,82	236,02	281,84	84,86	220,87	305,73
ESTRAMUSTINE	moutarde à l'azote	L01XX11	381,99	6,38	388,38	285,24	2,38	287,62
MITOTANE	-	L01XX23	0,00	95,90	95,90	0,00	233,75	233,75
ERLOTINIB	inhibiteur des protéines kinases	L01XE03	-	-	-	143,22	5,63	148,85
CYTARABINE	analogue de la pyrimidine (antimétabolite)	L01BC01	5,71	111,70	117,41	4,08	129,52	133,59
LAPATINIB	inhibiteur des protéines kinases	L01XE07	-	-	-	30,07	86,14	116,20
IFOSFAMIDE	analogue de moutarde à l'azote	L01AA06	0,00	121,38	121,38	0,19	102,85	103,04
MERCAPTOPYRIMIDINE	analogue de la purine (antimétabolite)	L01BB02	99,06	2,98	102,04	90,36	4,48	94,84
BEVACIZUMAB	anticorps monoclonal	L01XC07	-	-	-	0,00	87,12	87,12
CARBOPLATINE	dérivé du platine	L01XA02	0,00	64,38	64,38	82,46	1,13	83,59
METHOTREXATE	analogue de l'acide folique (antimétabolite)	L01BA01	44,58	73,05	117,63	0,51	74,22	74,73
RITUXIMAB	anticorps monoclonal	L01XC02	0,00	32,52	32,52	34,21	37,88	72,08
PIPOBROMAN	agent alkylant	L01AX02	62,88	0,19	63,06	0,00	66,93	66,93
NILOTINIB	inhibiteur des protéines kinases	L01XE08	-	-	-	58,49	0,22	58,71
TRASTUZUMAB	anticorps monoclonal	L01XC03	0,00	15,05	15,05	51,37	4,64	56,01
CETUXIMAB	anticorps monoclonal	L01XC06	0,00	7,38	7,38	0,00	55,03	55,03
TEMOZOLOMIDE	agent alkylant	L01AX03	0,00	29,23	29,23	0,00	53,54	53,54
IRINOTECAN	-	L01XX19	0,00	33,89	33,89	0,00	46,58	46,58
ETOPOSIDE	alcaloïde dérivé de la podophyllotoxine	L01CB01	0,00	332,84	332,84	0,00	41,11	41,11
TEGAFUR	analogue de la pyrimidine (antimétabolite)	L01BC	0,00	86,51	86,51	36,81	0,50	37,31
PACLITAXEL	alcaloïde végétal (taxane)	L01CD01	0,00	27,29	27,29	10,63	28,12	38,75
PEMETREXED	analogue de l'acide folique (antimétabolite)	L01BA04	0,00	0,92	0,92	36,81	0,50	37,31
PROCARBAZINE	méthylhydrazine	L01XB01	15,08	1,40	16,48	0,16	34,40	34,55

Tableau 20 : Quantités d'anticancéreux délivrées dans les officines de ville et les hôpitaux pour les années 2004 et 2008.

Molécule	Classe thérapeutique	ATC	Quantités à l'officine (kg) 2004	Quantités à l'hôpital (kg) 2004	TOTAL (kg) 2004	Quantités à l'officine (kg) 2008	Quantités à l'hôpital (kg) 2008	TOTAL (kg) 2008
OXALIPLATINE	dérivé du platine	L01XA03	0,00	20,34	20,34	0,00	33,47	33,47
DACARBAZINE	agent alkylant	L01AX04	0,00	18,65	18,65	28,53	0,92	29,45
DOCETAXEL	alcaloïde végétal (taxane)	L01CD02	0,00	16,41	16,41	0,08	27,39	27,47
BEXAROTENE	-	L01XX25	0,00	8,24	8,24	0,00	23,62	23,62
CISPLATINE	dérivé du platine	L01XA01	0,00	17,31	17,31	0,00	22,74	22,74
SUNITINIB	inhibiteur des protéines kinases	L01XE04	-	-	-	0,00	20,00	20,00
EPIRUBICINE	antibiotique cytotoxique (anthracycline)	L01DB03	0,03	18,77	18,80	0,01	17,57	17,59
DOXORUBICINE	antibiotique cytotoxique (anthracycline)	L01DB01	0,00	7,94	7,94	16,75	0,07	16,82
VINORELBINE	vinca-alcanoïdes et analogues	L01CA04	0,00	6,29	6,29	0,05	12,92	12,97
STREPTOZOCINE	nitroso-urée	L01AD04	0,01	7,43	7,43	0,04	8,34	8,38
CHLORAMBUCIL	moutarde à l'azote	L01AA02	6,63	0,03	6,65	4,20	3,98	8,18
FLUDARABINE	analogue de la purine (antimétabolite)	L01BB05	2,07	1,06	3,13	0,00	5,51	5,51
MELPHALAN	analogue de moutarde à l'azote	L01AA03	2,70	1,10	3,80	4,84	0,02	4,86
TRETINOINE	-	L01XX14	0,00	1,84	1,84	2,38	0,90	3,28
LOMUSTINE	nitroso-urée	L01AD02	0,00	0,37	0,37	2,01	1,08	3,09
ALTRETAMINE	-	L01XX03	0,00	3,21	3,21	0,02	3,05	3,06
MITOMYCINE C	antibiotique cytotoxique	L01DC03	1,41	0,63	2,04	0,00	3,01	3,01
AMINOLEVULINATE	photosensibilisant	L01XD03	-	-	-	0,00	2,39	2,39
THIOGUANINE	analogue de la purine (antimétabolite)	L01BB03	0,00	1,93	1,93	1,33	0,90	2,23
CARMUSTINE	nitroso-urée	L01AD01	0,00	1,41	1,41	0,35	1,47	1,81
MITOGUAZONE	-	L01XX16	0,00	1,03	1,03	0,00	1,68	1,68
FOTEMUSTINE	nitroso-urée	L01AD05	0,03	1,43	1,46	0,00	1,31	1,31
PANITUMUMAB	anticorps monoclonal	L01XC08	-	-	-	0,00	1,28	1,28
ANAGRELIDE	-	L01XX35	-	-	-	0,02	1,21	1,23
TEMSIROLIMUS	inhibiteur des protéines kinases	L01XE09	-	-	-	0,00	1,19	1,19
BLEOMYCINE	antibiotique cytotoxique	L01DC01	0,06	0,66	0,72	0,88	0,00	0,88

Tableau 20 (suite) : Quantités d'agents cytotoxiques consommés en 2004 et 2008, répartition à l'hôpital et dans les officines de ville.

Molécule	Classe thérapeutique	ATC	Quantités à l'officine (kg) 2004	Quantités à l'hôpital (kg) 2004	TOTAL (kg) 2004	Quantités à l'officine (kg) 2008	Quantités à l'hôpital (kg) 2008	TOTAL (kg) 2008
DAUNORUBICINE	antibiotique cytotoxique (anthracycline)	L01DB02	0,00	0,77	0,77	0,00	0,76	0,76
ALEMTUZUMAB	anticorps monoclonal	L01XC04	-	-	-	0,06	0,67	0,72
VINBLASTINE	vinca-alcanoïdes et analogues	L01CA01	0,03	0,29	0,32	0,00	0,71	0,71
AMSACRINE	-	L01XX01	0,00	0,16	0,16	0,00	0,39	0,39
THIOTEPA	éthylène-imine (agent alkylant)	L01AC01	0,00	0,21	0,21	0,05	0,30	0,35
MITOXANTRONE	antibiotique cytotoxique (anthracycline)	L01DB07	0,00	0,29	0,29	0,00	0,27	0,27
MILTEFOSINE	-	L01XX09	-	-	-	0,00	0,22	0,22
BORTEZOMIB	-	L01XX32	-	-	-	0,01	0,21	0,22
TOPOTECAN	-	L01XX17	0,00	0,10	0,10	0,00	0,21	0,21
IDARUBICINE	antibiotique cytotoxique (anthracycline)	L01DB06	0,00	0,13	0,13	0,00	0,17	0,17
VINCRISTINE	vinca-alcanoïdes et analogues	L01CA02	0,01	0,13	0,14	0,00	0,15	0,15
CLOFARABINE	analogue de la purine (antimétabolite)	L01BB06	-	-	-	0,00	0,13	0,14
PIRARUBICINE	antibiotique cytotoxique (anthracycline)	L01DB08	0,00	0,03	0,03	0,01	0,12	0,13
VINDESINE	vinca-alcanoïdes et analogues	L01CA03	0,00	0,05	0,05	0,000	0,061	0,061
TRIOXYDE D'ARSENIC	-	L01XX27	0,00	0,02	0,02	0,000	0,053	0,053
PORFIMERE SODIQUE	utilisé en thérapie photodynamique	L01XD01	0,00	0,01	0,01	0,000	0,040	0,040
CLADRIBINE	analogue de la purine (antimétabolite)	L01BB04	0,00	0,02	0,02	0,000	0,029	0,029
BUSULFAN	alkyl-sulfonate (agent alkylant)	L01AB01	0,00	0,15	0,15	0,000	0,028	0,028
RALTITREXED	analogue de l'acide folique (antimétabolite)	L01BA03	0,00	0,03	0,03	0,010	0,017	0,027
PENTOSTATINE	-	L01XX08	-	-	-	0,015	0,008	0,023
ALITRETINOINE	-	L01XX22	-	-	-	0,000	0,018	0,018
TRABECTEDINE	alcaloïde végétal	L01CX01	-	-	-	0,000	0,013	0,013
CHLORMETINE	moutarde à l'azote	L01AA05	0,53	0,03	0,56	0,000	0,008	0,008
IBRITUMOMAB TIUXETAN	utilisé en thérapie photodynamique	V10XX02	0,00	0,00	0,00	0,000	0,003	0,003
TOTAL			6940,25	6136,69	13076,94	13 626,24	3 862,96	17 489,20

Tableau 20 (suite) : Quantités d'agents cytotoxiques consommés en 2004 et 2008, répartition à l'hôpital et dans les officines de ville.

Données AFSSAPS (AFSSAPS 2006 ; 2009).

Les molécules sur fond bleu indiquent celles délivrées de manière prépondérante dans les hôpitaux ; sur fond jaune, dans les officines de ville ; sur fond rose, les nouvelles molécules apprues depuis 2004, et sur fond vert, celles disparues.

Molécule	TOTAL (kg) 2004	TOTAL (kg) 2008	PEC 2004 (ng/l)	PEC 2008 (ng/l)	Evolution 2008 / 2004
Hydroxycarbamide	5756,67	6838,63	131,43	156,13	1,19
Capecitabine	2620,99	5134,94	59,84	117,24	1,96
Fluorouracile	1690,24	1733,20	38,59	39,57	1,03
Imatinib	583,68	873,90	13,33	19,95	1,50
Gemcitabine	339,21	379,28	7,74	8,66	1,12
Cyclophosphamide	281,84	305,73	6,43	6,98	1,08
Estramustine	388,38	287,62	8,87	6,57	0,74
Mitotane	95,90	233,75	2,19	5,34	2,44
Erlotinib	-	148,85	-	3,40	-
Cytarabine	117,41	133,59	2,68	3,05	1,14
Lapatinib	-	116,20	-	2,65	-
Ifosfamide	121,38	103,04	2,77	2,35	0,85
Mercaptopurine	102,04	94,84	2,33	2,17	0,93
Bevacizumab	-	87,12	-	1,99	-
Carboplatine	64,38	83,59	1,47	1,91	1,30
Methotrexate	117,63	74,73	2,69	1,71	0,64
Rituximab	32,52	72,08	0,74	1,65	2,22
Pipobroman	63,06	66,93	1,44	1,53	1,06
Nilotinib	-	58,71	-	1,34	-
Trastuzumab	15,05	56,01	0,34	1,28	3,72
Cetuximab	7,38	55,03	0,17	1,26	7,45
Temozolomide	29,23	53,54	0,67	1,22	1,83
Irinotecan	33,89	46,58	0,77	1,06	1,37
Etoposide	332,84	41,11	7,60	0,94	0,12
Tegafur	86,51	37,31	1,98	0,85	0,43
Paclitaxel	27,29	38,75	0,62	0,88	1,42
Pemetrexed	0,92	37,31	0,02	0,85	40,65
Procarbazine	16,48	34,55	0,38	0,79	2,10
Oxaliplatine	20,34	33,47	0,46	0,76	1,65
Dacarbazine	18,65	29,45	0,43	0,67	1,58
Docetaxel	16,41	27,47	0,37	0,63	1,67
Bexarotene	8,24	23,62	0,19	0,54	2,87
Cisplatine	17,31	22,74	0,40	0,52	1,31
Sunitinib	-	20,00	-	0,46	-
Epirubicine	18,80	17,59	0,43	0,40	0,94
Doxorubicine	7,94	16,82	0,18	0,38	2,12
Vinorelbine	6,29	12,97	0,14	0,30	2,06
Streptozocine	7,43	8,38	0,17	0,19	1,13
Chlorambucil	6,65	8,18	0,15	0,19	1,23
Fludarabine	3,13	5,51	0,07	0,13	1,76
Melphalan	3,80	4,86	0,09	0,11	1,28
Tretinoïne	1,84	3,28	0,04	0,07	1,78
Lomustine	0,37	3,09	0,01	0,07	8,26
Altretamine	3,21	3,06	0,07	0,07	0,95
Mitomycine C	2,04	3,01	0,05	0,07	1,47

Tableau 21 : Evolution des consommations et des PEC pour les cytotoxiques entre les années 2004 et 2008.

Molécule	TOTAL (kg) 2004	TOTAL (kg) 2008	PEC 2004 (ng/l)	PEC 2008 (ng/l)	Evolution 2008 / 2004
Aminolevulinate	-	2,39	-	0,05	-
Thioguanine	1,93	2,23	0,04	0,05	1,15
Carmustine	1,41	1,81	0,03	0,04	1,28
Mitoguazone	1,03	1,68	0,02	0,04	1,64
Fotemustine	1,46	1,31	0,03	0,03	0,90
Panitumumab	-	1,28	-	0,03	-
Anagrelide	-	1,23	-	0,03	-
Temsirolimus	-	1,19	-	0,03	-
Bléomycine	0,72	0,88	0,02	0,02	1,23
Daunorubicine	0,77	0,76	0,02	0,02	0,99
Alemtuzumab	-	0,72	-	0,02	-
Vinblastine	0,32	0,71	0,01	0,02	2,23
Amsacrine	0,16	0,39	0,004	0,009	2,37
Thiotepa	0,21	0,35	0,005	0,008	1,70
Mitoxantrone	0,29	0,27	0,007	0,006	0,95
Miltefosine	-	0,22	-	0,005	-
Bortezomib	-	0,22	-	0,005	-
Topotecan	0,10	0,21	0,002	0,005	2,10
Idarubicine	0,13	0,17	0,003	0,004	1,29
Vincristine	0,14	0,15	0,003	0,003	1,09
Clofarabine	-	0,14	-	0,003	-
Pirarubicine	0,03	0,13	0,001	0,003	4,65
Vindésine	0,05	0,061	0,001	0,001	1,23
Trioxyde d'arsenic	0,02	0,053	0,001	0,001	2,22
Porfimère sodique	0,01	0,040	0,000	0,001	4,09
Cladribine	0,02	0,029	0,000	0,001	1,63
Busulfan	0,15	0,028	0,003	0,001	0,19
Raltitrexed	0,03	0,027	0,001	0,001	1,05
Pentostatine	-	0,023	-	0,001	-
Alitrétinoïne	-	0,018	-	0,0004	-
Trabectedine	-	0,013	-	0,0003	-
Chlormetine	0,56	0,008	0,013	0,0002	0,01
Ibritumomab tiuxetan	78,00	0,003	1,7808	0,0001	0,00

Tableau 21 (suite) : Evolution des consommations et des PEC pour les cytotoxiques entre les années 2004 et 2008.

Molécule	Métabolisme / excrétion (données BCB et Micromedex®)	Métabolites principaux (données BCB et Micromedex®)
Altrétamine	Important métabolisme au niveau du foie	n2,n4,n6 triméthylmelamine ; n2,n4 diméthylmelamine ; n1 monométhylmelamine ; Melamine ; Pentaméthylmelamine ; Tetraméthylmelamine
Amsacrine	Important métabolisme au niveau du foie	
Bexarotène		formation de métabolites oxydés (CYP 450 3A4 ; études <i>in vitro</i>), métabolites actifs <i>in vitro</i> sur le récepteur des rétinoïdes ; les métabolites peuvent être glucuroconjugués
Busulfan	1 à 2% est éliminé sous forme inchangée dans les urines	
Capecitabine	95,5% éliminé dans les urines dont 3% excrété inchangé	5'-deoxy-5-fluorocytidine (5-dFCR) (inactif) ; 5'-deoxy-5-fluorouridine (5-d FUR) (inactif) ; 5-Fluorouracile (actif) ; 5-fluoro-5, 6-dihydro-fluorouracile (FUH2) (inactif) ; acide 5-fluoro-ureido-propionique(FUPA) (inactif) ; Alpha-fluoro-bêta-alanine (FBAL) (inactif) ; alpha-fluoro-bêta-alanine (57%, inactif)
Carboplatine	Excrété principalement dans les urines (95%), sous forme inchangée	
Chlorambucil		Moutarde phénylacétique (actif)
Cisplatine	Le cisplatine n'est pas métabolisé dans le foie	
Cladribine		Chloroadénine (inactif)
Cyclophosphamide	5% à 25% éliminé inchangé dans les urines Une fraction importante de la molécule est éliminée par voie hépatique	4-hydroxycyclophosphamide (actif) transformé en moutarde phosphoramidate et en acroléine ; Aldophosphamide (actif) ; moutarde phosphoramidate (actif) (considéré comme l'agent anticancéreux actif) ; Acroléine (actif) (pas d'activité anticancéreuse mais responsable d'hémorragies de la vessie) ; 4-keto-cyclophosphamide (inactif) ; Carboxyphosphamide (inactif) ; Dechloroethylcyclophosphamide (inactif)
Cytarabine	Excrétion rénale à 80% dont 90% sous forme d'ara-U ; moins de 10% sous forme inchangée	ARA-U, uracile-arabinoside (inactif) ; ARA-CTP (actif)
Dacarbazine		5-aminoimidazole-4-carboxamide (AIC) (inactif)
Docetaxel	80% excrété dans les fèces cours des 48 premières heures ; très faibles quantités sous forme inchangée	4 métabolites inactifs
Doxorubicine	Excrétion biliaire sous forme inchangée et de métabolites (40 à 50%) ; excrétion urinaire négligeable (10% , principalement sous forme inchangée)	

Tableau 22 : Données de métabolisme disponibles pour les anticancéreux cytotoxiques.

Molécule	Métabolisme / excrétion (données BCB et Micromedex®)	Métabolites principaux (données BCB et Micromedex®)
Epirubicine	Quantité importante de glucuronides circulants	Epirubicinol (activité ?)
Estramustine		Estromustine, analogue estrone, estradiol, et estrone (actifs)
Etoposide	Elimination urinaire de l'ordre de 30 à 60%, dont 25 à 50% sous forme inchangée ; 8% ou moins sous forme de métabolites	
Fludarabine		2-fluoro-ara-A (actif) ; 2-fluoroadenine-5-triphosphate
Fluorouracile	60 à 80% éliminé via les poumons ; environ 10% éliminé inchangé dans les urines	Dihydro-5-fluorouracil, (potentiellement actif) ; Carbon monoxide urea et alpha-fluoro-beta-alanine, (inactifs)
Fotemustine		
Gemcitabine	99% dans les urines, essentiellement sous forme de dFdU inactif (90%) et moins de 10% sous forme inchangée	Gemcitabine triphosphate, actif ; 2',2'-difluorodeoxyuridine (dFdU) activité antitumorale négligeable mais pourrait contribuer à la toxicité de la gemcitabine
Hydroxycarbamide	Excrétion dans les urines sous forme d'urée et sous forme inchangée ; approximativement 50% sont retrouvés sous forme inchangée	Urée, inactive
Idarubicine		Idarubicinol (actif)
Ifosfamide	Excrétion rénale variable en fonction de la dose : forte dose : 70% à 86% de la dose ont été retrouvé dans les urines dont 61% de la dose sous forme inchangée. faible dose : entre 12 et 18% de composé parent est excrété dans les urines	Moutarde isophosphoramide (actif) ; acroléine (métabolite urotoxique) ; carboxy ifosfamide (métabolite neurotoxique) ; 4-hydroxyifosfamide (4-OH-IF) (actif) ; Aldoifosfamide (actif)
Imatinib	Inchangé : 5% dans les urines, 20% dans les fèces	dérivé pipérazine N-déméthylé (actif)
Irinotecan	Plus de 50% excrété sous forme inchangée Moins de 1% de SN-38 et 3% de SN-38 glucuroconjugué	SN 38 (actif)
Lomustine		Cis-4-hydroxy-CCNU (actif) ; Trans-4-hydroxy-CCNU (actif)
Melphalan		Monohydroxymelphalan (inactif) ; Dihydroxymelphalan (inactif)
Mercaptopurine	7% excrétés sous forme inchangée dans les urines, 50% de métabolites (activité?)	nucléotides thioguanidiques ou 6-TGN (actifs) ; 6-methylmercaptopurine (inactif) ; acide 6-thiourique (inactif)
Methotrexate	60 à 90% sous forme inchangée dans les urines	7-hydroxyméthotrexate ; 1 à 10% (inactif)
Mitoguazone	La mitoguazone n'est pas métabolisée dans l'organisme	

Tableau 22 (suite) : Données de métabolisme disponibles pour les anticancéreux cytotoxiques.

Molécule	Métabolisme / excrétion (données BCB et Micromedex®)	Métabolites principaux (données BCB et Micromedex®)
Mitomycine C		
Mitotane	jusqu'à 60% inchangé dans les urines	o,p'-DDA (activité ?)
Nilotinib	environ 70% excrété sous forme inchangée dans les fèces	
Oxaliplatine		
Paclitaxel		alpha-hydroxypaclitaxel (inactif) ; 3'-p-hydroxypaclitaxel (inactif) ; 6 alpha-3'-p-hydroxypaclitaxel (inactif)
Pemetrexed	70 à 90% inchangés excrétés par voie rénale	
Pirarubicine		métabolites glycosides THP-adriamycinol et adriamycinol (actifs)
Procarbazine	Oxydation, isomérisation, hydrolyse puis oxydation ; 5% inchangé à la 24ème heure	acide N-isopropyl-téréphthalamique (inactif)
Ralitrexed	Pas métabolisé , excrété sous forme inchangée, (urines 40 à 50% ; fèces 15%)	dérivés Polyglutamate (actifs ; métabolisme intracellulaire)
Streptozocine	10-20% sous forme inchangée dans les urines	
Temozolomide	5 à 10% de la dose sont retrouvés sous forme inchangée dans les urines dans les 24 heures	Méthylhydrazine (métabolite actif alkylant) ; dérivé acide carboxylique (actif) ; 3-methyl-(triazén-1-yl)imidazole-4-carboxamide (MTIC) (actif)
Thiotepa		Triethylene phosphoramidate (TEPA) (actif)
Topotecan		Alpha-beta-dihydroxycarboxylic acid (open-ring) (inactif)
Vinblastine		Deacetylvinblastine (actif)
Vindesine	13% excrété par voie urinaire (a priori sous forme inchangée)	
Vinorelbine	La vinorelbine inchangée est le principal composé retrouvé dans les urines et les fèces ; 8 à 11% sont excrétés sous forme inchangée dans les urines	4-O-désacétyl-vinorelbine (actif)

Tableau 22 (suite) : Données de métabolisme disponibles pour les anticancéreux cytotoxiques.

Molécule	Consommation en Hôpital de jour (mg)	Consommation en hospitalisation complète (mg)	Consommation totale (mg)
Alemtuzumab	60	13	73
Bléomycine	8 123	5 588	13 711
Bortezomib	160	0	160
Capecitabine	270 749	4 451	275 200
Carboplatine	274 519	142 485	417 004
Carmustine	7 185	14 719	21 904
Chlormétine	145	0	145
Cisplatine	24 393	126 123	150 516
Cyclophosphamide	1 279 420	555 778	1 835 198
Cytarabine	6 280	684 926	691 206
Dacarbazine	180 185	166 870	347 055
Dactinomycine	0	271	271
Daunorubicine	770	1 441	2 211
Docetaxel	174 107	5 898	180 005
Doxorubicine	146 029	63 844	209 873
Epirubicine	14 186	3 445	17 631
Etoposide	22 696	348 453	371 149
Fludarabine	1 989	2 959	4 947
Fluorouracile	6 842 199	1 856 690	8 698 889
Fotemustine	7 325	1 658	8 983
Gemcitabine	1 309 020	390 300	1 699 320
Ifosfamide	120 600	5 479 600	5 600 200
Irinotecan	230 682	19 686	250 368
Melphalan	0	12 787	12 787
Methotrexate	12 990	936 726	949 716
Mitomycine C	87	0	87
Mitoguazone	0	35 060	35 060
Mitoxantrone	376	24	400
Oxaliplatine	100 254	41 528	141 782
Paclitaxel	157 956	15 383	173 339
Pentostatine	175	7	182
Pemetrexed	17 413	3 500	20 913
Procarbazine	11 452	19 830	31 282
Raltitrexed	34	29	63
Streptozocine	0	37 250	37 250
Thiotepa	0	6 894	6 894
Temozolomide	854	0	854
Topotecan	257	36	293
Vinblastine	2 595	1 720	4 314
Vincristine	329	1 091	1 420
Vindésine	277	292	568
Vinorelbine	20 284	11 225	31 509
TOTAL	11 246 151	10 998 579	22 244 730

Tableau 23 : Quantités d'anticancéreux consommées au Centre Léon Bérard pour l'année 2005 et répartition en fonction du type d'hospitalisation. (Jean-François Latour, communication personnelle).

ANNEXE H. Substances médicamenteuses et apparentées non traitées dans le travail de thèse

Trois grands groupes de substances n'ont pas été traités ce travail et sont présentés ici de manière succincte :

1. Les biocides :

Les antiseptiques et les désinfectants, qui ne sont pas des médicaments au sens strict, sont des produits très largement utilisés au niveau hospitalier, mais également dans les foyers domestiques, soit en tant que tels, soit comme composants de produits cosmétiques (triclosan et triclocarban). Certains sont également employés comme agents conservateurs pour les fruits (carbendazime), la préservation du bois ou bien la stabilisation des matériaux de construction (Bester et al. 2008). Ces composés appartiennent à différentes classes chimiques et possèdent des spectres d'action variés (bactéricides, bactériostatiques, fongicides...).

Parmi les classes chimiques les plus utilisées, on retrouve les alcools, les biguanides (chlorexhidine), les halogènes (dérivés iodés), les ammoniums quaternaires, les carbanilides, les phénols (triclosan). Le triclosan a été retrouvé dans des effluents de STEP et des eaux de surface (Kolpin et al. 2002 ; Bendz et al. 2005). Certaines de ces molécules sont très actives sur les micro-organismes et leur large emploi contribue à la contamination du milieu aquatique ; les ammoniums quaternaires par exemple ont été retrouvés à des concentrations de l'ordre de la centaine de ng/l dans des effluents de STEP en Autriche (Martínez-Carballo et al. 2007 ; Clara et al. 2007).

2. Les produits de contraste iodés :

Les produits de contraste iodés sont des molécules organiques destinées à un usage diagnostique uniquement. Ils sont administrés aux patients afin d'opacifier certaines régions de l'organisme de manière à améliorer le contraste des radiographies. On compte une dizaine de molécules utilisées en France. Des mesures de concentrations effectuées en région Parisienne (Paffoni et al. 2006) montrent que ces molécules sont retrouvées dans les eaux de surface (entre 30 et 450 ng/l) mais aussi dans les eaux potables à hauteur de quelques dizaines de ng/l (Paffoni et al. 2006). Ces molécules ont également été retrouvées dans d'autres pays que la France et sont rapportées comme étant persistantes dans l'environnement (Pérez et Barceló 2007 ; Fent et al. 2006a).

Une évaluation du risque pour le iopromide, menée sur des tests standardisés (algues, daphnies et poisson) a conclu que le risque associé à cette molécule était négligeable (Steger-Hartmann et al. 1999) ; le risque lié à une exposition à long terme et à une exposition à des sous-produits de dégradation éventuels est par contre inconnu.

3. Les excipients :

Dans la formulation des médicaments, en association avec le principe actif, on retrouve un nombre important de composés annexes, appelés excipients, qui jouent un rôle dans les propriétés du médicament : absorption, biodisponibilité, stabilité, texture, couler, goût). Ces excipients sont soit des composés minéraux, soit des composés organiques. Parmi les excipients typiques, on retrouve des surfactants, émulsifiants, solvants, colorants ou antimicrobiens ; la plupart étant également employés dans d'autres produits comme la nourriture, les cosmétiques ou les produits d'hygiène (Carlsson et al. 2006b).

L'impact environnemental potentiel des ces molécules est encore peu étudié, à l'exception de certaines classes de molécules, comme les parabens, détectés dans les eaux de surface et pour lesquels, une évaluation du danger a été récemment effectuée sur la daphnie et le poisson (Dobbins et al. 2009).

Dans le cas des excipients utilisés dans les médicaments à usage humain, la seule étude à ce sujet est celle réalisée par Carlsson et al. (2006b), qui a porté sur un nombre restreint de ces molécules. Les résultats de cette étude font état du nombre très limité de données disponibles et de l'étendue des inconnues au sujet du risque environnemental lié aux excipients. Si les quantités d'excipients utilisées dans les médicaments sont restreintes par rapport à celles réservées aux autres emplois, une évaluation du risque poussée, à partir de l'ensemble des quantités utilisées devrait être réalisée (Carlsson et al. 2006b).

ANNEXE I. Exemples de micropolluants mesurés en entrée et sortie de stations d'épuration urbaines.

Classe du composé	Composé	Concentration dans le flux entrant (ng/l)	Fq (%)	Concentration dans l'effluent (ng/l)	Fq (%)	Valeur	Pays	Références
Antiseptiques / biocides	Triclosan	-		42 - 213	100	-	Suisse	Singer et al. 2002
	Triclosan	500 - 1300	100	70 - 650	100	-	Suisse	Lindström et al. 2002
Composés organiques volatils	Chloroforme	8500	90	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Tétrachloroéthylène	1600	60	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
Filtres UV	Benzophenone-3	700 - 7800		< 10 - 700	100	-	Suisse	Balmer et al. 2005
	Ethylhexyl methoxy cinnamate	500 - 19000		< 10 - 100	100	-	Suisse	Balmer et al. 2005
	Octocrylène	100 - 12000		< 10 - 270	100	-	Suisse	Balmer et al. 2005
HAPs	Benzo(a)pyrène	20	78	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Benzo(b)fluoranthène	20	78	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Benzo(ghi)perylène	20	78	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Fluoranthène	30	100	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
Métaux	Cadmium	1000	50	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Cuivre	51000	100	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Mercure	120	100	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Plomb	17000	90	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Zinc	361000	100	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
Musks	Acetyl cedrene	1600	94	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
	Amberonne	2800	94	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
	Galaxolide	2100 - 3400		490 - 600		moyenne	Espagne	Carballa et al. 2008
	Musk xylène	170	89	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
	Traseolide	120	67	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
Organo-étains	Dibutylétain	15	100	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Monobutylétain	20	100	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
Pesticides (herbicides)	Atrazine	3300	38	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
	Diuron	240	100	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Simazine	300	8	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
Phtalates	Benzylbutylphtalate	1.12 ± 0.54		0.30 ± 0.12		moy + SD	France	Dargnat et al. 2009
	Diéthylexylphtalate	22460 ± 13220		5020 ± 1530		moy + SD	France	Dargnat et al. 2009
	Diéthylexylphtalate	27000	100	-		médiane	France	Gasperi et al. 2008
	Di-n-butylphtalate	1100 ± 370		105 ± 120		moy + SD	France	Dargnat et al. 2009
	DnOP	100 ± 160		ND		moy + SD	France	Dargnat et al. 2009
Retardateurs de flamme	TCEP	190	38	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
	TCPP	460	92	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
Surfactants anioniques	LAS	2903000	100	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
	LAS	4233333		13277		moyenne	Autriche	Clara et al. 2007
Surfactants cationiques (ammoniums quaternaires)	CATAC-C12	2400		17		moyenne	Autriche	Clara et al. 2007
	CBAC-C14	39278		177		moyenne	Autriche	Clara et al. 2007
	CDDAC-C10	68844		378		moyenne	Autriche	Clara et al. 2007
	CDDAC-C18	18100		647		moyenne	Autriche	Clara et al. 2007
Surfactants non-ioniques (alkylphénols)	NP	4541		742		moyenne	Autriche	Clara et al. 2007
	NP1EO	13468		740		moyenne	Autriche	Clara et al. 2007
	NPEO	89000	100	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008
	OP	363		104		moyenne	Autriche	Clara et al. 2007
	OP1EC	50	17	-		moyenne	EU est	Terzic et al. 2008

Tableau 24 : Liste non exhaustive de molécules recherchées et détectées dans des effluents de STEP urbaine (d'après Besse et al. 2009a).

Fq (%) : fréquence d'occurrence dans les eaux usées et les effluents.

SD : déviation standard.

EU est : pays d'Europe de l'est : Serbie, Croatie, Bosnie.

Index

RESUME	5
REMERCIEMENTS	7
SOMMAIRE	9
LISTE DES DEFINITIONS	13
LISTE DES DEFINITIONS	13
LISTE DES ABREVIATIONS.....	14
INDEX DES TABLEAUX.....	15
INDEX DES FIGURES	16
INDEX DES FIGURES	16
INDEX DES EQUATIONS.....	16
INTRODUCTION.....	17
1. Contexte.....	19
1.1. Problématique	19
1.2. Voies d'entrée des médicaments dans l'environnement.....	19
1.3. La réponse des pouvoirs publics.....	21
2. Rappels sur l'évaluation de risque.....	21
2.1. Définitions.....	21
2.2. Principales méthodologies d'évaluation de risque.....	22
2.3. Intérêts et limites de l'évaluation de risque.....	23
3. L'évaluation de risque pour les médicaments à usage humain	23
3.1. Méthodologies existantes	23
3.2. Paramètres à prendre en compte pour l'évaluation du risque des médicaments....	26
4. Cadre de la thèse.....	27
5. Matériel et méthodes.....	28
5.1. Evaluation de l'exposition	28
5.1.1 Modèle utilisé.....	28
5.1.2. Données de consommation.....	29
5.2. Evaluation de l'effet, utilisation des données écotoxicologiques.....	30
5.3. Utilisation des données pharmacologiques et physico-chimiques	30
6. Organisation du manuscrit	31
ARTICLE DE SYNTHESE PARU DANS LES ACTUALITES PHARMACEUTIQUES.....	33
REVUE DES DIFFERENTES METHODOLOGIES UTILISEES POUR LA PRIORISATION OU L'EVALUATION DU RISQUE DES MEDICAMENTS A USAGE HUMAIN	45
REVUE ET DISCUSSION SUR LES DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES.....	69
1. Introduction	71
2. Données d'écotoxicité aiguë	71
2.1. Ecotoxicité aiguë sur les algues.....	71
2.1.1. Algues et antibiotiques.....	71
2.1.2. Algues et autres familles thérapeutiques.....	73
2.2. Ecotoxicité aiguë sur les invertébrés.....	73
2.3. Ecotoxicité aiguë sur les poissons	73
2.4. Conclusion pour l'écotoxicité aiguë.....	73

3. Données d'écotoxicité chronique	75
3.1. Ecotoxicité chronique sur les algues :	75
3.2. Ecotoxicité chronique sur les invertébrés	75
3.3. Ecotoxicité chronique sur les poissons	76
3.4. Conclusion pour les données d'écotoxicité chronique	76
4. Etudes basées sur l'utilisation de biomarqueurs	77
5. Etudes sur des mélanges de composés	77
6. Activité estrogénomimétique des molécules pharmaceutiques	78
7. Discussion	78
7.1. Considérations sur les données disponibles	78
7.2. Limite de représentativité des tests	79
7.2.1. Limite des données aiguës.....	79
7.2.2. Limite des essais sur des composés isolés	79
7.3. Différences de sensibilité inter- espèces	79
7.4. Différences de toxicité au sein d'une même classe chimique.....	79
7.4.1. Exemples des β -bloquants et des ISRS	79
7.4.2. Apports potentiels de la pharmacologie comparée	81
8. Conclusion	82
 MISE EN PLACE D'UNE DEMARCHE DE PRIORISATION BASEE SUR LES QUOTIENTS DE RISQUE (PEC/PNEC)	 83
1. Introduction	85
1.1. Evaluation de l'exposition, détermination des PEC	85
1.2. Evaluation de l'effet, détermination des PNEC	85
1.3. Molécules traitées.....	85
2. Article publié dans Human and Ecological Risk Assessment	86
3. Principaux résultats	118
3.1. Identification de métabolites humains d'intérêt.....	118
3.2. Evaluation du risque des médicaments.....	118
3.3. Nécessité de mettre en place une méthode de priorisation alternative.....	118
4. Données additionnelles non présentées dans l'article	118
4.1. Nouvelles valeurs de PEC	118
4.2. Evolution des consommations de médicaments dans le temps.....	118
5. Discussion et perspectives	125
5.1. Evaluation de l'exposition, intérêts et limites du modèle.....	125
5.1.1. <i>Comparaison des valeurs calculées avec des valeurs mesurées</i> :	125
5.1.2. <i>Utilisation des données nationales pour déterminer des concentrations régionales ou locales</i> :	125
5.2. Limites du modèle : prise en compte de la dégradation dans l'environnement, exemples de dégradation abiotique	125
5.2.1. <i>Modification des concentrations environnementales et des propriétés biologiques, exemple de l'hydrolyse des antibiotiques de type β-lactamines</i>	125
5.2.2. <i>Formation de nouveaux produits de dégradation, exemple de la photodégradation</i>	126
5.2.3. <i>Conclusion pour la prise en compte des phénomènes de dégradation dans les modèles de calcul de PEC pour les médicaments</i>	126
5.3. Limites du modèle : sorption au sédiment et aux matières en suspension	126
5.4. Utilisation des données pharmacocinétiques pour estimer le comportement des médicaments dans l'environnement.....	127
5.4.1. <i>Rappels</i>	127
5.4.2. <i>Arguments en faveur de l'utilisation du Vd</i>	127

5.4.3. Arguments en défaveur de l'utilisation du Vd	129
5.4.4. Conclusion sur l'utilisation du Vd pour estimer la sorption d'un médicament .	129
5.5. Conclusion générale pour l'estimation des PEC pour le sédiment.....	130
6. Conclusion.....	130

MISE EN PLACE D'UNE DEMARCHE DE PRIORISATION PRAGMATIQUE BASEE SUR L'EXPLOITATION DES DONNEES PHARMACOLOGIQUES 131

1. Introduction	133
2. Article publié dans Toxicology letters	134
3. Principaux résultats	155
4. Données additionnelles	155
4.1. Résultats.....	155
4.2. Discussion sur les molécules parentes	155
4.2.1 Antibiotiques de type céphalosporines.....	155
4.2.2 Antibiotiques de type fluoroquinolones.....	156
4.2.3. Antibiotiques de type aminosides.....	156
4.2.4. Nitrofuranes	156
4.2.5. β -bloquants.....	157
4.2.6. Sartans	157
4.2.7. Inhibiteurs calciques	157
4.2.8. Inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)	160
4.2.9. Statines.....	160
4.2.10. Fibrates.....	160
4.2.11. Bisphosphonates	161
4.2.12. α -bloquants.....	161
4.2.13. Oxicams.....	161
4.2.14. Antidépresseurs et antipsychotiques.....	162
4.2.16. Autres composés	162
4.3. Le cas des antiviraux	163
4.4. Discussion sur les métabolites.....	163
5. Discussion	165
5.1. Intérêts et limites d'une liste prioritaire	165
5.2. Perspectives	166

MEDICAMENTS A CARACTERE PERTURBATEUR ENDOCRINIEN : MOLECULES UTILISES EN THERAPEUTIQUE ENDOCRINE ANTICANCEREUSE..... 167

1. Introduction	169
2. Rappel sur les perturbateurs endocriniens	169
3. Evaluation préliminaire du risque lié aux molécules utilisées en thérapeutique endocrine anticancéreuse	171
3.1. Analogues d'hormones : molécules agissant sur la libération des gonadotrophines	171
3.2. Anti-estrogènes.....	171
3.2.1. Inhibiteurs de l'aromatase.....	171
3.2.2. Antagonistes du récepteur aux estrogènes	172
3.3. Anti-androgènes	173
4. Conclusion pour les molécules utilisées en thérapeutique endocrine.....	173

MEDICAMENTS A CARACTERE PERTURBATEUR ENDOCRINIEN : STEROÏDES SEXUELS NATURELS ET DE SYNTHÈSE	175
1. Introduction	177
2. Impact environnemental des estrogènes.....	177
1.1. Ethinylestradiol	177
1.2. Estradiol.....	177
1.3. Estriol	178
3. Impact environnemental des androgènes	178
4. Impact environnemental des progestatifs	179
4.1. Introduction.....	179
4.2. Article paru dans Environmental Pollution.....	179
4.3. Principaux résultats	191
4.3.1. Identification de métabolites humains d'intérêt.....	191
4.3.2. Evaluation de l'effet.....	191
4.3. Perspectives	191
MOLECULES ANTICANCEREUSES CYTOTOXIQUES	193
1. Introduction	195
1.1. Rappel.....	195
1.2. Les différentes classes d'anticancéreux.....	195
2. Evaluation de l'exposition pour les cytotoxiques	197
2.1. Calcul des PEC.....	197
2.2. Comparaison avec les valeurs mesurées.....	197
2.3. Conclusion pour l'évaluation de l'exposition.....	197
3. Evaluation du risque pour les cytotoxiques	197
4. Priorisation préliminaire	199
4.1. Revue des molécules parentes.....	199
4.2. Métabolites des cytotoxiques	201
4.3. Liste finale	201
5. Discussion	203
5.1. Rejet des médicaments anticancéreux dans l'environnement.....	203
5.1.1. Exploitation des données de consommation nationales	203
5.1.2. Exploitation des données de consommation locales	203
5.1.3. Voies d'entrée des cytotoxiques dans l'environnement	203
5.2. Evaluation du risque des médicaments anticancéreux.....	204
5.3. Conclusion.....	204
DISCUSSION SUR LES DIFFERENTS PARAMETRES UTILISES POUR ESTIMER L'EXPOSITION ET LES EFFETS DES MEDICAMENTS SUR LES ECOSYSTEMES AQUATIQUES D'EAU DOUCE	205
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION.....	239
1. Etablissement de listes de molécules prioritaires	241
2. Evaluation du risque pour le milieu aquatique.....	241
2.1. Perspectives dans l'évaluation de l'exposition	242
2.2. Perspectives pour l'évaluation des effets	242
2.2.1. Essais sur des substances isolées.....	242
2.2.2. Ecotoxicité des mélanges de substances pharmaceutiques.....	243
2.2.3. Utilisation des données pharmacologiques	243
2.3. Conclusion pour l'évaluation de risque.....	245

3. Gestion du risque	245
3.1. Au niveau des pouvoirs publics.....	245
3.2. Au niveau des agglomérations (traitement des effluents et des eaux usées)	247
3.3. Au niveau des établissements de soin	247
3.4. Au niveau industriel	247
3.5. Au niveau des personnels de santé et des patients	248
3.6. Conclusion pour la gestion du risque	248
4. Les médicaments à usage humain, des contaminants de l'environnement... parmi beaucoup d'autres	248
5. Conclusion	250
ANNEXES	267
ANNEXE A. Corrélation des données de consommation pour l'année 2004 entre les données nationales fournies par l'AFSSAPS et celles fournies par la CPAM.....	267
ANNEXE B. Evolution des consommations de médicaments entre les années 2004 et 2007	268
ANNEXE C. Corrélation entre les données nationales fournies par l'AFSSAPS et les données locales et régionales	273
ANNEXE D. Compilation de données sur les paramètres physico-chimiques et pharmacocinétiques pour les médicaments à usage humain.....	275
ANNEXE E. Informations prises en compte dans la démarche de priorisation pour les molécules additionnelles.....	279
ANNEXE F. Appendices de l'article paru dans Environmental Pollution	284
ANNEXE G. Données de consommation, de métabolisme et valeurs de PEC pour les cytotoxiques.	290
ANNEXE H. Substances médicamenteuses et apparentées non traitées dans le travail de thèse	300
ANNEXE I. Exemples de micropolluants mesurés en entrée et sortie de stations d'épuration urbaines.	302
INDEX	303

Impact environnemental des médicaments à usage humain sur le milieu récepteur : évaluation de l'exposition et des effets biologiques pour les écosystèmes d'eau douce.

Résumé

Un nombre important de molécules pharmaceutiques sont consommées en France et peuvent contaminer le compartiment aquatique, ce qui a conduit les gestionnaires et le public à s'interroger sur la présence et l'impact de ces substances dans l'environnement. Compte du nombre important de molécules consommées en France, il est nécessaire, avant d'établir un protocole de surveillance des milieux, d'établir une liste de molécules prioritaires à surveiller. Le travail présenté ici s'est donc attaché à proposer une liste pertinente de molécules à rechercher dans les eaux de surface, en tenant compte des concentrations attendues dans l'environnement et des effets biologiques sur les organismes aquatiques.

Plusieurs méthodologies ont été mises en place, en fonction des substances médicamenteuses évaluées, et en fonction de la disponibilité des données. Au final, 300 molécules parentes couvrant majorité des classes thérapeutiques utilisées, ainsi qu'une cinquantaine de métabolites humains ont été évalués et des listes de molécules prioritaires justifiables du point de vue scientifique et de l'état actuel des connaissances ont pu être définies.

Ce travail a par ailleurs permis de dégager les conclusions suivantes :

- La question de l'impact environnemental des substances médicamenteuses doit être abordé sous l'angle des mélanges et de leurs effets associés aux autres contaminants.
- Il est nécessaire de limiter autant que possible la dissémination environnementale des médicaments.
- La bonne gestion de cette problématique passera par l'entente entre les différentes agences et services responsables de la santé publique et par l'implication des industriels et des professionnels de la santé.

Abstract

A high number of pharmaceuticals are used in France and can reach the aquatic environment. This observation have contributed to a growing concern for authorities in targeting and quantifying these substances in freshwaters. Considering the high number of molecules used in France, it is necessary, prior to implement any comprehensive monitoring survey in freshwaters, to build a list of priority pharmaceuticals in terms of their risk for the aquatic environment. The work conducted here aims at proposing reliable lists of priority pharmaceuticals, based on expected environmental concentrations and biological effects on aquatic non-target organisms.

Several methodologies were implemented, depending on the type of pharmaceuticals assessed and the availability of data. Finally, 300 parent molecules and 50 human metabolites were screened and scientifically sound priority lists were built.

Moreover, this work allowed to draw the following conclusions :

- The issue of pharmaceutical mixtures and their interactions with other environmental pollutants needs to be addressed.
- Preventing the rejection of human pharmaceuticals in the aquatic environment should be a priority.
- For a good management of the environmental risk of pharmaceuticals, an agreement between public health authorities, environment authorities on one hand, and pharmaceutical industries and professionals on the other hand, is necessary.