

ÉCOLE DOCTORALE :

Agriculture Alimentation Biologie Environnement Santé

DISCIPLINE :

SANTÉ PUBLIQUE

ANNÉE 2014

THÈSE DE DOCTORAT

soutenue le 16/01/2014

par

Thomas NÉFAULaboratoire Santé Publique – Environnement
Écologie, Systématique et Évolution (UMR 8079)

Analyse des résidus de drogues illicites dans les eaux de
stations d'épuration : rendements d'élimination et
évaluation de l'impact écotoxique.
Contribution à l'estimation des consommations.

Composition du jury :*Président du jury :*

Marc Girondot

Professeur, Université Paris Sud

Rapporteurs :

Claude CASELLAS

Professeur, Université Montpellier 1

Philippe HARTEMANN

Professeur, Université de Nancy

Examineurs :

Luis Castillo

Expert R & D, Veolia Environnement
Recherche et Innovation

Sara Karolak

Maître de conférence, Université Paris Sud

Directeur :

Yves Levi

Professeur, Université Paris Sud

REMERCIEMENTS

Je suis particulièrement reconnaissant envers mes directeurs de thèse :

Yves Levi qui m'a toujours fait confiance et soutenu depuis l'initiation de ce projet de recherche en 2008. Je tiens à le remercier pour avoir été toujours présent et extrêmement réactif, même de loin, que ce soit pour répondre à mes interrogations scientifiques ou pour régler certains problèmes administratifs. Son dynamisme, ses connaissances, ses qualités scientifiques et humaines m'ont permis de mener à terme ce doctorat dans les meilleures conditions de travail possibles.

Sara Karolak qui m'a formé, qui a suivi de très près tout mon travail depuis le début du projet, qui m'a énormément appris. Je tiens à la remercier pour tout le temps qu'elle m'a consacré durant mon travail de thèse, pour toute son aide lors des manipulations, de l'exploitation des résultats, de la rédaction et de la préparation des communications orales. Son encadrement, sa grande disponibilité et l'appui qu'elle n'a jamais cessé de m'apporter m'ont permis d'achever ce travail.

Je suis également très reconnaissant envers les co-encadrants de ma thèse :

Véronique Boireau et Luis Castillo pour leur confiance ainsi que pour toute l'aide et l'expertise qu'ils m'ont apportée pendant mon doctorat.

Il m'est agréable d'adresser mes vifs remerciements à Monsieur Marc Girondot, Professeur à l'Université Paris Sud. Qu'il soit assuré de l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de ma thèse.

Je remercie Madame Claude Casellas, Professeur à l'Université Montpellier I, et Monsieur Philippe Hartemann, Professeur à l'Université de Nancy, de m'avoir fait l'honneur d'être les rapporteurs de cette thèse. La pertinence de leurs remarques et critiques m'a été d'un apport inestimable.

Je tiens également à remercier mes divers partenaires qui m'ont permis de réaliser cette thèse :

Le groupe Veolia Environnement Recherche et Innovation dans son ensemble pour m'avoir fait confiance et m'avoir soutenu financièrement et plus particulièrement les responsables et les équipes techniques des différentes stations d'épuration qui ont participé à cette étude.

Le SIAAP qui a toujours soutenu ce projet en me permettant l'accès à leurs usines. Monsieur Ronan Nedelec et Madame Anne-Claire Gaudicheau de l'usine Seine Centre qui m'ont particulièrement aidé dans la réalisation des campagnes de prélèvements en région parisienne.

Le Service d'Assainissement de la Mairie de Paris et particulièrement Madame Pascale Neveu et Monsieur José Alves pour leur disponibilité et leur professionnalisme qui nous ont permis d'effectuer des campagnes dans les égouts de Paris et à la sortie de certains sites de la région parisienne.

Monsieur Damien Devault qui m'a contacté pour une collaboration avec son laboratoire situé en Martinique. Venu jusqu'en métropole avec ses valises (glacières) chargées de prélèvements d'eaux usées, il nous a permis de réaliser des analyses sur un territoire considéré comme fortement touché par la consommation de drogue.

Je suis très reconnaissant envers mes collègues du laboratoire Santé Publique Environnement de la Faculté de Pharmacie : Lucie, Maya, Émilie, Éloïse, Tania, Viviane, Micheline, Mary-Line, Jérémie, Jérôme, Noureddine pour leur aide, leur soutien, leur confiance et leur bonne humeur. Ils ont contribué à rendre mon travail agréable.

Mes sincères remerciements s'adressent à tout le personnel de l'Université Paris Sud pour leur aide dans la réalisation des procédures administratives et logistiques.

Je remercie vivement Madame Catherine Duplessy, Directrice de l'association SAFE, Monsieur Jean-Louis Bara, Président de l'association SAFE, qui m'ont fait confiance pour initier ce projet et trouver les partenaires. Depuis cette première collaboration, ils m'ont intégré à leur équipe et m'ont permis de participer à tant d'autres projets. Que cette collaboration puisse perdurer.

Mes remerciements vont également à tous mes amis pour leur soutien dans toutes mes épreuves, professionnelles comme personnelles. Pour leur aide morale et leurs conseils.

Je tiens particulièrement à remercier Zacharias Amara qui a participé à l'élaboration de ce projet et qui a continué à le suivre, intéressé par les résultats bien sûr mais aussi concerné par mon travail en tant que colocataire mais surtout ami. Un grand merci pour son écoute, ses conseils et son soutien.

Finalement, je tiens à remercier ma famille, mes parents et mon frère pour leur soutien permanent. Ils ont toujours cru en moi, respecté et soutenu mes choix et m'ont accompagné tout au long de mes études. Merci pour leur soutien moral.

SOMMAIRE

I -	INTRODUCTION	16
II -	SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	21
II.A.	HISTORIQUE ET RAPPELS SUR LES DROGUES ET SUR LES EAUX USÉES	22
II.A.1.	PRÉSENTATION DES DROGUES ANALYSÉES ET DE LEURS PRINCIPAUX MÉTABOLITES... 22	
II.A.1.1.	Cocaïne	22
II.A.1.2.	Amphétamine	31
II.A.1.3.	Méthamphétamine.....	36
II.A.1.4.	MDMA	39
II.A.1.5.	Cannabis et tétrahydrocannabinol	44
II.A.1.6.	Opiacés	49
II.A.1.7.	Méthadone	56
II.A.1.8.	Buprénorphine.....	59
II.A.2.	COLLECTE ET TRAITEMENT DES EAUX USÉES.....	63
II.A.2.1.	Réseau de collecte des eaux usées.....	63
II.A.2.2.	Composition des eaux usées	65
II.A.2.3.	Les stations d'assainissement.....	65
II.B.	ANALYSE DES RÉSIDUS DE DROGUES ILLICITES DANS LES EAUX	70
II.B.1.	CONCENTRATIONS DE DROGUES ILLICITES MESURÉES DANS LES EAUX	70
II.B.1.1.	Concentrations mesurées en entrée de STEPs	70
II.B.1.2.	Concentrations mesurées en sortie de STEPs.....	73
II.B.1.3.	Rendement d'épuration des drogues illicites et de leurs principaux métabolites dans les STEPs	75
II.B.1.4.	Concentrations de drogues illicites et de leurs métabolites mesurées dans les eaux de surface et souterraines.....	78
II.B.1.5.	Concentrations de drogues illicites dans les eaux destinées à la consommation humaine	78
II.B.2.	IMPACT ÉCOTOXIQUE	79
II.B.3.	ÉPIDÉMIOLOGIE DES EAUX USÉES	81
II.B.3.1.	Introduction	81
II.B.3.2.	Principe de la méthode.....	82
II.B.3.3.	Comparaison entre les différentes études publiées de 2005 à 2012	86
II.B.4.	PROTOCOLES D'ANALYSE DES RÉSIDUS DE DROGUES ILLICITES DANS LES EAUX.....	91
II.B.4.1.	Protocole d'échantillonnage.....	91
II.B.4.2.	Conservation des échantillons.....	93

II.B.4.3.	Traitement des échantillons	96
II.B.4.4.	Analyses	99
III -	MATÉRIELS ET MÉTHODES	101
III.A.	MATÉRIELS ET RÉACTIFS	102
III.A.1.	MATÉRIELS	102
III.A.1.1.	Consommables	102
III.A.1.2.	Appareillages	102
III.A.2.	RÉACTIFS ET COMPOSÉS DE RÉFÉRENCE	103
III.A.2.1.	Réactifs	103
III.A.2.2.	Composés de référence	103
III.B.	MÉTHODES ANALYTIQUES.....	104
III.B.1.	DÉVELOPPEMENT DE L'ANALYSE PAR COUPLAGE	
CLHP – SPECTROMÉTRIE DE MASSE		104
III.B.1.1.	Choix des molécules	105
III.B.1.2.	Détermination des conditions de détection et de séparation analytique	106
III.B.2.	DÉVELOPPEMENT DE LA MÉTHODE DE PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	110
III.B.2.1.	Choix des cartouches d'extraction.....	110
III.B.2.2.	Optimisation du protocole d'extraction	113
III.B.3.	VALIDATION DE LA MÉTHODE ANALYTIQUE	115
III.B.3.1.	Linéarité	115
III.B.3.2.	Précision.....	116
III.B.3.3.	Limites de détection et de quantification.....	116
III.B.3.4.	Ajouts dosés - Récupération	116
III.B.4.	PROTOCOLE FINAL DE TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS	117
III.B.4.1.	Préparation des échantillons	117
III.B.4.2.	Analyse des résultats	119
III.C.	CAMPAGNES DE MESURES	120
III.C.1.	CARTOGRAPHIE DES CONSOMMATIONS ET ÉVALUATION DES TRAITEMENTS	
ÉPURATEURS.....		120
III.C.1.1.	Choix des STEPs.....	120
III.C.2.	PRÉLÈVEMENTS ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS.....	121
III.C.3.	EXPRESSION DES RÉSULTATS	123
III.C.3.1.	Calcul des pourcentages d'abattement au sein des STEPs	123
III.C.3.2.	Calcul des consommations	123
III.C.4.	SUIVI DES ÉTAPES DE TRAITEMENT AU SEIN D'UNE STEP	124
III.C.5.	ÉTUDE AU SEIN D'UN VASTE RÉSEAU URBAIN : PARIS ET LA RÉGION PARISIENNE	125

III.C.5.1.	Prélèvements par quartier	125
III.C.5.2.	Prélèvements dans des sites spécifiques	126
III.C.5.3.	Étude sur le bassin de vie de Fort-de-France (Martinique)	126
III.D.	ÉVALUATION DES EFFETS BIOLOGIQUES	127
III.D.1.	TEST MICROTOX®	127
III.D.1.1.	Principe.....	127
III.D.1.2.	Méthodologie	127
III.D.2.	ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ LOCOMOTRICE SUR UN MODÈLE POISSON : <i>Brachydanio rerio</i>	128
III.D.2.1.	Élevage	128
III.D.2.2.	Préparation des solutions.....	129
III.D.2.3.	Étude du comportement de locomotion	129
IV -	RÉSULTATS ET DISCUSSION	132
IV.A.	MISE AU POINT ET VALIDATION DE LA PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS ET DES MÉTHODES D'ANALYSE	133
IV.A.1.	CHOIX DES PHASES D'EXTRACTION.....	133
IV.A.1.1.	Phases polymériques avec échange hydrophile – lipophile	133
IV.A.1.2.	Phases échangeuses de cations.....	135
IV.A.1.3.	Conclusion	136
IV.A.2.	OPTIMISATION DU PROTOCOLE D'EXTRACTION.....	136
IV.A.2.1.	Calcul des performances de l'extraction et évaluation de l'effet de matrice	136
IV.A.2.2.	Diminution de l'effet de matrice	138
IV.A.3.	VALIDATION DE LA MÉTHODE ANALYTIQUE.....	142
IV.A.3.1.	Linéarité.....	142
IV.A.3.2.	Précision du procédé de préparation des échantillons	143
IV.A.3.3.	Limites de détection et de quantification	144
IV.A.3.4.	Ajouts dosés – Récupération.....	145
IV.B.	RÉSULTATS DES CAMPAGNES DE MESURES	146
IV.B.1.	CONCENTRATIONS DANS LES AFFLUENTS ET LES EFFLUENTS DE 25 STEPs	146
IV.B.1.1.	Cocaïne et métabolites.....	149
IV.B.1.2.	Stimulants de synthèse.....	150
IV.B.1.3.	Opiacés et traitement de substitution aux opiacés.....	151
IV.B.1.4.	THC-COOH	152
IV.B.2.	CALCUL DES POURCENTAGES D'ABATTEMENT AU SEIN DES STEPs	152
IV.B.2.1.	Bilan des observations sur l'ensemble des STEPs étudiées.....	152
IV.B.2.2.	Suivi de l'élimination en station d'épuration : cas particulier de la STEP SV.....	154
IV.B.3.	ESTIMATION DES CONSOMMATIONS	157

IV.B.3.1.	Cocaïne	157
IV.B.3.2.	MDMA et amphétamine.....	162
IV.B.3.3.	Cannabis (THC)	164
IV.B.3.4.	Héroïne, morphine et méthadone.....	165
IV.B.4.	VARIATIONS GÉOGRAPHIQUES	166
IV.B.4.1.	Comparaison des consommations de drogues en fonction de la taille des bassins de collecte	167
IV.B.4.2.	Comparaison des consommations de drogues en fonction des régions	168
IV.B.5.	VARIATIONS TEMPORELLES : ÉTUDE POUR PARIS ET SA RÉGION.....	174
IV.B.6.	ÉTUDE AU SEIN D'UN VASTE RÉSEAU URBAIN	176
IV.B.6.1.	Paris et la région parisienne	176
IV.B.6.2.	Campagne sur une zone urbaine de la Martinique	180
IV.B.7.	INCERTITUDE DE LA MÉTHODE	184
IV.B.7.1.	Modalités de prélèvement	184
IV.B.7.2.	Dégradation des molécules cibles	185
IV.B.7.3.	Dosage des résidus	185
IV.B.7.4.	Données de métabolisme.....	185
IV.B.7.5.	Estimation de la population.....	186
IV.B.7.6.	Calcul du nombre de doses consommées et du nombre de consommateurs	187
IV.B.7.7.	Synthèse des incertitudes.....	187
IV.C.	ÉVALUATION DES EFFETS BIOLOGIQUES	189
IV.C.1.	ÉTUDE DE TOXICITÉ AIGÛE SUR BACTÉRIES : MICROTOX®	189
IV.C.2.	ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ LOCOMOTRICE SUR UN MODÈLE POISSON : <i>Brachydanio rerio</i>	191
V -	CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	196

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Cocaïne.	22
Figure 2 : Étiquette d'une bouteille de vin Mariani à base de coca du Pérou	23
Figure 3 : Principaux flux de cocaïne, 2008 (ONU DC, 2010)	26
Figure 4 : Principales voies métaboliques de la cocaïne.	29
Figure 5 : A - Nombre de saisies de cocaïne et quantités saisies entre 2001 et 2011, B - Quantité de cocaïne saisies en 2011 en Europe de l'Ouest (EMCDDA, 2013).....	30
Figure 6 : Amphétamine.	31
Figure 7 : Principales voies métaboliques de l'amphétamine.....	35
Figure 8 : Méthamphétamine.	36
Figure 9 : MDMA	39
Figure 10 : Voies métaboliques de la MDMA.....	43
Figure 11 : Tétrahydrocannabinol	44
Figure 12 : Morphine	49
Figure 13 : Héroïne	49
Figure 14 : Principales voies métaboliques de l'héroïne.....	53
Figure 15 : Méthadone	56
Figure 16 : Évolution du nombre de patients inclus dans un programme de traitement de substitution aux opiacés (TSO) (méthadone et buprénorphine) de 1995 à 2011 (InVS, 2012).....	59
Figure 17 : Buprénorphine	59
Figure 18 : Part du réseau unitaire (%) suivant les régions de France (SOeS-SSP, 2008).....	64
Figure 19 : Réseau de collecte des eaux usées de la région parisienne géré par le Syndicat Interdépartemental d'Assainissement de l'Agglomération Parisienne (SIAAP).....	64
Figure 20 : Schéma du processus de traitement des eaux usées d'une station d'épuration à boues activées	66
Figure 21 : Synthèse des valeurs minimales (>LQ) et maximales des concentrations de drogues illicites et de leurs métabolites mesurées dans les affluents de STEP s dans les études référencées.....	71
Figure 22 : Synthèse des données de la littérature concernant les pourcentages d'élimination des drogues illicites et des métabolites au sein des STEP s.....	75
Figure 23 : Schéma du principe de l' « épidémiologie des eaux usées »	83
Figure 24 : Étude SCORE (Thomas <i>et al.</i> , 2012). A – Moyennes des estimations de consommation de cocaïne calculées à partir des concentrations de BZE mesurées dans les affluents de STEP s, B – Quantités de MDMA rejetées dans les affluents de STEP s, C – Quantités d'AMP et de MET rejetées dans les affluents de STEP s, D – Quantités de THC-COOH rejetées dans les affluents de STEP s, dans 19 zones urbaines européennes pendant 1 semaine en mars 2011 (moyenne ± SEM, n=7).....	88
Figure 25 : Quantités consommées estimées de cocaïne et de MDMA en région parisienne entre le 10 et le 16 juillet 2009.	90
Figure 26 : Schématisation et description des différents modes de prélèvements des eaux (Ort <i>et al.</i> , 2010).....	92
Figure 27 : Pourcentages de dégradation des molécules selon les modes de conservation des échantillons prélevés relevés dans différentes études.	94
Figure 28 : Rendements d'extraction obtenus pour les drogues illicites, les produits de substitution aux opiacés et les métabolites avec différents types de cartouches.	98
Figure 29 : Chromatogramme de l'EME.	108
Figure 30 : Protocole des essais comparatifs d'extraction avec différents types de cartouches SPE.	112

Figure 31 : Schéma du protocole d'expérience destiné à évaluer les performances des méthodes d'extraction sur cartouches SPE.	113
Figure 32 : Localisation et gamme de capacité de traitement des différentes STEPs étudiées.....	121
Figure 33 : Schéma de fonctionnement de la STEP SV.....	124
Figure 34 : Schéma des technologies de traitement par biofiltration Biofor® (A) et Biostyr™ (B).	125
Figure 35 : Zebrabox, dispositifs d'enregistrement et de suivi de l'activité locomotrice des embryons de poissons zèbre reliés à un ordinateur équipé du logiciel ZebraLab Software (ViewPoint)...	130
Figure 36 : Relations entre les aires des pics obtenus pour la BZE pour un extrait d'eau usée dopé puis dilué (en orange) et les aires des pics obtenus pour la BZE pour une solution méthanolique diluée dans les mêmes proportions (en bleu).	141
Figure 37 : Fonction de réponse aire=f(concentration). Les exemples choisis correspondent aux molécules pour lesquelles ont été obtenues les valeurs extrêmes des coefficients d'ajustement : à gauche, la valeur minimale (NOR) et à droite, la valeur maximale (BZE).	142
Figure 38 : Droite d'étalonnage aire composé/aire analogue deutéré=f(concentration). Les exemples choisis correspondent aux valeurs extrêmes des coefficients d'ajustement : à gauche, la valeur minimale (MDA) et à droite, la valeur maximale (THC-COOH).....	143
Figure 39 : Pourcentages de détection de chaque composé dans les affluents et les effluents de STEPs pour l'ensemble des campagnes de prélèvements.	147
Figure 40 : Représentation des concentrations mesurées dans les affluents (A) et les effluents (B) des 25 STEPs analysées..	148
Figure 41 : Pourcentages d'élimination moyens en fonction des technologies d'épuration employées dans les STEPs, calculés pour les sept composés majoritaires.	153
Figure 42 : Concentrations des drogues illicites et de leurs métabolites dans les eaux prélevées en différents points au sein des deux filières de traitement parallèles comportant des unités Biofor® ou Biostyr® de la STEP SV : en entrée, entre les traitements primaires et secondaires, en sortie de traitement secondaire et avant le déversement dans le milieu récepteur.....	155
Figure 43 : Cartographie des consommations de cocaïne estimées à partir des analyses des eaux usées brutes pour les sites analysés (1 ou 2 prélèvements par site)..	157
Figure 44 : Corrélations entre les estimations de consommations faites à partir de l'analyse de la COC (bleu) ou de l'EME (orange) et les estimations faites à partir de l'analyse de la BZE.	160
Figure 45 : Cartographie des consommations de MDMA estimées à partir des analyses des eaux usées brutes pour les sites analysés (1 ou 2 prélèvements par site).	162
Figure 46 : Cartographie des consommations de THC estimées à partir des analyses des eaux usées brutes pour les sites analysés (1 ou 2 prélèvements par site).	164
Figure 47 : Cartographie des consommations de méthadone estimées à partir des analyses des eaux usées brutes pour les sites analysés (1 ou 2 prélèvements par site).	166
Figure 48 : Moyennes ± écart-types (<LD et <LQ exclus) des quantités estimées de drogues consommées (en mg/jour/1 000 hab. et en g/jour/1 000 hab. pour le THC) en fonction de la capacité nominale des STEPs assimilée à la taille du bassin de collecte.	167
Figure 49 : Médianes des estimations de consommation de drogues (en mg/jour/1 000 hab. et en g/jour/1 000 hab. pour le THC) en fonction de la localisation des sites dans les moitiés Nord ou Sud du territoire métropolitain.	168
Figure 50 : Cartographie des usages de cannabis (A), de l'expérimentation de la cocaïne (B) au cours de l'année 2011 chez les jeunes âgées de 17 ans (ESCAPAD, 2012).	170
Figure 51 : Cartographie de l'expérimentation de la MDMA (A) et de l'expérimentation de l'amphétamine (B) au cours de l'année 2011 chez les jeunes âgées de 17 ans (ESCAPAD, 2012).	170
Figure 52 : Cartographies du nombre d'interpellations policières et douanières dans les cas de possession et/ou usage de cannabis (A) ou d'héroïne, de cocaïne et d'ecstasy (B) (OCRTIS, 2010).	172

Figure 53 : A – cartographie de l’expérimentation d’héroïne durant l’année 2011 chez les jeunes âgées de 17 ans (ESCAPAD, 2012). Pourcentage croissant d’usagers ou d’expérimentateurs suivant les couleurs, des plus claires aux plus foncées. B – cartographie du nombre de flacons ou boîtes de méthadone vendus durant l’année 2011 (InVS, 2011).....	173
Figure 54 : Quantités estimées de drogues illicites consommées sur Paris et sa banlieue entre 2009 et 2013. Les consommations de THC et méthadone n’ont été estimées respectivement qu’à partir de 2011 et 2012.	175
Figure 55 : Box-plot des concentrations mesurées dans les affluents des 4 STEPs analysées.	181
Figure 56 : Quantités estimées de cocaïne et de THC consommées sur la zone urbaine de Fort-de-France durant la semaine de prélèvements du 18 au 24 mai 2013.	182
Figure 57 : Schématisation de l’évolution des incertitudes au fur et à mesure de la progression dans la méthode et du mode d’expression du résultat choisi.	188
Figure 58 : Pourcentage de variation de la luminescence des bactéries <i>Vibrio fischeri</i> (NRRL B-11177) mesurée après exposition à la drogue (100 mg/L) par rapport à la luminescence mesurée avant exposition.	189
Figure 59 : Pourcentage de luminescence par rapport aux valeurs de luminescence du témoin négatif en fonction du temps et des concentrations de NOR dans le milieu en contact des bactéries <i>Vibrio fischeri</i> NRRL B-11177.	190
Figure 60 : Exemple de suivi du mouvement des embryons de poissons zèbre dans une plaque 24 puits (1 embryon par puits) grâce au dispositif de Zebrabox associé au logiciel ZebraLab.	191

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Prévalences des consommations, des quantités saisies et du nombre de saisies des principales drogues illicites en France durant l'année 2012 ainsi que les décès imputés à leur consommation (EMCDDA, 2013). Nombre de patients ayant accès à un TSO (GERS/Siamois/InVS, 2011). Quantités de TSO vendues (ANSM, 2009).....	62
Tableau II : Valeurs de CE ₅₀ mesurées pour la COC et la MTD sur deux modèles animaux et un modèle végétal (Kantiani <i>et al.</i> , 2010).....	80
Tableau III : Traceurs et pourcentages d'élimination urinaire (U _{ex}) utilisés pour estimer les consommations de cocaïne, MDMA, amphétamine, cannabis, héroïne et méthadone.....	84
Tableau IV : Propriétés physico-chimiques des différents composés étudiés. Le Log Kow et le pKa ont été calculés avec le logiciel Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) V8.14 (DrugBank).104	
Tableau V : Conditions opératoires et rapports m/z des ions pour les différentes molécules analysées	107
Tableau VI : Protocoles de purification des extraits sur cartouche Florisil™	115
Tableau VII : Préparation de la gamme étalon.....	118
Tableau VIII : Principales caractéristiques des STEPs sélectionnées.....	122
Tableau IX : Liste des drogues illicites et de leur traceur sélectionné pour le calcul des consommations.	123
Tableau X : Caractéristiques des différents établissements en région parisienne à la sortie desquels des prélèvements d'eaux usées ont été effectués.	126
Tableau XI : Principales caractéristiques des STEPs sélectionnées sur la zone urbaine de Fort-de-France (Martinique).....	126
Tableau XII : Rendements d'extraction (en %) obtenus pour dix composés avec 3 types de phases polymériques d'échange hydrophile-lipophile suivant les différents protocoles d'extraction définis.	133
Tableau XIII : Rendements d'extraction (en %) obtenus pour dix composés avec les cartouches échangeuses de cations Oasis MCX et Strata-XC.....	135
Tableau XIV : Rendement et recouvrement d'extraction des différents composés obtenus avec des cartouches Oasis HLB®.....	137
Tableau XV : Efficacité du processus et effet matrice mesurés pour tous les composés extraits à l'aide de cartouches Oasis HLB®	138
Tableau XVI : Recouvrements d'extraction et coefficients de variation (CV, n=3) obtenus lors des essais de purification sur cartouche Florisil®.....	139
Tableau XVII : Pourcentage d'augmentation du rapport de l'aire du pic de la BZE extrait sur l'aire du pic de la BZE en solution méthanolique, évalué pour chaque dilution, par comparaison au rapport calculé pour l'extrait non dilué.....	140
Tableau XVIII : Coefficients d'ajustement linéaire calculés pour la fonction de réponse (aire=f(concentration)) et pour la gamme d'étalonnage (aire composé/aire analogue deutéré=f(concentration)).....	142
Tableau XIX : Coefficients de variation (en %, n=3) obtenus pour trois répétitions d'analyse, incluant l'extraction sur phase solide, d'eau usée dopée de façon à obtenir des extraits à 5 concentrations différentes.	143
Tableau XX : Limites de détection (LD) et limites de quantification (LQ) de notre protocole calculées pour les échantillons d'affluents et d'effluents de STEPs.....	144
Tableau XXI : Moyenne des taux de récupération (minima et maxima), calculés pour chaque composé dans les échantillons d'affluents (n=62) et d'effluents (n=62), exprimés en pourcentage.....	146

Tableau XXII : Concentration en entrée de STEP (en ng/L) et pourcentage d'élimination après les traitements primaires et secondaire et avant le déversement dans le milieu récepteur.....	155
Tableau XXIII : Concentrations (en ng/L) de composés mesurées dans les prélèvements effectués sur différents sites de collecte représentatifs de certains quartiers parisiens.	177
Tableau XXIV : Quantités de drogues et de métabolites éliminées en mg/jour, calculées à partir des concentrations mesurées dans les prélèvements effectués sur différents sites de collecte représentant différents quartiers parisiens.	178
Tableau XXV : Concentrations (en ng/L) de composés mesurées dans les prélèvements effectués à différents points de collecte à la sortie d'établissements caractérisés.....	179
Tableau XXVI : Quantités estimées de cocaïne et de THC consommées sur la zone urbaine de Fort-de-France durant la semaine de prélèvement du 18 au 24 mai 2013	183

LISTE DES ANNEXES

- Annexe I : Mesures des concentrations de drogues illicites et leurs métabolites dans les affluents de STEPs publiées dans la littérature.
- Annexe II : Concentrations de drogues illicites et leurs métabolites dans les effluents de STEPs publiées dans la littérature.
- Annexe III : Concentrations de drogues illicites et leurs métabolites dans les eaux de surface publiées dans la littérature.
- Annexe IV : Estimation des consommations exprimées sous forme de quantités consommées mg/jour/1 000 hab. et en g/jour ou sous forme de flux en mg/jour/1 000 hab. et en g/jour.
- Annexe V : Résultats des études de dégradation des drogues illicites et leurs métabolites publiés dans la littérature.
- Annexe VI : Modes de préparation et d'analyse des échantillons dans les études publiées sur l'analyse des résidus de drogues dans les eaux usées.
- Annexe VII : Concentrations des résidus de drogues illicites et les métabolites dans les affluents et effluents des 25 STEPs étudiées.
- Annexe VIII : Estimations des consommations de drogues illicites et de méthadone dans différentes zones urbaines de France calculées, à partir des taux de métabolites quantifiés dans les affluents de STEP (en mg/jour pour 1000 habitants) selon l'équation 1.
- Annexe IX : Estimations du pourcentage de consommateurs de drogues illicites dans les différentes zones urbaines de la France métropolitaine.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

6-MAM	6-Monoacétylmorphine
ACN	Acétonitrile
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AMP	Amphétamine (molécule)
ANRT	Association Nationale de la Recherche et de la Technologie
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament
BA	Boues activées
BHD	Buprénorphine haut dosage
BRM	Bioréacteur à membrane
BUP	Buprénorphine (molécule)
BZE	Benzoylécgonine
CE ₅₀	Concentration efficace 50 %
CEIP	Centre d'Évaluation et d'Information sur la Pharmacodépendance
CET	Cocaéthylène
CIFRE	Conventions Industrielles de Formation par la REcherche
CL ₅₀	Concentration létale 50 %
COC	Cocaïne (molécule)
CV	Coefficient de variation
DAT	Transporteur de la dopamine
DBO	Demande biologique en oxygène
DCO	Demande chimique en oxygène
DL ₅₀	Dose létale 50 %
E _{col}	Énergie de collision
EDDP	2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine
EI	Étalon interne
EMCDDA	<i>European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction</i>
EME	Ecgonine Méthylester
ESCAPAD	Enquête sur la Santé et les Consommations lors de l'Appel de Préparation À la Défense
GERS	Groupement pour l'Élaboration et la Réalisation de Statistiques
hCE-1	<i>human</i> carboxylestérase-1
hCE-2	<i>human</i> carboxylestérase-2
HER	Héroïne (molécule)
HILIC	<i>Hydrophilic Interaction Chromatography</i>
INPES	Institut National de Prévention et d'Éducation pour la Santé
INSEE	Institut National de la Statistique et des Études Économiques
InVS	Institut de Veille Sanitaire
IP	Intra-péritonéale
LD	Limite de détection
LQ	Limite de quantification
LSD	Diéthylamide de l'acide lysergique
MDA	3,4-méthylènedioxyamphétamine
MDEA	3,4-méthylènedioxy-N-éthylamphétamine
MDMA	3,4-méthylène-dioxy-méthylamphétamine
MeOH	Méthanol
MES	Matières en suspension

MET	Méthamphétamine (molécule)
MOR	Morphine (molécule)
MTD	Méthadone (molécule)
NE	Nord-Est
N _{gl}	Azote global
NO	Nord-Ouest
NOR	Norcocaïne
OCRTIS	Office Central pour la Répression du Trafic Illicite
OFDT	Observatoire Français des Drogues et Toxicomanies
OSIAP	Ordonnances Suspectes, Indicateur d'Abus Possibles
PAR	Région parisienne
PFP	PentaFluorophényle Propyle
PG	Points de gamme
P _{tot}	Phosphore total
REU	Ile de la Réunion
SE	Sud-Est
SIAAP	Syndicat Interdépartemental d'Assainissement de l'Agglomération Parisienne
SIAMOIS	Système d'Information sur l'Accessibilité au Matériel Officiel d'Injection et à la Substitution
SNC	Système nerveux central
SO	Sud-Ouest
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> (Extraction en phase solide)
STEP	Station d'épuration
THC	Tétrahydrocannabinol
THC-COOH	Carboxy-THC
TR	Temps de rétention
Trend	Tendances récentes et nouvelles drogues
TRH	Temps de rétention hydraulique
TSO	Traitements de substitution aux opiacés
UE	Union Européenne
U _{ex}	Élimination urinaire
UNODC	<i>United Nations Office on Drugs and Crime</i>
VO	Voie orale

I - INTRODUCTION

Il n'y a jamais eu et il n'y aura jamais de société sans consommation de drogue. La culture du pavot à opium était connue en Mésopotamie 4 000 ans avant l'ère chrétienne, la consommation de la feuille de coca est attestée en Équateur et au Pérou en 2100 et 2500 av. J.-C. et la référence la plus ancienne connue aux usages psychoactifs du cannabis date de 2700 av. J.-C. en Chine.

Dans les sociétés modernes, bien que sa consommation reste d'une certaine manière ritualisée, la drogue n'occupe plus une place sacrée et son usage est même la plupart du temps sanctionné. Le nombre de consommateurs augmente avec des usages souvent problématiques et le développement permanent de nouvelles molécules font de ce phénomène une préoccupation pour les autorités de santé. Des chiffres récents de la consommation indiquent qu'il existe environ 230 millions de personnes dans le monde qui ont consommé une drogue en 2011 (UNODC, 2012) et un tiers des européens consommerait au moins une fois de la drogue illicite dans leur vie (EMCDDA, 2012).

Les drogues illicites consommées par l'Homme sont métabolisées par l'organisme et sont éliminées dans les urines ou les fèces sous leur forme initiale ou métabolisée. Un certain nombre de molécules se retrouvent alors dans les eaux usées domestiques et sont acheminées au travers des réseaux d'assainissement vers les stations d'épuration (STEPS). Les concentrations dans les affluents de STEPs dépendent de la consommation locale, de la taille du réseau, du temps de séjour dans ce réseau, du facteur de dilution et de la stabilité des molécules dans les eaux usées. Les drogues illicites comme les autres polluants présents, sont plus ou moins bien éliminées par les différentes technologies mises en œuvre au sein de la STEP et l'analyse des eaux traitées rejetées dans l'environnement révèle la présence de taux non négligeables de résidus de drogues illicites au sein d'une matrice complexe comprenant également de nombreuses familles d'autres micropolluants organiques, métaux ou minéraux. Les concentrations dans les effluents vont dépendre des niveaux de concentrations en entrée mais surtout de la capacité de la STEP à éliminer les molécules, cette capacité étant variable selon les produits et selon les technologies employées et leur fiabilité.

En 2000, la directive cadre européenne sur l'eau a fixé comme objectif pour 2015, un « bon état » des milieux aquatiques et a établi une liste de molécules prioritaires devant être éliminées par les STEPs. Cette liste comprend 17 molécules, appelées « substances

dangereuses prioritaires », à laquelle ont été ajoutées depuis 2000 d'autres substances, dites « polluants émergents », parmi lesquels trois principes actifs de médicaments. Les drogues illicites ne font pas partie de cette liste et il est donc important de s'interroger sur l'impact que peuvent induire de telles molécules sur l'environnement dans lequel elles sont rejetées. En effet, des études ont montré que certains résidus de médicaments, même à des concentrations faibles pouvaient perturber les écosystèmes qu'ils contaminent.

La recherche des résidus de drogues dans les affluents de STEP a permis de développer un nouvel outil d'estimation des consommations de substances illicites. Aujourd'hui, la plupart des données chiffrées de consommation sont obtenues à partir des statistiques des forces de police (interpellations, saisies), des registres médicaux ou encore des enquêtes épidémiologiques de population. Elles comprennent donc un certain nombre de biais dont le principal est qu'un grand nombre d'utilisateurs échappent à tous ces dispositifs et les résultats sont par conséquent probablement sous-estimés. La mesure dans les affluents de STEP des drogues et de leurs métabolites permet d'estimer les quantités de produits consommés : cette méthode dite « épidémiologie des eaux usées » a été développée par Zuccato *et al.* (2005) et appliquée dans de nombreux pays. Depuis, et en raison de sa large utilisation par les chercheurs, elle tend à être considérée comme une méthode de référence pour l'estimation des consommations de drogues et une première rencontre internationale « Testing the water » organisée par l'European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) s'est tenue en mai 2013 à Lisbonne. Cette méthode conduit à une estimation plus objective de la consommation de drogues illicites dans un bassin de population donné et permet d'établir une cartographie de la consommation de produits illicites, par quantité consommée et par type de produits en fonction de différents secteurs géographiques. Le rapprochement de ces données avec les données économiques et sociales des régions étudiées ainsi que la possibilité de suivi de la consommation dans le temps, apparaissent comme des applications pertinentes de cette méthode pour une aide à la gestion de ce problème de Santé Publique et notamment à la réduction des risques liés aux usages.

Le présent travail de doctorat porte sur les aspects suivants :

- analyse des résidus de drogues au sein de la matrice « eaux usées »,
- étude de la capacité des différents procédés employés dans les STEP s pour les éliminer,
- estimation de l'impact écotoxique des résidus rejetés en aval des STEP s,
- utilisation des données de concentration dans les eaux usées pour évaluer la consommation de drogues illicites dans différents bassins de vie en France.

Ce travail fait suite au programme « Drogue en Seine » dont j'ai contribué à l'initiation et au développement au sein du groupe Santé Publique Environnement de l'UMR 8079 de l'Université Paris Sud, CNRS, AgroParisTech. Ce doctorat a bénéficié des financements communs de l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT) et de VEOLIA Environnement Recherche et Innovation dans le cadre d'une bourse CIFRE (Conventions Industrielles de Formation par la REcherche). La réalisation du travail a été soutenue techniquement par VEOLIA Eau et par le Syndicat Interdépartemental d'Assainissement de l'Agglomération Parisienne (SIAAP) ainsi que le service de l'assainissement de la ville de Paris. Nous avons sélectionné dix-sept drogues et métabolites, représentant la majeure partie des produits consommés en France, à savoir : la cocaïne et ses métabolites, la benzoylecgonine, l'ecgonine méthylester, la norcocaïne et le cocaéthylène ; l'héroïne et ses métabolites, la 6-monoacétylmorphine et la morphine ; l'amphétamine, la méthamphétamine et les dérivés synthétiques : MDMA (3,4-méthylènedioxy-méthylamphétamine, appelée communément ecstasy), MDEA (3,4-méthylènedioxy-N-éthylamphétamine), et MDA (3,4-méthylènedioxyamphétamine) ; le THC-COOH (carboxy-THC) métabolite principal du THC (tétrahydrocannabinol) ; la méthadone et son métabolite l'EDDP (2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine) et la buprénorphine. Ce choix de molécules a été réalisé en fonction des données de consommation déjà disponibles ainsi que la faisabilité analytique des dosages.

Dans une première partie bibliographique, je présenterai les différentes drogues étudiées d'un point de vue historique, pharmacologique, pharmacocinétique, sociologique et épidémiologique. Ensuite, à travers différents exemples, j'évoquerai les problématiques

actuelles que posent les « polluants émergents » et particulièrement les résidus de drogues illicites. Puis je ferai une synthèse des résultats ainsi que des protocoles d'échantillonnages et analytiques présentés dans la littérature. Dans une deuxième partie j'exposerai les méthodologies suivies et validées avant de détailler les résultats obtenus. La troisième partie sera consacrée à la discussion des résultats que je comparerai aux données déjà existantes. La conclusion ouvrira sur les perspectives de la recherche de ces molécules dans l'eau que ce soit du point de vue environnemental ou sur le développement d'un outil d'évaluation des consommations de drogues illicites.

II - SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

La première partie présente des aspects, historiques, pharmacologiques, pharmacocinétiques, épidémiologiques et sociétaux des drogues étudiées dans ce travail de doctorat puis un rappel sur les systèmes de collecte des eaux usées et sur le fonctionnement des STEPs.

La deuxième partie est une synthèse des études publiées sur la mesure des drogues illicites en entrée et en sortie de STEPs ainsi que dans les eaux de surface. L'analyse des résultats est conduite selon deux thématiques : l'évaluation des efficacités des traitements épurateurs et l'estimation des consommations de drogues illicites. Les aspects écotoxicologiques seront également évoqués et un dernier chapitre exposera les méthodes et techniques utilisées par les différents auteurs pour la préparation et l'analyse des échantillons d'eaux usées et de surface.

II.A. HISTORIQUE ET RAPPELS SUR LES DROGUES ET SUR LES EAUX USÉES

II.A.1. PRÉSENTATION DES DROGUES ANALYSÉES ET DE LEURS PRINCIPAUX MÉTABOLITES

II.A.1.1. COCAÏNE

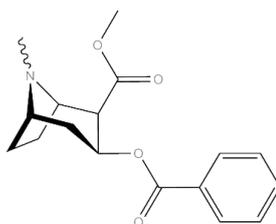


Figure 1 : Cocaïne : (1R,2R,3S,5S)-3-(benzoyloxy)-8-méthyl-8-azabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxylate de méthyle (CAS : 50-36-2).

II.A.1.1.1. Historique

La cocaïne est extraite des feuilles de deux espèces de cocaïers, *Erythroxylum coca* Lam., cultivé au Pérou, en Bolivie et en Équateur et *Erythroxylum novogranatense* cultivé surtout en Colombie et au Venezuela (Hostettmann, 2002).

Les feuilles de coca sont consommées traditionnellement dans les Andes, probablement depuis au moins 5 000 ans. Les légendes incas attribuent l'origine de la coca au dieu « Inti » qui l'aurait créée pour apaiser la soif et la faim des Incas qui se considéraient comme des descendants des dieux (Escotado, 1995). Les européens firent la découverte de la coca dès 1533 au Pérou. Après avoir été interdite, elle fut déclarée nécessaire au « bien-être » des Indiens par Philippe II, roi d'Espagne, au milieu du XVI^e siècle et les colons espagnols encouragèrent son usage, la fournissant aux Indiens pour augmenter le rendement du travail dans les mines d'or et d'argent des nouvelles colonies (Hostettmann, 2002). La coca a été importée en Europe, du XVII^e au XIX^e siècle, mais son usage resta très limité, car sa consommation était considérée bonne pour « les sauvages » et non pour les « êtres civilisés », les chrétiens (Stein, 1986). En 1753, le botaniste français Joseph de Jussieu introduit le premier cocaïer en France, et en 1860, le chimiste allemand Friedrich Wöhlen et un de ses étudiants, Albert Niemann, isolent pour la première fois la cocaïne, alcaloïde principal de la feuille de coca. Malgré la mise en évidence des dangers de la cocaïne dès 1885, sa consommation connaît un succès croissant (Grimal, 2000). En 1898, Richard Willstätter, un chimiste allemand, établit sa structure chimique et réalise sa synthèse.

En 1863, Angelo Mariani, préparateur en pharmacie à Paris, utilise un extrait de feuilles de coca dans un vin de Bordeaux pour fabriquer une boisson aux vertus stimulantes, le « Vin tonique Mariani à la coca du Pérou ». Le vin, dont la publicité vantait à la fois les qualités stimulantes, antidépressives et organoleptiques de la cocaïne eut un grand succès (Figure 2) et des célébrités de l'époque consommèrent cet élixir, en particulier la reine Victoria d'Angleterre et le pape Léon XIII (Hostettmann, 2002).



Figure 2 : Étiquette d'une bouteille de vin Mariani à base de coca du Pérou

Aux États-Unis, un Pharmacien de Géorgie, John Pemberton, s'inspira du Vin Mariani pour proposer un vin de coca qui deviendra le fameux « Coca-Cola ». Dans ce dernier, dont le brevet fut déposé en 1886 mais modifié ensuite, le vin fut remplacé par un extrait de noix de cola puis l'eau plate par du soda. Au début du XX^e siècle, les dangers de la cocaïne devenant de plus en plus documentés, l'alcaloïde fut retiré de la formulation du Coca-Cola. Des feuilles de coca, dont la cocaïne a été éliminée, continueraient néanmoins à entrer dans sa fabrication (Weil et Rosen, 1983).

Aujourd'hui, en dehors des pays où la mastication est traditionnelle, aucune préparation licite ne peut contenir de coca ou de cocaïne qui sont inscrits au tableau I de la Convention sur les substances psychotropes de 1961, ratifiée à New York par 183 pays dont la France. Cette convention a pour but de limiter la production et le commerce de substances psychotropes, réparties en 4 catégories associées à 4 tableaux :

- Tableau I : composés présentant un risque d'abus important, (ex : cocaïne, cannabis, opiacés).
- Tableau II : substances présentant un risque d'abus moindre et utilisées en thérapeutique (ex : codéine).
- Tableau III : préparations incluant des principes actifs des tableaux I ou II avec peu de risque d'abus ni d'effets nocifs et dont la substance n'est pas aisément « récupérable ».
- Tableau IV : substances du tableau I ayant un potentiel d'abus fort et des effets nocifs importants sans valeur thérapeutique notable (ex : l'héroïne).

Traditionnellement, les feuilles de coca séchées sont chiquées en mélange avec de la chaux pour faciliter la solubilisation de la cocaïne et favoriser son absorption. Les alcaloïdes, dont la cocaïne, sont facilement solubilisés en milieu alcalin et sont absorbés à travers la muqueuse buccale. Le nombre d'adeptes de la mastication de feuilles de coca est estimé à plusieurs millions, répartis essentiellement dans les pays andins (Bolivie, Colombie, Pérou, Chili) ce qui génère une production légale de plusieurs milliers de tonnes de feuilles chaque année. Jusqu'aux années 1970, la production de coca dans les pays andins est restée destinée à cette consommation traditionnelle mais l'augmentation rapide de la demande de

cocaïne aux USA a conduit à une intensification brutale de la culture du cocaïer, surtout au Pérou, en Bolivie et en Colombie.

La cocaïne est la drogue illicite qui fait l'objet du commerce le plus intense dans le monde, après le cannabis végétal et la résine de cannabis. Les estimations relatives à la fabrication de cocaïne ne permettent pas de comparer précisément les niveaux de fabrication potentielle entre les trois pays producteurs, la Bolivie, la Colombie et le Pérou. Néanmoins, les données disponibles indiquent que la production mondiale de cocaïne a diminué en 2010 par rapport aux niveaux élevés observés au cours de la période 2005-2007. Cette tendance est due à un recul de la fabrication en Colombie de 2005 à 2010 qui a été en partie compensé par des augmentations en Bolivie et au Pérou (ONUDD, 2012).

Les informations sur le trafic font état de plusieurs itinéraires d'acheminement de la drogue vers l'Europe (EMCDDA, 2009). Les expéditions de cocaïne transitent par le Mexique et les pays d'Amérique du Sud et centrale, tels que l'Argentine, le Brésil, l'Équateur et le Venezuela, avant d'arriver en Europe. Les Caraïbes sont aussi des étapes avant le transfert vers l'Europe (Figure 3). Récemment, d'autres itinéraires passant par l'Afrique de l'Ouest, l'Afrique du Sud et la Russie ont été identifiés. La Belgique, l'Espagne, la France, l'Italie, les Pays-Bas, le Portugal et le Royaume-Uni ont été mentionnés comme des pays de transit importants des envois de cocaïne au sein de l'Europe (EMCDDA, 2009).

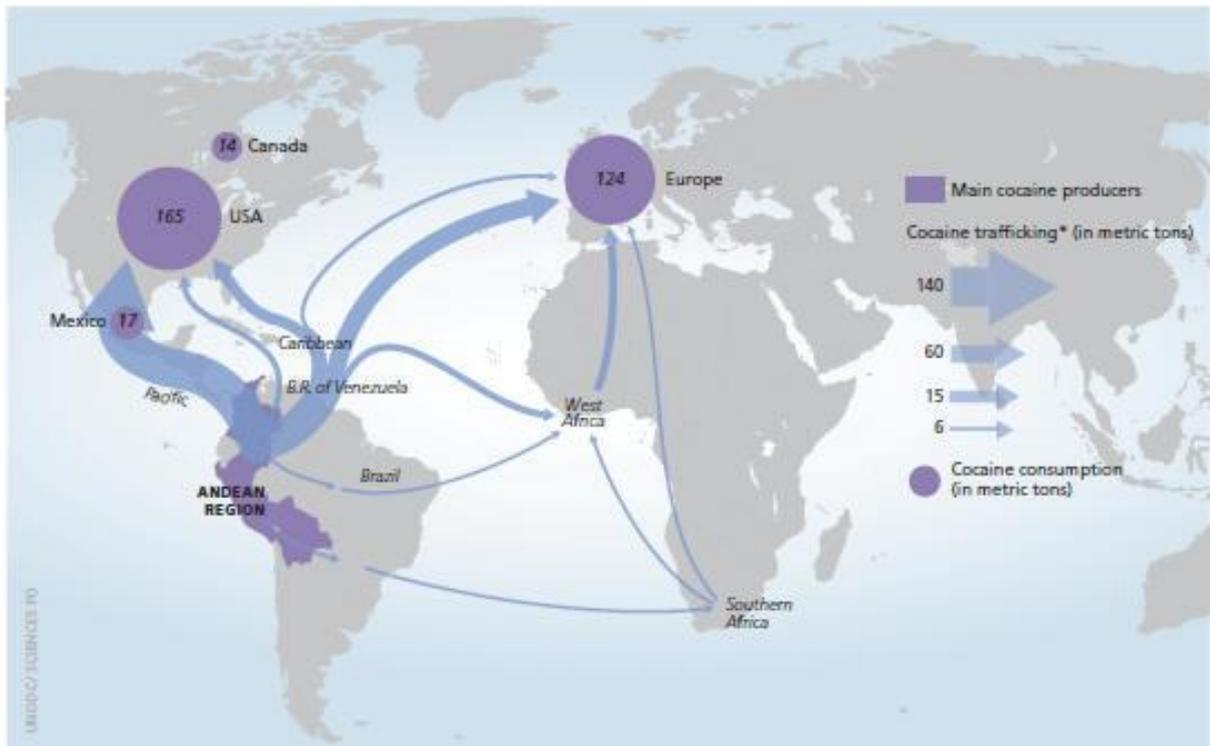


Figure 3 : Principaux flux de cocaïne, 2008 (ONU DC, 2010)

II.A.1.1.2. Effets psychiques et somatiques

La cocaïne (COC) est un puissant psychotrope stimulant qui agit en augmentant la quantité de dopamine dans le cerveau. La façon la plus courante de la consommer consiste à la priser (« sniffer ») à l'aide d'une paille après avoir finement écrasé la poudre. Une absorption par inhalation, appelée « chasser le dragon », consiste à déposer la cocaïne sur une feuille d'aluminium placée sur une source de chaleur. Plus rarement, la cocaïne peut être ingérée ou fumée. Des usagers la consomment également par injection intraveineuse (IV), parfois en association avec des opiacés.

Après une prise nasale, l'apparition des effets (la « montée ») apparaît après 10 minutes environ et se traduit par une sensation d'euphorie et de bien-être accompagnée d'une forte stimulation aussi bien physique, intellectuelle que sensitive. La prise de cocaïne donne l'illusion d'une augmentation de la vigilance et procure une sensation de meilleure précision gestuelle et induit parfois de légères déformations des perceptions sensorielles (auditives, visuelles et tactiles). Après cette première phase, apparaît une phase d'exaltation avec un sentiment d'être « le plus beau » et « le plus intelligent » ainsi qu'une envie de communiquer et d'échanger. La cocaïne donne l'impression de tout voir et de tout

comprendre et le sujet devient moins sensible à la fatigue, à la douleur et à la faim. Les effets peuvent durer de 1 à 2 heures en fonction de la quantité et de la qualité du produit, de la sensibilité propre de l'utilisateur.

En injection IV, la cocaïne entraîne un « flash » correspondant à une augmentation intense des effets en moins de 20 secondes. Comparables à ceux décrits précédemment, ils ne durent qu'une quinzaine de minutes, provoquant rapidement un sentiment de frustration qui pousse l'utilisateur à renouveler l'injection.

La COC entraîne également une élévation de la pression artérielle et une augmentation des rythmes cardiaque et respiratoire. À forte dose et lors d'un usage prolongé, ces effets s'aggravent pouvant causer un arrêt cardiaque lors d'une overdose.

Les jours suivant une prise de cocaïne sont souvent marqués par un repli sur soi, de l'angoisse voire un sentiment dépressif. Il en résulte une incitation à consommer conduisant à un risque de tolérance très important. La cocaïne génère facilement un état de dépendance psychologique. L'exposition par voie IV induit une dépendance physique avec effet de manque.

II.A.1.1.3. Pharmacologie et toxicologie

La cocaïne (COC) agit en bloquant la recapture des monoamines, en particulier la dopamine et dans une moindre mesure la noradrénaline et la sérotonine. Elle altère le fonctionnement du transporteur de la dopamine (DAT), une protéine responsable de la recapture de la dopamine dans la fente synaptique. Quand le DAT est bloqué, le taux de dopamine dans la synapse augmente de façon importante dans certaines régions cérébrales, en particulier le *nucleus accumbens*, structure qui joue un rôle clé dans l'addiction (Di Chiara, 1995).

La stimulation des neurones produit l'euphorie (dopamine), le sentiment de confiance (sérotonine) et d'énergie (noradrénaline) typiques de la prise de cocaïne.

Chez l'Homme, la dose létale par voie orale (VO) de cocaïne est évaluée à 1,2 g mais des cas de décès ont été décrits pour des prises parentérales de 20 mg (Haddad, 1990). En revanche, les personnes dépendantes peuvent tolérer jusqu'à 5 g par jour. Les fortes doses peuvent entraîner des crises cardiaques et des accidents vasculaires cérébraux avec parfois

des hémorragies intracérébrales (Gilman *et al.*, 1985). La dose létale 50 (DL₅₀)¹ chez le rat pour une administration intra-péritonéale (IP) a été évaluée par Bedford *et al.* (1982) à 95,1 mg/kg. La prise chronique de cocaïne entraîne des modifications durables des neurotransmissions dans le cerveau (Ersche *et al.*, 2008) à l'origine d'un besoin de consommation pour maintenir un niveau élevé de plaisir résultant de l'élévation artificielle du taux de dopamine dans les circuits de la récompense. De nouveaux récepteurs à la dopamine sont synthétisés sur la membrane post-synaptique pour s'adapter au taux élevé de ce neurotransmetteur. Cette sensibilité accrue explique la dépression et le sentiment de manque apparaissant après la prise de cocaïne et le retour à un taux basal de dopamine. La dépendance à la cocaïne est donc intimement liée à son action sur les neurones du circuit de la récompense.

II.A.1.1.4. Pharmacocinétique

Chez l'Homme, la cocaïne est rapidement métabolisée par hydrolyse des liaisons ester par trois estérases, la pseudocholinestérase-2, l'*human* carboxylestérase-1 (hCE-1), et l'*human* carboxylestérase-2 (hCE-2). Elle est principalement hydrolysée dans le foie par la hCE-1 en benzoylecgonine (BZE) ou dans le sang ou le plasma par la pseudocholinestérase-2 et la hCE-2 en ecgonine méthylester (EME) (Figure 4). Dans les urines, la BZE et l'EME sont les deux principaux métabolites et représentent, respectivement environ 45 et 40 % de la dose administrée (Baselt, 2004). La COC est également éliminée dans les urines sous sa forme inchangée, entre 1 et 9 % de la dose administrée en fonction du pH urinaire. Les demi-vies d'élimination plasmatique de la COC et de la BZE sont respectivement de 1 h et 6 h (Goldstein *et al.*, 2009) et la BZE est présente dans les urines entre 1 et 2 jours après une consommation de cocaïne par voie IV et jusqu'à 3 jours lors d'une consommation par voie intranasale (Verstraete *et al.*, 2004). La norcocaïne (NOR), un autre métabolite formé par N-déméthylation de la COC dans le foie, ne représente dans les urines que 5 % de la dose absorbée (Baselt, 2004).

¹ La DL₅₀ est la dose de substance causant la mort de 50 % d'une population animale dans des conditions d'expérimentation précises. Elle s'exprime en milligrammes de matière active par kilogramme d'animal.

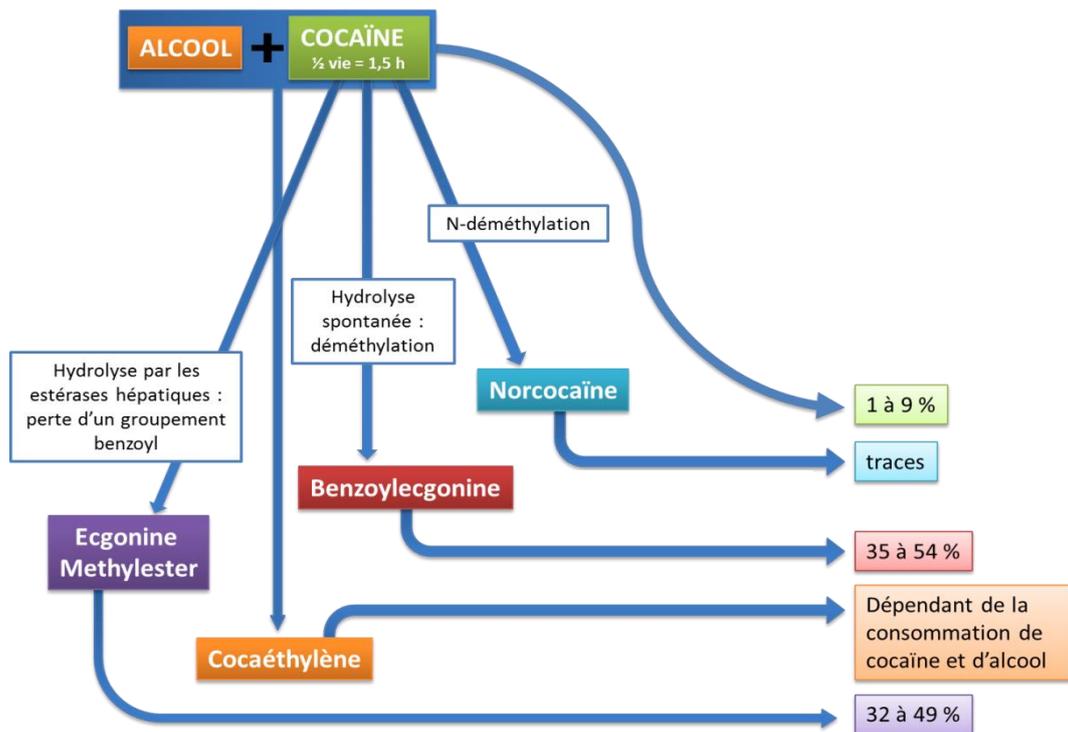


Figure 4 : Principales voies métaboliques de la cocaïne. Les pourcentages représentent les proportions d'excrétion urinaire.

La NOR est le métabolite le plus toxique possédant une activité pharmacologique similaire à celle de la COC (Hawks *et al.*, 1974). Enfin, l'ecgonine, la norbenzoylecgonine, la norecgonine et d'autres produits de la N-déméthylation hépatique sont présents à l'état de traces (1 à 3 %) dans les urines (Goldstein *et al.*, 2009).

Par ailleurs, la cocaïne est souvent consommée avec de l'alcool formant un autre métabolite, le cocaéthylène, résultant d'une transestérification entre ces deux molécules, catalysée par la hCE-1. Ce composé représente moins de 1 % de la dose de COC absorbée et sa demi-vie d'élimination plasmatique est d'environ 150 minutes. La présence d'éthanol augmente également la déméthylation de la COC en NOR.

II.A.1.1.5. Données de consommations

En Europe, le nombre de saisies de cocaïne a doublé entre 2001 (50 000 saisies) et 2008 (environ 100 000 saisies). Par contre, les masses interceptées n'ont pas évolué de manière similaire. Ainsi, en 2008, elles représentaient environ 60 tonnes alors qu'en 2006, année record, elles représentaient environ 120 tonnes pour un nombre de saisies plus faible.

En 2011, le nombre de saisies est de 86 000 et les quantités saisies représentent environ 62 tonnes, valeur stable depuis 2008 (EMCDDA, 2013). C'est dans la péninsule ibérique que la diminution des quantités saisies est la plus importante puisque le total intercepté en Espagne et au Portugal est passé de 84 tonnes en 2006 à 20 tonnes en 2011 (Figure 5). À l'inverse, en 2011, des saisies record en France (11 tonnes) et en Italie (6 tonnes) ont été enregistrées et le nombre de saisies en France a augmenté en 2011 avec 4 679 interpellations pour usage de cocaïne ou de crack. Cependant, ces variations ne rendent pas forcément compte des tendances de consommation car elles dépendent fortement des politiques de répression et de l'adaptabilité opérationnelle des trafiquants.

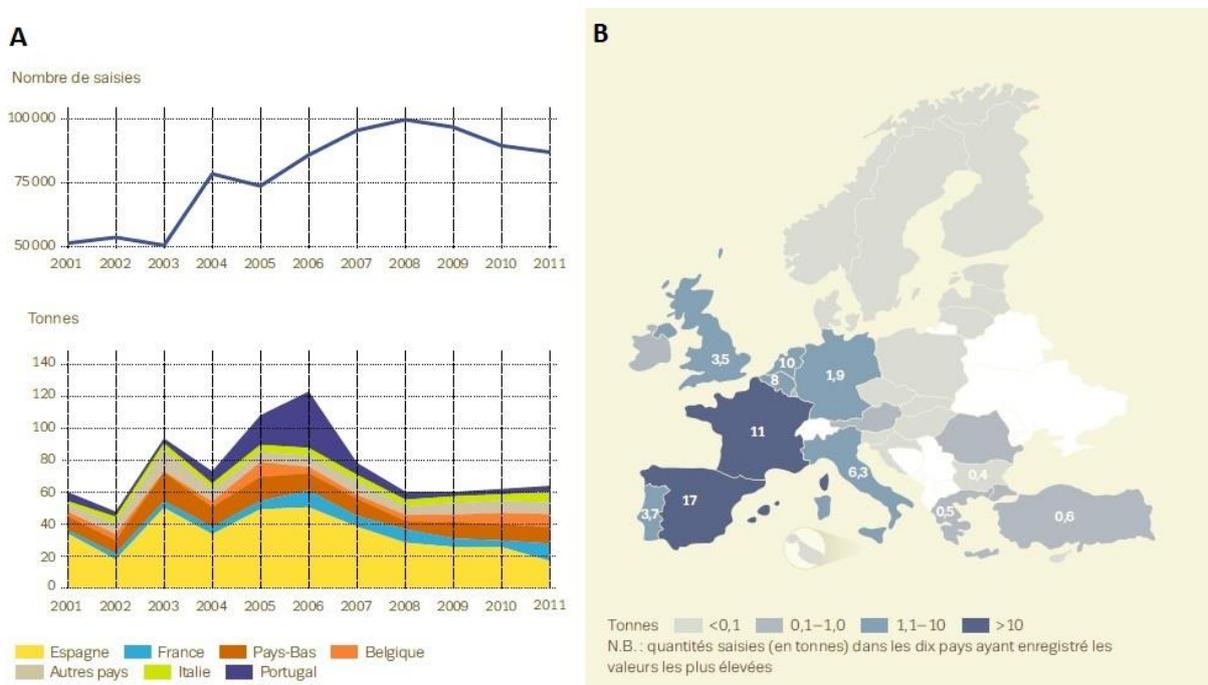


Figure 5 : A - Nombre de saisies de cocaïne et quantités saisies entre 2001 et 2011, B - Quantité de cocaïne saisies en 2011 en Europe de l'Ouest (EMCDDA, 2013).

Les données européennes concernant la pureté de la poudre de cocaïne vendue font état de teneurs moyennes comprises entre 27 et 46 % avec les valeurs les plus basses au Danemark, en Hongrie et Royaume-Uni (22 %) et les valeurs les plus fortes en Belgique (55 %), en Turquie (53 %) et aux Pays-Bas (52 %) (EMCDDA, 2012). Une diminution d'environ 22 % de la pureté de la poudre de cocaïne a été observée entre 2005 et 2010 dans une

vingtaine de pays de l'Union Européenne (UE) mais une stabilité voire à une augmentation ont été décrites au Portugal, en Allemagne et en Lettonie.

Le prix moyen de vente a reculé de 18 % entre 2005 et 2010 pour atteindre des valeurs moyennes comprises entre 49 et 74 euros le gramme (EMCDDA, 2012). Les prix moyens les plus bas ont été enregistrés aux Pays-Bas et en Pologne (45 euros) et les prix les plus élevés au Luxembourg (144 euros). En 2011, les prix moyens variaient entre 56 et 77 euros le gramme ce qui montre une légère augmentation des tarifs qui peut être liée à la légère augmentation de la pureté.

L'usage de cocaïne touche une population de plus en plus jeune et de très hauts niveaux de consommation sont observés dans certains espaces récréatifs (discothèques, sorties nocturnes et événements festifs...). Le nombre de demandes de traitement thérapeutique pour dépendance à la cocaïne a considérablement augmenté ces dernières années. En Europe, le nombre de jeunes adultes consommateurs (15-34 ans) est estimé à 8 millions soit 6,3 % de la population dans cette tranche d'âge. La prévalence au cours de la vie varie entre 0,3 % en Roumanie et 8,8 % en Espagne (EMCDDA, 2013). En France, l'expérimentation (première consommation au cours de l'année) de la cocaïne chez les mineurs de 15 à 17 ans est en baisse en 2011 par rapport à 2008, passant de 3,3 % à 3,0 %. En 2010, dans la tranche d'âge

18-64 ans, l'expérimentation de cette drogue concerne 3,8 % des individus. La consommation au cours de cette année (au moins une fois mais pas la première fois) concerne 0,9 % de cette classe, soit 340 000 individus. La consommation de cocaïne est donc en hausse dans cette tranche d'âge puisqu'en 2005, seulement 0,6 % des individus concernés déclarait en avoir consommé au moins une fois au cours de l'année (OFDT, 2012).

II.A.1.2. AMPHÉTAMINE

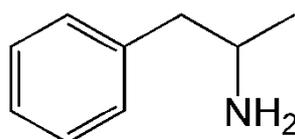


Figure 6 : Amphétamine : (±)-1-phénylpropan-2-amine (CAS : 300-62-9).

II.A.1.2.1. Historique

La substance naturelle à l'origine des dérivés amphétaminiques est l'éphédrine, alcaloïde de l'éphédra chinois (*Ephedra sinica*), plante utilisée depuis plusieurs millénaires en Chine. C'est en 1895 que le pharmacien japonais Nagajasi Nagaiï extrait l'éphédrine dont la communauté médicale vante immédiatement les vertus stimulantes. Elle est purifiée en 1923 et utilisée en thérapeutique puis, en 1931, elle est utilisée comme molécule de base pour la synthèse de la benzédrine, première d'une longue série d'amphétamines : amphétamine (AMP), dexamphétamine, métamphétamine (MET).

Les médecins prescrivent ces substances comme produits de substitution de la cocaïne, mais aussi en traitement de l'asthme, de la narcolepsie, de la dépression, de l'obésité, et des congestions nasales. Les dérivés amphétaminiques, moins coûteux que la cocaïne, sont des stimulants du système nerveux central (SNC), dix ou vingt fois plus actifs que la cocaïne, induisant une augmentation des capacités physiques et intellectuelles (Escohotado, 1995). Travailleurs de force, enseignants, médecins, militaires, sportifs, routiers, juristes et étudiants sont autant de catégories socioprofessionnelles qui en consomment, voire en abusent, parfois au détriment de leur vie. Nombreux sont les exemples permettant d'illustrer l'utilisation à large échelle de ces dérivés : distribution d'amphétamines aux soldats pendant la seconde guerre mondiale ainsi qu'aux pilotes américains pendant la guerre du Golfe, utilisation comme produit de dopage dans le monde sportif et notamment chez les coureurs cyclistes comme en a tristement témoigné le décès durant l'ascension d'un col à Zurich en 1961 du coureur Gallati qui avait consommé du Maxiton (JO Assemblée Nationale de la République Française, 1964).

La synthèse de dérivés amphétaminiques est simple à réaliser et les laboratoires clandestins se sont multipliés dans le monde y compris dans des zones habituellement spécialisées dans la production d'héroïne comme le « Triangle d'or » (Laos, Myanmar, Thaïlande).

II.A.1.2.2. Effets psychiques et somatiques

Les premiers effets apparaissent entre 30 et 60 minutes après une ingestion par VO et plus rapidement, en quelques minutes, après une prise nasale. Ils sont immédiats lors d'une injection et persistent en général de 3 à 6 heures.

Les dérivés amphétaminiques stimulent à la fois l'activité physique et comportementale. L'AMP accélère le rythme cardiaque, entraînant des troubles du rythme et une hypertension artérielle aggravée par une action vasoconstrictrice. Au niveau respiratoire, elle provoque une tachypnée et une bronchodilatation. Elle réduit le sommeil et induit, à faible dose, une certaine euphorie, un sentiment de bien-être et augmente la vigilance. Ces effets sont rapidement suivis d'une phase d'abattement dite de « descente » avec irritabilité, dépression, lassitude, crispation des mâchoires et, parfois, des réactions d'agressivité voire même crise de tétanie ou psychose (Richard et Senon, 1999). Les effets négatifs de la « descente » sont d'autant plus importants que le mode d'exposition est rapide.

La dépendance physique à l'AMP est rare et la tolérance n'est pas clairement démontrée, bien qu'une augmentation de la fréquence des absorptions soit observée chez les usagers. Ceux-ci ressentent le besoin de consommation et, dans la mesure où les perceptions ne sont pas modifiées, ils pensent pouvoir gérer leurs activités habituelles. Toutefois, la « descente » est difficile et les prises répétées pour l'atténuer conduisent à l'épuisement.

Il existe un risque important de surdosage. Les manifestations cliniques des intoxications à l'AMP sont principalement la conséquence de l'augmentation de la neurotransmission adrénergique et sérotoninergique. Des évolutions fatales ont été observées en cas d'hyperthermie non maîtrisable, de troubles du rythme, d'hémorragies cérébrales, d'insuffisance hépatique, de suicide ou d'accidents (Kalant, 1975).

II.A.1.2.3. Pharmacologie et toxicologie

Les amphétamines sont des agonistes sympathomimétiques indirects exerçant leur activité directement sur les neurones utilisant la noradrénaline et la dopamine comme neuromédiateurs. Elles déplacent ces neuromédiateurs de leurs sites de stockage (les vésicules contenues au sein même du cytoplasme des neurones) et augmentent massivement leur libération dans la synapse grâce au fonctionnement inversé du transporteur localisé sur la membrane du neurone. Les amphétamines « vidangent » littéralement les cellules de leur contenu en neuromédiateur. Les effets psychostimulants et anorexigènes durent pendant la phase d'amplification de l'activité de certains réseaux de

neurones du cerveau par le recrutement (sous l'effet de la drogue) de toute la quantité de neurotransmetteur disponible dans la cellule (Richard et Senon, 1999).

Les données de concentrations létales sont supérieures à 0,5 µg/mL de plasma chez un usager non habitué et un maximum connu à 47 µg/mL chez un usager habitué (Ghysel, 1998). La DL₅₀ a été évaluée à 5,5 mg/kg par voie IP chez la souris et 30 mg/kg par VO chez le rat.

II.A.1.2.4. Pharmacocinétique

L'AMP est rapidement absorbée par VO, conduisant à un pic plasmatique, en moyenne, 4 heures après l'ingestion (De La Torre, 2004). La voie métabolique majeure correspond à une réaction de désamination de l'AMP par une monoamine oxydase, réaction catalysée par le cytochrome P450 CYP2C2 (Kraemer et Maurer, 2002). Le produit de cette réaction est la phénylacétone qui est ensuite oxydée en acide benzoïque éliminé sous forme de conjugués (Figure 7). Une faible proportion d'AMP est transformée par oxydation en noréphédrine qui sera ensuite p-hydroxylée. Sa demi-vie plasmatique, entre 4 et 12 heures et son taux d'élimination urinaire sous forme inchangée sont dépendantes du pH (Davis *et al.*, 1971). En moyenne, 30 % de la dose sont éliminés sous forme native en 24 heures, cette proportion variant de 1 % dans une urine basique à 74 % dans une urine acide. Les pourcentages des différents métabolites, dans des conditions physiologiques normales, sont les suivants : 16 à 28 % d'acide hippurique ; 0,9 % de phénylacétone ; 4 % de benzoylglucuronide ; 2 % de noréphédrine ; environ 4 % de dérivés conjugués de la p-hydroxynoréphédrine et de la p-hydroxyamphétamine (Baselt, 2004).

Parmi ces différents métabolites, aucun n'est spécifique de l'AMP car ils peuvent également provenir du métabolisme de l'éphédrine ou de ses dérivés utilisés comme décongestionnant et sympathomimétique cardiaque. De plus, l'AMP est une phényléthylamine, squelette moléculaire commun aux neuromédiateurs naturels et dérivés synthétiques actifs sur les récepteurs adrénergiques.

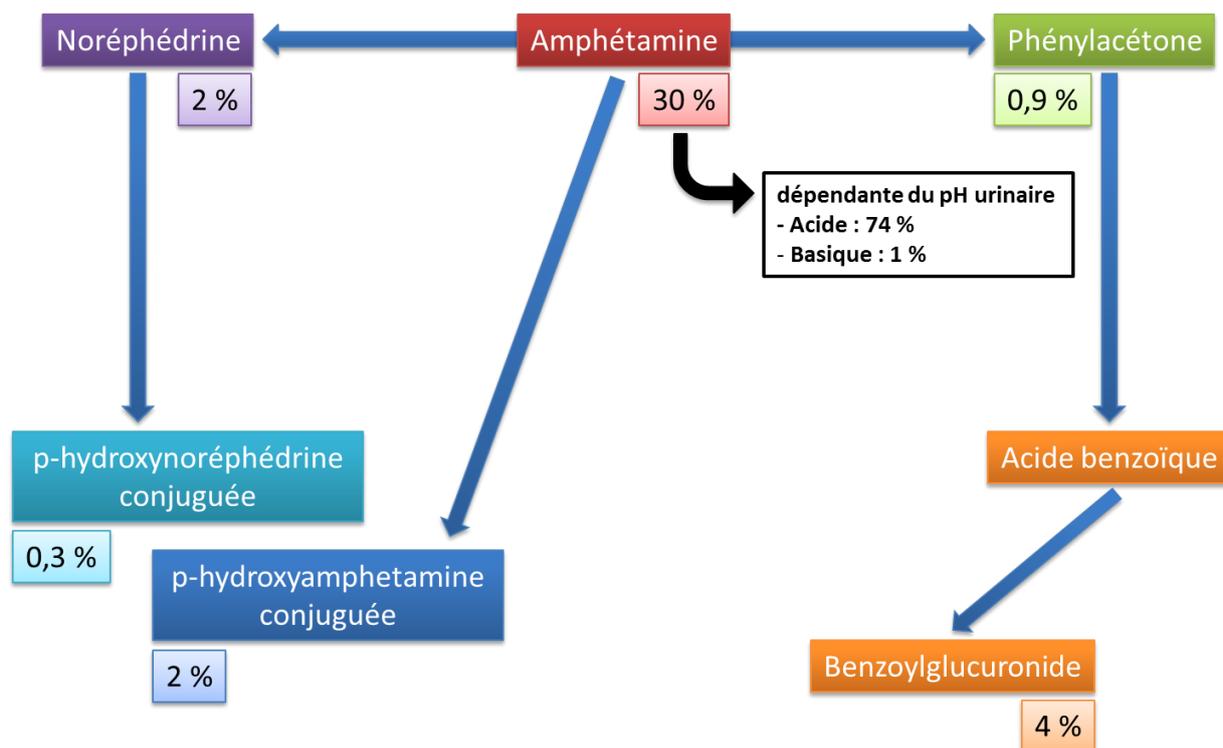


Figure 7 : Principales voies métaboliques de l'amphétamine. Les pourcentages représentent les proportions d'excrétion urinaire.

II.A.1.2.5. Données de consommation actuelles

L'amphétamine, vendue sous le nom de « speed », se présente, soit sous forme non conditionnée, en poudre le plus souvent blanche mais parfois jaune ou rose, ou en cristaux, soit sous forme conditionnée, en gélules. Elle peut être avalée (« gobée »), prise (« sniffée »), fumée ou injectée. Dans le « milieu festif », les usagers la consomment pour lutter contre la fatigue et maintenir leur niveau d'activité toute une nuit, voire pendant plusieurs jours dans les « rave parties ». L'intensité des effets dépend de la personne, du mode de consommation, de la quantité consommée mais également de la pureté du produit. La pureté des échantillons d'amphétamines varie considérablement. En 2011, parmi les états européens ayant communiqué leurs données, les teneurs les plus faibles sont observées en Bulgarie, en Italie, en Autriche, au Portugal, en Slovénie, en Croatie et en Turquie avec des taux moyens inférieurs à 8 % et les plus forts en Belgique, en Lettonie, en Lituanie, au Pays-Bas, en Finlande, en Norvège, en Suède, en République Tchèque et en Slovaquie avec des taux proches de 20 %. C'est dans ces pays où les taux sont élevés que les niveaux de

consommation sont les plus importants et où une production d'amphétamine est déclarée (EMCDDA, 2012). En 2012, la pureté moyenne est comprise entre 10 et 22 % avec des minima autour de 5 % et des maxima autour de 30 % (EMCDDA, 2013). Les prix varient considérablement de 8 à 28 euros le gramme selon les pays (EMCDDA, 2013). Le nombre des saisies a augmenté dans l'UE entre 2001 et 2007 (30 000 à 40 000) puis diminué jusqu'en 2011 avec 35 600 saisies.

La prévalence de la consommation d'amphétamine au cours de la vie en Europe varie de 0,1 % (Roumanie, Grèce) à 11,5 % (Royaume-Uni) pour la classe d'âge 15-64 ans. En moyenne, près de 3,8 % des adultes européens déclarent avoir absorbé des amphétamines au moins une fois dans leur vie. Chez les jeunes adultes (15-34 ans), la prévalence au cours de la vie est estimée entre 0,1 % (Grèce) et 2,5 % (Estonie) (EMCDDA, 2013). En France, la prévalence de la consommation d'amphétamine au cours des douze derniers mois, pour la tranche d'âge 15-34 ans, a augmenté de 2002 à 2005 puis diminué jusqu'en 2010 tout en restant toujours inférieure à 1 % (OFDT, 2012).

II.A.1.3. MÉTHAMPHÉTAMINE

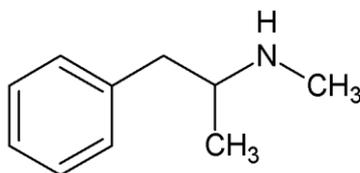


Figure 8 : Méthamphétamine :
(S) (+)-N-méthyl-1-phénylpropane-2-amine (CAS : 537-46-2).

II.A.1.3.1. Historique

La MET, plus puissante et plus facile à fabriquer que l'AMP, a été découverte au Japon en 1919. Les amphétamines et la méthamphétamine ont été largement utilisées durant la deuxième guerre mondiale. Au Japon, les stocks militaires ont été mis à la disposition du public à la fin du conflit et la consommation de ces produits a alors atteint des proportions inquiétantes.

Durant les années 50, aux États-Unis, les comprimés de MET fabriqués légalement sont facilement disponibles et utilisés pour des raisons non médicales par les étudiants, les

routiers et les athlètes. La consommation et la dépendance à ces produits se répandent dans la population et, dans les années 60, la méthamphétamine est utilisée sous forme injectable. En 1970, le Controlled Substance Act (CSA, Acte des Substances Contrôlées) qui est une loi fédérale américaine régissant la fabrication, l'importation, la possession et la distribution de certaines substances, restreint la production légale de méthamphétamine injectable et son utilisation baisse fortement. Actuellement, son usage thérapeutique est limité, aux États-Unis par exemple où elle est parfois prescrite dans les cas de trouble de l'attention chez l'enfant hyperactif. La majeure partie de la production est illicite et s'effectue dans des laboratoires clandestins, en particulier aux États-Unis et en Extrême-Orient.

Malgré son interdiction, le trafic et l'abus de méthamphétamine augmentent depuis plusieurs années aux États-Unis. En Europe, sa consommation est principalement observée dans les pays de l'Est et les pays nordiques et apparaît depuis quelques années aux Pays-Bas, en Belgique et au Royaume-Uni.

II.A.1.3.2. Effets psychiques et somatiques

Les effets sont observés immédiatement après injection ou inhalation, trois à cinq minutes après une prise nasale et 20 à 30 minutes après une absorption par VO. Les effets durent de 10 à 12 heures quand la méthamphétamine est fumée.

La MET est un stimulant du SNC qui induit une plus grande confiance en soi avec une augmentation de la sociabilité accompagnée, au niveau somatique, d'effets cardiovasculaires avec HTA et tachycardie. Quand les effets s'atténuent, les consommateurs peuvent devenir irascibles, agités, anxieux, déprimés et léthargiques. À court terme, sa consommation peut également produire des étourdissements, des troubles du sommeil, une perte de l'appétit, des maux de tête, un assèchement de la bouche, des grincements de dents, des maux d'estomac, des tremblements musculaires (agitation), une augmentation du rythme cardiaque et du rythme respiratoire. À doses répétées, certains consommateurs ressentent des problèmes de mémoire persistants et une baisse de leurs capacités motrices.

Une surdose peut être fatale, la mort survenant suite à une rupture des vaisseaux sanguins dans le cerveau, une défaillance cardiaque, une hyperthermie, des convulsions ou un coma.

La MET induit une très forte accoutumance et les consommateurs deviennent rapidement tolérants aux effets euphoriques et stimulants ainsi qu'aux effets somatiques, notamment l'HTA et l'hyperthermie. Un consommateur régulier qui cesse soudainement sa consommation peut éprouver des effets de manque.

II.A.1.3.3. Pharmacologie et toxicologie

Les mécanismes d'action de la MET sont les mêmes que ceux de l'AMP (cf. § II.A.1.2.3., p. 34) mais elle est plus rapidement et légèrement mieux absorbée induisant un effet presque immédiat et plus intense.

Les concentrations létales enregistrées chez l'Homme sont supérieures à 10 µg/mL de plasma.

II.A.1.3.4. Pharmacocinétique

La MET est rapidement absorbée après ingestion par VO. Le pic de concentration plasmatique est atteint en moyenne entre 2,7 et 2,5 heures, respectivement après une administration par voie intranasale et par inhalation. Dans le foie, elle est hydroxylée par le cytochrome P450 2D6 puis subit une N-déméthylation et une désamination conduisant à la formation d'AMP et de *p*-hydroxyméthamphétamine (Huestis et Cone, 2007 ; Kim *et al.*, 2004). Le temps de demi-vie d'élimination est d'environ 11,4 heures après consommation intranasale et 10,7 heures après inhalation.

La MET est éliminée dans les urines principalement sous forme native (37 à 54 %) et en plus petite quantité sous forme d'amphétamine (4 à 7 %) (Oyler *et al.*, 2002) ou de conjugués de la 4-hydroxyméthamphétamine (Shima *et al.*, 2006). Cependant, le pourcentage d'excrétion de la MET est fortement dépendant du pH urinaire. Dans une urine alcaline, seulement 2 % sont éliminés sous forme inchangée alors qu'à un pH < 5, ce pourcentage peut augmenter jusqu'à 76 % (Oyler *et al.*, 2002). La fraction excrétée dans les urines diminue lorsque les doses augmentent et n'est donc pas proportionnelle à la quantité de drogue absorbée (De La Torre *et al.*, 2004). Il est à noter que la MET est un métabolite urinaire de certaines molécules à usage thérapeutique comme la sélégiline prescrite dans le traitement de la maladie de Parkinson.

II.A.1.3.5. Données de consommation

La MET est le psychotrope synthétique le plus largement consommé au monde mais essentiellement en Amérique du Nord et dans les pays de l'Extrême-Orient. En Europe, sa consommation est observée principalement dans les pays scandinaves et de l'Est, la République Tchèque et la Slovaquie étant les pays où la prévalence de l'usage problématique² est la plus élevée, respectivement 3,9 et 4,0 cas pour 1 000 dans la tranche d'âge des 15-64 ans. C'est aussi dans ces deux pays que le plus grand nombre de laboratoires clandestins a été recensé. Depuis quelques années, des consommations sont décrites pour l'Allemagne, les Pays-Bas, la Belgique, le Royaume-Uni, le Danemark, la Hongrie, la Lettonie, la Bulgarie et la Turquie et le nombre des saisies a augmenté de moins de 3 000 en 2001 à environ 9 500 en 2011 (EMCDDA, 2013). Les échantillons saisis semblent être de meilleure qualité que les échantillons d'amphétamine bien que la pureté varie, en moyenne de 27 % à 64 % avec des extrêmes de 16 % à 82 % (EMCDDA, 2013).

En Europe, les prix varient de 16 à 70 euros le gramme (EMCDDA, 2013). La consommation de méthamphétamine en France semble exceptionnelle pour le moment et il n'existe aucune donnée de prévalence, les saisies sur le sol français transitant le plus souvent vers d'autres pays (OFDT, 2012).

II.A.1.4. MDMA

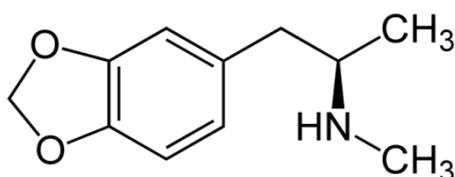


Figure 9 : MDMA : 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-N-méthylpropan-2-amine (CAS : 42542-10-9).

II.A.1.4.1. Historique

La MDMA (3,4-méthylènedioxy-métamphétamine), communément appelée « ecstasy », a été synthétisée en 1912 par les laboratoires Merck qui espéraient l'utiliser comme

² L'EMCDDA définit l'usage problématique comme l'usage de drogue par injection ou la consommation régulière ou sur une longue période, d'opiacés, de cocaïne ou de stimulants de synthèse.

anorexigène et qui déposèrent un brevet en 1914. Elle a probablement été administrée lors de la Première Guerre mondiale à des troupes allemandes pour ses vertus anorexigènes et stimulantes. Vers 1960, les militaires américains l'utilisent pour maintenir l'éveil des troupes. Dix ans plus tard, les psychothérapeutes la proposent à leurs patients pour les aider à s'exprimer et les adeptes du « New Age » la consomment pour mieux s'aimer et se sentir d'avantage « en harmonie avec le monde » (Richard et Senon, 1999).

C'est le chimiste californien Alexander Shulgin qui synthétise à nouveau la MDMA en 1965 et la teste personnellement en augmentant progressivement les doses. À la dose de 120 mg, il décrit les effets suivants : « *Je me sens parfaitement propre à l'intérieur de moi-même, et il n'y a rien à part de la pure euphorie. Je ne me suis jamais senti aussi bien et je n'ai jamais pensé que cela pouvait être possible. La propreté, la clarté et ce merveilleux sentiment de force intérieure s'est poursuivi tout au long de la journée et le soir. Je suis subjugué par la profondeur de cette expérience...* » (Shulgin, 1991).

En 1976, Shulgin et Nichols publient le premier article sur les effets de l'ecstasy chez l'Homme et décrivent les effets de la MDMA sur le psychisme comme « *une douce altération sous contrôle de l'état de conscience avec des émotions sensuelles et harmonieuses* ». Suite à cette publication, la consommation de MDMA se popularise et au début des années 80, plus d'un millier de psychothérapeutes aux États-Unis utilisent la MDMA dans leurs pratiques cliniques. Shulgin pense avoir trouvé la drogue lui permettant d'être le plus près possible de son ambition : la synthèse de la drogue psychothérapeutique parfaite. La consommation de MDMA se répand dans les bars et les discothèques où elle est distribuée librement.

À partir du milieu des années 1980, sa consommation est interdite dans la plupart des pays et aux États-Unis, la DEA (Drug Enforcement Administration) pousse l'État Fédéral à en interdire la fabrication et l'usage médical. En 1985, la MDMA est classée dans la liste I des produits stupéfiants mais reste autorisée sous contrôle médical jusqu'en 1987 avant son interdiction définitive en 1988. En France, la MDMA est inscrite au tableau des stupéfiants depuis l'arrêté du 9 juillet 1986 (Richard et Senon, 1999).

L'ecstasy est associée à la naissance de l'Acid House, courant de musique électronique, et à la ville d'Ibiza (Espagne) réputée pour ses fêtes est surnommée « *XTC Island* » (XTC pour « ecstasy »). En Angleterre, la consommation de MDMA se développe au même rythme que le phénomène des « rave parties ». Cette substance est donc souvent associée au milieu

qualifié de « techno » bien qu'elle soit consommée dans tous les milieux festifs depuis les années 2000. Ce succès résulte des propriétés stimulantes, empathogènes (qui génère l'empathie) et entactogènes (qui facilite le contact) de la MDMA.

II.A.1.4.2. Effets psychiques et somatiques

Par VO, les effets apparaissent au bout d'une demi-heure avec une première phase de quelques minutes marquée par une impression de flottement voire une légère inquiétude laissant place ensuite à un sentiment d'euphorie, de bien-être et une profonde envie de partager et communiquer (effets empathogènes). Les sens sont exacerbés, en particulier le toucher qualifié alors de « presque magique » (effets entactogènes). La MDMA est qualifiée « pilule de l'amour » car elle exacerbe grandement la sensualité mais peut empêcher l'érection chez l'Homme, ainsi que l'orgasme masculin ou féminin. Contrairement au diéthylamide de l'acide lysergique (LSD), elle ne procure pas d'hallucinations visuelles sauf à doses élevées supérieures à 200 mg.

Les effets durent de 3 à 6 heures et sont suivis par une phase de « descente », fin de l'ivresse, qui peut durer environ 8 heures et durant laquelle peut apparaître un moment dépressif.

La consommation de MDMA peut provoquer des complications médicales graves notamment une hyperthermie maligne parfois mortelle, des accidents cardiaques et des effets neurotoxiques avec la dégradation des extrémités de certains neurones du cerveau dont les conséquences à long terme ne sont pas encore bien connues. Ce danger augmente avec la dose, la fréquence des prises et la consommation des mélanges de produits, surtout le mélange ecstasy et amphétamine, car la libération simultanée de dopamine et de sérotonine accroît la neurotoxicité. Il existe une toxicité hépatique de la MDMA et des cas d'hépatites fulminantes ont été rencontrés.

II.A.1.4.3. Pharmacologie et toxicologie

L'effet à la fois stimulant et hallucinogène de l'ecstasy provient, comme pour les amphétamines et le LSD, de l'inhibition des pompes à recapture de certains neurotransmetteurs, augmentant leur concentration dans la fente synaptique et leur effet sur les récepteurs des neurones post-synaptiques. La MDMA augmente ainsi les

concentrations en noradrénaline, dopamine, et sérotonine. La libération accrue de sérotonine induit un regain d'énergie, une euphorie et la levée de certains blocages ou interdits dans les relations avec les autres. Quelques heures après, une diminution de la concentration en sérotonine amplifiée par la baisse d'activité de la tryptophane hydroxylase, enzyme responsable de la synthèse de sérotonine, entraîne un état de manque à l'origine de l'épisode dépressif qui se déclenche quelques jours après la prise. Comme toutes les drogues psychoactives procurant une sensation de plaisir, l'ecstasy augmente la libération de dopamine dans le circuit de la récompense (Richard et Senon, 1999).

Les doses toxiques de MDMA sont très variables. Des concentrations sanguines comprises entre 0,11 et 2,1 mg/L ont été observées lors d'ingestions mortelles mais des cas d'usagers ayant survécu à des concentrations supérieures à 4 mg/L, 13 heures après l'ingestion, ont été enregistrés (Castiglioni *et al.*, 2011). La DL₅₀ chez le rat lors d'une administration par VO est de 325 mg/kg et de 106,5 mg/kg par voie IP (Davis *et al.*, 1987).

II.A.1.4.4. Pharmacocinétique

La demi-vie plasmatique de la MDMA est environ de 7 à 8 heures et elle est détectable dans les urines plus de 48 heures après une administration de 100 mg. Il existe deux voies de métabolisme de la MDMA, une voie majeure via le cytochrome P450 2D6 qui conduit à la 3,4-dihydroxy-méthamphétamine (DHMA aussi appelée N-méthyl- α -métyldopamine) et une voie mineure (environ 1 %) qui conduit à la 3,4-méthylènedioxyamphétamine (MDA) (Figure 10). Une dose orale unique est métabolisée à 80 % dans le foie et 26 % de la dose sont excrétés par les urines en 24 heures sous forme de MDMA (De La Torre *et al.*, 2004). Le reste est éliminé sous forme de MDA (1 %), 3-methoxy-4-OH-méthamphétamine (23 %), DHMA (20 %), 3-methoxy-4-OH-amphétamine (0,9 %). Durant les 3 jours suivant la consommation, 65 % de la MDMA sont éliminés sous forme inchangée et 7 % sous forme de MDA (Baselt, 2004).

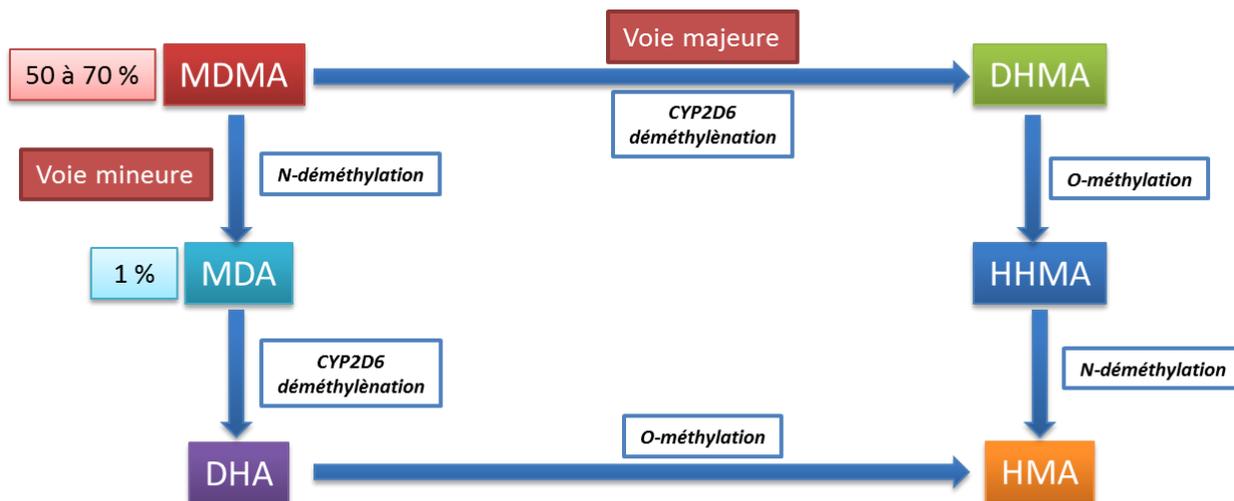


Figure 10 : Voies métaboliques de la MDMA (3,4-méthylènedioxy-métamphétamine).
 MDA : 3,4-méthylènedioxyamphétamine, HHMA : 4-hydroxy-3-methoxyméthamphétamine,
 HMA : 4-hydroxy-3-methoxyamphétamine, DHA : 3,4-dihydroxyamphétamine,
 DHMA : 3,4-dihydroxyméthamphétamine.

II.A.1.4.5. Données de consommation

Appelée communément, « taz », « tata », « XTC », l'ecstasy est une drogue qui se présente sous la forme de comprimés de couleur et de taille variables, souvent ornés d'un motif, ou de gélules et parfois de cristaux.

Elle est majoritairement consommée par VO et la teneur moyenne des comprimés varie entre 64 et 90 mg avec des extrêmes de 43 à 113 mg (EMCDDA, 2013).

En Europe, les estimations de la prévalence au cours de la vie sont comprises entre 0,4 % (Grèce) et 8,3 % (Royaume-Uni) et 11,5 millions de sujets de la classe d'âge 15-64 ans, soit 3,4 %, ont déjà consommé au moins une fois de l'ecstasy. Chez les jeunes adultes (15-34 ans), la prévalence au cours de la vie est comprise entre 0,6 % (Grèce) et 12,4 % (Royaume-Uni) (EMCDDA, 2012). En France, le comprimé d'ecstasy est vendu en moyenne 6 euros et le gramme de poudre en moyenne 56 euros. En 2010, La prévalence de la consommation est estimée à 2,7 % au cours de la vie et à 0,3 % au cours de l'année (OFDT, 2012).

Après une augmentation généralisée de la consommation dans les années 90, les enquêtes de population en Europe montrent une stabilisation globale voire une baisse modérée. En France, la baisse amorcée en 2002 se poursuit mais en parallèle, il est observé une augmentation de la consommation des nouvelles drogues de synthèse, les « *Research*

Chemicals » (RC), qui sont pour la plupart fabriquées en Chine et vendues directement par internet.

II.A.1.5. CANNABIS ET TÉTRAHYDROCANNABINOL

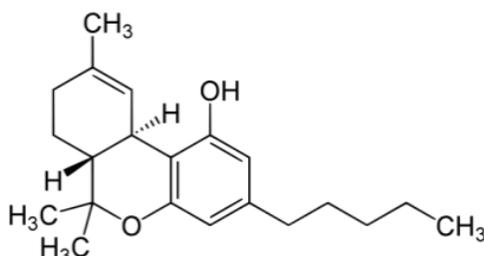


Figure 11 : Tétrahydrocannabinol : Δ 9-tétrahydrocannabinol ou THC : (6aR,10aR)-6,6,9-triméthyl-3-pentyl-6a,7,8,10a-tetrahydrobenzo[c]chromen-1-ol (CAS : 1972-08-3)

II.A.1.5.1. Historique

Le cannabis ou marijuana, extrait de la plante *Cannabis sativa*, est une drogue très ancienne dont l'utilisation médicale est évoquée dans un ouvrage de médecine chinoise (Traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung) en 2737 av. J.-C. L'historien grec Hérodote (450 av. J.-C.) décrit une séance de fumigation collective entraînant l'hilarité des participants, prouvant l'utilisation du cannabis pour ses propriétés psychotropes en plus de son utilisation dans la fabrication de cordages et de tissus.

Les Arabes, privés d'alcool par les lois coraniques, consommaient le cannabis pour atteindre l'ivresse et l'utilisaient également comme médicament. Ils inventèrent une préparation à partir de résine de cannabis, le haschich qui donna son nom à la secte des « Haschichins », ennemis des croisés qui tentèrent d'assassiner Saint Louis et dont la renommée d'assassin laisse penser à une relation étymologique entre les mots « assassin » et « Haschichins ».

En Europe, l'usage du cannabis se répandit après la campagne de Napoléon en Égypte et la conquête des Indes par les Anglais. Il suscita l'intérêt de nombreux scientifiques dont le psychiatre Jacques Moreau de Tours qui le testa pour traiter ses malades et publia « Du Haschich et de l'Aliénation Mentale » en 1845. De nombreux écrivains et artistes en consommèrent dont Théophile Gauthier, Charles Baudelaire, Alexandre Dumas, Gérard de

Nerval, Delacroix, etc. qui se réunissaient pour expérimenter les effets du haschich consommé sous forme de « dawamesk », une sorte de confiture à base de cannabis. C'est ainsi que naquit le « club des haschichins ».

Au milieu du XIX^e siècle, le cannabis est utilisé en Grande-Bretagne pour traiter diverses pathologies dont douleurs, l'asthme et les migraines et ces pratiques se répandent rapidement aux États-Unis. Le gouvernement britannique, confronté à une consommation importante de chanvre en Inde, créa une commission chargée d'une étude exhaustive sur cette plante qui rendit en 1894 un rapport concluant à l'absence de nocivité du chanvre. Cependant, en 1916 la Grande-Bretagne et la France adoptent une législation prohibitionniste s'étendant à toutes les drogues dont le cannabis.

En Amérique, la consommation de cannabis a probablement été introduite lors de la traite des esclaves venus d'Afrique mais ce sont surtout les travailleurs mexicains qui introduisirent le chanvre, appelé marijuana, au Texas au début du XX^e siècle. Le chanvre fut interdit dès 1937 par le *Marijuana Tax Act* mais sa culture fut à nouveau autorisée pendant la Seconde Guerre Mondiale pour ses fibres utilisées dans la confection de toiles et de cordages avant d'être de nouveau interdite, principalement en réponse au lobbying des exploitants des champs de coton qui voyaient dans le chanvre une menace pour leurs cultures et leur enrichissement.

Aujourd'hui, l'Amérique du Nord est un des principaux producteurs clandestins de cannabis avec de vastes surfaces cultivées aux États-Unis et le développement de variétés hybrides riches en THC souvent cultivées en espaces intérieurs (culture hydroponique) au Canada.

II.A.1.5.2. Effets psychiques et somatiques

L'intensité des effets dépend du sujet, du produit consommé (herbe ou haschich), du mode de consommation et de la teneur en THC du produit variant de 0,5 % à plus de 30 %. Les effets ressentis correspondent à une sorte d'euphorie, de relaxation, de bien-être avec des effets psychédéliques légers modifiant la perception, conduisant selon le cas à une envie de parler et de rire ou au contraire à un état rêveur et passif.

Au niveau périphérique, le cannabis provoque une rougeur des yeux, une sécheresse buccale, une bronchodilatation, une tachycardie, de l'hypotension orthostatique et une hypoglycémie.

Les effets indésirables appelés « *bad trip* » se manifestent le plus souvent par une crise de paranoïa, des bouffées de chaleurs, une tachycardie, une inhibition, des angoisses, accompagnées parfois de nausées et/ou vomissements. Une dépendance psychologique peut s'installer chez un usager qui consomme régulièrement et en grande quantité du cannabis, dépendance qui peut être majorée par la présence de tabac dans les cigarettes (« joints »). L'usager régulier va ressentir le besoin de fumer pour s'endormir ou pour accomplir certaines tâches quotidiennes. L'arrêt du cannabis provoque alors des insomnies, un stress, une irritabilité et des difficultés de concentration.

II.A.1.5.3. Pharmacologie et toxicologie

Le THC agit en activant les récepteurs endogènes aux cannabinoïdes CB1 et CB2. Le récepteur CB1 est essentiellement trouvé au niveau du SNC et son ligand endogène, l'anandamide, participe à la régulation de l'humeur, de la mémoire, de l'appétit, de la douleur, de la cognition et des émotions. Les récepteurs CB2 sont présents sur les cellules immunitaires.

La fixation du THC sur les récepteurs CB1 modifie l'activité de plusieurs enzymes intracellulaires, dont l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) dont il diminue l'activité. La baisse d'activité de cette enzyme affecte les canaux potassiques et calciques et la quantité de neurotransmetteurs libérés diminue, engendrant une diminution de l'excitabilité générale des réseaux de neurones.

Les récepteurs CB1 sont présents en quantité très importante au niveau du système limbique et jouent un rôle majeur dans la régulation des émotions. Les troubles de la mémoire et de l'apprentissage, souvent rapportés après consommation chronique de cannabis, pourraient être liés à la présence de récepteurs CB1 dans le cortex et l'hippocampe, qui est une structure cérébrale essentielle dans la mise en place des processus de mémorisation. La présence de récepteurs dans le thalamus est probablement en rapport avec la modification des perceptions sensorielles souvent évoquée lors de la

consommation de cannabis. Les récepteurs CB1 sont également très présents dans le cervelet, structure qui joue un rôle essentiel dans le comportement moteur.

Dans le circuit de la récompense, l'activation des récepteurs CB1 se manifeste par une augmentation de la libération de la dopamine bien que les neurones dopaminergiques de ce circuit ne possèdent pas de récepteurs CB1. Le cannabis provoque une levée de l'inhibition des neurones au GABA qui possèdent les récepteurs CB1 et ce sont les neurones du système GABAergique qui vont activer les neurones à dopamine.

Chez l'Homme, il n'y a pas de donnée sur la toxicité aiguë du cannabis et comme les voies d'administration principales sont l'inhalation ou l'ingestion, il est considéré qu'il n'y a pas de risque de mortalité en consommant cette drogue. Chez le rat, la DL₅₀ par inhalation est de 42 mg/kg, par VO elle est de 1 270 mg/kg pour les femelles et 730 mg/kg pour les mâles et par voie IV de 29 mg/kg chez les femelles (Budavari, 1996).

II.A.1.5.4. Pharmacocinétique

Lorsque le cannabis est fumé ou inhalé après vaporisation, le THC passe rapidement dans le sang et les effets immédiats durent de 1 à 3 heures. Après ingestion sous forme de gâteaux, beurre ou sirop, la « montée » est plus lente (2 à 3 heures) et les effets peuvent durer très longtemps (plus de 12 heures).

Le THC est rapidement métabolisé au niveau du foie par les cytochromes P450 en 11-hydroxy-THC, psychoactif, en 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-COOH), inactif et d'autres cannabinoïdes (Huestis et Cone, 1998). La diffusion systémique est très rapide et la concentration plasmatique maximale est en général atteinte avant la fin de la consommation de cannabis lorsqu'il est fumé. La biodisponibilité du THC est comprise entre 14 et 27 % pour le cannabis fumé et entre 6 et 19 % lorsque le cannabis est ingéré (Cone et Huestis, 1993). Sa demi-vie plasmatique varie de 18,7 heures à 4,1 jours et elle est deux fois plus longue chez les fumeurs occasionnels que chez les fumeurs réguliers. Pendant l'inhalation, la concentration de 11-OH-THC est relativement faible par rapport à celle du THC et atteint son maximum 15 minutes après le début. La concentration plasmatique de THC-COOH augmente doucement et le maximum est atteint entre 5,6 et 28 heures après la consommation. De manière générale, la concentration plasmatique maximale de THC est 3 fois plus élevée que celle du THC-COOH et 20 fois plus élevée que celle du 11-OH-THC (Cone,

1998). Le THC-COOH présente une demi-vie plasmatique de 20 à 50 heures chez les consommateurs occasionnels et entre 3 et 13 jours chez les fumeurs réguliers.

Approximativement 15 à 30 % de la dose de THC se retrouve dans les urines et 30 à 65 % dans les fèces sous forme de 11-OH-THC et de THC-COOH, principalement sous forme de conjugué. Le THC-COOH est le métabolite principal retrouvé dans les urines, entre 0,6 et 2,5 % de la dose de THC. Le 11-OH-THC sous forme de conjugué et le THC sous forme inchangée sont présent seulement à l'état de traces (Baselt, 2004).

II.A.1.5.5. Données de consommation

En Europe, une augmentation de la consommation de cannabis a été observée entre 1990 et 2010 avec plus de 3 millions de consommateurs quotidiens. Plus de deux tiers des consommateurs sont âgés de 15 à 34 ans et, dans cette tranche d'âge, plus de trois quarts des usagers sont de sexe masculin (EMCDDA, 2013). En Europe, le nombre des saisies de cannabis, herbe ou résine, est en augmentation et atteignait le chiffre de 345 000 en 2011 (EMCDDA, 2013). La teneur en THC varie en moyenne entre 5 et 11 % pour la résine et entre 5 et 10 % pour l'herbe. Pour les deux types de présentation de la drogue, la teneur dépasse rarement les 16 % sauf pour des herbes vendues légalement aux Pays-Bas où les teneurs peuvent excéder 30 %. Le prix du gramme varie en moyenne entre 7 et 13 euros pour la résine et entre 8 et 12 euros pour l'herbe (EMCDDA, 2013). Les pays pour lesquels les prévalences au cours de la vie chez les 15-34 ans sont les plus élevées sont la République Tchèque (49,3 %), la France (45,1 %), le Danemark (44,5 %) et l'Espagne (42,4 %). Les prévalences les plus faibles sont observées en Grèce (10,8 %) et en Roumanie (3,0 %). La France fait donc partie des pays européens présentant une consommation de cannabis importante. Les prévalences de consommation estimées pour l'année 2011 sont de 8,4 %, 17,5 % et 20,8 % respectivement chez les 15-64 ans, les 15-34 ans et les 15-24 ans (EMCDDA, 2012).

L'Observatoire Français des Drogues et Toxicomanies (OFDT) estime à plus de 13 millions le nombre d'expérimentateurs de cannabis en 2010 (OFDT, 2012) faisant de ce produit la drogue illicite la plus consommée sur le territoire. Ce chiffre représente environ un tiers de la population adulte entre 15 et 64 ans. Sa consommation concerne principalement

les jeunes adultes et l'usage est plus important dans la population masculine bien que l'écart se réduise ces dernières années.

II.A.1.6. OPIACÉS

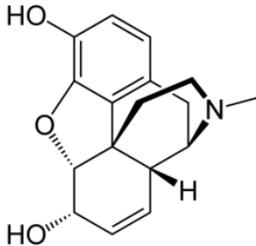


Figure 12 : Morphine : 7,8-didéhydro-4,5-époxy-17-méthylmorphinan-3,6-diol (CAS : 57-27-2)

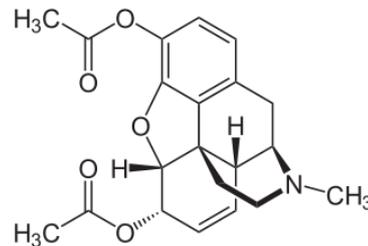


Figure 13 : Héroïne : diacétate de (5 α ,6 α)-7,8-didéhydro-4,5-époxy-17-méthylmorphinan-3,6-diol (CAS : 561-27-3)

II.A.1.6.1. Historique

L'opium, préparation psychotrope obtenue à partir du latex du pavot somnifère (*Papaver somniferum*), contient de nombreux alcaloïdes présentant des propriétés psychoactives dont la morphine qui est le principal. Sa consommation remonte entre 4000 et 3000 avant J.-C. lors de rituels ou pour un usage médicinal. Tout d'abord circonscrit aux territoires de l'est méditerranéen et du Proche-Orient, l'usage de l'opium se répand en Asie Centrale, en Inde, et en Chine avec le développement du monde arabe et de son commerce. Au XIII^e siècle, l'empire britannique commercialise l'opium depuis ses comptoirs de Chine et d'Inde vers l'Europe puis le monde entier et c'est à partir de cette période que l'usage récréatif de l'opium se développe.

Au cours des premières années du XIX^e siècle, les principes actifs de l'opium sont isolés par les scientifiques français Derosne et Seguin (1803-1804) puis par l'allemand Sertürner qui découvre la morphine (MOR) en 1816. Le terme de morphine est choisi en référence au dieu du sommeil, Morphée, évoquant les propriétés analgésiques et calmantes de la substance. À partir de 1850 et l'invention de la seringue hypodermique, l'utilisation de la MOR contre la douleur se développe massivement à l'hôpital comme sur les champs de bataille provoquant les premiers cas de morphinomanie. L'augmentation de sa

consommation et des problèmes de santé publique associés oblige les états à légiférer pour sa prohibition.

L'héroïne (HER) ou diacétylmorphine a été synthétisée pour la première fois en 1874 et les laboratoires Bayer l'exploite à partir de 1898 pour le traitement d'affections respiratoires comme la tuberculose. Le nom d'héroïne vient du terme allemand *heroisch* (héroïque) car elle était censée pouvoir soigner l'addiction à la morphine sans induire d'accoutumance alors que la morphine était déjà utilisée comme substitut à l'opium.

L'héroïne devient rapidement un problème de santé publique et la Société des Nations publie, en 1923, un premier texte réglementant son usage suivi par l'Europe en 1931. En 1956, son usage médical est totalement interdit aux États-Unis et cette mesure participera à démontrer la nécessité de définir une réglementation internationale qui se concrétisera par la Convention unique sur les stupéfiants de 1961. L'héroïne est progressivement interdite et classée comme stupéfiant dans la plupart des pays au fur et à mesure qu'ils adaptent leur législation.

La morphine est également classée comme stupéfiant dans la plupart des pays bien qu'elle soit utilisée à des fins médicales dans le traitement de la douleur et lors d'anesthésies générales. En France, les principales spécialités pharmaceutiques sont les suivantes : Skénan® (gélule à libération prolongée), Actiskénan® (gélule), Kapanol® (gélule à libération prolongée), Moscontin® (comprimé à libération prolongée), Sévrédol® (comprimé), Morphine AP-HP (solution injectable), Durogésic® (dispositif transdermique).

II.A.1.6.2. Effets psychiques et somatiques

Après injection, les effets de l'héroïne apparaissent de façon immédiate et intense sous forme d'un « flash », sensation de chaleur et de relaxation à travers tout le corps. Ce « flash » est suivi d'un état de bien-être profond, d'apaisement, d'euphorie et d'extase qui laisse ensuite la place à une phase de somnolence. L'effet est également immédiat lorsque l'héroïne est fumée ou inhalée mais moins intense. Quand elle est prise, l'effet apparaît après 2 à 3 minutes, diminue au bout d'une à 2 heures et disparaît totalement après 4 à 6 heures.

L'héroïne agit comme un anxiolytique puissant et un antidépresseur. Les usagers se sentent physiquement et mentalement apaisés et éprouvent, selon les individus, soit un état de passivité soit un désir d'activité.

Les troubles liés à la consommation d'opiacés sont principalement l'anorexie et l'insomnie. Il est observé également des troubles digestifs, des sensations de chatouillement et de grattement, une myorelaxation, un rétrécissement des pupilles (en tête d'épingle), une action antitussive et une baisse des sécrétions (sécheresse lacrymale, constipation). Un arrêt respiratoire peut survenir lors d'une surdose par inhibition de l'activité des neurones respiratoires bulbaires. L'un des problèmes majeurs de la consommation d'héroïne est la rapide tolérance et la dépendance physique qui apparaissent et induisent un état de manque avec des symptômes physiques extrêmement désagréables tels que nausées, vomissements, insomnies, diarrhées et sueurs.

II.A.1.6.3. Pharmacologie et toxicologie

L'activité des opiacés résulte essentiellement de l'action de la MOR au niveau du SNC, l'HER étant très rapidement métabolisée en 6-MAM puis MOR après passage de la barrière hémato-encéphalique.

Les effets très puissants des opiacés s'expliquent par le fait qu'ils se substituent aux opioïdes endogènes en se fixant sur les mêmes récepteurs de 3 types: mu (μ), delta (δ) et kappa (κ). Ces récepteurs se situent au niveau de la moelle épinière et au niveau supra-médullaire. Les opiacés sont agonistes des récepteurs induisant une diminution de l'excitabilité des neurones à l'origine de l'effet euphorisant des opiacés. Les opiacés exogènes stimulent l'activité des neurones dopaminergiques dans l'aire tegmentale ventrale (ATV), entraînant une augmentation de la libération de dopamine dans le noyau *accumbens*, centre des plaisirs (Matthews et German 1984 ; Johnson et North 1992). De nombreuses études ont montré que le système opioïde endogène est fortement impliqué dans les mécanismes de dépendance. Ainsi, des souris génétiquement modifiées n'exprimant plus le gène codant pour le récepteur μ sont incapables de développer une dépendance à différentes drogues, incluant outre les opiacés, l'alcool, le cannabis et la cocaïne (Matthes *et al.*, 1996). Ces données renforcent l'idée que la vulnérabilité neurobiochimique aux

addictions pourrait provenir d'un déséquilibre du système opioïde endogène (Nieto *et al.*, 2002).

La MOR entraîne la mort à doses de 0,15 à 0,2 g par voie sous-cutanée ou de 0,3 à 0,4 g par VO chez l'adulte. Les nourrissons et les jeunes enfants sont plus sensibles et des cas de mort ont été enregistrés pour des doses de 30 mg (Harvey, 1993). Les concentrations sanguines toxiques de MOR sont comprises entre 0,1 et 1 mg/L suivant les individus alors que les concentrations mortelles sont supérieures à 4 mg/L (Gossel et Bricker, 1994). Les DL₅₀ mesurées chez les animaux pour une administration par VO sont de 461 et 600 mg/kg, respectivement chez le rat et la souris.

II.A.1.6.4. Pharmacocinétique

L'HER présente un profil pharmacocinétique similaire à celui de la MOR (Figure 14). Les taux sanguins diminuent très rapidement après une injection IV et sont indétectables 10 à 40 minutes après la prise. La demi-vie moyenne est comprise entre 1,3 et 7,8 minutes. L'HER est hydrolysée en 6-monoacétylmorphine (6-MAM) puis en morphine, elle-même conjuguée sur les positions 3 et 6 pour donner la morphine-3-glucuronide (M3G) et la morphine-6-glucuronide (M6G). La M3G est le métabolite majeur, le ratio M6G/M3G étant proche de 0,15 (Faura *et al.*, 1998). Ces deux métabolites sont très hydrophiles et sont principalement éliminés dans les urines. Après une injection IV d'héroïne, environ 70 % de la dose totale est retrouvée dans les urines et principalement sous forme de morphine conjuguée (55 %).

L'hydrolyse de l'HER et de la 6-MAM est catalysée par différents types d'estérases présentes en abondance dans le sang et les tissus (Salmon *et al.*, 1999). La 6-MAM est très lipophile et présente une plus grande affinité pour les récepteurs aux opioïdes que son précurseur. Elle est considérée comme responsable de tous les effets aigus qui suivent l'administration d'héroïne.

Il existe une voie mineure de dégradation de la MOR par N-déméthylation au niveau des cytochromes P450 3A4 et 2C8 qui conduit à la normorphine (Projean *et al.*, 2003).

En résumé, les métabolites principaux dosés dans les urines après consommation d'héroïne (ou de morphine) sont :

- la 6-MAM (1,5 %),
- la MOR (10 %),
- la M3G et la M6G (55 %).

D'autres métabolites sont observés en quantité beaucoup plus faible : la normorphine-glucuronide, la codéine, la morphine-3,6-diglucuronide et la morphine-3-ethersulphate (Rook *et al.*, 2006).

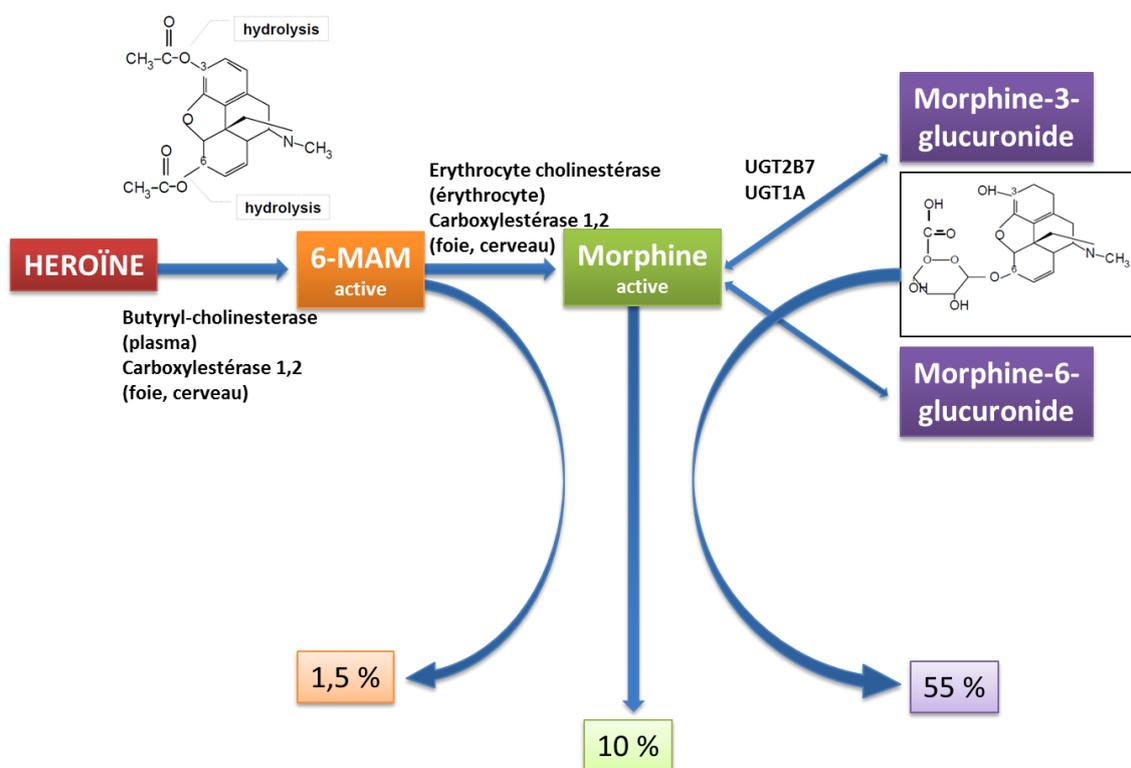


Figure 14 : Principales voies métaboliques de l'héroïne. Les pourcentages représentent les proportions d'excrétion urinaire.

II.A.1.6.5. Données de consommation

II.A.1.6.5.1. *Morphine*

La MOR est une molécule analgésique puissante qui peut être délivrée à l'hôpital et en ambulatoire pour traiter les douleurs intenses et rebelles. Cet usage licite s'est développé depuis 1999 dans le cadre d'un programme de lutte contre la douleur. Ainsi, de nombreux médicaments à base de MOR et dérivés ont été développés et, bien que les chiffres de la consommation soient difficiles à obtenir, l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament) estime que la consommation de morphine augmente : évaluée à 1,65 tonnes en 1998, elle atteint aujourd'hui 2,5 tonnes par an.

Il existe une consommation illicite de ce composé qui reste très difficile à estimer. En effet, la morphine peut être obtenue par des moyens détournés assez variés dont le vol direct de spécialités à base de MOR mais ce moyen reste assez rare compte tenu de son aspect très répréhensible. Les voies les plus utilisées sont la falsification des ordonnances et la multiplication de médecins prescripteurs pour un seul individu. Il existe peu de données chiffrées sur cette consommation illicite mais les CEIP (Centre d'Évaluation et d'Information sur la Pharmacodépendance), dans le cadre de leur enquête OSIAP (Ordonnances Suspectes, Indicateur d'Abus Possible), recueillent les ordonnances falsifiées présentées en pharmacie d'officine pour identifier les médicaments stupéfiants et/ou psychotropes détournés. Les résultats de l'enquête montrent que le Skenan[®], spécialité à base de sulfate de MOR arrive en quatrième position des médicaments apparaissant sur des ordonnances falsifiées ou volées derrière le Rohypnol[®], le Cytotec[®] et le Stilnox[®] (ANSM, 2009). Ce résultat, basé sur des ordonnances suspectes qui ont été détectées, ne reflète qu'une part des abus possibles concernant la consommation illicite de morphine. Beaucoup d'ordonnances falsifiées échappent à la vigilance des opérateurs de santé et un certain nombre de médicaments viennent alimenter le « marché noir ». Seuls les témoignages des usagers pourraient renseigner sur l'usage de morphine détournée du marché légal mais ils sont difficiles à obtenir.

II.A.1.6.5.2. *Héroïne*

L'estimation de la consommation d'héroïne est plus incertaine que pour les autres drogues illicites car les estimations de prévalence de son usage sont confondues avec l'usage problématique. L'usage de drogue par injection et la consommation d'opiacés représentent l'essentiel de l'usage problématique en Europe, bien que, dans certains pays, les consommateurs d'amphétamine ou de cocaïne constituent une proportion importante de ce phénomène.

Les estimations relatives à la prévalence d'une consommation problématique d'opiacés dans les pays européens au cours de la période 2005-2010 varient entre 1 et 7 cas pour 1000 individus âgés de 15 à 64 ans. Les estimations les plus élevées sont fournies par l'Irlande, la Lettonie, le Luxembourg et Malte, tandis que les plus faibles proviennent de Chypre, de Hongrie, de Pologne et de Finlande. La prévalence moyenne de l'usage problématique d'opiacés dans l'UE et en Norvège est estimée à 4,2 (entre 3,9 et 4,4) cas pour 1000 individus âgés de 15 à 64 ans soit environ 1,4 millions d'usagers (EMCDDA, 2012).

Le nombre de saisies a diminué entre 2001 et 2011 malgré une période d'augmentation entre 2003 et 2010. La quantité d'héroïne saisie en 2011 (6,1 tonnes) a été la plus faible de la décennie, soit environ la moitié de la quantité saisie en 2001. La pureté de l'héroïne marron (forme chimique de base) aurait tendance à augmenter ou rester stable suivant les pays tandis que la pureté de l'héroïne blanche (sous forme de sel) est plutôt en augmentation (EMCDDA, 2012). En 2011, la pureté moyenne variait entre 8 et 15 % avec des valeurs extrêmes enregistrées de 6 % et 44 % (EMCDDA, 2013).

En France, le nombre d'expérimentateurs d'héroïne (individu ayant consommé de l'héroïne au moins une fois au cours de sa vie) est estimé à 500 000 parmi les 11-75 ans (OFDT, 2012). En 2010, chez les 15-64 ans, la prévalence de l'expérimentation de l'héroïne est de 1,2 % (0,8 % en 2005) et la consommation au cours de l'année concerne 90 000 (0,2 %) individus. Les moins de 35 ans sont les principaux consommateurs : 2,1 % déclarent avoir expérimenté le produit et 0,5 % en ont consommé au cours de l'année (OFDT, 2012). Cette augmentation de la consommation d'héroïne observée depuis les années 2000 (INPES, 2010) va de pair avec un élargissement de la consommation vers des populations insérées socialement et relativement jeunes. L'image de la prise d'héroïne associée à un état morbide, aux overdoses, au SIDA et à la dépendance apparaît aujourd'hui de moins en moins

répulsive pour certains usagers qui la consomment « sniffée » ou fumée. De plus, la disponibilité des traitements de substitution aux opiacés (TSO) apparaît à ces usagers comme un filet de sécurité.

II.A.1.7. MÉTHADONE

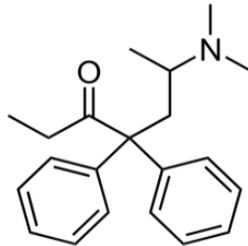


Figure 15 : Méthadone :
(RS)-6-(diméthylamino)-4,4-diphényl-3-heptanone. (CAS : 76-99-3)

II.A.1.7.1. Historique

La méthadone (MTD) a été synthétisée pour la première fois par des chimistes allemands lors de la Deuxième Guerre mondiale (1937) dans le but de calmer la douleur des blessés. Dans les années 50, elle est utilisée à faible dose aux États-Unis pour le sevrage aux opiacés puis est prescrite comme traitement de substitution à l'héroïne. Le succès de ce traitement de substitution conduit à la mise en place de programmes similaires dans d'autres pays et son usage est légalisé en France depuis 1995.

II.A.1.7.2. Effets psychiques et somatiques

La MTD est un agoniste des récepteurs opiacés qui empêche l'apparition d'un syndrome de manque. En prise régulière, elle ne présente pas d'effet euphorisant et n'entraîne pas de modification de la conscience rendant le traitement compatible avec une vie sociale et professionnelle normale. Elle est dépourvue de phénomène de tolérance qui pourrait entraîner une augmentation des posologies au cours d'un traitement durable. Mais, comme la MOR, la MTD présente un effet central inhibiteur qui provoque une analgésie et une sédation, une atténuation des réflexes de toux, des vomissements voire une dépression respiratoire en cas de surdosage. Elle induit également un myosis (pupilles rétrécies) et une bradycardie (rythme cardiaque ralenti). Au niveau périphérique, la méthadone peut induire

une constipation, une hypotension artérielle, un prurit par libération d'histamine et des difficultés à uriner. Ces effets sont particulièrement marqués chez les sujets qui n'ont développé aucune tolérance aux opiacés. Lors d'une utilisation à long terme, les effets indésirables les plus fréquents sont la sudation excessive (chez 48 % des utilisateurs en sevrage), la baisse de la libido (22 %), la constipation (17 %) et les troubles du sommeil (16 %). Enfin, comme les opiacés, la MTD peut induire une dépendance.

II.A.1.7.3. Pharmacologie et toxicologie

La méthadone agit comme les opiacés par inhibition de la recapture des monoamines et comme agoniste des récepteurs aux opioïdes endogènes μ , κ , δ ($\mu > \kappa > \delta$). La R-méthadone présente la plus grande affinité pour les récepteurs opiacés tandis que la S-méthadone est un puissant inhibiteur de la recapture de la noradrénaline et de la sérotonine.

Chez l'Homme, les concentrations sanguines toxiques sont comprises entre 1 et 2 $\mu\text{g/mL}$ suivant les individus mais la concentration létale moyenne est d'environ 1,4 $\mu\text{g/mL}$ (Stead *et al.*, 1985). Chez le rat, les DL_{50} sont évaluées à 18 mg/kg par voie IP, 86 mg/kg par VO et 24 mg/kg par voie IV. Chez la souris, ces valeurs sont respectivement de 35, 70 et 20 mg/kg.

II.A.1.7.4. Pharmacocinétique

La biodisponibilité de la MTD par VO varie de 41 à 95 % selon les études et sa demi-vie d'élimination est comprise entre 24 et 36 heures. Elle est métabolisée au niveau hépatique par N-déméthylation via les cytochromes P450 3A4 CYP2D6 et CYP1A2 conduisant à la 2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine (EDDP). L'activité du CYP3A4 varie beaucoup suivant les individus. L'élimination est dépendante du pH : à pH acide (inférieur à 6), la fraction inchangée est plus importante et la demi-vie plus courte, $19,5 \pm 3,6$ heures qu'à pH alcalin, $42,1 \pm 8,8$ heures. Le rapport EDDP / méthadone diminue lorsque l'urine est acide.

Durant les premières 24 heures après l'administration, 15 à 60 % de la dose sont éliminés par les urines (20 % sous forme inchangée et 13 % sous forme d'EDDP) et 20 à 40 % sont éliminés dans les fèces sous forme inchangée (Nilsson *et al.*, 1982).

II.A.1.7.5. Données de consommation

Dans le traitement de substitution aux opiacés, la posologie de la MTD évolue progressivement et de façon adaptée au patient selon le schéma suivant :

- Première prescription qui ne doit pas excéder 40 mg/jour.
- Presque tous les signes physiques de manque disparaissent à 40 mg/jour.
- En cas d'adaptation, la posologie doit être augmentée par palier de 10 mg/j pendant 4 à 10 jours pour éviter le risque d'accumulation de la MTD.
- Les patients présentant un haut niveau de dépendance et de tolérance doivent bénéficier d'une posologie à l'induction de 25 à 40 mg/jour et d'une adaptation de posologie par palier de 10 mg.

À l'inverse, pour les patients présentant un niveau de dépendance et de tolérance faible ou difficile à apprécier, la posologie à l'induction ne doit pas dépasser 10 à 20 mg/jour et les augmentations de posologie se font par palier de 5 mg.

Depuis sa commercialisation en 1995, le nombre de patients bénéficiant de traitement à la méthadone a augmenté à un rythme constant (Figure 16). En 2012, plus de 45 000 personnes bénéficient de ce traitement de substitution (OFDT, 2012).

Cependant, des usagers la détournent de son usage prévu par son autorisation de mise sur le marché (AMM) et n'hésitent pas à réaliser des injections par voie IV aussi bien à partir de la forme gélule que de la forme sirop. Malheureusement, il n'existe pas de données sur ce phénomène car peu d'usagers avouent cette pratique de peur d'être exclus des programmes de substitution.

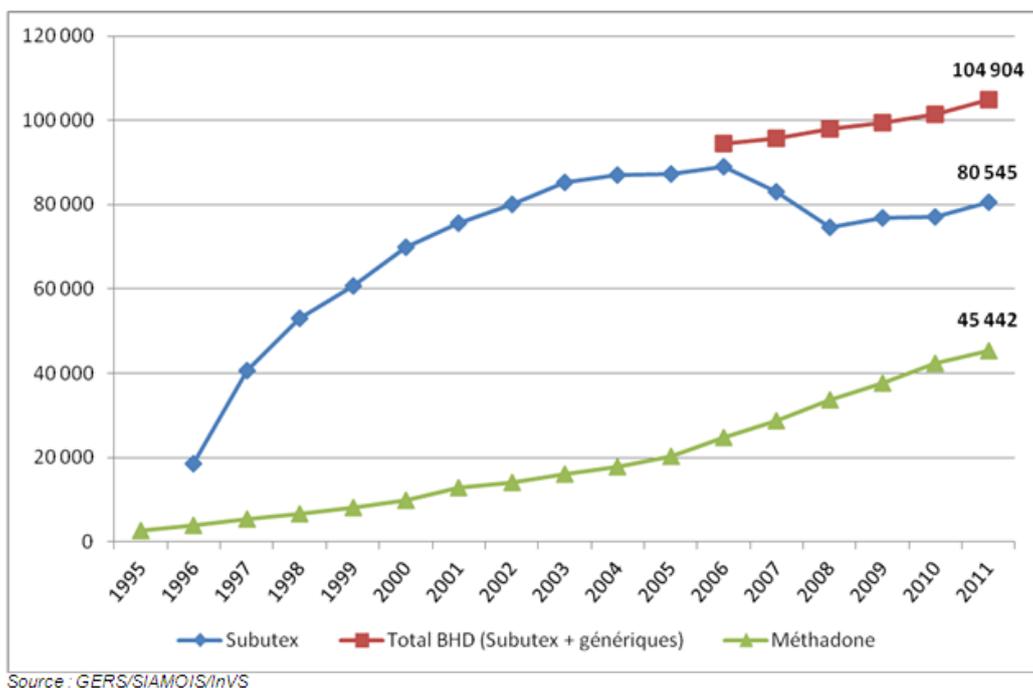


Figure 16 : Évolution du nombre de patients inclus dans un programme de traitement de substitution aux opiacés (TSO) (méthadone et buprénorphine) de 1995 à 2011 (InVS, 2012).

II.A.1.8. BUPRÉNORPHINE

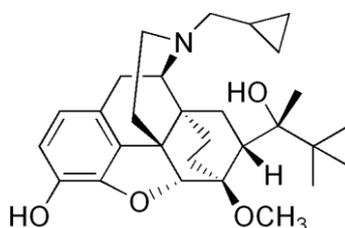


Figure 17 : Buprénorphine : (2S)-2-[-(5R, 6R, 7R, 14S)-9a-cyclopropylméthyl-4,5-époxy-3-hydroxy-6-méthoxy-6,14-éthanomorphinan-7-yl]-3,3-diméthylbutan-2-ol. (CAS : 52485-79-7)

II.A.1.8.1. Historique

La buprénorphine (BUP) a été synthétisée dans les années 1970 lors d'études visant à trouver un analgésique ne créant pas d'accoutumance. Elle a été enregistrée et commercialisée sous forme de comprimés au Royaume-Uni sous le nom de Temgesic® en 1978. C'est dans les années 1980 qu'apparaît sa consommation par voie IV et son usage de façon détournée par les héroïnomanes mais également par des personnes qui n'étaient pas usagers d'opiacés auparavant. Les comprimés sublinguaux Subutex® (0,4 mg - 2 mg - 8 mg) ont été mis sur le marché en 1995 comme traitement de substitution des

pharmacodépendances majeures aux opiacés (TSO) en 1995 en France, en 1999 au Royaume-Uni et en 2000 en Allemagne et en Australie.

II.A.1.8.2. Effets psychiques et somatiques

La BUP induit les effets des opiacés : analgésie (20 à 30 fois plus puissante que la morphine), euphorie, myosis, dépression respiratoire, sédation et dépendance. Son action prolongée (24 à 72 heures) diminue la sensation de désir compulsif de reproduire le comportement d'addiction ou « *craving* » d'où son utilisation comme traitement de substitution.

II.A.1.8.3. Pharmacologie et toxicologie

La BUP est un agoniste partiel des récepteurs μ : de ce fait, elle inhibe les effets de manque dus à la consommation d'opiacés mais sans provoquer de sensation de « flash » et ne présente pas d'effet sur le système respiratoire. La durée d'action plus longue que celle des opiacés permet à l'utilisateur substitué de ne pas être obligé de consommer plusieurs fois par jour. Elle est aussi un antagoniste des récepteurs κ et δ ce qui la contre-indique en association avec un opiacé pour éviter la survenue d'un état de manque.

Chez l'Homme, les concentrations sanguines toxiques et létales sont respectivement de 1,1 et 29 ng/mL (Tracqui *et al.*, 1998). Chez le rat, la DL₅₀ a été évaluée à 197 mg/kg pour la voie IP et 31 mg/kg pour la voie IV, chez la souris ces valeurs sont de 90 et 24 mg/kg.

II.A.1.8.4. Pharmacocinétique

La biodisponibilité par voie sublinguale est comprise entre 30 % et 50 %, deux pics plasmatiques étant observés entre 0,5 et 3 heures après l'administration, suggérant l'existence d'un cycle entérohépatique (McAleer *et al.*, 2003).

Elle est peu métabolisée, éliminée à moitié dans les fèces sous forme inchangée et pour l'autre moitié dans les urines sous forme glucuroconjugée (Ohtani *et al.*, 1994). Une faible fraction est N-désalkylée par les cytochromes P450 3A4 en norbuprénorphine éliminée sous forme conjuguée (Cone *et al.*, 1984). Baselt (2004) a montré que 95 % d'une dose de [3H]-buprénorphine injectée par voie intramusculaire chez l'Homme, étaient éliminés après

144 heures, dont 68 % dans les fèces sous forme inchangée et 27 % dans les urines sous forme de dérivés conjugués.

II.A.1.8.5. Données de consommation actuelles

La buprénorphine haut dosage (BHD) représente le premier traitement de la dépendance aux opiacés en France, avec 85 % des personnes traitées en 2006 (Figure 16). Le traitement est installé progressivement à partir d'une prise quotidienne unique de 0,8 à 2 mg suivie d'un ajustement des doses par palier jusqu'à l'obtention de la dose d'entretien qui ne doit pas dépasser 16 mg par jour selon l'AMM bien que certaines personnes aient besoin d'une dose d'entretien plus élevée, jusqu'à 32 mg par jour. Les comprimés doivent être placés sous la langue (prise sublinguale), ou entre la gencive et la joue, jusqu'à ce qu'ils fondent entièrement. Cependant, il existe un mésusage volontaire important des comprimés de BHD qui sont reniflés, injectés ou fumés. L'injection IV de comprimés de BHD peut être toxique pour le foie et peut entraîner une hépatite, en complément des risques inhérents à cette pratique d'injection. La part de personnes traitées effectuant de la « revente » est estimée à 6 % et représente entre 21 et 25 % des quantités remboursées (OFDT, 2004).

L'évaluation précise du nombre de sujets sous TSO hors prescription médicale est difficile, mais environ 4 000 personnes ont été recensées en France dans des structures bas-seuil, lieux d'accueil où n'importe quel usager de drogues est reçu sans conditions d'accès autres que le respect mutuel et l'interdiction de consommer sur place.

Pour conclure ce chapitre, le tableau I reprend les données fournies par l'OFDT concernant les estimations de consommation et de trafic de chaque drogue étudiée ainsi que les données de l'InVS et de l'ANSM sur la consommation de TSO en France.

Tableau I : Prévalences des consommations, des quantités saisies et du nombre de saisies des principales drogues illicites en France durant l'année 2012 ainsi que les décès imputés à leur consommation (EMCDDA, 2013). Nombre de patients ayant accès à un TSO (GERS/Siamois/InVS, 2011). Quantités de TSO vendues (ANSM, 2009).

	Prévalences (%)			Nombre de patients	Quantité vendue (kg)	Quantité saisie (kg) (*comprimés)	Nombre de saisies	Décès dus à la drogue
	Population générale		Population scolaire					
	Vie 15-64 ans	Année 15-34 ans	Vie 15-16 ans					
Cocaïne	3,66	1,85	4			10 834	4 538	331
Amphétamine	1,69	0,46	4			601	387	
MDMA	2,4	0,4	3			1 510 500*	781	
Cannabis	32,12	17,54	39			10 834	4 538	
Héroïne	-	-	-			883	4 834	
Méthadone				45 442	816			
Buprénorphine				104 904	339			

II.A.2. COLLECTE ET TRAITEMENT DES EAUX USÉES

II.A.2.1. RÉSEAU DE COLLECTE DES EAUX USÉES

Les réseaux de collecte des eaux usées, ou égouts, ont pour fonction de conduire les eaux usées ainsi que les eaux de pluie, selon les cas vers les STEPs afin d'assurer leur épuration avant leur rejet dans l'environnement. Il existe deux types de réseaux :

- les réseaux unitaires qui collectent les eaux usées et les eaux pluviales dans les mêmes canalisations. Dans les réseaux unitaires, les excès de débit liés aux fortes pluies sont retenus par des réservoirs d'orages et partiellement envoyés directement vers le milieu récepteur sans traitement.
- les réseaux séparatifs qui comprennent deux systèmes de collecte séparés pour les eaux usées et les eaux de pluie. Ces réseaux permettent de mieux gérer les variations de débit dues aux fortes pluies et de mieux adapter la capacité des STEPs et les traitements en fonction de l'origine des affluents : eaux usées issues des utilisations domestiques de l'eau potable, eaux issues d'activités industrielles ou eaux pluviales (eaux de ruissellement et toitures, de drainage, etc...).

Les réseaux unitaires, plus anciens, représentaient environ 97 000 km de canalisations en 2008 en France. Ils sont surtout présents dans les petites communes (moins de 400 habitants) ou, à l'inverse, dans les communes de plus de 50 000 habitants, dans les centres-villes anciens. La part du réseau unitaire, variable suivant les régions (Figure 18), régresse au profit du réseau séparatif.

En 2008, les réseaux séparatifs représentaient plus de 200 000 km de canalisations pour les eaux usées et un peu plus de 93 000 km pour les eaux pluviales en France.

Chaque habitat ou bâtiment d'activité raccordé au réseau est identifié et pour certaines installations à risque des conventions spécifiques sont signées entre le gestionnaire du réseau et l'entreprise pour le contrôle de la qualité des rejets. Il est ainsi possible, grâce aux plans et aux modèles hydrauliques des réseaux, d'identifier des sites ou des zones spécifiques et notamment les surfaces de collecte correspondant à une STEP (Figure 19).

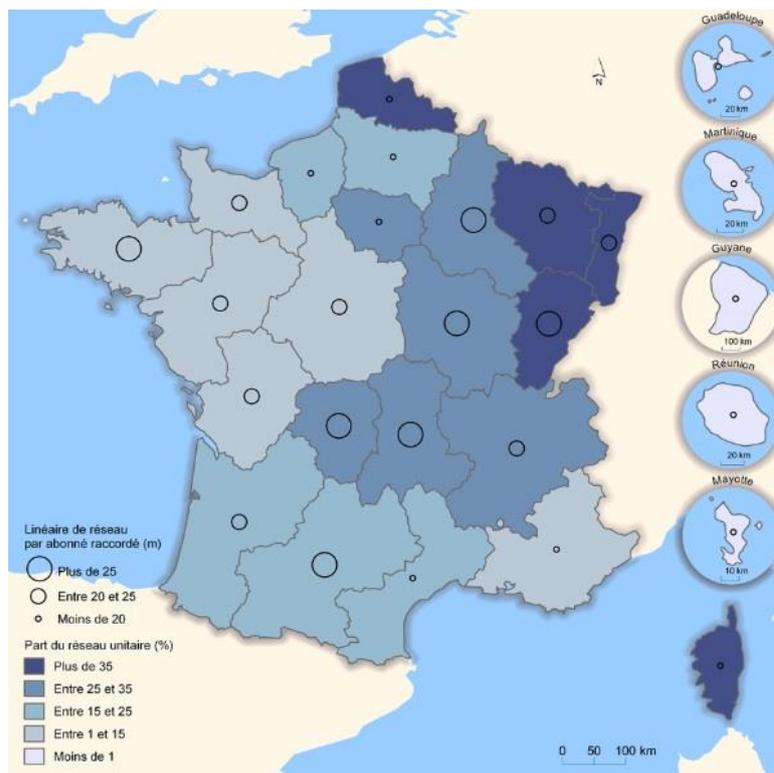


Figure 18 : Part du réseau unitaire (%) suivant les régions de France (SOEs-SSP, 2008).

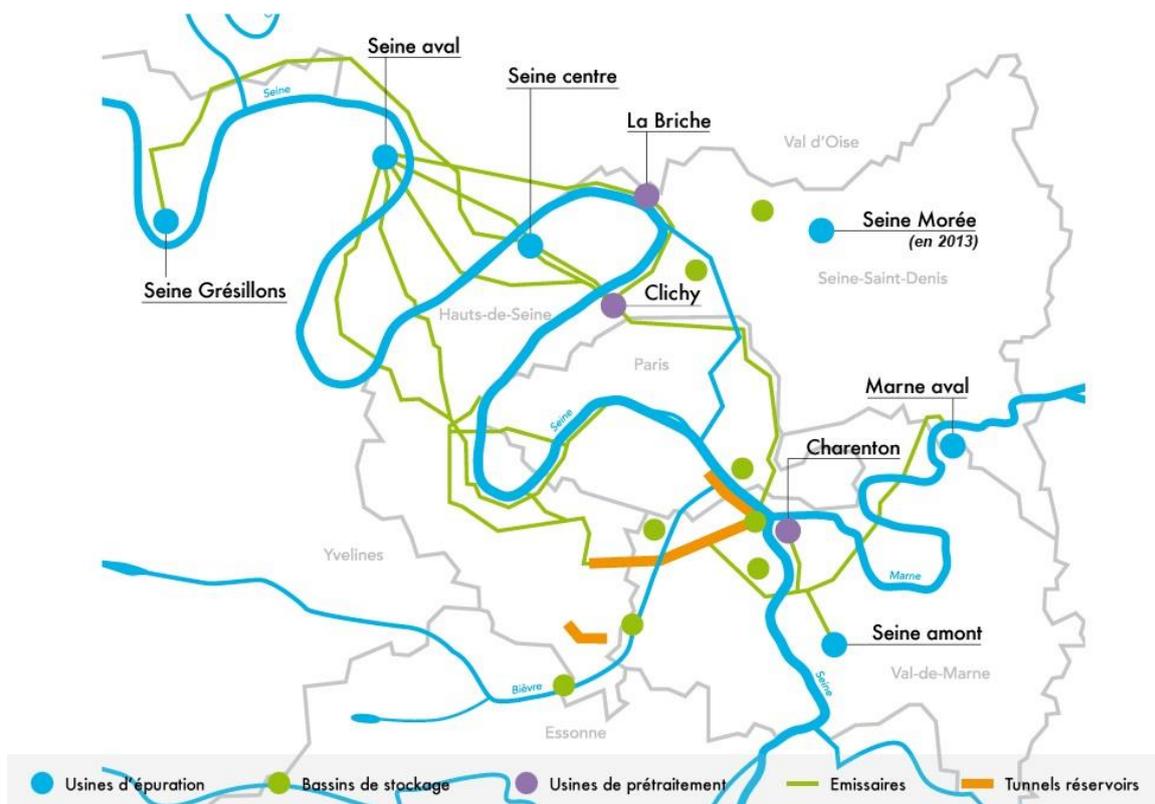


Figure 19 : Réseau de collecte des eaux usées de la région parisienne géré par le Syndicat Interdépartemental d'Assainissement de l'Agglomération Parisienne (SIAAP).

II.A.2.2. COMPOSITION DES EAUX USÉES

Les eaux usées domestiques contiennent essentiellement des matières organiques, des germes fécaux, des métaux et des matières en suspension (MES). Une personne consomme 150 à 200 litres d'eau par jour et rejette quotidiennement les quantités estimées de matière suivantes dans les eaux usées (Centre d'Information sur l'Eau) :

- 90 grammes de matières organiques ou minérales (en suspension dans l'eau sous forme de particules),
- 57 grammes de matières oxydables,
- 15 grammes de matières azotées,
- 4 grammes de phosphore (issus des détergents),
- 0,23 gramme de résidus de métaux lourds (plomb, cadmium, arsenic, mercure...),
- 0,05 gramme de composés divers (fluor, chlore, brome, iode...),
- 1 à 10 milliards de microorganismes par 100 mL.

Les eaux usées urbaines rassemblent, outre les eaux usées domestiques, toutes celles provenant des activités d'une commune incluant des établissements de soins, des restaurants, des garages, etc...

La composition des eaux usées industrielles varie suivant les types d'activités dont elles sont issues. En complément de matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent contenir des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques, des hydrocarbures, etc...

Les eaux de ruissellement drainent un grand nombre de contaminants provenant de l'air, des surfaces et des sols.

II.A.2.3. LES STATIONS D'ASSAINISSEMENT

La dépollution des eaux usées est basée sur une succession d'étapes technologiques faisant appel à des traitements physiques, physico-chimiques et biologiques. Selon le degré d'élimination de la pollution et les procédés mis en œuvre, trois niveaux de traitement sont définis (Figure 20).

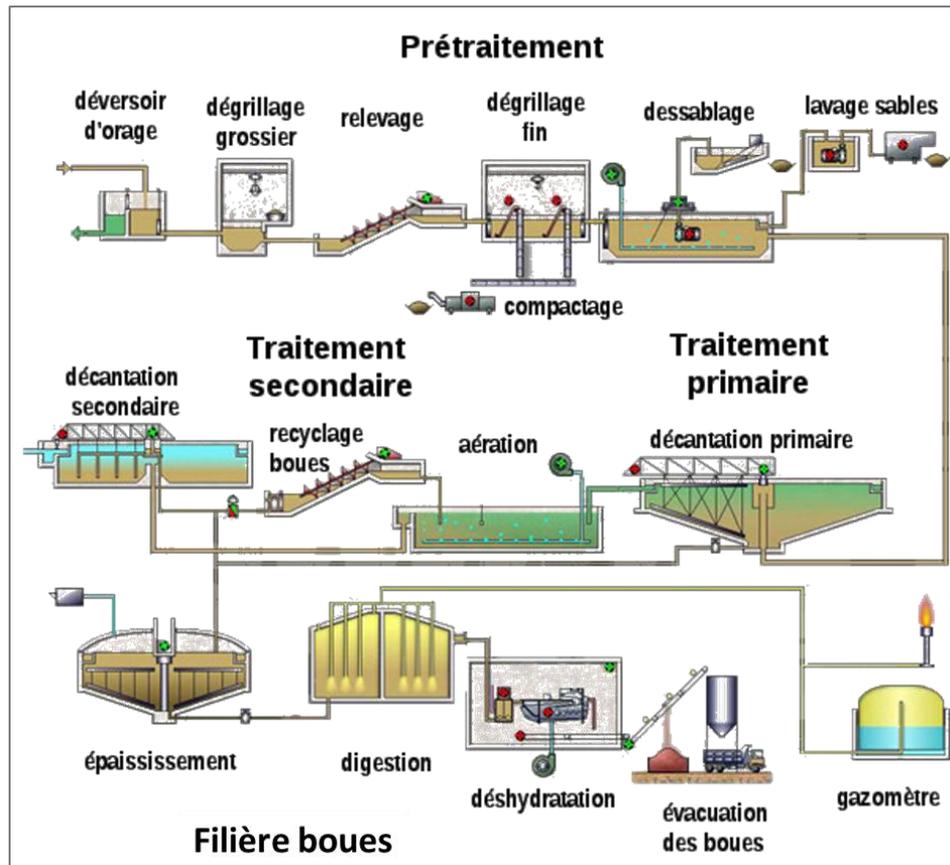


Figure 20 : Schéma du processus de traitement des eaux usées d'une station d'épuration à boues activées.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/43/Usine_de_d%C3%A9pollution_%28ESQUEMPEQUE-fr%29.jpg

II.A.2.3.1. Les traitements primaires ou prétraitement

Les traitements primaires regroupent les procédés physiques ou physico-chimiques visant à éliminer le plus possible de MES minérales (sable, limons), organiques (flocs biologiques, débris organiques) et colloïdales (argiles fines, kystes de protozoaires, bactéries, macromolécules). Il existe différentes étapes qui consistent à éliminer les matières solides, des plus grossières (dégrillage) aux plus fines (dessablage, décantation) et les huiles et graisses (déshuileage).

Ces étapes consistent essentiellement en des traitements physiques mais dans certaines stations, des agents chimiques sont utilisés pour faciliter ces processus.

II.A.2.3.1.1. *La coagulation-floculation.*

L'ajout de coagulant (cations trivalents) ou de floculant (silice activée) dont la propriété est de diminuer les forces de répulsions électrostatiques va entraîner l'agrégation des MES et des colloïdes sous forme de floccs et permettre leur élimination par décantation, flottation ou filtration.

II.A.2.3.1.2. *Le déshuilage.*

Ce processus permet d'éliminer les composés ayant une densité moins forte que l'eau, principalement les huiles et les composés solubilisés dans cette phase. Il s'effectue par injection de bulles d'air (micro, fines ou moyennes) en flux ascendant avec ou sans ajout de réactifs. Le mélange d'huiles, d'eau et d'air forme une émulsion à la surface qui est éliminée.

À l'issue du traitement primaire, 50 à 60 % des MES seulement sont éliminées.

II.A.2.3.2. Les traitements secondaires

Les traitements secondaires correspondent aux techniques d'élimination des matières polluantes solubles (carbone, azote, et phosphore) par traitement biologique. Depuis fin 2005, les agglomérations de plus de 2 000 équivalents-habitants doivent être raccordées à des STEPs mettant en œuvre un traitement secondaire des eaux usées, niveau minimal d'épuration requis. Les eaux décantées sont conduites dans des bassins de boues activées ou percolent sur des biofiltres sur lesquels la biomasse active est fixée. C'est lors de cette étape que la majorité des composés organiques est éliminée et/ou transformée. L'efficacité du processus de transformation et d'élimination de ces composés va être fonction de la charge massique définie comme le rapport entre la masse de nourriture (matières organiques) entrant quotidiennement dans le réacteur et la masse de boue présente dans ce réacteur.

II.A.2.3.2.1. *Les boues activées*

Les boues activées (BA) sont des cultures libres de bactéries aérobies et/ou anaérobies. Physiquement, le dispositif se compose d'un bassin d'aération dans lequel l'eau à épurer est mise en contact avec la masse bactérienne. Un dispositif de fourniture d'oxygène et de brassage répartit l'oxygène et évite les dépôts. Ce bassin est suivi d'un décanteur, appelé

clarificateur, dans lequel les boues vont sédimenter. L'eau épurée et clarifiée est rejetée dans le milieu récepteur et les boues biologiques récupérées sont retournées vers le bassin d'aération. Les boues biologiques qui ne sont pas mises en recirculation sont récupérées et traitées pour former du « biogaz » ou utilisées pour l'épandage en milieu agricole, après dessiccation et traitement.

II.A.2.3.2.2. *Les biofiltres*

La technologie des biofiltres utilise la propriété des bactéries à former une couche à la surface d'un solide (biofilm). Ainsi, des éléments solides recouverts de biofilms fixes ou en mouvement sont mis en contact avec l'eau à épurer. Concernant les technologies utilisant des éléments solides en mouvement, les courants peuvent être descendant (Biocarbone®) ou ascendant (Biofor® et Biostyr®). Les procédés Biofor® (Degremont Technologies) et Biostyr® (Veolia Eau Solutions & Technologies) se distinguent par le matériau utilisé pour générer le biofilm, respectivement de la Biolite® et des billes polystyrène.

II.A.2.3.2.3. *Bioréacteurs à membrane*

La technologie des bioréacteurs à membrane (BRM) correspond à l'ajout d'une membrane de filtration (micro- ou ultrafiltration) en aval du traitement secondaire (en général BA). Les avantages de cette technologie sont :

- une clarification parfaite qui supprime les MES dans les effluents,
- une rétention des bactéries et même des virus avec l'ultrafiltration,
- l'absence de clarificateur secondaire entraînant l'augmentation de la concentration de la biomasse et permettant la diminution de l'emprise au sol de la STEP soit la baisse des coûts de construction,
- une demande chimique en oxygène³ (DCO) finale plus faible qu'avec les BA classiques.

Dans certains cas, des traitements tertiaires sont nécessaires, notamment lorsque l'eau épurée doit être rejetée en milieu particulièrement sensible.

³ La demande chimique en oxygène (DCO) est la consommation en dioxygène par les oxydants chimiques forts pour oxyder les substances organiques et minérales de l'eau. Elle permet d'évaluer la charge polluante des eaux usées.

II.A.2.3.3. Les traitements tertiaires

II.A.2.3.3.1. Élimination de l'azote

L'élimination de l'azote se réalise en quatre étapes :

- l'ammonification : la transformation de l'azote organique en azote ammoniacal,
- l'assimilation : l'utilisation de l'ammoniaque pour synthétiser de la matière vivante qui sera éliminée avec les boues en excès,
- la nitrification : l'oxydation de l'azote ammoniacal en nitrites puis nitrates,
- la dénitrification : la transformation des nitrates en azote gazeux dégagé dans l'atmosphère.

II.A.2.3.3.2. La déphosphatation biologique

Certaines bactéries ont la faculté de concentrer le phosphore sous forme de granules de polyphosphates intracellulaires lorsqu'elles sont soumises à des alternances de conditions aérobies et anaérobies. En phase aérobie, les bactéries trouvent dans l'oxygène les accepteurs d'électrons nécessaires à leur métabolisme, les stocks engrangés sont utilisés pour leur croissance et la reconstitution de leur réserve en polyphosphates. Par succession de phases anaérobies - aérobies, il se produit une accumulation progressive du phosphore dans ces microorganismes jusqu'à des valeurs pouvant atteindre 10 % de leur poids sec.

II.A.2.3.3.3. La déphosphatation physique

Le procédé consiste à ajouter des sels de fer dans le milieu pour former des précipités insolubles contenant le phosphore et qui vont sédimenter au fond du bassin.

II.B. ANALYSE DES RÉSIDUS DE DROGUES ILLICITES DANS LES EAUX

II.B.1. CONCENTRATIONS DE DROGUES ILLICITES MESURÉES DANS LES EAUX

II.B.1.1. CONCENTRATIONS MESURÉES EN ENTRÉE DE STEPS

Depuis le milieu des années 2000, plusieurs études ont été publiées concernant le dosage de drogues illicites dans les eaux usées : États-Unis (Jones-Lepp *et al.*, 2004 ; Chiaia *et al.*, 2008 ; Loganathan *et al.*, 2009 ; Bartelt-Hunt *et al.*, 2009), Canada (Metcalf *et al.*, 2010), Italie (Castiglioni *et al.*, 2006 ; Zuccato *et al.*, 2005 ; Mari *et al.*, 2009), Suisse (Berset *et al.*, 2010), Allemagne (Hummel *et al.*, 2006), Irlande (Bones *et al.*, 2007), Royaume-Uni (Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008, 2009, 2010 ; Kasprzyk-Hordern et Baker, 2012b), Espagne (Huerta-Fontela *et al.*, 2007, 2008a, 2008b ; Boleda *et al.*, 2007 ; Boleda *et al.*, 2009 ; Postigo *et al.*, 2008, 2009 ; Bijlsma *et al.*, 2009 ; González-Mariño *et al.*, 2010 ; Pedrouzo *et al.*, 2011), Belgique (Gheorghe *et al.*, 2008 ; van Nuijs *et al.*, 2009a ; 2009b ; 2009c ; 2009d ; 2011), France (Karolak *et al.*, 2010), Croatie (Terzic *et al.*, 2010), et Australie (Irvine *et al.*, 2011 ; Lai *et al.*, 2011).

Les molécules principalement recherchées sont :

- la cocaïne (COC) et ses métabolites : la benzoylecgonine (BZE), l'ecgonine méthylester (EME), la norcocaïne (NOR), le cocaéthylène (CET) et la norbenzoylecgonine ;
- les opiacés : l'héroïne (HER), la morphine (MOR), la 6-monoacétylmorphine (6-MAM) et la morphine-3 β -D-glucuronide ;
- les produits de substitution aux opiacés : la méthadone (MTD) et son métabolite, le 2-éthylidine-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine (EDDP), et la buprénorphine (BUP) ;
- les cannabinoïdes : le Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) et ses métabolites l'hydroxy-THC (OH-THC) et le 11-nor-9-Carboxy-THC (THC-COOH) ;

- les stimulants de synthèse : l'amphétamine (AMP), la méthamphétamine (MET), l'ecstasy (3,4-méthylène-dioxy-N-méthylamphétamine - MDMA), la 3,4-méthylènedioxyamphétamine (MDA) et la 3,4-méthylènedioxy-N-éthylamphétamine (MDEA) ;
- moins fréquemment le LSD et/ou ses métabolites.

La synthèse des données de concentrations mesurées dans des affluents de STEPs est présentée dans l'annexe I et les valeurs extrêmes quantifiées (minima et maxima) pour chaque molécule recherchée sont présentées dans la figure 21.

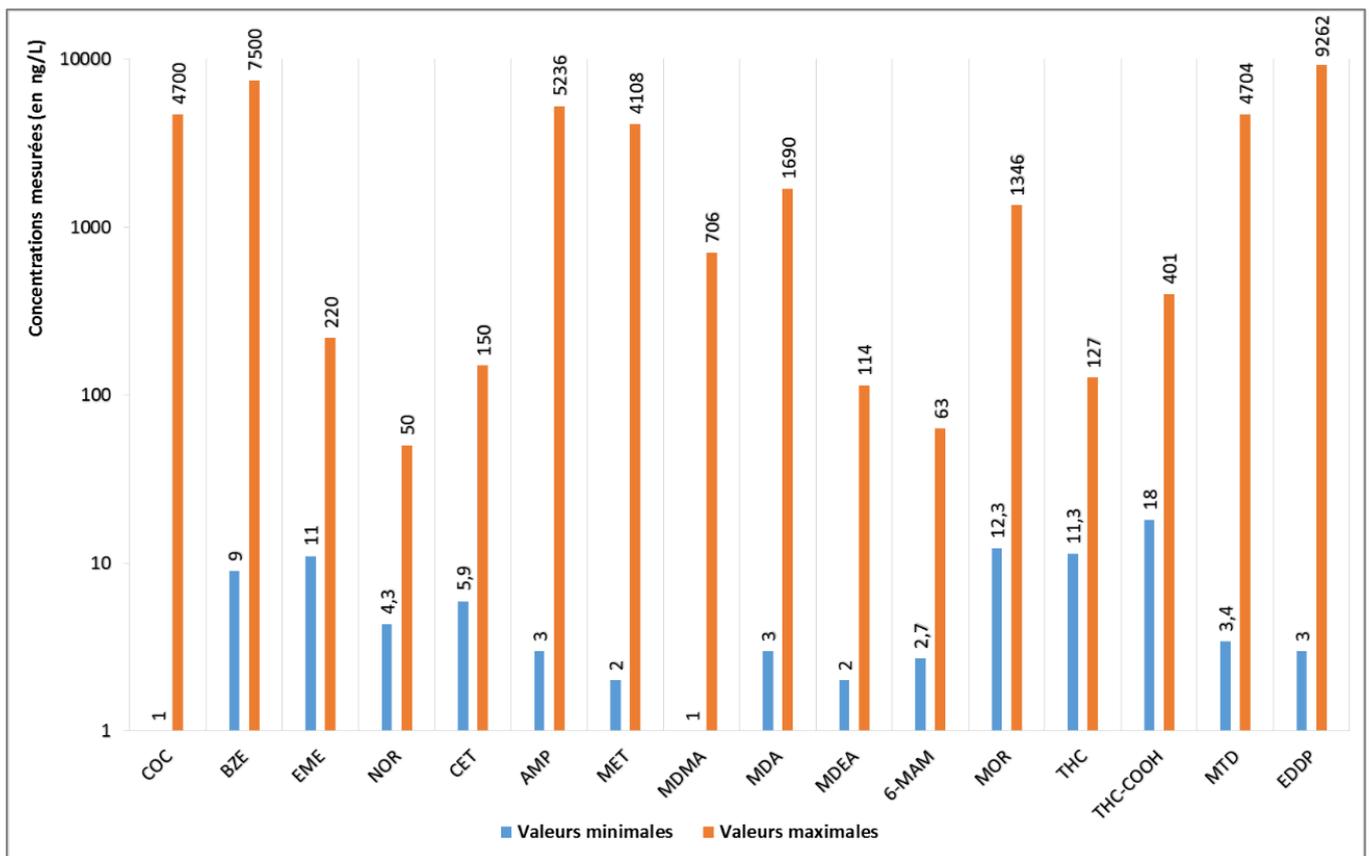


Figure 21 : Synthèse des valeurs minimales (>LQ) et maximales des concentrations de drogues illicites et de leurs métabolites mesurées dans les affluents de STEPs dans les études référencées.

La COC, et surtout la BZE, sont toujours recherchées et, sont les molécules les plus souvent détectées. Leurs concentrations varient respectivement entre 1 et 4 700 ng/L et entre 9 et 7 500 ng/L. Les concentrations les plus élevées décrites pour la COC ont été

mesurées en Espagne (4,7 µg/L), en Italie (1 µg/L) et au Royaume-Uni (526 ng/L) alors que les plus faibles ont été mesurées en France (entre 5 et 282 ng/L) et aux États-Unis (235 ng/L). Les concentrations de BZE sont plus élevées que celles de la COC et ceci s'explique par les données de métabolisation de la COC chez l'Homme (Zuccato *et al.*, 2005) qui est éliminée dans les urines à 45 % sous forme de BZE et 9 % sous forme inchangée. Le ratio des concentrations mesurées COC/BZE est donc de 0,2, une valeur supérieure pouvant indiquer un rejet direct de COC dans l'eau comme cela peut se produire lors d'interventions policières. Les concentrations les plus élevées de BZE ont été mesurées dans les pays où les concentrations de COC étaient les plus importantes à savoir en Espagne (7,5 µg/L), au Royaume-Uni (1,23 µg/L) et en Italie (1,13 µg/L). D'autres métabolites de la COC ont été recherchés comme par exemple la NOR et l'EME avec des valeurs maximales mesurées respectives de 50 ng/L (Chiaia *et al.*, 2008) et 220 ng/L (van Nuijs *et al.*, 2009b).

Concernant les opiacés, les concentrations les plus élevées de MOR ont été décrites en Espagne (1,35 µg/L) et en Suisse (1 µg/L) et la concentration la plus faible a été mesurée à Florence en Italie (12,3 ng/L). La 6-MAM a été peu recherchée et a été détectée dans certaines eaux brutes à des concentrations inférieures à 10 ng/L en Italie et plus élevées en Suisse (38 ng/L) et en Espagne (63 ng/L). Aucune quantité mesurable d'HER n'a été décrite dans les études recensées.

La présence de MET et de MDMA dans les eaux usées a été décrite la première fois aux États-Unis (Jones-Lepp *et al.*, 2004) et des concentrations relativement élevées de méthamphétamine (2 000 ng/L) y ont été mesurées en 2008 par Chiaia *et al.* mais les plus fortes concentrations de MET et de MDMA ont été mesurées en Australie, respectivement 4 108 ng/L et 706 ng/L. Des concentrations plus élevées sont rapportées pour l'AMP, jusqu'à 5,24 µg/L au Royaume-Uni et 1,4 µg/L en Espagne. Cependant, les concentrations mesurées à Cilfynydd (Pays de Galles) (5,24 et 4,3 µg/L) sont très supérieures à celles observées dans d'autres villes du Royaume-Uni et d'après les auteurs (Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008a) ceci pourrait résulter d'un déversement volontaire d'amphétamine dans le réseau d'eaux usées lors d'une intervention de la police.

Dans le groupe des cannabinoïdes, les principales molécules recherchées sont le THC, la molécule psychoactive du cannabis et le THC-COOH, son métabolite principal, ces deux produits étant éliminés en de faibles proportions dans les urines, de l'ordre de quelques %. Le THC n'est pas souvent recherché, seuls Boleda *et al.* décrivent des concentrations allant de 11,3 à 127 ng/L, dans deux études menées respectivement en 2007 et 2009. Le THC-COOH est le métabolite le plus étudié et les concentrations mesurées varient de 18 ng/L (Postigo *et al.*, 2010) à 401 ng/L (González-Mariño *et al.*, 2012).

Parmi les produits de substitution, seuls la MTD et son métabolite principal l'EDDP ont été recherchés, aucune donnée n'étant publiée pour la BUP. Ceci peut s'expliquer par la faible utilisation de cette substance en dehors de la France. Les concentrations de MTD varient dans une très large gamme, de très faibles, 3,4 ng/L en Espagne (Boleda *et al.*, 2009) à très élevées, 4,7 µg/L toujours en Espagne (Postigo *et al.*, 2011). Il en est de même pour les concentrations d'EDDP qui varient de 3,3 ng/L (Boleda *et al.*, 2009) à 9,3 µg/L (Postigo *et al.*, 2011).

La grande variabilité des concentrations, illustrée par la figure 21, rend compte de la disparité des niveaux de rejets de drogues illicites dans les eaux usées. Ceci s'explique d'une part par des différences de consommation entre les villes ou les zones géographiques et, d'autre part, par les variations de débits d'eaux usées lors des prélèvements entraînant des dilutions plus ou moins importantes. Certains auteurs ne fournissent que des données de concentration tandis que d'autres calculent des flux de masses quotidiens.

II.B.1.2. CONCENTRATIONS MESURÉES EN SORTIE DE STEPS

Les traitements des STEPs n'assurant pas une épuration complète des eaux brutes, des concentrations résiduelles de drogues sont retrouvées dans les effluents (Annexe II) et permettent d'évaluer la contamination des milieux récepteurs.

Les concentrations les plus élevées observées pour la COC sont légèrement supérieures à 500 ng/L (Bijlsma *et al.*, 2009 ; Metcalfe *et al.*, 2010) mais les valeurs décrites sont en général proches voire inférieures à 100 ng/L voire inférieures à 10 ng/L (Huerta-Fontela *et al.*, 2008b ; Karolak *et al.*, 2010). Pour Castiglioni *et al.* (2006) et Berset *et al.* (2010), les concentrations en COC sont inférieures à la limite de quantification (LQ). Les concentrations

en BZE sont également plus faibles après le traitement épurateur mais peuvent rester très élevées comme en Espagne ou au Royaume-Uni, où les valeurs maximales décrites sont respectivement de 3,4 (Bijlsma *et al.*, 2009) et 1,6 µg/L (Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008b). Pour cette dernière étude, il est à noter que la concentration de BZE mesurée en sortie de STEP est supérieure à celle mesurée en entrée (1,2 µg/L). Parmi les études publiées, aucune ne mentionne de dosage de l'EME dans les effluents de STEPs.

Les concentrations d'opiacés dans les effluents sont très faibles par rapport aux concentrations dans les eaux brutes, généralement inférieures ou égales à 100 ng/L à l'exception d'une valeur de MOR de 929 ng/L décrite dans une étude suisse (Berset *et al.*, 2010), cette valeur étant à peine inférieure à celle mesurée en entrée de la même STEP (1 007 ng/L). Les valeurs en 6-MAM décrites correspondent souvent à des concentrations inférieures à la LQ, une valeur de 1,8 ng/L, soit très proche des niveaux de LQ, étant rapportée par Terzic *et al.* (2010).

Les concentrations en amphétaminiques sont plutôt faibles (inférieures à 50 ng/L) dans l'ensemble des études à l'exception de mesures réalisées dans certaines villes du nord-est espagnol. Huerta-Fontela *et al.* (2008a) présentent ainsi des valeurs comprises entre 90 et 267 ng/L pour l'AMP, la MET, la MDMA, la MDA et la MDEA. Au Royaume-Uni, Kasprzyk-Hordern *et al.* (2009a) ont mesuré une concentration en amphétamine supérieure à 200 ng/L.

Les concentrations en THC-COOH sont plutôt faibles, inférieures à 40 ng/L, en accord avec des concentrations dans les eaux brutes également faibles, souvent inférieures à 100 ng/L. Une concentration de 71,7 ng/L a été observée en Catalogne où la concentration en entrée était élevée, 402 ng/L.

Les concentrations mesurées dans les effluents pour la MTD (entre 3,4 et 732 ng/L) et son métabolite, l'EDDP (entre 2,7 et 1 150 ng/L), sont peu différentes de celles mesurées dans les eaux brutes.

II.B.1.3. RENDEMENT D'ÉPURATION DES DROGUES ILLICITES ET DE LEURS PRINCIPAUX MÉTABOLITES DANS LES STEPs

L'examen des analyses d'effluents de STEPs conventionnelles montre que les différents traitements physico-chimiques et biologiques mis en œuvre n'éliminent pas totalement l'ensemble des drogues illicites (Valcárcel *et al.*, 2012). Des efforts ont été conduits ces dernières années pour améliorer les traitements et les rendements d'épuration des matières organiques mais il reste de nombreuses améliorations à apporter pour réduire les concentrations en micropolluants organiques et notamment les principes actifs de médicaments. Ceci est étudié avec le développement, en aval des STEPs, de traitements tertiaires visant à éliminer efficacement tous les contaminants organiques avec des combinaisons de processus d'oxydation, de biodégradation et/ou de rétention membranaire.

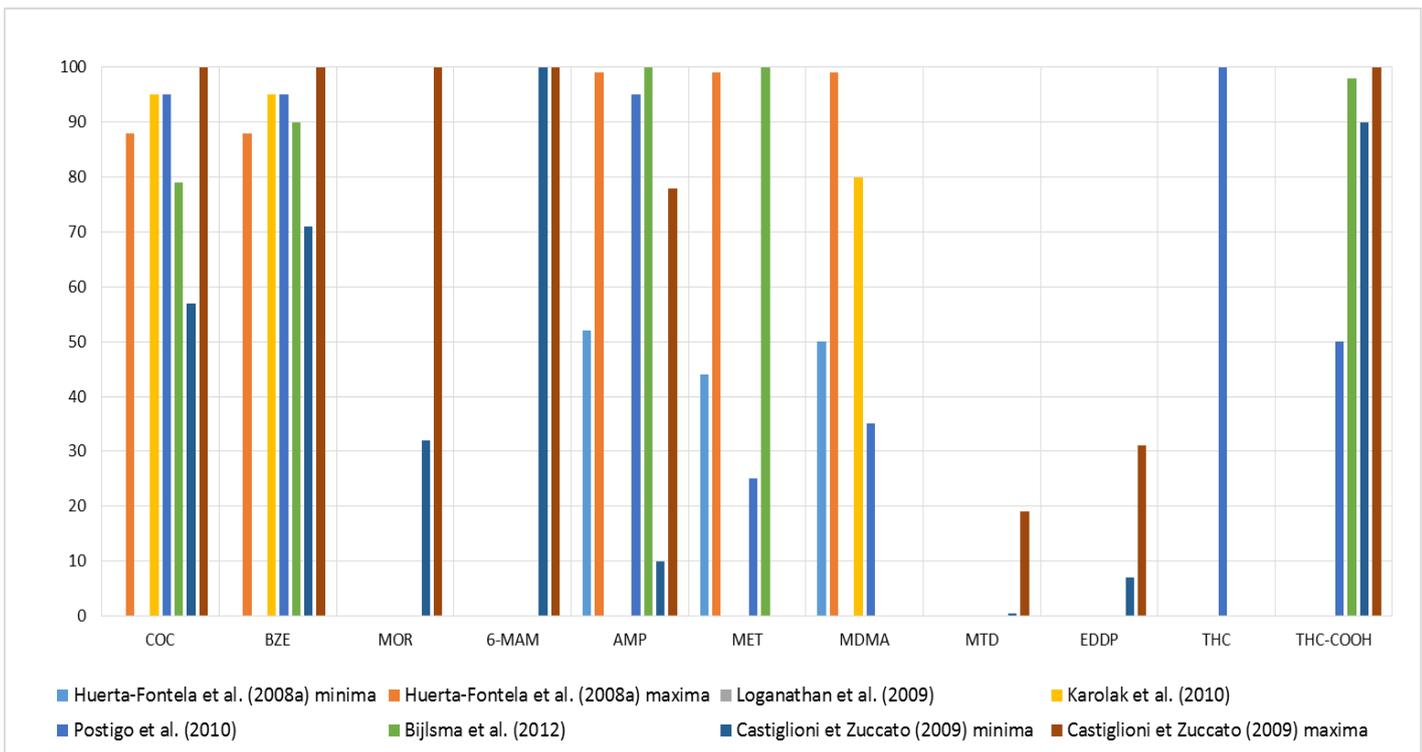


Figure 22 : Synthèse des données de la littérature concernant les pourcentages d'élimination des drogues illicites et des métabolites au sein des STEPs.

L'efficacité des traitements varie selon les molécules et les technologies mises en œuvre et le fonctionnement (exploitation) de ces technologies dans les STEP. (Figure 22):

- Les données publiées montrent en général une bonne capacité des STEP à traiter la COC et ses métabolites dans les eaux : ainsi, avec des boues activées, des rendements supérieurs à 95 % sont observés par Postigo *et al.* (2010) et Karolak *et al.* (2010) et supérieurs à 88 % pour Huerta-Fontela *et al.* (2008a). Karolak *et al.* (2010) décrivent des rendements d'épuration plus faibles après un traitement par biofiltration : 90 et 69 % respectivement pour la COC et la BZE. Ces observations sont confirmées par Kasprzyk-Hordern *et al.* (2009a) qui ne fournissent pas de valeurs mais qualifient l'abattement de ces molécules de « faible » avec des biofiltres et de « très importante » avec des boues activées.
- L'élimination du THC est presque totale d'après la valeur moyenne des rendements d'épuration (100 %) calculée au sein des STEP étudiées par Postigo *et al.* (2010). En revanche, dans cette même étude, la valeur moyenne des rendements d'épuration du THC-COOH n'est que de 50 %. Selon les auteurs, ce manque d'efficacité, déjà relevé dans d'autres études (Boleda *et al.*, 2007 ; Postigo *et al.*, 2008), peut-être dû à la déconjugaison des formes conjuguées durant le traitement. Pourtant, certaines études présentent des valeurs moyennes d'élimination du THC-COOH proches de 100 % (Bijlsma *et al.*, 2012 ; Zuccato et Castiglioni, 2009 ; Karolak *et al.*, 2010).
- Pour les stimulants de synthèse, les rendements sont plus variables. Huerta-Fontela *et al.* (2008a) ont montré que pour l'amphétamine, la méthamphétamine et la MDMA, les pourcentages d'abattement varient respectivement entre 52 % et 99 %, 44 et 99 %, et 50 et 99 % suivant les STEP étudiées alors que les pourcentages d'élimination de la MDA sont toujours supérieurs à 99 %. Postigo *et al.* (2009) décrivent des valeurs moyennes d'abattement également très variables suivant les molécules : 95 % pour l'amphétamine, 35 % pour la MDMA et 25 % pour la méthamphétamine. Karolak *et al.* (2010) observent des valeurs de rendement variables pour la MDMA suivant le type de traitement : 49 % avec un traitement sur biofiltres et 80 % avec des boues activées. Kasprzyk-Hordern *et al.* (2009a) observent que pour

l'amphétamine, l'abattement est « très élevé » quel que soit le type de traitement utilisé.

- La MTD et l'EDDP sont des composés peu recherchés dans les eaux et peu de données existent sur leur épuration par les STEP. Les seules valeurs publiées varient entre 0 % (Bijlsma *et al.*, 2012) et 19 % (Zuccato et Castiglioni, 2009) pour la MTD et entre 19 et 31 % pour l'EDDP (Zuccato et Castiglioni, 2009). Ces composés semblent donc résistants aux traitements que ce soit avec des boues activées suivies ou non de traitement tertiaire ou des biofiltres.

Postigo *et al.* (2009) ont pu établir un lien entre les pourcentages d'élimination et les différents traitements et montrent que la technique des biofiltres est la moins efficace pour éliminer ces molécules. L'efficacité est meilleure avec des traitements classiques à boues activées mais avec des temps de rétention hydrauliques élevés.

Bijlsma *et al.* (2009) sont plus nuancés dans les comparaisons d'abattement entre les molécules et les types de traitement car ils montrent que l'élimination est également fonction des concentrations mesurées en entrée de station. Ainsi, lorsque les concentrations en entrée de STEP sont faibles, les pourcentages d'abattement sont tous supérieurs ou égaux à 99 % pour toutes les molécules étudiées (amphétamine, méthamphétamine, MDMA, MDEA, MDA, cocaïne, benzoylecgonine, cocaéthylène et THC-COOH). À l'inverse, quand les concentrations sont plus élevées, par exemple le weekend dans une grande ville, les pourcentages d'abattement peuvent être inférieurs à 40 % (MDMA : 25 %, benzoylecgonine : 35 %) voire en dessous de 10 % pour la COC.

L'élimination des drogues et de leurs métabolites, comme celle des autres micropolluants organiques semble être fonction des concentrations en entrée de STEP et des temps de rétention hydraulique ainsi que des paramètres de fonctionnement de la STEP : ceci explique les taux d'abattement plus faibles dans les stations utilisant des biofiltrations dont les temps de rétention et la charge de biomasse sont réduits.

Aujourd'hui, même avec l'association de plusieurs technologies, l'élimination est partielle pour l'ensemble des produits. Les STEP n'ont pas un niveau d'efficacité suffisant et la plupart d'entre-elles n'incluent pas encore de traitement tertiaire en raison des coûts

élevés d'installation et de fonctionnement. De ce fait, une certaine quantité de contaminants organiques, dont des résidus de médicaments ou de drogues illicites et de leurs métabolites, est rejetée dans l'environnement et se retrouve dans les eaux de surface voire même dans les eaux potables (Boleda *et al.*, 2009, 2011 ; Pedrouzo *et al.*, 2011 ; Terzic *et al.*, 2010 ; Valcárcel *et al.*, 2012).

II.B.1.4. CONCENTRATIONS DE DROGUES ILLICITES ET DE LEURS MÉTABOLITES MESURÉES DANS LES EAUX DE SURFACE ET SOUTERRAINES

Les teneurs en résidus de drogues dans les eaux de surface sont en général inférieures à 100 ng/L. La BZE est le composé présent aux plus fortes concentrations, les valeurs rapportées variant de 85 ng/L au Royaume-Uni à 316 ng/L en Espagne (Annexe III). La MOR est le second composé le plus souvent détecté avec des concentrations très variables selon le lieu de prélèvement : ainsi, en Espagne, des concentrations de 1,7 et 89 ng/L ont été mesurées respectivement dans le Tage et dans le Sar. Les autres drogues et métabolites sont dosés à des teneurs de l'ordre de quelques dizaines de ng/L, comme le THC dont la concentration la plus élevée a été mesurée en Espagne (24 ng/L) ou l'amphétamine et les stimulants de synthèse dont les concentrations sont toujours inférieures à 20 ng/L.

Des résidus de drogues ont été détectés dans les eaux souterraines : Jurado *et al.* (2012) ont mesuré de la COC, de la MDMA et de la MTD dans les eaux souterraines à Barcelone avec des concentrations le plus souvent inférieures à 10 ng/L et jamais supérieures à 20 ng/L.

II.B.1.5. CONCENTRATIONS DE DROGUES ILLICITES DANS LES EAUX DESTINÉES À LA CONSOMMATION HUMAINE

Très peu d'études ont été réalisées pour rechercher ces molécules directement dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) et seules quelques études espagnoles apportent quelques informations. Huerta-Fontela *et al.* (2008b) ont quantifié la BZE dans 22 échantillons d'EDCH sur 24 avec des concentrations allant de 45 à 130 ng/L. Boleda *et al.* (2009) ont détecté la MTD et l'EDDP dans la quasi-totalité des échantillons d'EDCH avec des concentrations maximales respectives de 2,6 et 4,7 ng/L. Enfin, Valcárcel *et al.* (2012) ont

mesuré une concentration maximale de BZE de 130 ng/L et des concentrations de MTD et d'EDDP de 1,7 et 2,9 ng/L respectivement.

Les différentes études sur l'analyse des résidus de drogues dans les eaux usées montrent des concentrations très différentes selon les pays et selon les villes d'un même pays. Dans les affluents de STEPs, ces différences illustrent les niveaux de consommation de drogues illicites variables entre les pays et/ou les zones urbaines. Les écarts observés dans les effluents de STEPs s'expliquent par des teneurs différentes dans les affluents et par des niveaux d'efficacité des STEPs variables, selon les procédés utilisés. Il en résulte des taux de contamination plus ou moins élevés des milieux récepteurs.

II.B.2. IMPACT ÉCOTOXIQUE

La plupart des données disponibles sur la toxicité de ces molécules concernent la toxicité aiguë chez l'Homme ou sur des modèles animaux comme la souris ou le rat. Il n'existe que peu d'études publiées sur les effets de ces composés sur les espèces aquatiques qui sont susceptibles d'être exposées.

Darland et Dowling (2001) ont montré que la COC présente un effet spécifique sur le comportement du poisson zèbre (*Danio rerio*) : la plus petite concentration induisant un effet observé durant un test de « préférence de place conditionnée » a été déterminée à 5 mg/L. En présence de la COC, les poissons montrent une nage typique en cercles lents et plutôt en profondeur et leur adaptation à l'obscurité est partiellement inhibée.

Kantiani *et al.* (2010) publient des valeurs de concentrations efficaces 50 (CE₅₀)⁴ pour la COC et la MTD, obtenues lors d'essais de toxicité aiguë sur trois espèces différentes (Tableau II) :

- un test d'inhibition de la mobilité sur des daphnies (*Daphnia magna*),
- un test d'inhibition de la croissance sur une algue (*Raphidocelis subcapitata*),
- un test d'inhibition de la bioluminescence de bactéries *Vibrio fischeri* (Microtox®).

⁴ La CE₅₀ représente la concentration d'un composé pour laquelle 50 % de l'effet maximal est observé.

Tableau II : Valeurs de CE₅₀ mesurées pour la COC et la MTD sur deux modèles animaux et un modèle végétal (Kantiani *et al.*, 2010)

CE ₅₀ (mg/L)	<i>Daphnia magna</i>	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	<i>Vibrio fischeri</i>
COC	7,5	0,45	20,5
MTD	6,1	0,17	21,9

Les CE₅₀ varient entre 0,45 et 20,5 mg/L pour la COC et entre 0,17 et 21,9 mg/L pour la MTD suivant les modèles. Ces concentrations sont supérieures aux concentrations environnementales observées pour ces molécules et la CE10 serait importante à obtenir. Il s'agit toutefois d'essais de toxicité aiguë et non chronique ou sub-chronique.

Binelli *et al.* (2012) ont étudié les effets cytotoxiques et génotoxiques de la COC sur un modèle animal, la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) et montré que la COC provoque de manière significative des dommages sur la structure primaire de l'ADN, entraîne une augmentation des cellules micronucléées et peut induire une apoptose même à la plus faible concentration testée (40 ng/L). Ils ont également pu mettre en évidence que la COC diminue la stabilité des membranes lysosomales et provoque un stress oxydatif à l'origine des effets génotoxiques observés.

Pour l'AMP, Lilius *et al.* (1995) et Guilhermino *et al.* (2000) ont déterminé que les concentrations létales 50 (CL₅₀)⁵ sur *Daphnia magna*, après 24 heures d'exposition, variaient de 60,4 à 265,3 mg/L.

Selon Morrow *et al.* (2001), la CE₅₀ pour *Daphnia pulex* exposée à la MOR pendant 24 heures est de 88,3 mg/L.

Concernant le THC, des études sur les embryons de poissons zèbres, exposés pendant 24 heures, ont montré une réduction significative de la contraction spontanée des muscles de la queue et une augmentation du nombre d'embryons morts pour des concentrations supérieures à 2 mg/L. À la concentration de 2 mg/L, aucun de ces effets n'a été observé mais 37 % des individus développés présentaient des anomalies de la colonne vertébrale (colonne courbe, queue déformée). Les concentrations inférieures à 2 mg/L n'induisent aucun effet

⁵ La CL₅₀ est la concentration qui provoque 50 % de mortalité dans la population d'organismes étudiée, pendant un temps donné, par administration unique.

d'après Thomas (1975). D'autre part les CL_{50} du THC évaluées pour la truite arc-en-ciel (*Onchorhynchus mykiss*) sur 96 heures et pour la carpe (*Cyprinus carpio*) pendant 48 heures sont respectivement de 19 et 36 mg/L. La CE_{50} chez *Daphnia magna* pour une exposition de 48 heures est de 24,5 mg/L (Cerilliant, *Material Safety Data Sheet*).

Les plus faibles CE_{50} ont été observées pour la COC et la MTD pour un essai d'inhibition de la croissance sur une espèce végétale (*Raphidocelis subcapitata*) et sont supérieures à 150 $\mu\text{g/L}$ soit des valeurs très supérieures aux concentrations mesurées dans les effluents de STEPs et dans les eaux de surface. Les composés étudiés ne présentent donc pas de toxicité aiguë aux concentrations environnementales suivant les essais effectués.

II.B.3. ÉPIDÉMIOLOGIE DES EAUX USÉES

II.B.3.1. INTRODUCTION

Les pays qui veulent observer et évaluer les tendances et les usages des consommateurs de produits stupéfiants cherchent à préciser la prévalence des consommations qui renseigne sur le pourcentage d'utilisateurs estimés dans une population durant une période donnée et permet ainsi de suivre les évolutions des consommations. La prévalence est calculée à partir des résultats d'enquêtes de populations réalisées à plus ou moins grande échelle, des chiffres d'arrestations et de saisies de la police et des cas recensés dans les hôpitaux (hospitalisation, décès). Les enquêtes de population sont difficiles à mettre en place, coûteuses et longues à réaliser et, par conséquent, ne sont effectuées que périodiquement. De plus, la collecte des résultats, le traitement et les analyses statistiques des données recueillies prennent du temps ce qui se traduit par des données de consommation publiées un à deux ans après l'enquête. Par exemple, dans son rapport national publié en 2012, l'Observatoire Français des Drogues et Toxicomanies (OFDT), fournit les estimations du nombre de consommateurs de drogues illicites en France métropolitaine pour l'année 2010 grâce aux résultats des enquêtes effectuées entre 2006 et 2010 (INPES, 2010 ; OFDT, 2007, 2008 ; Rectorat de Toulouse, 2006). Ces mêmes estimations sont fournies dans le rapport national de 2011 (OFDT). Cet intervalle de temps très important entre la collecte des

données et la publication des résultats entraîne un décalage entre les estimations et la réalité pour un domaine qui subit des évolutions rapides et nécessite des réponses rapides sur le terrain.

Par ailleurs, les estimations de prévalence ne sont établies, en France, que sur un nombre restreint de drogues illicites et ne concernent que l'expérimentation d'un stupéfiant : cannabis, cocaïne, héroïne et MDMA et les estimations des usages réguliers et quotidiens ne sont fournies que pour le cannabis alors que ce sont les usages des autres drogues qui sont en général les plus problématiques.

Enfin, bien que le nombre de personnes interrogées soit parfois élevé, les enquêtes de population ne permettent pas d'obtenir le témoignage de tous les individus sur un territoire donné. De plus, les individus interrogés ne sont pas soumis à une obligation de déclarer la réalité de leur consommation ce qui confère à ces études un niveau d'incertitude que les études statistiques ne peuvent qu'en partie compenser.

Le besoin d'une source d'information objective et réactive, permettant d'obtenir des données immédiates, a suscité le développement de nouveaux outils d'estimation des consommations qui soient plus proches de la réalité du terrain. C'est dans cette optique que Daughton (2001) puis Zuccato *et al.* (2005) ont développé la méthode appelée « épidémiologie des eaux usées » qui consiste à estimer la consommation de drogues illicites à partir des quantités de résidus de drogues ou de leurs métabolites mesurées dans les eaux usées. Comme cette méthode est appliquée sur des prélèvements d'eaux usées réalisés en entrée de STEPs, les mesures concernent une zone géographique limitée ce qui permet d'obtenir des informations qualitatives et quantitatives locales beaucoup plus précises que les estimations nationales. Les résultats sont obtenus rapidement, les analyses chimiques et le traitement des données étant effectués en quelques jours. Ainsi le suivi des consommations est plus rapide, plus localisé et moins coûteux que les enquêtes de population.

II.B.3.2. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les consommations de drogues sont estimées à partir des concentrations de résidus mesurées dans les eaux brutes en tenant compte de plusieurs paramètres : le métabolisme

et le taux d'élimination de la drogue ou de son métabolite, le volume d'eau journalier à l'entrée de la STEP et le nombre d'habitants raccordés à la STEP (Figure 23).

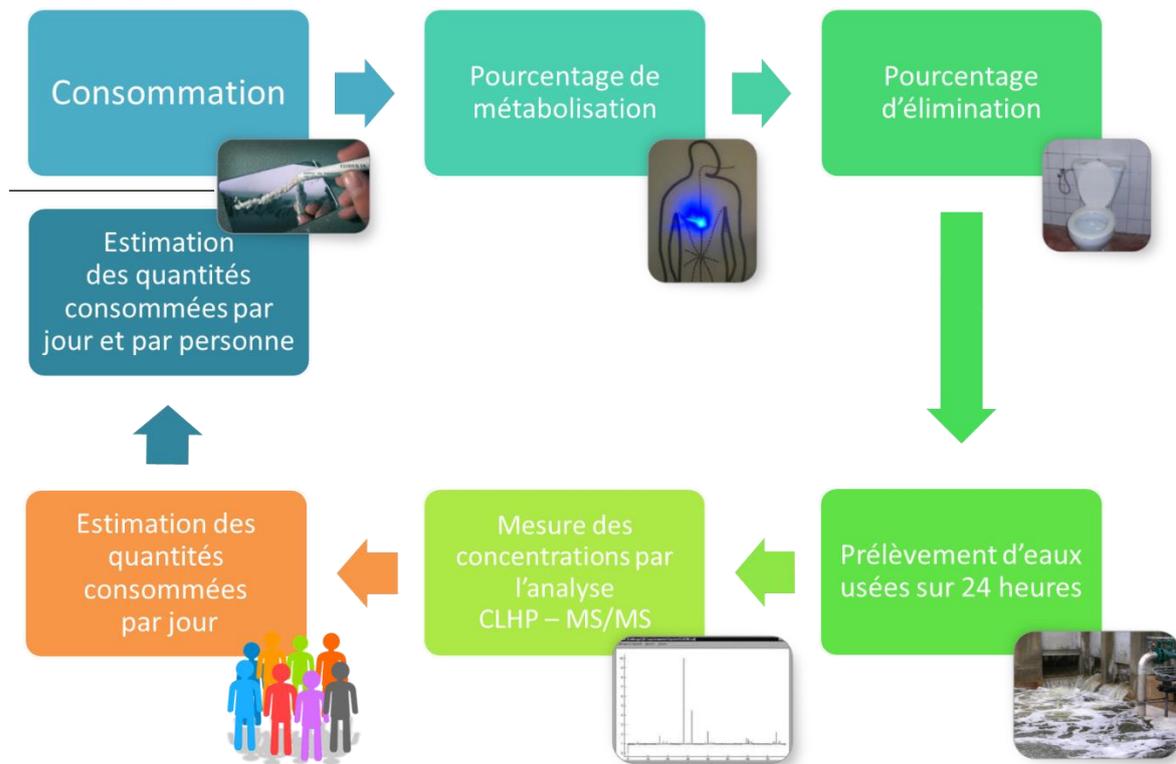


Figure 23 : Schéma du principe de l'« épidémiologie des eaux usées »

Les consommations sont estimées par un calcul « en retour » selon l'équation publiée par Zuccato *et al.* (2008) :

$$\text{Équation 1 : } Q_{\text{conso}} = \frac{C_{24h} \times V_{24h}}{U_{\text{ex}}} \times M_{\text{ratio}} \times 1000/N_{\text{habitants}}$$

où :

- Q_{conso} : quantité consommée durant 24 heures,
- C_{24h} : concentration mesurée pour le traceur (drogue ou son métabolite),
- V_{24h} : volume d'eau qui s'est écoulé au point de prélèvement pendant les 24 heures de prélèvement,
- U_{ex} : pourcentage d'excrétion du traceur,
- M_{ratio} : rapport des masses moléculaires de la drogue et du traceur (égal à 1 lorsque le calcul est réalisé à partir de la drogue),
- $N_{\text{habitants}}$: nombre d'habitants raccordés à la STEP.

Les traceurs sont soit la molécule psychoactive libérée par la drogue soit un métabolite lorsqu'il est excrété dans des proportions plus importantes que la molécule mère ou s'il présente une plus grande stabilité dans l'eau (Tableau III).

Tableau III : Traceurs et pourcentages d'élimination urinaire (U_{ex}) utilisés pour estimer les consommations de cocaïne, MDMA, amphétamine, cannabis, héroïne et méthadone.

Drogues	Traceurs métaboliques pour le calcul de la consommation	U_{ex} moyens sélectionnés (%)
Cocaïne	Benzoylecgonine	45
MDMA	MDMA	65
Amphétamine	Amphétamine	30
Méthamphétamine	Méthamphétamine	43
THC (cannabis)	THC-COOH	0,6 / 2,5
Héroïne	Héroïne	1,3
	Morphine	42
Méthadone	EDDP	23 / 31

Pour tous les stimulants de synthèse, MDMA, AMP, MET, les traceurs sont les drogues elles-mêmes, avec des pourcentages d'élimination respectifs de 65, 30 et 43 %.

Le traceur utilisé pour la COC est son métabolite principal, la BZE avec un pourcentage d'élimination de 45 %. L'EME, excrétée dans des proportions semblables à celles de la BZE (40 %) pourrait potentiellement être utilisée comme traceur de la COC mais une étude a montré que ce métabolite était moins stable que la BZE dans l'eau (van Nuijs *et al.*, 2012a).

La molécule active du cannabis, le THC, et son métabolite, le THC-COOH, sont éliminés à l'état de traces (<1 %) mais c'est ce dernier qui est habituellement utilisé pour le calcul de la consommation de cannabis avec un pourcentage d'élimination de 0,6 % (Zuccato *et al.*, 2008b ; Terzic *et al.*, 2010) ou 2,5 % (Postigo *et al.*, 2011).

Concernant les opiacés, l'HER est métabolisée et éliminée principalement sous forme de MOR mais il est difficile d'évaluer la consommation d'héroïne à partir des concentrations mesurées de MOR compte tenu de son utilisation thérapeutique. Il existe un métabolite intermédiaire, la 6-MAM, qui peut être utilisé comme traceur de la consommation d'HER mais ce métabolite est éliminé au taux très faible de 1,3 % dans les urines (Baselt, 2004). Postigo *et al.* (2011) utilisent la 6-MAM alors que Zuccato *et al.* (2008b) préfèrent utiliser les concentrations de MOR avec un pourcentage d'excrétion de 42 % et soustraire ensuite de

l'estimation une fraction correspondant à l'usage thérapeutique, basée sur la consommation nationale annuelle de morphine thérapeutique.

Pour la MTD, plusieurs approches sont décrites : soit l'utilisation de la MTD (Postigo *et al.*, 2011) avec un pourcentage d'excrétion de 27,5 %, soit l'utilisation de l'EDDP avec un pourcentage d'excrétion de 23 % (van Nuijs *et al.*, 2011c) ou de 31 % (Terzic *et al.*, 2010).

De manière générale, la consommation est exprimée en quantité par jour rapportée à 1 000 habitants. Cependant, certains auteurs (Zuccato *et al.*, 2008a ; Boleda *et al.*, 2009 ; Huerta-Fontela *et al.*, 2008b ; Thomas *et al.*, 2012 ; Irvine *et al.*, 2011 ; Mari *et al.*, 2009 ; Castiglioni *et al.*, 2011 ; van Nuijs *et al.*, 2012b ; Kasprzyk-Hordern et Baker, 2012a ; Bijlsma *et al.*, 2012) préfèrent calculer les flux quotidiens de drogues ou de métabolites exprimés en g/jour (équation 2) ou en mg/jour/1 000 hab. (équation 3), sans remonter aux quantités consommées.

Équation 2 :

$$Q_{\text{élim}} = C_{\text{jour}} \times V_{\text{jour}}$$

Équation 3 :

$$Q_{\text{élim}} = C_{\text{jour}} \times V_{\text{jour}} \times 1000/N_{\text{habitants}}$$

Enfin, certains auteurs expriment leur résultat par rapport à une fraction définie de la population en fonction d'une tranche d'âge, de la même façon que sont présentées les statistiques dans les rapports de l'EMCDDA (Zuccato *et al.*, 2005).

Pour lier la consommation de drogues à la population, il est indispensable de connaître, avec un maximum de précision, la taille de la population de la zone de collecte de la STEP étudiée. Différents modèles existent :

- le recensement : il existe parfois des données récentes sur la taille de la population de la (des) ville(s) raccordée(s) à la STEP. Il faut également que le réseau d'égouts soit bien délimité et connu. Le recensement est très rarement employé car les conditions évoquées sont rarement remplies.
- la capacité nominale qui est le volume d'eau pouvant être traité, évalué au moment de la conception de la STEP en admettant qu'un habitant consomme en moyenne 150 L d'eau par jour. C'est la notion d'équivalent-habitants raccordés à la STEP.

- des paramètres hydrochimiques : la demande biologique en oxygène pendant 5 jours (DBO₅), la demande chimique en oxygène (DCO), l'azote global (N_{gl}) et/ou le phosphore total (P_{tot}). La directive européenne du 21 mai 1991 définit l'équivalent-habitant comme la charge organique biodégradable présentant une valeur de DBO₅ de 60 g(O₂)/jour. D'autre part, Andreottola *et al.* (1994) estiment qu'un équivalent-habitant correspond à une DCO de 120 g(O₂)/jour, à une teneur en N_{gl} de 10 g/jour et à une teneur en P_{tot} de 1,7 g/jour.

II.B.3.3. COMPARAISON ENTRE LES DIFFÉRENTES ÉTUDES PUBLIÉES DE 2005 À 2012

Une synthèse des données de consommation estimées est présentée dans l'annexe IV. Bien qu'il soit difficile de comparer entre-elles des valeurs n'ayant pas les mêmes unités, il est possible de comparer par groupe : celles qui ne sont pas rapportées à la population, et celles qui le sont, que ce soit pour les flux de drogues en entrée de STEP ou les quantités consommées calculées.

II.B.3.3.1. Premières études publiées

La première étude utilisant la méthode de l'« épidémiologie des eaux usées » a été menée par Zuccato *et al.* (2005), qui ont estimé la consommation de cocaïne dans 4 villes italiennes entre 210 et 730 mg/jour/1 000 hab. Deux ans plus tard, Bones *et al.* (2007) réalisent une étude similaire dans 4 villes des États-Unis et estiment une consommation de cocaïne variant de 180 à 1 440 mg/jour/1 000 hab., soit une valeur maximale deux fois supérieure à la plus forte valeur référencée dans l'étude italienne. Compte tenu des variations saisonnières ou journalières, il est important que les prélèvements aient lieu au même moment pour pouvoir comparer les consommations dans plusieurs villes. Zuccato *et al.* (2011) ont suivi l'évolution de la consommation de cocaïne à Milan en prélevant au même endroit et à peu près à la même période durant plusieurs années : ils ont ainsi observé une diminution de 50 % entre 2005 et 2009, les quantités journalières de cocaïne mesurées dans les eaux brutes diminuant de 1 250 g/jour à 600 g/jour.

II.B.3.3.2. Études réalisées aux niveaux national et international

En Espagne, Huerta-Fontela *et al.* (2008a) estiment une consommation de cocaïne de 5 410 mg/jour/1 000 hab. Cette valeur est deux fois plus élevée que les estimations réalisées selon la même méthode pour Anvers (2 g/jour/1 000 hab.), Amsterdam (1 700 mg/jour/1 000 hab.) ou Eindhoven (1 250 mg/jour/1 000 hab.) (Thomas *et al.*, 2012).

En France, une première étude menée au sein de notre laboratoire en 2009 (Karolak *et al.*, 2010) a permis d'estimer une consommation de cocaïne variant de 110 à 973 mg/jour/1 000 hab., la valeur la plus élevée ayant été relevée durant la Fête de la Musique, un événement festif propice à la consommation de stupéfiants. Les valeurs les plus faibles de consommation de cocaïne ont été calculées dans les pays du nord (Suède, Norvège) et de l'est de l'Europe (Croatie), autour de 200 mg/jour/1 000 hab. Dans des pays voisins, la Finlande et la République Tchèque, la COC et ses métabolites n'ont jamais été détectés lors d'une campagne de mesure réalisée en 2011 (Thomas *et al.*, 2012) (Figure 24).

Les flux journaliers d'AMP les plus élevés, 3 040 mg/jour/1 000 hab., ont été mesurés aux Pays-Bas, à Eindhoven en 2011 (Thomas *et al.*, 2012) et en Espagne jusqu'à 467 mg/jour/1 000 hab. en 2007 (Huerta-Fontela *et al.*, 2008a). C'est en Australie que l'estimation de consommation d'AMP la plus élevée a été calculée avec une valeur de 360 mg/jour/1 000 hab. (Lai *et al.*, 2011). Les plus fortes consommations de méthamphétamine ont été estimées en Australie, 345 mg/jour/1 000 hab. (Lai *et al.*, 2011), et en Europe du Nord et de l'Est, comme à Helsinki (350 mg/jour/1 000 hab.) ou Turku (300 mg/jour/1 000 hab.) en Finlande, Oslo (250 mg/jour/1 000 hab.) en Norvège et Budweis (180 mg/jour/1 000 hab.) en République Tchèque (Thomas *et al.*, 2012).

Il existe peu de données sur la consommation d'HER estimée par cette méthode : van Nuijs *et al.* (2011c) ont calculé une consommation moyenne d'HER en Belgique de 415 mg/jour/1 000 hab., valeur très supérieure à celles estimées en Italie, 20 g/jour/1 000 hab. (Zuccato *et al.*, 2008b) ou en Espagne, 100 mg/jour/1 000 hab. (Postigo *et al.*, 2009).

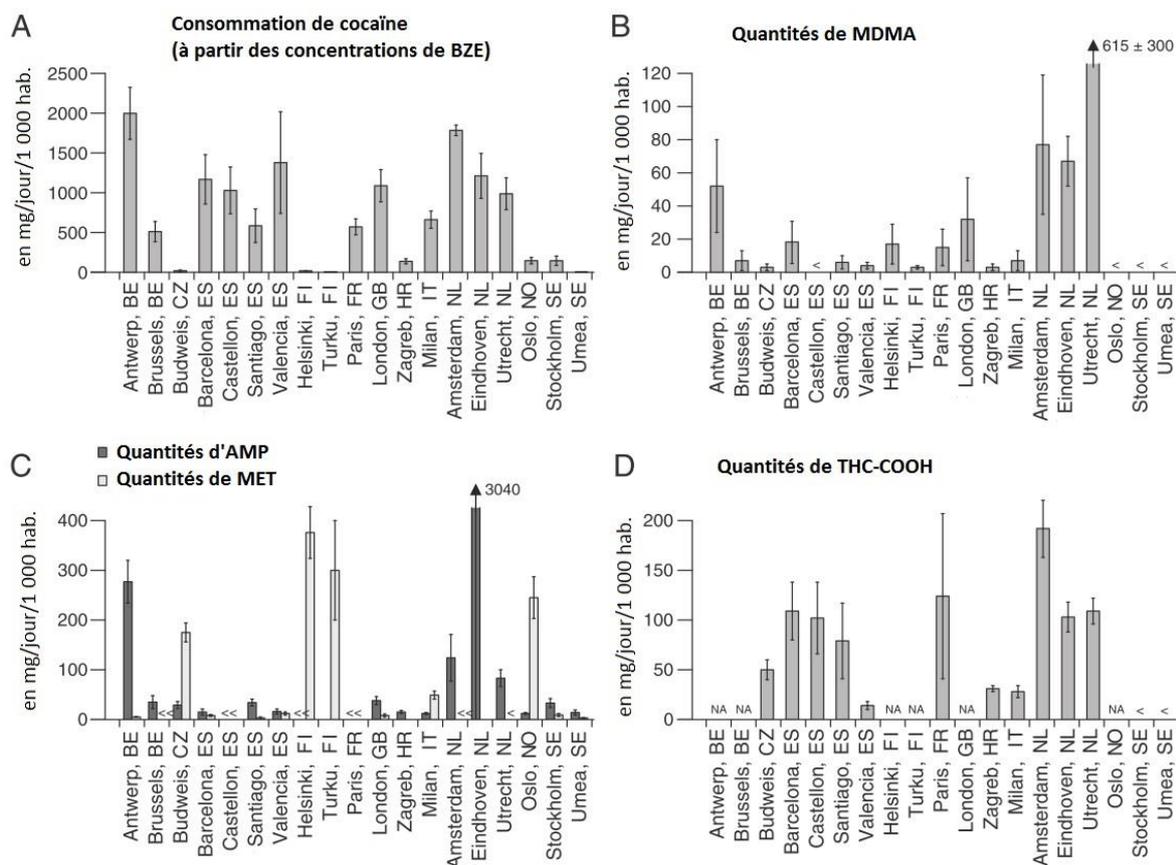


Figure 24 : Étude SCORE (Thomas *et al.*, 2012).

A – Moyennes des estimations de consommation de cocaïne calculées à partir des concentrations de BZE mesurées dans les affluents de STEPs, B – Quantités de MDMA rejetées dans les affluents de STEPs, C – Quantités d'AMP et de MET rejetées dans les affluents de STEPs, D – Quantités de THC-COOH rejetées dans les affluents de STEPs, dans 19 zones urbaines européennes pendant 1 semaine en mars 2011 (moyenne ± SEM, n=7).

La consommation de THC, molécule psychoactive, au travers de la consommation de cannabis n'est pas souvent calculée par cette méthode alors que de nombreuses études décrivent des concentrations de THC et de THC-COOH dans les eaux usées. Cela s'explique par l'absence de métabolite majoritaire, les très faibles pourcentages d'élimination du THC et du THC-COOH entraînant des incertitudes importantes sur les calculs de consommation. Zuccato *et al.* (2011) montrent que les quantités de THC-COOH retrouvées dans les eaux usées de Milan varie de 2,8 à 4 g/jour pour une période d'étude comprise entre 2005 et 2009. Les valeurs rapportées par les autres études sont comprises entre 32 et 102 mg/jour/1 000 hab. en Italie (Zuccato *et al.*, 2008a), proches de 50 mg/jour/1 000 hab. en Espagne (Boleda *et al.*, 2009) et varient de 20 à 180 mg/jour/1 000 hab. dans une étude menée

simultanément dans plusieurs pays européens (Thomas *et al.*, 2012). En appliquant la formule de Zuccato *et al.* (2008b) avec un pourcentage d'élimination du THC-COOH de 0,6 % pour les quantités précédemment citées, la consommation de cannabis varie entre 3 et 27 g/jour/1 000 hab., la valeur la plus faible étant obtenue à Valence en Espagne et la plus forte à Amsterdam. Cette valeur très élevée peut probablement s'expliquer par la politique de légalisation du cannabis au Pays-Bas et peut être attribuée à la fois à la consommation des habitants de la ville mais également à celle des nombreux touristes qui se rendent à Amsterdam pour consommer du cannabis.

II.B.3.3.3. Mise en évidence des variations temporelles

Huerta-Fontela *et al.* (2007) ont dosé les drogues et leurs métabolites dans les eaux usées en entrée d'une STEP et ont montré que les concentrations de COC et de ses métabolites ne variaient pas significativement durant les jours ouvrés de la semaine (en moyenne 270 ng/L pour la cocaïne et 2,6 µg/L pour la BZE) mais atteignaient un maximum le dimanche : 305 ng/L et 3,9 µg/L respectivement pour la COC et la BZE. Ces auteurs mettent aussi en évidence un effet weekend de la consommation d'amphétamine et de MDMA dont les concentrations augmentent entre semaine et dimanche, d'un facteur proche de trois pour l'AMP et d'un facteur proche de deux pour la MDMA. Un « effet week-end » pour ce type de drogues a également été mis en évidence dans de nombreuses autres études (Bijlsma *et al.*, 2009 ; Lai *et al.*, 2011 ; Mathieu *et al.*, 2011 ; Terzic *et al.*, 2010 ; van Nuijs *et al.*, 2011c). Une campagne hebdomadaire, effectuée à Paris entre le 10 et le 16 juillet 2009 (Karolak *et al.*, 2010), a montré l'augmentation des quantités de COC et de MDMA consommées pendant le weekend ainsi qu'une augmentation le 14 juillet, jour férié précédé la veille au soir de nombreux événements festifs sur la capitale (Figure 25).

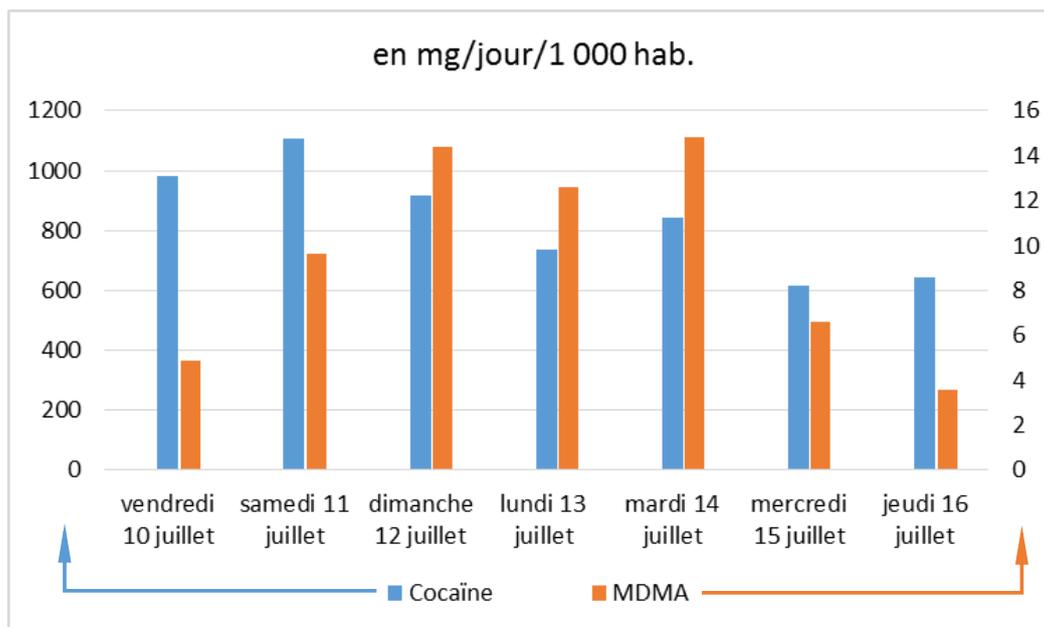


Figure 25 : Quantités consommées estimées de cocaïne et de MDMA en région parisienne entre le 10 et le 16 juillet 2009.

L'analyse des résidus de drogues illicites dans les eaux usées permet de remonter aux quantités de drogues consommées sur une période donnée dans une zone géographique définie. Les différentes études montrent qu'il y a bien une corrélation entre les consommations et ce qui est mesuré dans les eaux usées, illustrée par l'« effet weekend ». Les différences entre les concentrations de drogues ou métabolites, mesurées dans les eaux usées dans des pays présentant des prévalences de consommations de ces drogues plus ou moins élevées, permettent de valider cette méthode comme un outil très intéressant pour le suivi des consommations.

II.B.4. PROTOCOLES D'ANALYSE DES RÉSIDUS DE DROGUES ILLICITES DANS LES EAUX

II.B.4.1. PROTOCOLE D'ÉCHANTILLONNAGE

II.B.4.1.1. Prélèvements en entrée et sortie de STEPs

La caractéristique essentielle d'un prélèvement est sa représentativité et ce paramètre est d'autant plus important que les analyses sont faites pour évaluer l'efficacité des systèmes d'épuration ou évaluer la consommation de substances illicites. Dans ce contexte, le prélèvement ponctuel n'est pas du tout représentatif des flux de molécules et doit être proscrit.

Dans la plupart des études, les échantillonnages dans les STEPs s'effectuent, en entrée et/ou en sortie de station, sous forme de prélèvements moyennés au cours d'une période de 24 heures. Les prélèvements de ce type nécessitent l'emploi de préleveurs automatiques qui peuvent être réglés pour réaliser des prélèvements moyennés asservis au temps (Zuccato *et al.*, 2005 ; Castiglioni *et al.*, 2006 ; Huerta-Fontela *et al.*, 2008b ; Postigo *et al.*, 2009 ; Boleda *et al.*, 2009), asservis au débit (Chiaia *et al.*, 2008 ; Berset *et al.*, 2010 ; van Nuijs *et al.*, 2009 ; Terzic *et al.*, 2010 ; Karolak *et al.*, 2010 ; Irvine *et al.*, 2011 ; Lai *et al.*, 2011), ou dépendant d'une fraction volumétrique, par exemple un prélèvement de 100 mL tous les 1000 m³ (van Nuijs *et al.*, 2011). Cependant, la modalité d'échantillonnage n'est pas toujours précisée (Boleda *et al.*, 2007 ; Mari *et al.*, 2009 ; Pedrouzo *et al.*, 2011) et certains auteurs réalisent des prélèvements ponctuels malgré le manque de représentativité (Hummel *et al.*, 2006; Bones *et al.*, 2007; Loganathan *et al.*, 2009; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2010). Une alternative au prélèvement d'un échantillon d'eau est l'utilisation d'intégrateurs passifs de type POCIS (*Polar-Organic-Chemical-Integrative Sampler*) placés *in situ* (Jones-Lepp *et al.*, 2004 ; Bartelt-Hunt *et al.*, 2009). Ces dispositifs se composent d'une résine adsorbante disposée entre deux membranes poreuses maintenues par deux cerclages en inox. Les molécules sont adsorbées sur la phase selon une cinétique définie permettant de déduire la concentration moyenne en produit dans le milieu où les POCIS ont été immergés (Bailly, 2013).

Ort *et al.* (2010) estiment et comparent les incertitudes liées aux différents modes de prélèvement d'échantillons d'eaux usées (Figure 26) : les prélèvements moyennés asservis

au temps (*time-proportional*) ne tiennent pas compte des fluctuations de débit et ne reflètent pas l'augmentation des quantités de molécules émises au moment où les flux sont les plus importants. Les prélèvements réalisés avec une fréquence fonction d'un volume d'eau usée écoulé (*volume-proportional*) seront d'autant moins espacés que le débit sera rapide et inversement induisant un risque de ne pas prélever suffisamment quand le débit est lent et à un moment de rejet important des substances. Les auteurs concluent que le protocole permettant de prélever un volume proportionnel au débit selon un intervalle de temps constant (*flow-proportional*) est le modèle le plus représentatif, avec une incertitude estimée à 5 %.

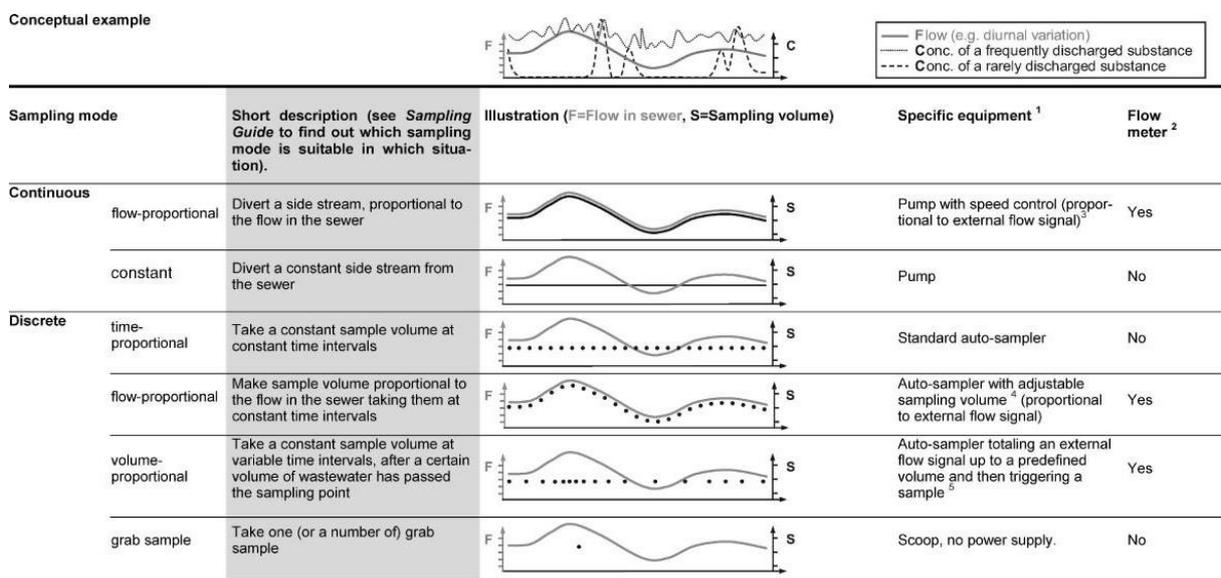


Figure 26 : Schématisation et description des différents modes de prélèvements des eaux (Ort *et al.*, 2010).

II.B.4.1.2. Prélèvements d'eaux de surface

C'est la méthode du prélèvement ponctuel qui est généralement citée dans la littérature pour réaliser des échantillonnages dans les eaux de surface. Cette méthode ne permet pas d'obtenir des échantillons représentatifs des quantités de contaminants qui circulent dans ces eaux. Ils ne reflètent qu'une situation à l'instant du prélèvement et à un endroit précis du lieu de prélèvement qui doit, de préférence, être au centre du cours d'eau et non sur le bord des rives où les débits sont réduits.

II.B.4.2. CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

La dégradation des molécules durant l'échantillonnage, notamment lorsqu'il est prévu sur plusieurs heures, et durant la conservation de l'échantillon avant analyse doit être maîtrisée afin d'assurer la fiabilité des résultats. Le maintien de la chaîne du froid pendant le prélèvement et le transport permet de limiter la dégradation des molécules et le délai de traitement de l'échantillon doit être le plus court possible. Dans la majorité des études, les prélèvements sont stockés à 4°C pour une durée n'excédant pas trois jours (Berset *et al.*, 2010 ; Boleda *et al.*, 2007 ; Boleda *et al.*, 2009 ; Castiglioni *et al.*, 2006 ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008 ; Mari *et al.*, 2009 ; Zuccato *et al.*, 2005) voire 24 heures (Huerta-Fontela *et al.*, 2008b ; Hummel *et al.*, 2006 ; Karolak *et al.*, 2010 ; Pedrouzo *et al.*, 2011). Certains auteurs congèlent les échantillons à -20°C pour bloquer les processus de biodégradation (Bijlsma *et al.*, 2009 ; Chiaia *et al.*, 2008 ; Postigo *et al.*, 2008 ; Lai *et al.*, 2011 ; Loganathan *et al.*, 2009 ; van Nuijs *et al.*, 2009a).

L'acidification des échantillons à pH 2 ou 3 permet également d'inhiber l'activité bactérienne (Pedrouzo *et al.*, 2011, Gheorghe *et al.*, 2008; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008; Lai *et al.*, 2011; van Nuijs *et al.*, 2009a; van Nuijs *et al.*, 2011).

Des études de dégradation des résidus de drogues illicites et de leurs métabolites suivant différents paramètres (température, pH) ont pu mettre en évidence la diminution ou l'augmentation de certaines molécules dans la matrice eau usée. Les différents résultats sont présentés dans l'annexe V et la figure 27.

Dans des conditions similaires d'expérimentation, les résultats de dégradation obtenus peuvent être très différents. Dans des eaux usées, à un pH compris entre 7,4 et 7,5, une température comprise entre 19 et 23°C et pendant une période de 12 heures, la COC est dégradée à des pourcentages compris entre 8 % (Baker *et al.*, 2011) et 50 % (Bisceglia *et al.*, 2010). Ces différences sont encore plus marquées avec l'AMP car, toujours dans ces conditions, Bisceglia *et al.* (2010) montrent une dégradation de 15 % alors que Baker *et al.* (2011) observent une augmentation de 47 %. De même, le pourcentage de dégradation de l'EME est compris entre 20 % (van Nuijs *et al.*, 2012a) et 40 % (Bisceglia *et al.*, 2010).

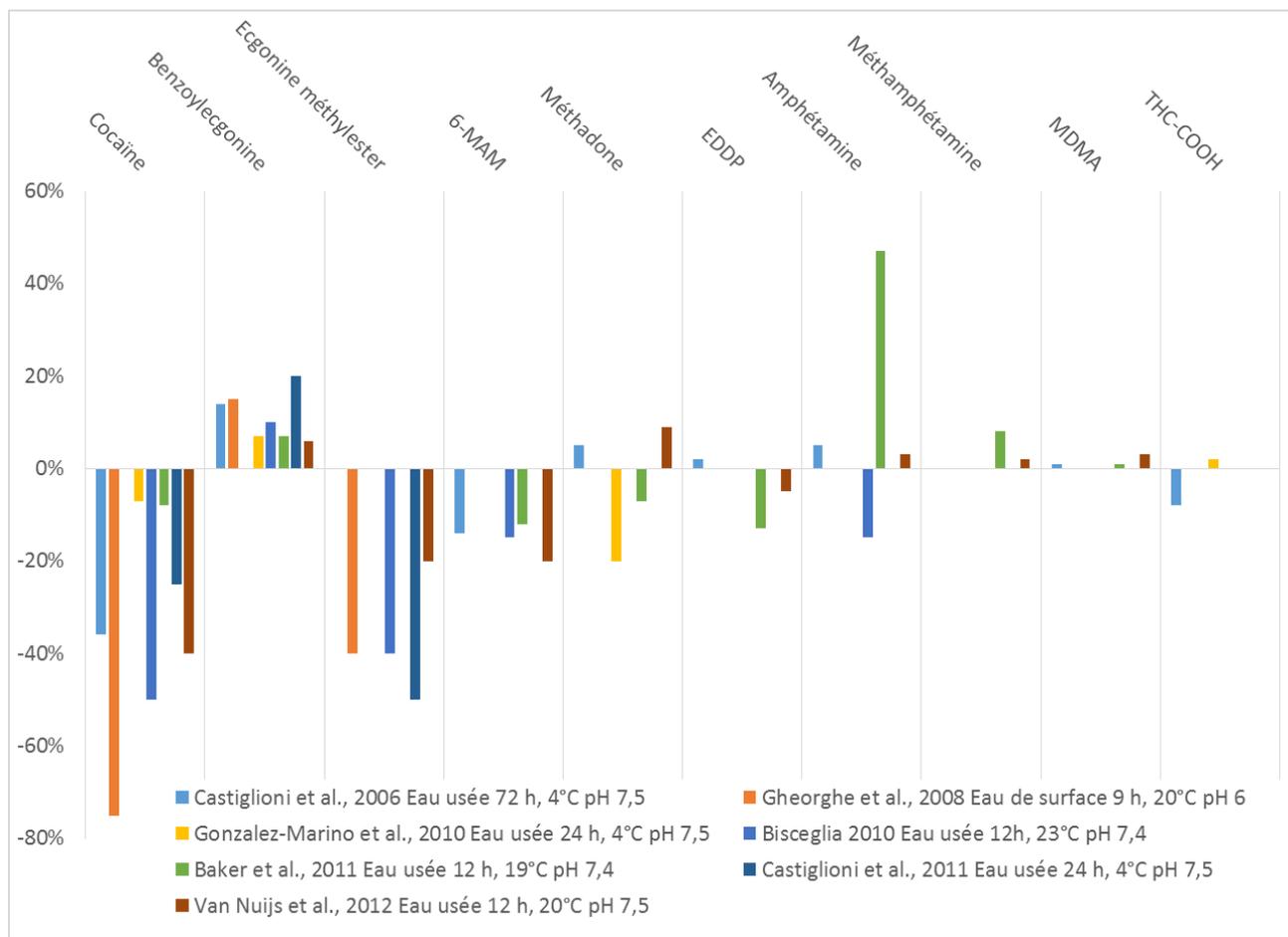


Figure 27 : Pourcentages de dégradation des molécules selon les modes de conservation des échantillons prélevés relevés dans différentes études.

À l'inverse, ces mêmes études présentent des profils de dégradation similaires, pour la BZE, la MET, la MDMA et la 6-MAM. Une légère augmentation de la BZE comprise entre 6 % (van Nuijs *et al.*, 2012a) et 10 % (Bisceglia *et al.*, 2010) est observée en rapport avec la dégradation de la COC. La MET et la MDMA sont stables et une légère augmentation de la concentration de MET (8 %) est même rapportée par Baker *et al.* (2011). La dégradation de la 6-MAM est faible, comprise entre 12 % (Baker *et al.*, 2011) et 20 % (van Nuijs *et al.*, 2012a).

Dans les mêmes conditions de pH mais à une température de 4°C, la dégradation de la COC varie entre 7 % (González-Mariño *et al.*, 2010) et 25 % (Castiglioni *et al.*, 2011) sur 24 heures et jusqu'à 36 % après 72 heures (Castiglioni *et al.*, 2006). Les concentrations en BZE augmentent dans des pourcentages compris entre 7 et 20 % sur 24 heures et 14 % sur 72 heures. Après 24 heures, 20 % de la MTD et 8 % du THC-COOH sont dégradés dans l'étude

de Gonzalez-Marino (2010) alors que les concentrations de ces deux composés sont stables (augmentation de 5 et 2 %) après 72 heures dans l'étude de Castiglioni *et al.* (2006). L'AMP est stable dans une eau usée réfrigérée à 4°C pendant 24 heures (González-Mariño *et al.*, 2010) ou 72 heures (Castiglioni *et al.*, 2006). Les concentrations en MDMA et MET restent stables.

À l'analyse de ces résultats, il apparaît que les études de dégradation, bien qu'effectuées dans des conditions similaires de pH et de température donnent des résultats qui peuvent parfois être totalement différents. Ceci indique que la composition des eaux usées, qui varie d'un endroit à un autre, est un facteur important qui entre en jeu dans la dégradation des molécules. Malgré ces différences, des tendances apparaissent :

- La COC et son métabolite l'EME se dégradent rapidement et dans des proportions importantes quelles que soient les conditions de conservation.
- La concentration de BZE augmente dans des proportions comprises entre 6 et 20 % selon les études et les conditions. Cette augmentation est due à l'hydrolyse de la COC.
- L'AMP est stable à une température de 4°C mais se dégrade ou augmente selon les études quand les températures augmentent autour de 20°C.
- La MTD présente des profils très variables et inattendus puisque une dégradation de 20 % est observée à une température de 4°C alors que cette molécule est plutôt stable (-7 % et 9 %) à une température de 20°C.
- La MDMA et la MET sont des molécules stables, aucune dégradation n'ayant été observée dans les études citées.

Dans leur étude, González-Mariño *et al.* (2010) étudient deux autres conditions : l'utilisation d'un biocide, l'azide de sodium et la conservation des échantillons sur cartouches SPE (*Solid Phase Extraction*) à la température de -20°C après extraction. Les résultats indiquent que le meilleur protocole de conservation des échantillons, si l'analyse ne peut pas être effectuée rapidement, est de réaliser la percolation sur les cartouches SPE qui seront conservées à la température de -20°C avant l'élution.

II.B.4.3. TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

II.B.4.3.1. Prétraitement

Les échantillons sont généralement filtrés sur des filtres de porosité moyenne comprise entre 0,45 et 1,6 μm pour éliminer les MES. Cette étape de filtration sépare la fraction des composés fixés sur ces MES entraînant une sous-estimation des concentrations réelles dans le milieu analysé quand les MES ne sont pas intégrées dans l'analyse. La plupart des drogues illicites et leurs métabolites sont hydrophiles et amphiphiles avec des coefficients de partage octanol/eau ($\log K_{ow}$) faibles, compris entre -0,23 et 3,93, suggérant une faible fixation sur les MES. Parmi les molécules sélectionnées pour cette étude, seulement deux sont hydrophobes, le THC-COOH ($\log K_{ow} = 8,41$) et l'EDDP ($\log K_{ow} = 5,36$) et peuvent se fixer aux MES.

II.B.4.3.2. Extraction et concentration des composés d'intérêt

Les volumes d'échantillon varient de 50 à 1500 mL (Annexe VI). Les cartouches d'extraction les plus utilisées sont composées d'une phase stationnaire de copolymère de divinylbenzène-N-vinylpyrrolidone, Oasis HLB[®] (Waters[™]), notamment en raison de son large spectre de rétention recherché dans le cas de dosages simultanés de plusieurs molécules (Jones-Lepp *et al.*, 2004 ; Hummel *et al.*, 2006 ; Boleda *et al.*, 2007 ; Huerta-Fontela *et al.*, 2007 ; Gheorghe *et al.*, 2008). D'autres auteurs utilisent des colonnes échangeuses de cations Oasis MCX[®] (Waters) (Zuccato *et al.*, 2005 ; Castiglioni *et al.*, 2006 ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008a ; Bijlsma *et al.*, 2009 ; van Nuijs *et al.*, 2009d) ou Strata-XC[®] (Phenomenex) (Bones *et al.*, 2007). Postigo *et al.* utilisent des cartouches Oasis HLB[®] pour extraire le cannabis et ses métabolites et des cartouches PLRP-s (polymère réticulé de styrène-divinylbenzène avec des particules de 15 à 25 μm de diamètre) pour les autres composés.

Les rendements d'extraction sont extrêmement variables (Figure 28), compris entre 4 % pour l'héroïne sur des cartouches Strata-XC[®] (Bones *et al.*, 2007) et 131 % pour la benzoylecgonine sur des cartouches Oasis MCX[®] (Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008). Les moyennes des rendements d'extraction calculées sur l'ensemble des techniques présentées sont supérieures à 80 % et pour beaucoup proches de 100 % pour la plupart des composés.

Seuls trois composés semblent plus difficiles à extraire : l'héroïne (71 %), l'EDDP (67 %) ou encore le THC-COOH (58 %).

En calculant les moyennes des rendements d'extraction pour chaque procédé en intégrant tous les produits, il ressort que les cartouches de type échange hydrophile-lipophile (Oasis HLB®) présentent un rendement moyen plus élevé, 95 % (n=32) que les cartouches échangeuses de cations (Oasis MCX® ou Strata-XC®) qui présentent un rendement moyen de 86 % (n=41).

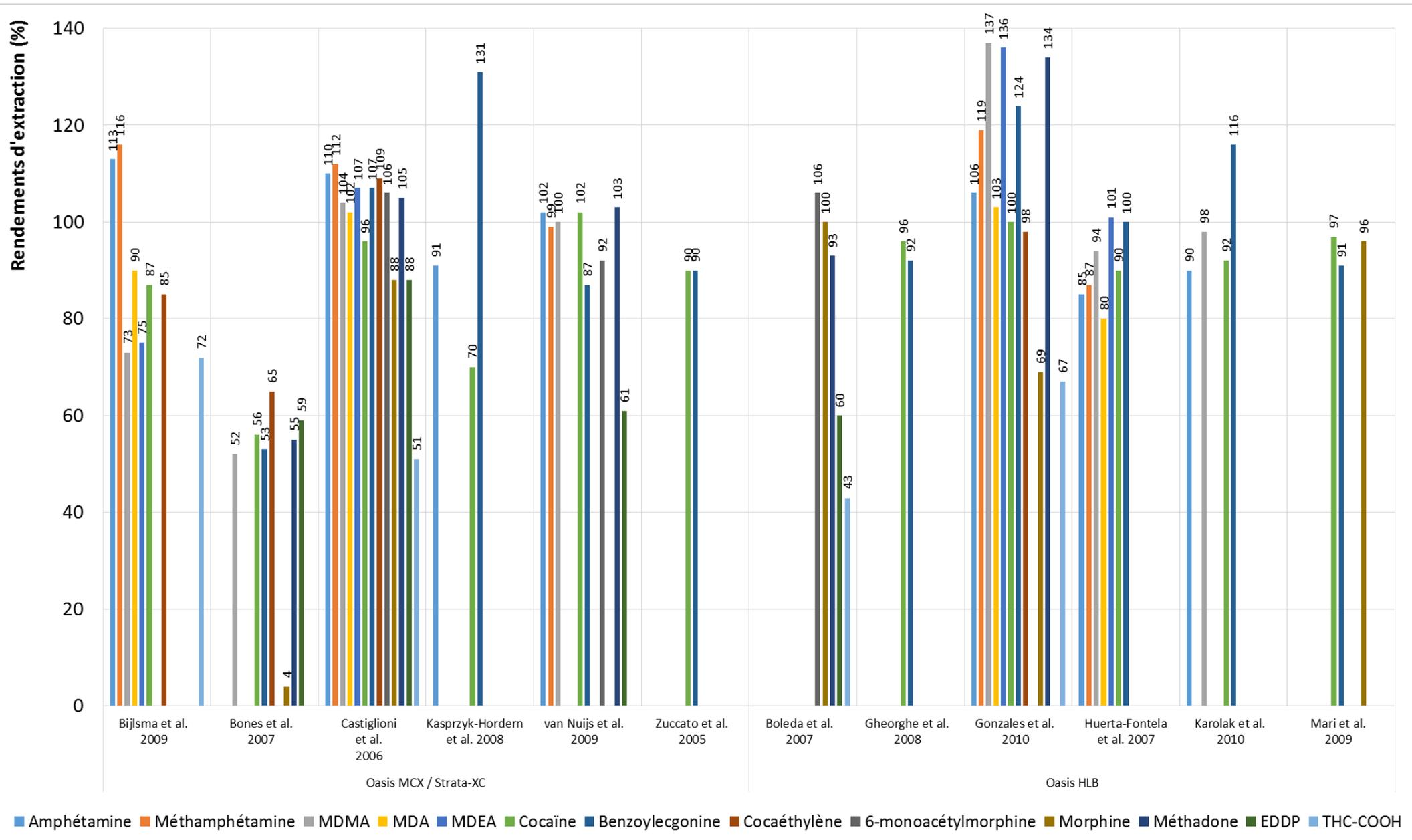


Figure 28 : Rendements d'extraction obtenus pour les drogues illicites, les produits de substitution aux opiacés et les métabolites avec différents types de cartouches. Oasis HLB® : échanges hydrophile/lipophile et Oasis MCX® et Strata™-XC : échange de cations.

II.B.4.4. ANALYSES

Les dosages sont généralement réalisés par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse (SM) en tandem (CLHP-SM/SM ou UPLC-SM/SM) (Annexe VI). La séparation chromatographique est obtenue en phase inverse C18 ou C8 (Boleda *et al.*, 2007 ; Huerta-Fontela *et al.*, 2007 ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008b ; Bijlsma *et al.*, 2009). Deux études présentent des méthodes utilisant des colonnes avec des phases stationnaires HILIC (*Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography*), mode de partage en phase normale favorisant la rétention des espèces très polaires peu retenues en phase inverse telle que l'écgonine méthylester (EME) (Gheorghe *et al.*, 2008 ; van Nuijs *et al.*, 2009d).

La détection et la quantification sont généralement réalisées avec un triple quadripôle en mode « *Selected-Reaction-Monitoring* » (SRM) et ionisation positive. La directive de la Commission Européenne 2002/657/EC relative à l'analyse des résidus organiques préconise d'utiliser 2 transitions père-fils pour caractériser une molécule conduisant ainsi à 4 critères d'identification : l'ion père, 2 ions fils et le rapport des deux transitions père-fils. La fragmentation étant fonction des conditions opératoires, la mise au point de la méthode nécessite de rechercher le profil de fragmentation optimum dans les conditions opératoires utilisées, notamment la phase mobile.

Les SM utilisés sont de type triple quadripôle (Boleda *et al.*, 2007 ; Castiglioni *et al.*, 2006 ; Huerta-Fontela *et al.*, 2007 ; Hummel *et al.*, 2006 ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2007 et 2008 ; Zuccato *et al.*, 2005), « trappe d'ions » (Jones-Lepp *et al.*, 2004 ; Gheorghe *et al.*, 2008) ou hybrides combinant un quadripôle et une « trappe d'ions » (Postigo *et al.*, 2008). L'équipe de Hogenboom *et al.* (2009) utilise un spectromètre de masse modèle Orbitrap permettant une meilleure sélectivité grâce à sa grande précision.

La principale difficulté dans le développement de techniques CLHP-SM/SM réside dans l'existence d'un effet de matrice affectant d'une part l'extraction lors du traitement de l'échantillon et d'autre part le rendement d'ionisation des molécules au niveau du SM. Pour pallier ces effets, des analogues deutérés des molécules recherchées sont utilisés comme standards internes. Les molécules et leurs analogues deutérés sont chimiquement équivalents et vont présenter le même comportement durant l'extraction et la même sensibilité à l'effet de matrice. C'est alors le rapport entre l'aire de la molécule et l'aire de

son analogue deutéré qui est utilisé pour la quantification, une gamme étalon étant fabriquée avec la même concentration d'étalon interne.

La méthode de prélèvement privilégiée pour l'analyse des drogues illicites et de leurs métabolites dans les eaux est un prélèvement moyenné au débit pendant 24 heures. La SPE est l'unique méthode de préparation des échantillons dans ces études mais il n'apparaît pas de consensus sur le choix des résines en fonction des molécules. Les résines échangeuses de cations ou les résines d'échange hydrophile-lipophile sont employées dans des proportions équivalentes avec des rendements très variables suivant les études et les composés. Tous les auteurs utilisent des étalons internes deutérés. La séparation analytique est réalisée par CLHP ou UPLC, avec différents types de phases stationnaires. La spectrométrie de masse est l'outil de détection et quantification utilisé dans toutes les études suivant différents procédés avec des niveaux de résolution plus ou moins élevés.

III - MATÉRIELS ET MÉTHODES

III.A. MATÉRIELS ET RÉACTIFS

III.A.1. MATÉRIELS

III.A.1.1. CONSOMMABLES

- Filtres en microfibres de verre GF/D (2,7 µm) et GF/B (1 µm) (Whatman®) ;
- Cartouches d'extraction en phase solide (SPE) Oasis MCX® 6cc (500 mg) et Oasis HLB® 6 mL (500 mg) (Waters Corp.®, Milford, MA) ;
- Cartouches d'extraction SPE Phenomenex® Strata™ 6 mL (500 mg) et Strata™-X 6 mL (500 mg) (Phenomenex®, Inc., Le Pecq, France) ;
- Cartouches d'extraction SPE Bond Elut Plexa™ 6 mL (500 mg) et Bond Elut Florisil™ 6 mL (500 mg) (Agilent Technologies France SAS, Les Ulis, France) ;
- Colonne XBridge® phényl (3,0x150 mm - particules de 3,5 µm) (Waters Corp.®, Milford, MA) ;
- Colonnes Kinetex™ HILIC (2,1x150 mm – particules de 2,6 µm) et Kinetex™ PFP (3,0x150 mm – particules de 2,6 µm) (Phenomenex®, Inc., Le Pecq, France).

III.A.1.2. APPAREILLAGES

- Balance de précision :
 - Sartorius BP 221S (d = 0,1 mg) ;
 - Denver Instrument TB-215D (d = 0,01/0,1 mg) ;
- Matériel d'extraction SPE : Chambre à vide 12 puits (Phenomenex®) ;
- Évaporateur sous flux d'azote avec bloc chauffant (Liebisch, Labotechnik) ;
- Chaîne CLHP (Thermo Fisher Scientific™ – ACCELA™ Pump et ACCELA™ AS) ;
- Spectromètre de masse (Thermo Fisher Scientific™ – Quantum Access Max) ;
- Logiciel : Xcalibur®, Trace Finder EFS® (Thermo Fisher Scientific™),
- Luminomètre Lumat LB9507 (Berthold Technologies, Bad Wildbad, Allemagne),
- ZebraBox (ViewPoint Life Sciences, Lyon, France),
- ZebraLab Software (ViewPoint Life Sciences, Lyon, France).

III.A.2. RÉACTIFS ET COMPOSÉS DE RÉFÉRENCE

III.A.2.1. RÉACTIFS

- Méthanol (MeOH) et acétonitrile (ACN) (HiPerSolv Chromanorm - Thermo Fisher Scientific™) ;
- Acide formique et formiate d'ammonium (NORMAPUR) (VWR BDH Prolabo®, Leuven) ;
- Eau purifiée obtenue avec un système Milli RIOS (osmoseur) suivi d'un purificateur MilliQ™ Plus 185, QPAK® (Millipore).

III.A.2.2. COMPOSÉS DE RÉFÉRENCE

Les composés de référence sous forme de poudre ou de solution dans le MeOH à 1 ou 0,1 g/L (COC, EME, BZE, NOR, CET, HER, MOR, 6-MAM, AMP, MET, MDMA, MDA, MDEA, BUP, MTD, EDDP, THC-COOH) ainsi que les analogues deutérés utilisés comme étalons internes (COC-D3, EME-D3, BZE-D3, CET-D8, HER-D9, MOR-D6, 6-MAM-D6, AMP-D6, MET-D5, MDMA-D5, MDA-D5, MDEA-D5, BUP-D4, MTD-D3, EDDP-D3, THC-COOH-D3) ont été fournis par LGC Standard (Molsheim, France).

Des caractéristiques physico-chimiques de ces molécules sont présentées dans le tableau IV.

Toutes les commandes de molécules classées comme stupéfiants ont nécessité l'obtention préalable d'une autorisation de détention auprès du bureau des stupéfiants et psychotropes de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM).

Tableau IV : Propriétés physico-chimiques des différents composés étudiés. Le Log Kow et le pKa ont été calculés avec le logiciel Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) V8.14 (DrugBank).

Molécules	Abréviations	Caractéristiques physico-chimiques				
		N° CAS	Formule brute	Masse Molaire (g/mol)	log K _{ow}	pKa
Cocaïne	COC	50-36-2	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303,35	3,08	8,97
Benzoylécgonine	BZE	519-09-5	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	289,33	2,71	3,35 (acide) 10,82 (base)
Ecgonine méthyl ester	EME	7143-09-1	C ₁₀ H ₁₇ NO ₃	199,25	-0,23	9,57
Norcocaïne	NOR	18717-72-1	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	289,32	2,78	9,02
Cocaéthylène	CET	529-38-4	C ₁₈ H ₂₃ NO ₄	317,38	3,61	9,04
Amphétamine	AMP	300-62-9	C ₉ H ₁₃ N	135,21	1,8	9,94
Méthamphétamine	META	537-46-2	C ₁₀ H ₁₅ N	149,23	1,94	10,38
MDMA	MDMA	42542-10-9	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	193,24	1,8	10,32
MDEA	MDEA	82801-81-8	C ₁₂ H ₁₇ NO ₂	207,26	2,33	10,34
MDA	MDA	4764-17-4	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	179,22	1,66	9,94
Héroïne	HER	561-27-3	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	369,41	1,58	7,6
6-monoacétylmorphine	MAM	2784-73-8	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	327,37	1,32	7,96 (base) 9,46 (acide)
Morphine	MOR	57-27-2	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285,34	0,43	8,26 (base) 9,50 (acide)
Méthadone	MET	76-99-3	C ₂₁ H ₂₇ NO	309,44	4,2	9,05
EDDP	EDDP	30223-73-5	C ₂₀ H ₂₃ N	277,4	5,51	7,71
Buprénorphine	BUP	52485-79-7	C ₂₉ H ₄₁ NO ₄	467,64	3,44	8,31
THC-COOH	THC-COOH	23978-85-0	C ₂₂ H ₃₀ O ₄	358,47	8,41	3

III.B. MÉTHODES ANALYTIQUES

III.B.1. DÉVELOPPEMENT DE L'ANALYSE PAR COUPLAGE CLHP – SPECTROMÉTRIE DE MASSE

La mise au point de la méthode d'analyse par couplage CLHP-SM/SM a comporté deux phases, la première relative aux conditions de détection avec la détermination des profils de fragmentation et la seconde relative aux conditions chromatographiques pour obtenir une efficacité de séparation optimale.

III.B.1.1. CHOIX DES MOLÉCULES

La sélection des molécules a reposé sur :

- les données disponibles dans la littérature sur la consommation de drogues illicites en France,
- les caractéristiques de métabolisation de ces drogues permettant d'identifier les produits éliminés dans les urines et les fèces,
- les données publiées sur la contamination des eaux,
- l'expérience acquise au sein du laboratoire.

Concernant la cocaïne, les molécules analysées dans l'ordre décroissant d'apparition dans les publications au début de ce travail de doctorat étaient : la BZE (16 fois), la COC (14 fois), le CET (5 fois), la norBZE (5 fois), la NOR (4 fois), l'EME (2 fois) et l'ecgonine (1 fois). Nous avons choisi d'exclure la norBZE et l'ecgonine en raison de l'absence de détection de ces molécules dans les études qui les recherchaient dans les eaux usées, probablement à cause de leur très faible proportion dans les urines. Á l'inverse, nous avons choisi d'inclure l'EME car, même si peu d'études la mentionnaient, elle représente un métabolite majeur de la COC avec un taux moyen d'élimination dans les urines de 40 %. Nous avons également choisi d'étudier la NOR, seulement éliminée à l'état de traces dans les urines car les concentrations rapportées dans la littérature varient entre 1 et 15 ng/L.

Pour les stimulants de synthèse nous avons choisi d'inclure les molécules le plus souvent recherchées dans les différentes études, l'AMP (10 fois), la MDMA (10 fois) et la MET (10 fois) et cette dernière malgré son très faible usage en France selon les données de l'OFDT. Son inclusion pouvait permettre de détecter l'apparition de sa consommation dans certaines agglomérations. Nous avons également choisi d'inclure deux analogues de la MDMA également vendus sous le nom d'ecstasy, la MDA et la MDEA, respectivement intégrées dans 7 et 4 études publiées (Castiglioni *et al.*, 2006, 2008 ; Huerta-Fontela *et al.*, 2007, 2008a ; Chiaia *et al.*, 2008 ; Zuccato *et al.*, 2008b ; Bijlsma *et al.*, 2009).

Concernant les opiacés, nous avons retenu la MOR, la 6-MAM et l'HER, analysées respectivement dans 9, 7 et 2 études sur les 20 répertoriées. Nous voulions distinguer l'usage de l'héroïne, estimé à partir de la 6-MAM, de l'usage de la morphine. La normorphine et les dérivés conjugués des métabolites de la MOR n'ont pas été recherchés

dans notre étude bien que mentionnés dans au moins deux études : la normorphine car son pourcentage d'élimination est faible et la morphine-3 β -D-glucuronide car elle est rapidement hydrolysée dans les eaux usées par l'action des glucuronidases.

Parmi les produits de substitution aux opiacés, seuls la MTD et son métabolite l'EDDP avaient été recherchés respectivement dans 7 et 5 études sur 20. Nous les avons intégrés dans notre étude en ajoutant la BUP qui représente le traitement de substitution aux opiacés le plus prescrit en France.

Enfin, nous avons inclus le métabolite principal du THC, le THC-COOH car la consommation de cannabis est très importante en France. C'est également ce métabolite qui est le plus souvent recherché (8 fois) dans les études publiées. Le THC et/ou un autre métabolite, l'hydroxy-THC n'étaient recherchés que dans 2 publications et les résultats correspondaient le plus souvent à une absence de détection. Nous avons également choisi de ne pas rechercher le LSD et ses métabolites car la consommation de LSD en France est marginale. Dans les différentes publications qui en font référence, ces produits ne sont pas détectés ou les concentrations mesurées sont très faibles (Boleda *et al.*, 2007; Huerta-Fontela *et al.*, 2007; Chiaia *et al.*, 2008; Postigo *et al.*, 2010).

III.B.1.2. DÉTERMINATION DES CONDITIONS DE DÉTECTION ET DE SÉPARATION ANALYTIQUE

III.B.1.2.1. Détermination des transitions de détection et conditions initiales d'analyse

Des solutions de chaque composé ont été préparées dans un mélange MeOH – tampon formiate 10 mM (50/50, v/v) à pH 4, à la concentration de 1 mg/L et infusées dans le spectromètre de masse afin d'optimiser les différents paramètres d'ionisation et de déterminer les transitions de détection. Les conditions opératoires ainsi que les rapports m/z des ions parents et des ions fils sont rassemblés dans le tableau V.

Après avoir optimisé les conditions de détection, les composés ont été analysés par couplage CLHP – SM/SM dans les conditions analytiques déterminées lors d'une première étude au laboratoire (Karolak *et al.*, 2010).

Tableau V : Conditions opératoires et rapports m/z des ions pour les différentes molécules analysées (TR = temps de rétention, E_{col} = énergie de collision).

Molécules	TR (min)	Mode	m/z Ion père	Ion fils pour quantification		Ion fils pour qualification		Rapport des transitions
				m/z	E _{col} (eV)	m/z	E _{col} (eV)	
Ecgonine méthylester	2,12	+	200,06	182,09	18	82,22	25	2,1
Ecgonine méthylester-D3	2,12	+	203,08	185,12	16			
Morphine	7,79	+	286,13	152,11	58	165,13	35	1,39
Morphine-D6	7,73	+	292,16	165,10	42			
Amphétamine	9,59	+	136,13	91,22	17	119,18	6	3,31
Amphétamine-D6	9,60	+	142,16	93,24	16			
Méthamphétamine	10,15	+	150,21	91,23	20	119,21	10	3,67
Méthamphétamine-D5	10,10	+	155,22	92,20	19			
MDA	9,93	+	180,10	105,20	22	135,13	19	0,84
MDA-D5	9,91	+	185,11	110,21	22			
MDMA	10,38	+	194,11	135,12	19	105,24	22	0,96
MDMA-D5	10,36	+	199,13	135,19	19			
Benzoylcgonine	10,56	+	290,11	168,10	18	105,12	29	4,16
Benzoylcgonine-D3	10,55	+	293,13	105,15	33			
6-Monoacétylmorphine	10,10	+	328,08	164,99	34	211,05	26	1,16
6-Monoacétylmorphine-D6	10,14	+	334,20	165,13	36			
MDEA	10,98	+	208,04	163,11	13	135,12	22	2,72
MDEA-D5	10,96	+	213,12	163,11	13			
Norcocaïne	12,71	+	290,11	168,14	14	136,17	21	1,49
Cocaïne	12,69	+	304,12	182,15	19	82,26	33	5,71
Cocaïne-D3	12,68	+	307,14	85,38	35			
Héroïne	12,18	+	370,10	268,01	27	165,01	47	1,14
Héroïne-D9	12,13	+	379,15	165,19	45			
Cocaéthylène	13,60	+	318,09	82,22	31	196,08	18	0,23
Cocaéthylène-D8	13,62	+	326,17	85,23	31			
Buprénorphine	14,95	+	468,31	396,20	40	414,26	34	0,96
Buprénorphine-D4	14,90	+	472,27	400,13	37			
EDDP	15,76	+	278,11	234,06	30	249,08	23	2,12
EDDP-D3	15,75	+	281,13	234,05	30			
Méthadone	16,44	+	310,14	265,06	13	105,12	31	2,55
Méthadone-D3	16,43	+	313,15	268,06	13			
THC-COOH	19,86	-	343,12	299,10	23	245,00	31	4,06
THC-COOH-D3	19,84	-	346,14	248,14	28			

La méthode avait été mise au point au sein du laboratoire pour le dosage de la COC, la BZE, l'AMP, la MDMA et la BUP :

- colonne XBridge® Phenyl (Waters™),
- phase mobile composée de tampon formiate d'ammonium 10 mM à pH 4 (solvant A) et d'acétonitrile (ACN) (solvant B)
- gradient d'élution : 0–6 min, 5 % B ; 6–26 min, 90 % B ; 26–31 min, 90 % B ; 31–36 min, 5 % B
- débit : 0,4 mL/min.

III.B.1.2.2. Cas particulier de l'EME

L'EME n'est pas suffisamment retenue sur la phase phényle dans les conditions d'analyses déterminées, le pic chromatographique apparaissant après 2,15 minutes sous forme dédoublée, une fraction du composé étant éluée dans le volume mort (Figure 29). Dans un premier temps, des modifications de la phase mobile ont été réalisées : Le pourcentage de phase organique en début de gradient a été réduit de 5 à 2 % et la molarité du tampon formiate a été réduite de 10 à 5 mM. Aucun changement de rétention n'a été observé. Des essais sur d'autres types de phase chromatographique ont donc été effectués, les premiers avec une colonne de technologie HILIC (*Hydrophilic Interaction Chromatography*) et les suivants sur une colonne PFP (PentaFluorophényle Propyle).

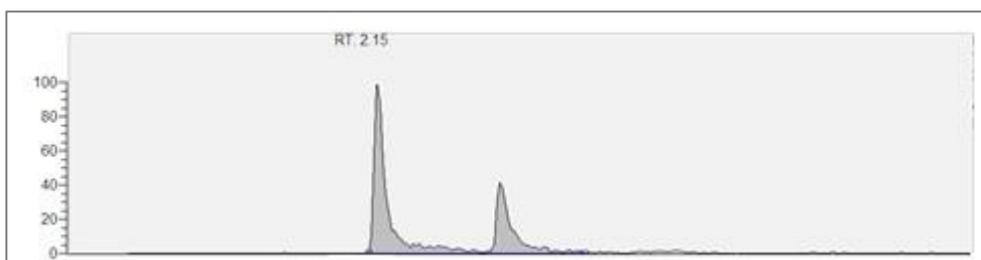


Figure 29 : Chromatogramme de l'EME. Solution méthanolique à la concentration de 100 µg/L. Le temps de rétention est de 2,15 minutes.

III.B.1.2.2.1. Colonne HILIC

La phase stationnaire Kinetex™ HILIC (Phenomenex®) est composée de diols réticulés et permet une meilleure rétention des produits polaires par la mise en œuvre d'un mode de partage en phase normale. De plus, l'utilisation d'une phase mobile hautement organique

permet une désolvatation des composés plus efficace dans la chambre d'ionisation et améliore la sensibilité de détection. Le protocole de séparation utilisé avec cette colonne était le suivant :

- Phase mobile
 - Phase aqueuse (A) : formiate d'ammonium à 10 mM, pH 4,
 - Phase organique (B) : ACN
 - Débit 400 μ L/min
- Gradient :
 - 0 \rightarrow 5 min : 95 % B
 - 0,5 \rightarrow 6,5 min : 95 % \rightarrow 50 % B
 - 6,5 \rightarrow 7,5 min : 50 % B
 - 7,5 \rightarrow 8 min : 50 % \rightarrow 95 % B
 - 8 \rightarrow 14 min : 95 % B

Le temps de rétention de l'EME est augmenté (6,49 min) et le pic n'est pas dédoublé. Par contre, le THC-COOH qui présentait le temps de rétention le plus élevé avec la phase XBridge® Phenyl n'est plus retenu sur la phase HILIC et ne peut plus être détecté. Le problème est donc inversé, l'EME, fortement polaire, est mieux retenue tandis que le THC-COOH, plus apolaire et élué très rapidement.

III.B.1.2.2.2. Colonne PFP

La phase stationnaire PFP est constituée de silice greffée avec des groupements phényles portant 5 atomes de fluor permettant d'améliorer les interactions avec les composés polaires contenant des groupes hydroxyle, carboxyle ou nitro. Le protocole de séparation utilisé avec cette colonne était le suivant :

- Phase mobile
 - phase aqueuse (A) : formiate d'ammonium à 5 mM, pH 4
 - phase organique (B) : ACN
 - débit : 400 μ L/min
- Gradient :
 - 0 \rightarrow 3 min : 98 % A
 - 3 \rightarrow 22 min : 98 % \rightarrow 10 % A
 - 22 \rightarrow 24 min : 10 % A
 - 24 \rightarrow 24,5 min : 10 % \rightarrow 98 % A
 - 24,5 \rightarrow 30 min : 98 % A

La rétention de tous les composés est augmentée, l'EME est éluée en 5,99 minutes et ne présente plus de pic dédoublé et le THC-COOH est élué en 24 minutes. Cependant, l'efficacité de séparation est mauvaise, les pics sont élargis et les nombres de plateaux théoriques inférieurs à 275 quel que soit le composé.

III.B.1.2.2.3. *Conclusion*

Les résultats obtenus avec les phases HILIC et PFP n'ont pas permis d'obtenir des séparations satisfaisantes pour l'ensemble des molécules. Malgré le manque d'efficacité de la colonne XBridge® Phenyl pour l'EME, nous avons retenu les conditions initialement définies sur cette colonne et décidé d'intégrer les deux pics correspondant à l'élution de l'EME. Les études de répétabilité ont validé cette méthode d'intégration puisque les coefficients de variations pour l'EME étaient inférieurs à la limite fixée (cf. chapitre « Résultats et discussion », § IV.A.3.2. p. 145).

III.B.2. DÉVELOPPEMENT DE LA MÉTHODE DE PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

III.B.2.1. CHOIX DES CARTOUCHES D'EXTRACTION

Des essais d'extraction en phase solide ont été effectués sur plusieurs types de phases stationnaires en utilisant différents protocoles d'essais (Figure 30).

III.B.2.1.1. Phases polymériques avec échange hydrophile – lipophile

Il s'agit de phases fonctionnant sur le mode de partage en phases inversées et composées de polymères mettant en jeu des mécanismes de rétention hydrophile – lipophile permettant d'extraire une large gamme de composés polaires et non polaires :

- Oasis HLB® : copolymère m-Divinylbenzène et N-vinylpyrrolidone,
- Strata-X® : groupes fonctionnels N-Vinylpyrrolidone,
- Bond Elut Plexa® : groupes fonctionnels divinylbenzène.

Plusieurs paramètres ont été étudiés :

- Le conditionnement des cartouches en milieu acide (pH 2) ou neutre,
- la proportion de MeOH dans l'eau purifiée pour le rinçage des cartouches après dépôt afin d'éliminer le maximum de composés interférents qui pourraient participer à l'augmentation de l'effet matrice,
- l'acidification de l'éluant par de l'acide formique (2 %) pour favoriser la rupture des liaisons entre les analytes et les groupements de la phase stationnaire et améliorer l'élution.

III.B.2.1.2. Phases échangeuses de cations

Ce sont des phases stationnaires composées de polymères greffés avec des groupes fonctionnels permettant de retenir les composés cationiques :

- Oasis MCX[®] : copolymère m-Divinylbenzène et N-vinylpyrrolidone greffés avec des groupements d'acide sulfonique [-SO₃H],
- Strata-XC[®] : groupes fonctionnels N-Vinylpyrrolidone greffés avec des groupements d'acide sulfonique [-SO₃H].

Ces cartouches ont été utilisées dans des conditions d'élution différentes permettant d'éluer successivement les composés cationiques puis les autres.

Pour tous les essais, les rendements d'extraction sont calculés par le rapport entre l'aire du pic d'un composé mesuré pour un échantillon d'eau purifiée dopé et extrait et celle obtenue pour le même composé en solution méthanolique à la concentration de l'extrait. Le dopage des solutions aqueuses et la fabrication des solutions méthanoliques de référence ont été réalisés à partir d'une même solution mère.

Les différents protocoles testés sont schématisés par la figure 30.

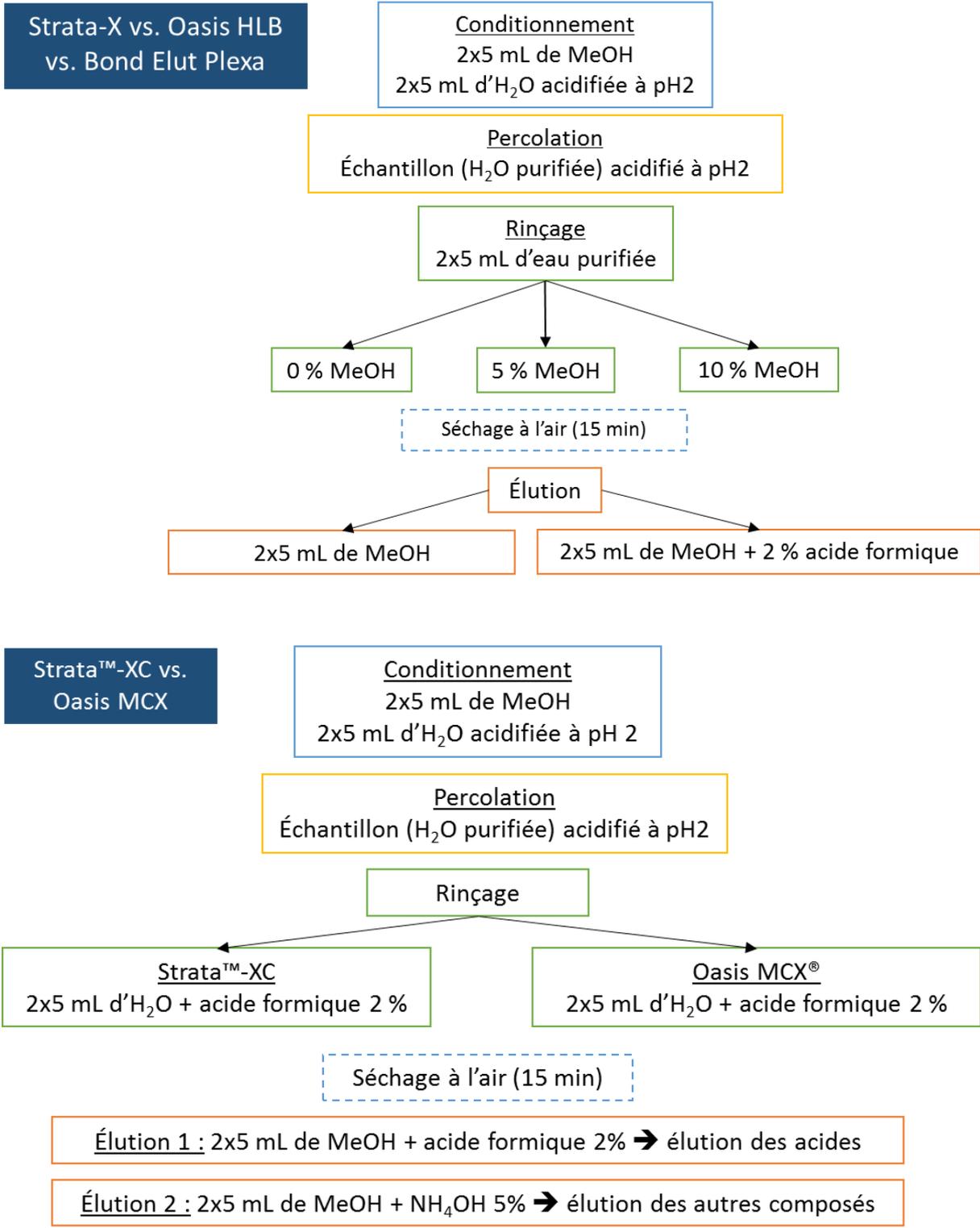


Figure 30 : Protocole des essais comparatifs d'extraction avec différents types de cartouches SPE.

III.B.2.2. OPTIMISATION DU PROTOCOLE D'EXTRACTION

III.B.2.2.1. Calcul des paramètres de l'extraction et évaluation de l'effet de matrice

L'optimisation du protocole d'extraction a été réalisée avec des solutions dans de l'eau purifiée, de l'eau potable, de l'eau de surface ou de l'eau usée, dopées à la concentration de 400 ng/L de chaque composé.

III.B.2.2.1.1. Rendement et recouvrement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé pour les solutions aqueuses, en faisant le rapport entre l'aire du pic mesurée pour un composé dans un extrait d'eau dopée avant l'extraction (D) (eau purifiée, eau d'Évian en bouteille de verre) et celle obtenue pour ce même composé en solution méthanolique (A) (Figure 31).

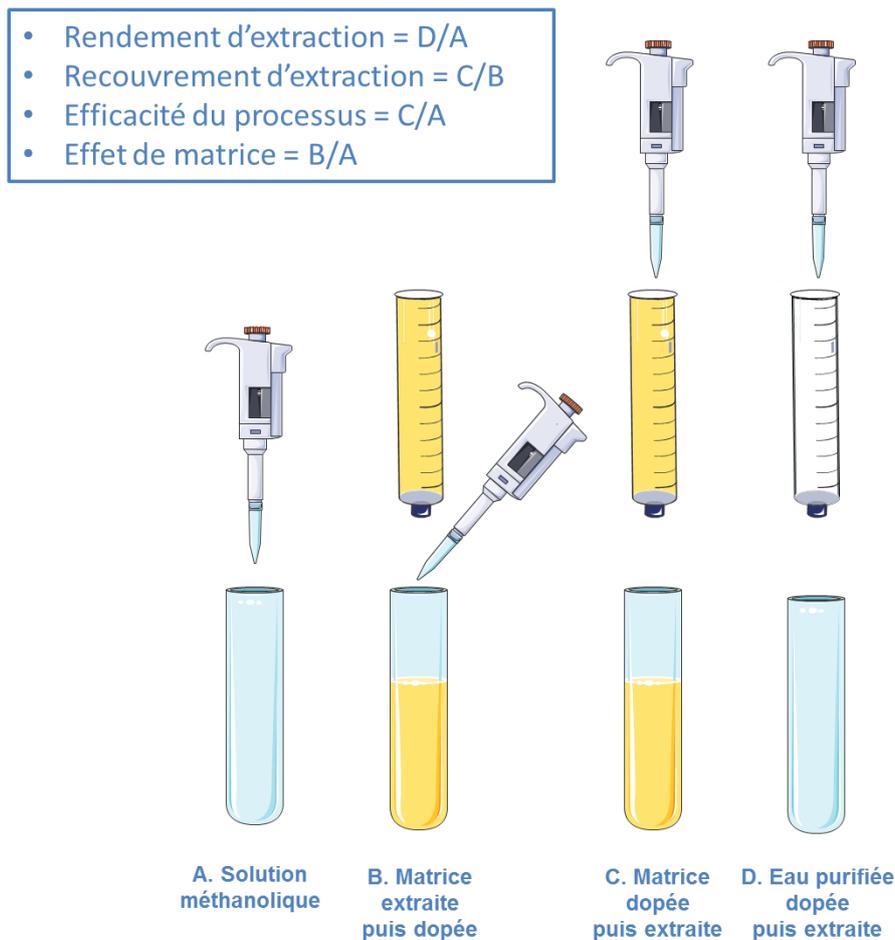


Figure 31 : Schéma du protocole d'expérience destiné à évaluer les performances des méthodes d'extraction sur cartouches SPE.

Le recouvrement d'extraction est calculé pour des solutions d'eau de surface ou d'eau usée, en faisant le rapport entre l'aire du pic mesurée pour un composé dans un extrait d'eau dopée avant l'extraction (C) et celle obtenue pour ce même composé dans un extrait d'eau dopée après l'extraction (B).

III.B.2.2.1.2. *Efficacité du processus*

L'efficacité du processus est calculée par le rapport entre l'aire du pic mesurée pour un composé dans un extrait d'eau usée dopée avant l'extraction (C) et celle obtenue pour un composé dans une solution méthanolique (A).

III.B.2.2.1.3. *Effet de matrice*

L'effet de matrice est calculé par le rapport entre l'aire du pic mesurée pour un composé dans un extrait d'eau usée dopée après l'extraction (B) et celle obtenue pour un composé dans une solution méthanolique (A).

III.B.2.2.2. Diminution de l'effet de matrice

Compte tenu de la complexité de la matrice étudiée (eaux usées), des essais de purification ont été effectués dans le but de diminuer l'effet de matrice.

III.B.2.2.2.1. *Essai de purification sur cartouches Florisil™*

Un essai de purification des échantillons a été réalisé en utilisant des cartouches Florisil™ dont la phase stationnaire est un gel de silice chargé en magnésium. Cette phase polaire très active présente une surface légèrement basique pour l'adsorption de composés de polarité faible à modérée dans des solutions non aqueuses. Avant d'effectuer ce type de purification, les échantillons sont extraits en phase solide puis évaporés à sec avant d'être remis en solution suivant les protocoles décrits dans le tableau VI.

L'efficacité du processus de purification est calculée par le rapport entre l'aire du pic mesurée pour un composé dans un extrait SPE d'une eau usée dopée et celle obtenue pour ce même composé dans un extrait d'eau usée dopée, évaporé, dissout dans un solvant puis purifié par passage sur cartouche Florisil™.

Tableau VI : Protocoles de purification des extraits sur cartouche Florisil™.

Protocole n°1	Protocole n°2
A - DISSOLUTION DE L'ÉCHANTILLON EXTRAIT ET ÉVAPORÉ	
5 mL dichlorométhane	200 µL dichlorométhane
B - CONDITIONNEMENT DES CARTOUCHES FLORISIL™	
<u>cartouches 500 mg :</u> 5 mL hexane <u>cartouches 1 g :</u> 10 mL hexane	<u>cartouches 1 g et 500 mg :</u> 5 mL Hexane suivi de 5 mL dichlorométhane
C - PERCOLATION	
5 mL de l'échantillon	200 µl de l'échantillon + 2 x 100 µL de dichlorométhane
D - RINÇAGE	
- cartouches 500 mg : 6 mL hexane - cartouches 1 g : 12 mL hexane	5 mL hexane
E - ÉLUTION	
cartouches 500 mg : 6 mL MeOH cartouches 1 g : 2x5 mL MeOH	condition 1 : 2 x 5 mL MeOH condition 2 : 2 x 5 mL acétate d'éthyle

III.B.2.2.2.2. *Essai de dilution de l'éluat après évaporation et reprise dans le MeOH*

Dans le but de réduire l'effet de matrice, des dilutions des extraits méthanoliques obtenus après SPE ont été effectuées. L'extrait et la gamme ont été dilués au 2/3, au 1/2, au 1/3, au 1/5 et au 1/10 avant l'analyse. Le gain de signal a été évalué en comparant les rapports des aires des pics obtenues pour un composé dans l'extrait et dans une solution méthanolique calculés pour les différentes dilutions.

III.B.3. VALIDATION DE LA MÉTHODE ANALYTIQUE

III.B.3.1. LINÉARITÉ

La linéarité de réponse a été vérifiée par l'injection d'une gamme de solutions méthanoliques de concentrations comprises entre 12,5 et 200 µg/L. Les droites de régression ont été tracées et les coefficients de détermination (R^2) calculés pour tous les composés de référence ainsi que pour les étalons internes deutérés.

L'existence d'un effet de matrice nécessitant l'utilisation d'EI deutérés, la linéarité a été étudiée entre le rapport des aires (composé / analogue deutéré) et la concentration du

composé pour une gamme comprise entre 1,25 et 400 µg/L avec ajout de l'EI à une concentration de 200 µg/L.

III.B.3.2. PRÉCISION

La précision a été déterminée par le calcul du coefficient de variation (CV) obtenu pour trois répétitions d'analyse, incluant l'extraction sur phase solide, d'échantillons d'eau usée dopés aux concentrations suivantes : 50, 100, 200, 400 et 800 ng/L, correspondant à des extraits aux concentrations suivantes : 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200 µg/L. Les limites d'acceptation des CV sont de 20 % pour les concentrations allant de 12,5 µg/L à 100 µg/L et de 15 % pour 200 µg/L (Directive Européenne 2002/657/EC).

III.B.3.3. LIMITES DE DÉTECTION ET DE QUANTIFICATION

Pour déterminer les limites de détection (LD) et de quantification (LQ), des échantillons de 250 mL d'affluents et d'effluents d'une STEP ont été dopés par des volumes décroissants (de 500 µL à 5 µL) d'une solution méthanolique de composés deutérés à 20 µg/L puis extraits et analysés. Les LD et LQ ont été déterminées pour un rapport signal/bruit de 3 et de 10 respectivement. La LD et la LQ sont exprimées en ng/L d'échantillon analysé.

III.B.3.4. AJOUTS DOSÉS - RÉCUPÉRATION

Pour toutes les séries de mesure, chaque prélèvement a été séparé en trois aliquotes dont une a été dopée avec chaque composé à une concentration de 400 ng/L pour les prélèvements d'affluents et de 200 ng/L pour les prélèvements d'effluents. Le pourcentage de récupération a été calculé par le rapport de la différence entre la concentration mesurée dans l'échantillon dopé et la concentration mesurée dans l'échantillon non dopé sur la valeur de l'ajout dosé. Les limites d'acceptation pour la Directive Européenne 2002/657/EC sont de 50 et 130 % pour des échantillons aux concentrations inférieures ou égales à 1 µg/kg.

III.B.4. PROTOCOLE FINAL DE TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

Les processus de préparation et de traitement des échantillons optimisés et validés sont décrits ci-après.

III.B.4.1. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

III.B.4.1.1. Filtration

Les prélèvements d'eaux brutes sont filtrés sur filtre en fibre de verre GF/D (2,7 µm) puis GF/B (1,0 µm). Les prélèvements d'eaux traitées sont seulement filtrés sur filtre GF/B.

III.B.4.1.2. Extraction liquide-solide

a) Préparation des flacons

Après filtration, répartir les prélèvements dans des flacons de la façon suivante :

- Eaux brutes : 3 flacons de 250 mL
- Eaux traitées : 3 flacons de 500 mL

b) Conditionnement des cartouches SPE Oasis HLB®

- Faire percoler, 2 fois de suite, 5 mL de MeOH par gravité
- Faire percoler, 2 fois de suite, 5 mL d'eau purifiée par gravité

c) Ajout des étalons internes

- Doper les échantillons avec 500 µL de la solution fille d'étalons internes à 200 µg/L.

d) Ajout d'une solution de standard – ajout dosé

- Doper un des trois flacons de chaque prélèvement avec 500 µL de la solution fille de composés de référence à 200 µg/L afin d'obtenir un ajout dosé de 400 ng/L pour les eaux brutes et de 200 ng/L pour les eaux traitées.

e) Extraction sur cartouche

- Aspirer sous vide la totalité du contenu des flacons (250 mL ou 500 mL) en ajustant de façon à obtenir un temps de percolation total d'environ 30 minutes (percolation au goutte à goutte).

f) Rinçage des cartouches

- Rincer 2 fois les cartouches avec 5 mL d'eau purifiée
- Sécher les cartouches en aspirant de l'air sous vide pendant 20 minutes.

g) Éluion des composés

- Éluer les composés par gravité avec 2x5 mL de MeOH contenant 2 % d'acide formique.

h) Évaporation et reprise de l'extrait

- Évaporer à sec les éluats à 35°C sous flux d'azote
- Reprendre les extraits secs dans 1 mL de MeOH
 - ⇒ La concentration de chaque étalon interne est de 100 µg/L dans l'échantillon extrait, évaporé et repris.

III.B.4.1.3. Analyse par couplage CLHP-SM/SM

a) Gamme d'étalonnage

Une gamme d'étalonnage avec 9 niveaux de concentration compris entre 2,5 µg/L et 800 µg/L est préparée par dilutions successives d'une solution méthanolique de molécules étalons à 800 µg/L.

Chacune des solutions obtenues, notées SE1 à SE9 est diluée au demi avec une solution méthanolique d'analogues deutérés (EI) à la concentration de 200 µg/L. Les concentrations finales des différentes solutions d'étalonnage (PG) sont groupées dans le tableau VII.

Tableau VII : Préparation de la gamme étalon.

Solutions méthanoliques (SE)		SE1	SE2	SE3	SE4	SE5	SE6	SE7	SE8	SE9
Concentration des solutions méthanoliques	µg/L	800	400	200	100	50	20	10	5	2,5
Volume de SE	µL	200								
Volume de solution d'EI	µL	200								
Concentrations des points de gamme	µg/L	400	200	100	50	25	10	5	2,5	1,25
Points de gamme (PG)		PG9	PG8	PG7	PG6	PG5	PG4	PG3	PG2	PG1

b) Séparation chromatographique retenue

- Phase mobile :
 - Phase aqueuse : tampon formiate 5 mM, pH 4
 - Phase organique : ACN
 - Débit : 400 μ L/min
- Gradient d'élution :
 - 0 \rightarrow 3 min : 98 % A
 - 3 \rightarrow 22 min : 98 % \rightarrow 10 % A
 - 22 \rightarrow 24 min : 10 % A
 - 24 \rightarrow 24,5 min : 10 % \rightarrow 98 % A
 - 24,5 \rightarrow 30 min : 98 % A

- Température de l'enceinte de l'injecteur : 4°C
- Température du four de la colonne : 40°C
- Volume d'injection : 5 μ L
- Colonne CLHP XBridge® Phenyl - Waters® (150 x 3,0 mm - 3,5 μ m)

III.B.4.1.4. Spectrométrie de masse

- Température de la source : 120°C
- Température de désolvatation : 350°C
- Débit de désolvatation : 550 L/h
- Tension du cône : 70 V
- Tension du capillaire : 4,5 kV

III.B.4.2. ANALYSE DES RÉSULTATS

III.B.4.2.1. Validation de l'intégration des pics

Pour chaque molécule (y compris les standards internes deutérés), deux transitions ion père – ion fils sont retenues : l'une sert à la quantification, l'autre permet de valider l'identification du composé par le calcul du rapport des aires obtenues pour les deux transitions. Ce rapport est déterminé lors de la mise au point des conditions de détection et doit rester dans les limites de ± 20 % pour confirmer la présence du composé dans l'échantillon. Dans le cas contraire, le pic chromatographique n'est pas pris en compte car relatif à un autre composé élué au même temps de rétention.

III.B.4.2.2. Calcul des concentrations

Une gamme d'étalonnage est réalisée à chaque série de mesures et les paramètres de régression linéaire sont estimés par le logiciel Xcalibur™ 2.1 (Thermo Scientific™). Les concentrations des extraits sont calculées à partir de la gamme puis divisées par les facteurs de concentration, 250 pour les affluents et 500 pour les effluents afin d'exprimer les concentrations en ng/L d'échantillon. Pour chaque échantillon, un des 3 prélèvements a été dopé avant l'extraction et le calcul du pourcentage de récupération de l'ajout dosé permet de valider le dosage pour cet échantillon.

III.C. CAMPAGNES DE MESURES

III.C.1. CARTOGRAPHIE DES CONSOMMATIONS ET ÉVALUATION DES TRAITEMENTS ÉPURATEURS

III.C.1.1. CHOIX DES STEPs

Les échantillons d'eaux usées ont été collectés dans 25 STEPs situées en France métropolitaine et à La Réunion.

Le territoire métropolitain a été découpé en quatre parties, nord-ouest (NO), nord-est (NE), sud-ouest (SO) et sud-est (SE). Dans chaque quart, nous avons sélectionné des STEPs de petite, moyenne et grande capacité (Figure 32). Certaines STEPs ont été choisies en fonction de leur implantation ou de l'existence d'évènements particuliers (station balnéaire, festival...).

Des stations situées en région parisienne (PAR) et à La Réunion (REU) ont également été sélectionnées.

Dans l'objectif d'évaluer l'efficacité de traitement des STEPs, les sites ont aussi été sélectionnés en fonction des types de technologies de traitement mis en œuvre au sein des filières. La figure 32 indique l'implantation des différents sites de prélèvements dont les caractéristiques sont résumées dans le tableau VIII.

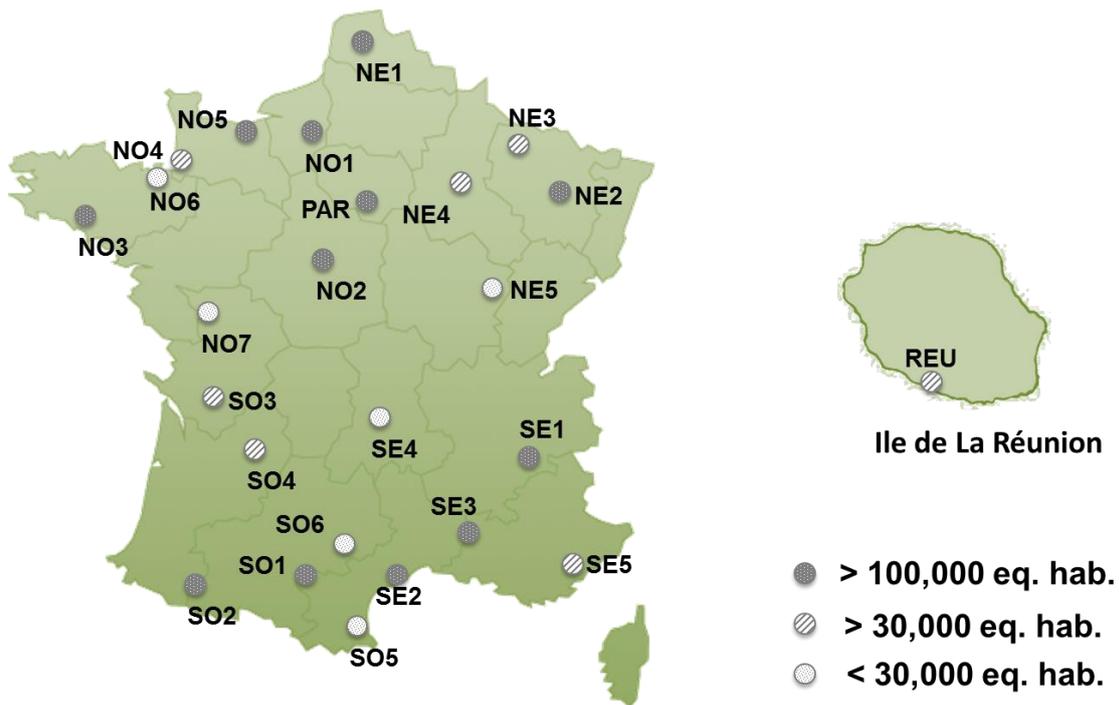


Figure 32 : Localisation et gamme de capacité de traitement des différentes STEP s étudiées.

III.C.2. PRÉLÈVEMENTS ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons d’eaux usées brutes (affluents) ou traitées (effluent) ont été effectués par le personnel des STEP s à l’aide de préleveurs automatiques réfrigérés effectuant des prélèvements moyennés sur 24 heures asservis au débit.

Les prélèvements ont été récoltés dans des flacons en polyéthylène téréphtalate et conditionnés dans des glacières avec des blocs de glace avant d’être acheminés vers le laboratoire par un transporteur professionnel dans un délai de 24 heures. À réception au laboratoire, les échantillons étaient directement traités ou conservés à 4°C pour un traitement dans les 24 heures.

Tableau VIII : Principales caractéristiques des STEPs sélectionnées. NE=nord-Est, NO=nord-ouest, PAR=région parisienne, SE=sud-est, SO=sud-ouest, REU=île de la Réunion.

Code	Capacité nominale (Eq. hab.)	Type de traitement	Traitement tertiaire
NE1	188 333	Boues activées faible charge – Aération prolongée	Non
NE2	650 000	Boues activées moyenne charge	Non
NE3	36 300	Boues activées - Aération prolongée	Non
NE4	99 200	Boues activées faible charge	Déphosphatation biologique
NE5	22 000	Boues activées faible charge – Aération prolongée	Non
NO1	550 000	Boues activées	Déphosphatation biologique nitrification/dénitrification biologique
NO2	400 000	Boues activées faible charge - Aération prolongée	Déphosphatation physico- chimique
NO3	160 000	Boues activées faible charge	Déphosphatation biologique Nitrification biologique
NO4	40 000	Bioréacteur à membrane	Déphosphatation biologique et chimique Nitrification biologique
NO5	115 000	Bioréacteur à membrane	Non
NO6	12 000	Boues activées	Déphosphatation physico- chimique
NO7	13 417	Boues activées faible charge - Aération prolongée	Non
PAR	372 000	Boues activées	Nitrification/dénitrification biologique
SE1	500 000	Biofiltration	Non
SE2	466 667	Boues activées moyenne charge	Déphosphatation physico- chimique
SE3	177 167	Boues activées faible charge	Non
SE4	20 000	Boues activées faible charge	Nitrification biologique
SE5	40 000	Biofiltration	Non
SO1	950 000	Boues activées moyenne charge + biofiltration	Nitrification biologique
SO2	190 000	Boues activées - Aération prolongée	Déphosphatation biologique nitrification/dénitrification biologique
SO3	35 000	Boues activées faible charge	Non
SO4	50 000	Boues activées faible charge	Désinfection UV
SO5	14 000	Boues activées faible charge	Non
SO6	13 250	Boues activées faible charge	Non
REU	80 000	Boues activées forte charge	Non

III.C.3. EXPRESSION DES RÉSULTATS

III.C.3.1. CALCUL DES POURCENTAGES D'ABATTEMENT AU SEIN DES STEPs

Les prélèvements des eaux usées en entrée et en sortie de STEPs ont été réalisés au même moment suivant les pratiques opérationnelles mises en place dans les stations et que nous avons l'exigence de respecter. Par conséquent, le temps de résidence des molécules dans les STEPs n'a pas été pris en compte et les pourcentages d'élimination calculés ne reflètent pas parfaitement l'abattement des différentes molécules.

Le pourcentage d'élimination est calculé selon l'équation 4 :

$$\text{Équation 4 : } E = \frac{(CA - CE)}{CA}$$

où CA représente la concentration dans l'affluent et CE la concentration dans l'effluent.

III.C.3.2. CALCUL DES CONSOMMATIONS

Les consommations de cocaïne, de MDMA, d'amphétamine, de THC et de méthadone ont été calculées à partir des quantités mesurées des traceurs respectifs suivants : BZE, MDMA, AMP, THC-COOH et EDDP, en utilisant le modèle décrit par Zuccato *et al.* (2008a) :

$$Q_{\text{conso}} = \frac{C_{24h} \times V_{24h}}{U_{\text{ex}}} \times M_{\text{ratio}} \times 1000 / N_{\text{habitants}} \quad (\text{Équation 1}).$$

Les pourcentages d'excrétion des drogues sous forme des traceurs métaboliques retenus sont issus de la publication Zuccato *et al.* (2008) pour la BZE, la MDMA, l'AMP et le THC-COOH et de Ferrari *et al.* (2004) pour l'EDDP. Les données nécessaires au calcul des consommations figurent dans le tableau IX.

Tableau IX : Liste des drogues illicites et de leur traceur sélectionné pour le calcul des consommations. U_{ex} = pourcentage d'élimination urinaire, M_{ratio} = rapport des masses moléculaires (drogue/traceur métabolique) (Zuccato *et al.*, 2008 ; EMCDDA, 2013 ; OFDT, 2013).

Drogue	Traceurs métaboliques (TM) pour le calcul de la consommation	U_{ex} (%)	M_{ratio} (drogue / TM)	Masse d'une dose (mg)	Pureté moyenne (%)
Cocaine	Benzoylécgonine	45	1,05	100	15
MDMA	MDMA	65	1,0	100	63
Amphétamine	Amphétamine	30	1,0	30	15
THC	THC-COOH	0,6	0,91	150	30
Methadone	EDDP	13	0,82		

Le pourcentage de consommateurs a également été estimé, pour chaque drogue et chaque zone urbaine, en prenant en compte la masse moyenne d'une dose (drogue + produits de coupe) et le pourcentage de pureté (OFDT, 2013 ; EMCDDA, 2013) (Tableau IX). Ce pourcentage de consommateurs est exprimé par rapport à la population totale de la zone urbaine collectée et par rapport à la population âgée de 15 à 64 ans, en admettant que les individus appartenant à cette tranche d'âge représentent 60 % de la population générale (INSEE, 2010).

III.C.4. SUIVI DES ÉTAPES DE TRAITEMENT AU SEIN D'UNE STEP

Des échantillonnages ont été effectués au sein d'une STEP, codée SV, qui comporte deux filières de traitement, chacune comportant des biofiltres, mais de technologies différentes, Biofor® (Filière 1) et Biostyr™ (Filière 2) (Figures 33 et 34).

Les prélèvements ont été effectués en entrée de station avant les dégrilleurs puis après le traitement primaire (dessablage, déshuilage) et après les traitements secondaires sur les premiers biofiltres, et enfin en sortie de la STEP juste avant le rejet dans le milieu récepteur.

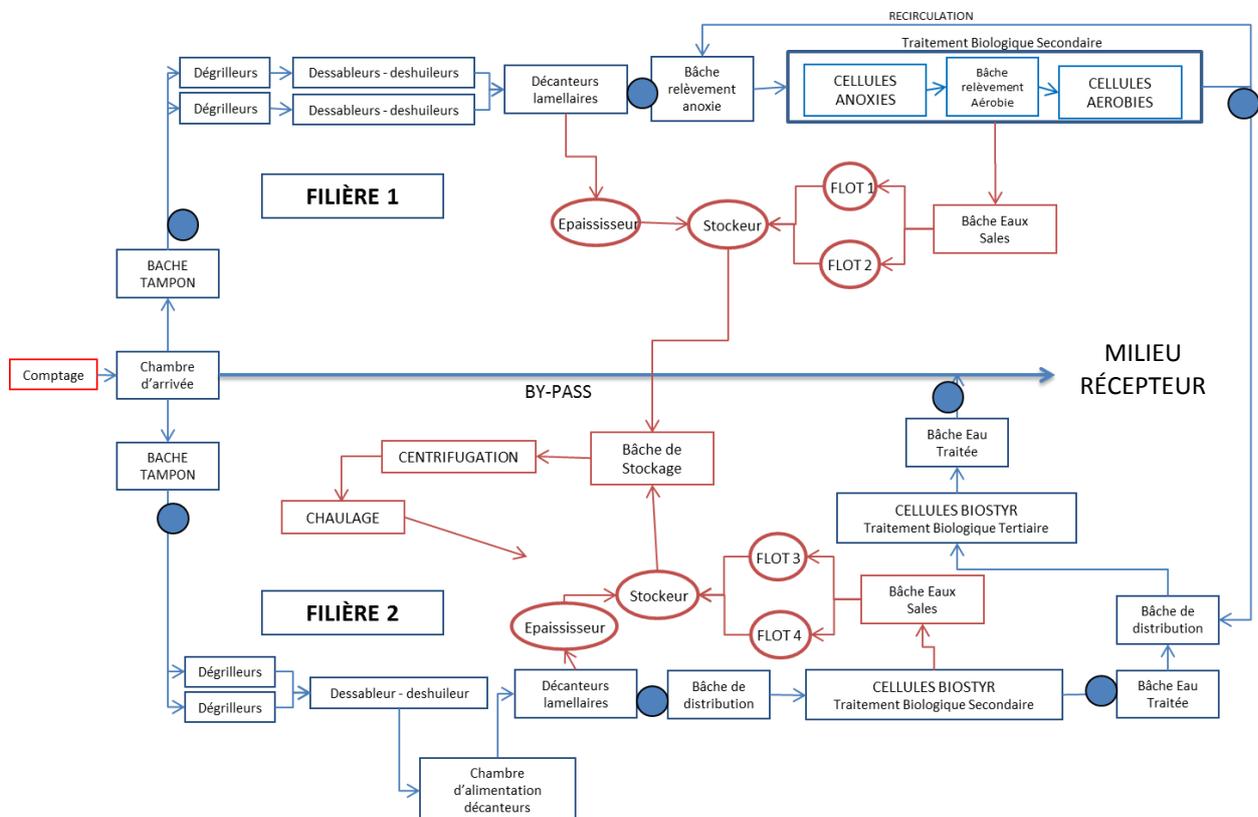


Figure 33 : Schéma de fonctionnement de la STEP SV.
Les points bleus représentent les points de prélèvements.

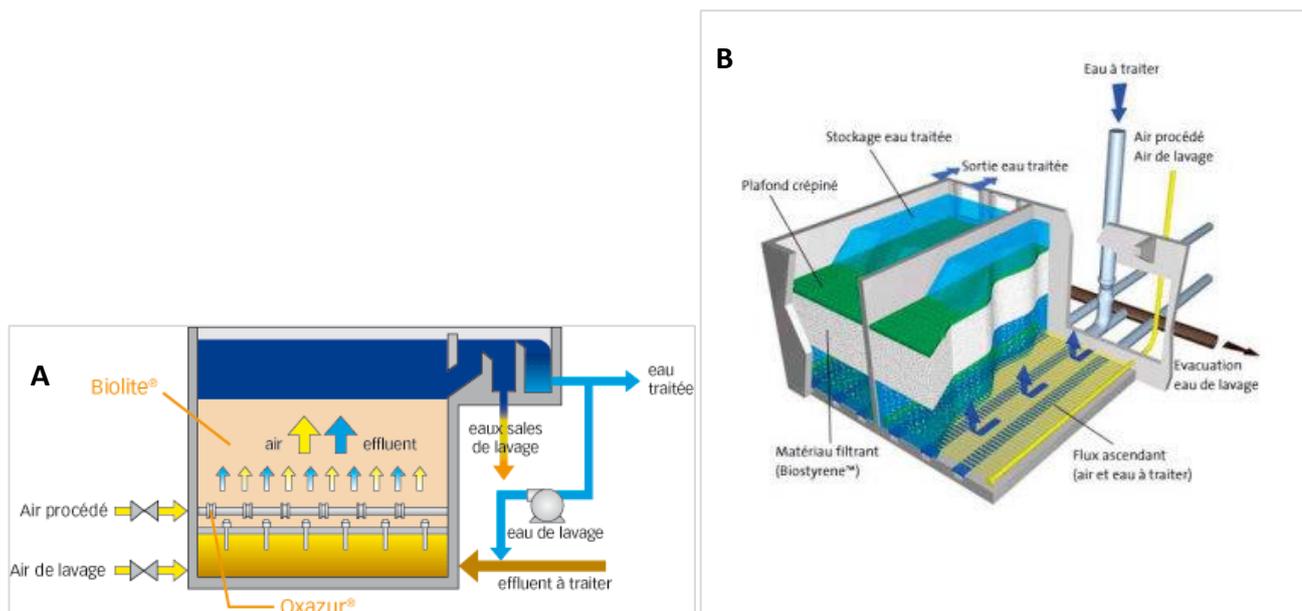


Figure 34 : Schéma des technologies de traitement par biofiltration Biofor® (A) et Biostyr™ (B).

III.C.5. ÉTUDE AU SEIN D'UN VASTE RÉSEAU URBAIN : PARIS ET LA RÉGION PARISIENNE

Une campagne de prélèvements a été réalisée dans Paris et la région parisienne grâce au soutien financier et logistique de la Ville de Paris et plus particulièrement de son service d'assainissement, afin de comparer à titre expérimental les consommations par quartier et pour étudier plus précisément la consommation de drogues dans des sites spécifiques : hôpital, lycée et prison.

III.C.5.1. PRÉLÈVEMENTS PAR QUARTIER

Cinq quartiers ont été sélectionnés dans Paris afin de représenter plusieurs niveaux socioéconomiques et différents types d'activités : 3 quartiers résidentiels représentant majoritairement trois catégories socioprofessionnelles, haute, moyenne et basse et deux quartiers de bureaux dont un composé principalement d'entreprises à haut niveau de revenu. Pour des raisons de confidentialité, les quartiers et les établissements ne seront ni nommés, ni représentés sur une carte. Deux campagnes ont été réalisées simultanément dans chaque quartier, l'une en semaine et l'autre un dimanche en juillet 2012. Les prélèvements moyennés au débit ont été réalisés pendant 24 heures.

III.C.5.2. PRÉLÈVEMENTS DANS DES SITES SPÉCIFIQUES

En novembre 2012, une campagne de prélèvements a été effectuée sur des points de collecte à la sortie de sites spécifiques situés en Île-de-France : une prison, un hôpital, un immeuble de bureau et trois lycées. Compte tenu de la particularité du point de collecte ne permettant pas la pose d'un débitmètre, les prélèvements moyennés ont été effectués sur 24 heures sans être asservis au débit mais asservis au temps.

Les caractéristiques des différents établissements sont détaillées dans le tableau X.

Tableau X : Caractéristiques des différents établissements en région parisienne à la sortie desquels des prélèvements d'eaux usées ont été effectués.

Sites	HÔPITAL	PRISON	BUREAU	LYCÉE 1	LYCÉE 2	COLLÈGE+LYCÉE
Caractéristiques	1750 lits	1000 à 1500 détenus	- de média - 500 à 1000 employés	- 1700 lycéens - 15 à 21 ans - internat	- 1110 lycéens - 15 à 21 ans	- 1700 élèves - 12 à 21 ans

III.C.5.3. ÉTUDE SUR LE BASSIN DE VIE DE FORT-DE-FRANCE (MARTINIQUE)

III.C.5.3.1. STEPs étudiées

Dans le cadre d'une collaboration avec le pôle « Pollutions » du groupe de recherche Biosphères (EA 929, AIHP-GEODE) de l'Université des Antilles et de la Guyane sous la responsabilité du Dr Damien Devault, une campagne de prélèvement a été réalisée dans 4 STEPs gérant les eaux usées de l'agglomération de Fort-de-France en Martinique dont les caractéristiques sont présentées dans le tableau XI.

Tableau XI : Principales caractéristiques des STEPs sélectionnées sur la zone urbaine de Fort-de-France (Martinique)

Code	Capacité (Eq. hab.)	Type de traitement	Catégories socio-professionnelles majoritaires de la zone concernée
STEP 1	25 000	Boues activées	revenus faibles à moyens
STEP 2	60 000	Boues activées	revenus faibles
STEP 3	19 066	Boues activées	revenus moyens
STEP 4	3 200	Boues activées	revenus faibles à moyens

III.C.5.3.2. Prélèvements et préparation des échantillons.

Des prélèvements d'affluents de STEP moyennés sur 24 heures et asservis au débit ont été effectués quotidiennement sur une période de 7 jours du 18 au 24 mai 2013. Les échantillons ont été congelés à -20°C puis transportés dans des glacières, par avion pour effectuer, dès l'atterrissage et transport au laboratoire, les extractions et les analyses. Les étapes suivantes ont été réalisées dans les mêmes conditions que lors des campagnes menées en métropole et à la Réunion.

III.D. ÉVALUATION DES EFFETS BIOLOGIQUES

III.D.1. TEST MICROTOX®

III.D.1.1. PRINCIPE

Le test Microtox® de mesure de la toxicité aiguë vise à déterminer la concentration en composé inhibant la luminescence cellulaire de bactéries luminescentes (*Vibrio fischeri* NRRL B-11177) selon la norme DIN EN ISO 11348-2. Le principe est de mesurer la cinétique comparative jusqu'à 30 minutes de la luminescence entre une suspension de bactéries dans la solution test non toxique (NaCl) et des suspensions dans les solutions à analyser. La baisse de l'intensité de lumière émise, conséquence d'une déficience des réactions biochimiques liées à la respiration cellulaire, est proportionnelle à la toxicité de l'échantillon sur ce microorganisme.

III.D.1.2. MÉTHODOLOGIE

- Préparer les échantillons à tester aux différentes concentrations retenues en ajustant une concentration finale en NaCl à 2 %. Ajuster le pH entre 6 et 8 et maintenir à 15°C.
- Reconstituer la souche de bactéries avec 1 mL du tampon de reconstitution (eau distillée) et mélanger doucement. Laisser reposer 30 minutes à 4°C. La suspension se conserve 2 heures à 4°C.

- Déposer 50 μL de la souche reconstituée dans les tubes destinés aux échantillons à tester et la solution témoin. Laisser reposer 15 minutes à 15°C puis ajouter 450 μL d'échantillon à tester et de solution témoin.
- Mesurer la luminescence émise à t_0 puis aux temps définis (5, 10, 15, 20, 25, 30 min) dans le tube témoin et les tubes tests en maintenant la température à 15°C (temps de mesure : 4 secondes).

III.D.2. ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ LOCOMOTRICE SUR UN MODÈLE POISSON : *Brachydanio rerio*

Les drogues illicites étant des molécules psychoactives, nous avons décidé d'effectuer des tests comportementaux chez un animal du milieu aquatique. Les drogues étudiées étant stimulantes ou dépressives, notre intérêt s'est porté sur une étude de l'activité locomotrice. Des tests de locomotion ont donc été réalisés sur des embryons d'une espèce de poisson, le *Brachydanio rerio* ou « poisson zèbre » en collaboration avec la plateforme AMATRACE du CNRS à Gif-s/-Yvette (91).

III.D.2.1. ÉLEVAGE

Les poissons zèbre sont maintenus dans des aquariums alimentés par un flux continu d'eau et de nutriments à la température de 28°C avec un cycle d'éclairage jour / nuit de 14 heures / 10 heures.

Des œufs de la souche sauvage AB sont collectés et conservés dans une solution d'*embryo medium*, dans un incubateur à 28,5°C avec un cycle jour / nuit de 14 heures / 10 heures.

Le test comportemental de locomotion est effectué 6 jours après la fécondation (J6).

L'*embryo medium* est constitué de :

- 1,0 mL de solution de Hank n°1 (8,0 g NaCl, 0,4 g KCl dilué dans 100 mL H₂O),
- 0,1 mL de solution de Hank n°2 (0,358 g Na₂HPO₄ anhydre, 0,60 g KH₂PO₄ dilué dans 100 mL H₂O),
- 1,0 mL de solution de Hank n°4 (0,72 g CaCl₂ dilué dans 50 mL H₂O),
- 95,9 mL H₂O,
- 1,0 mL de solution de Hank n°5 (1,23 g MgSO₄-7H₂O dilué dans 50 mL H₂O),
- 1,0 mL de solution de Hank n°6 (0,35 g NaHCO₃ dilué dans 10 mL H₂O),
- qsp quelques gouttes de NaOH (1 M) pour atteindre un pH de 7,2.

III.D.2.2. PRÉPARATION DES SOLUTIONS

- **Concentrations environnementales**

Des solutions de drogues ont été préparées dans de l'*embryo medium* aux concentrations suivantes : 0,05 µg/L, 0,5 µg/L et 5 µg/L soit des valeurs égales ou supérieures aux concentrations environnementales. Les essais ont été effectués avec les composés les plus abondants : COC, BZE et MOR, et avec les composés qui présentent une faible élimination dans les STEPs : MTD et EDDP.

- **Fortes concentrations**

Des essais ont été effectués avec la COC et la MOR à des concentrations plus élevées correspondant à des niveaux pour lesquels un effet a été observé dans différentes études publiées : 2,5 mg/L pour la COC (López-Patiño *et al.*, 2008) et 1 mg/L pour la MOR (Breteaud *et al.*, 2007).

III.D.2.3. ÉTUDE DU COMPORTEMENT DE LOCOMOTION

III.D.2.3.1. Conditionnement

Les embryons sont placés dans des plaques de 24 puits transparentes (1 poisson par puits) pendant 30 minutes. Les plaques sont ensuite disposées dans les ZebraBox, dispositifs clos équipés d'une caméra d'enregistrement et d'un éclairage dont l'intensité peut être réglée (Figure 35). Une période de latence de 10 minutes permet aux embryons de s'habituer aux conditions à l'intérieur de la ZebraBox.

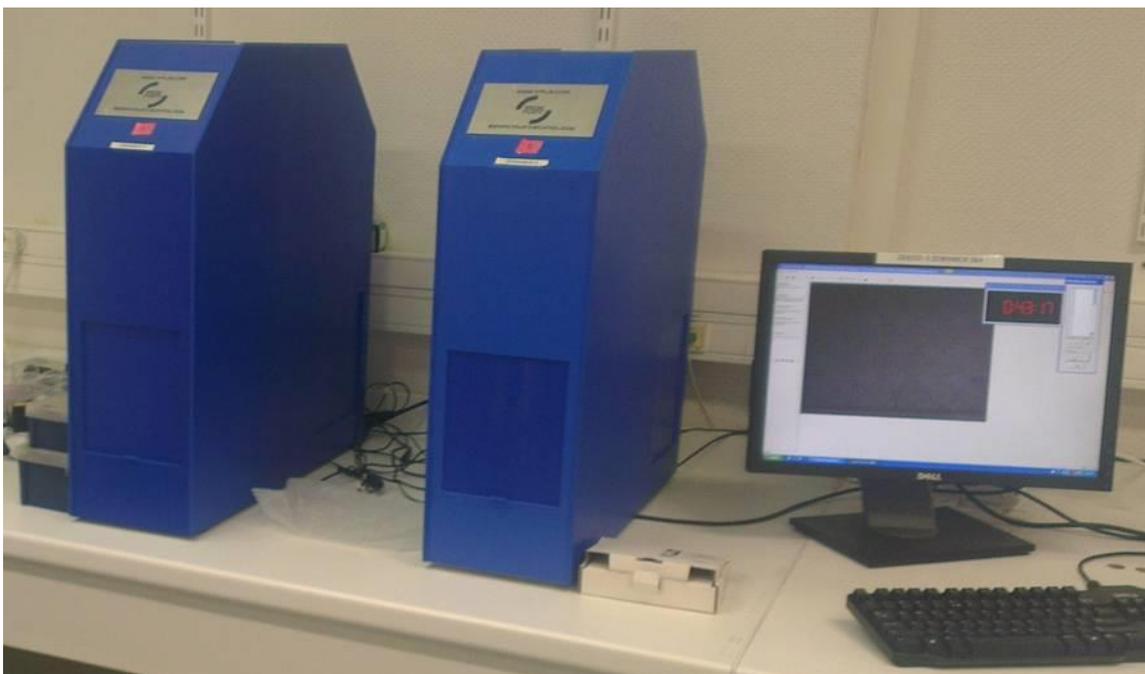


Figure 35 : ZebraBox, dispositifs d'enregistrement et de suivi de l'activité locomotrice des embryons de poissons zèbre reliés à un ordinateur équipé du logiciel ZebraLab Software (ViewPoint).

III.D.2.3.2. Essais

Après les 10 minutes de conditionnement, le mouvement des embryons est enregistré et mesuré grâce au logiciel de suivi ZebraLab Software (ViewPoint Life Sciences, Lyon, France) pendant 10 minutes. L'enregistrement des mouvements des embryons en l'absence de drogue permet à chaque embryon de représenter son propre contrôle négatif.

Les embryons sont ensuite transférés dans des plaques 24 puits contenant *l'embryo serum* avec la drogue. Deux nouvelles phases de conditionnement sont réalisées, une à l'extérieur de la ZebraBox (5 minutes) et la suivante à l'intérieur (5 minutes).

L'activité locomotrice des poissons est enregistrée pendant une heure à l'aide d'un dispositif équipé d'une caméra et d'un logiciel de suivi du mouvement. Le logiciel repère les embryons sur le fichier vidéo grâce aux différences de contrastes, suit les mouvements dans un périmètre défini et mesure les distances parcourues.

Notons que deux groupes de 24 embryons, soit 2 plaques, ont subi exactement le même test mais sans mise en contact avec les drogues. L'enregistrement de leur mouvement va permettre de corriger les mesures du mouvement des embryons exposés aux drogues par ce qui est appelé un « coefficient d'habituation ». Ce coefficient correspond, en général, à une

diminution de la locomotion après 30 minutes chez tous les individus testés et sans rapport avec une exposition aux drogues. Cette diminution de la locomotion est due à une habituation du poisson pour son environnement, ici un puits.

III.D.2.3.3. Analyse des données

- Le traitement des données comporte deux étapes :
 - la détermination des coefficients d'habituation pour les intervalles 30-40 minutes et 60-70 minutes,
 - la détermination des pourcentages de modification de l'activité locomotrice des embryons pour 3 intervalles de temps :
 - de 10 à 20 min
 - de 30 à 40 min, avec correction par le coefficient d'habituation,
 - de 60 à 70 min, avec correction par le coefficient d'habituation
- Traitement statistique :
 - ANOVA à deux facteurs avec le pourcentage de changement d'activité après le traitement à la drogue comme variable dépendante et la concentration et le temps comme variables indépendantes.

IV - RÉSULTATS ET DISCUSSION

IV.A. MISE AU POINT ET VALIDATION DE LA PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS ET DES MÉTHODES D'ANALYSE

IV.A.1. CHOIX DES PHASES D'EXTRACTION

IV.A.1.1. PHASES POLYMÉRIQUES AVEC ÉCHANGE HYDROPHILE – LIPOPHILE

Les essais réalisés sur ce type de phase ont été effectués avec des solutions aqueuses dopées en BZE, BZE-D3, MDMA, MDMA-D5, AMP, AMP-D6, MOR, MOR-D6, HER et THC-COOH, en étudiant différents protocoles de lavage et d'élution. Les résultats sont présentés dans le Tableau XII.

Tableau XII : Rendements d'extraction (en %) obtenus pour dix composés avec 3 types de phases polymériques d'échange hydrophile-lipophile suivant les différents protocoles d'extraction définis.

Conditionnement	Acide									Neutre					
	0 % MeOH			5 % MeOH			10 % MeOH			0 % MeOH					
Rinçage	MeOH			MeOH			MeOH			MeOH			MeOH + Ac. Formique (2 %)		
Élution	Oasis HLB®	Strata™ X	Bond Elut Plexa™	Oasis HLB®	Strata™ X	Bond Elut Plexa™	Oasis HLB®	Strata™ X	Bond Elut Plexa™	Oasis HLB®	Strata™ X	Bond Elut Plexa™	Oasis HLB®	Strata™ X	Bond Elut Plexa™
BZE	90	85	102	86	87	101	80	85	108	93	94	105	98	94	93
BZE-D3	90	81	100	88	89	102	79	85	104	93	92	103	97	94	93
MDMA	104	90	27	88	85	9	77	83	2	88	84	104	108	108	104
MDMA-D5	107	91	27	92	88	9	81	86	2	90	87	108	108	105	102
AMP	42	38	1	35	47	1	23	38	0	88	89	25	101	103	17
AMP-D6	37	34	1	31	43	1	22	36	0	86	89	23	92	97	16
MOR	32	13	0	26	21	0	9	14	0	105	87	51	107	73	23
MOR-D6	31	13	1	22	21	0	8	14	0	109	97	39	116	78	20
HER	78	50	82	73	42	82	80	42	99	52	37	86	93	72	85
THC-COOH	32	11	43	-	-	-	-	-	-	78	17	89	62	32	67

IV.A.1.1.1. Percolation à pH 2 - Élution par du méthanol

Les rendements d'extraction obtenus après conditionnement des phases en milieu acide sont très variables en fonction des molécules, les valeurs étant satisfaisantes pour la BZE, la MDMA et l'HER mais faibles pour l'AMP, la MOR et le THC-COOH. Les rendements obtenus pour les molécules et leurs analogues deutérés respectifs sont similaires.

Les cartouches Bond Elut Plexa™ offrent les meilleurs rendements d'extraction pour la BZE (102 et 108 %), l'HER (entre 82 et 99 %) et le THC-COOH (43 %) dans toutes les conditions de rinçage par rapport aux cartouches Oasis HLB® et Strata-X®.

Pour toutes les autres molécules, les rendements obtenus avec les cartouches Bond Elut Plexa™ sont très inférieurs à ceux obtenus avec les deux autres marques dont les performances sont similaires. Les rendements obtenus avec les cartouches Oasis HLB® sont égaux ou supérieurs à ceux obtenus avec les cartouches Strata™-X pour toutes les molécules sauf pour l'AMP et la MOR lorsque du MeOH est ajouté à la solution de rinçage.

Avec un conditionnement des cartouches en milieu acide, les meilleurs rendements d'extraction, pour la majorité des molécules étudiées, sont obtenus avec les cartouches Oasis HLB® en procédant à un rinçage sans ajout de MeOH.

IV.A.1.1.2. Percolation à pH neutre - Élution des cartouches avec du MeOH ou du MeOH avec 2 % d'acide formique

En condition de pH neutre, les rendements d'extraction sont variables selon les molécules, similaires ou plus élevés que ceux obtenus dans les conditions acides.

Avec une élution par du MeOH, les rendements d'extraction avec les cartouches Bond Elut Plexa™ sont les meilleurs pour la BZE, la MDMA, l'HER et le THC-COOH mais les plus faibles pour la MOR et l'AMP en comparaison aux deux autres types de cartouches. Toujours dans ces conditions, les cartouches Oasis HLB® et Strata™-X offrent des rendements similaires pour les composés testés sauf pour la MOR, l'HER et le THC-COOH pour lesquels les rendements sont supérieurs avec les cartouches Oasis HLB®.

L'ajout d'acide formique au MeOH pour l'élution améliore les rendements d'extraction obtenus avec les cartouches Oasis HLB® et Strata™-X pour tous les composés sauf la MOR, dont le rendement ne varie pas, et le THC-COOH pour lequel est observée une légère diminution de rendement avec les cartouches Oasis HLB®. À l'opposé, pour les cartouches Bond Elut Plexa™, l'acidification du solvant d'élution entraîne une diminution des rendements d'extraction sauf pour la MDMA.

Pour l'ensemble des résultats, il apparaît que les rendements d'extraction les plus élevés sont obtenus avec les cartouches Oasis HLB® et une élution par du MeOH additionné de 2 % d'acide formique.

Les travaux comparatifs montrent que les rendements d'extraction obtenus avec les cartouches Oasis HLB® sont les meilleurs, pour un plus grand nombre de molécules lors :

- d'un conditionnement acide des cartouches, un rinçage avec de l'eau purifiée et une élution au MeOH,

- d'un conditionnement neutre des cartouches, un rinçage avec de l'eau purifiée et une élution au MeOH additionné de 2 % d'acide formique.

La seconde condition offre les rendements d'extraction les plus élevés. Des essais complémentaires ont cependant été effectués sur des cartouches échangeuses de cations, utilisées par certains auteurs dans la littérature.

IV.A.1.2. PHASES ÉCHANGEUSES DE CATIONS

Les cartouches Oasis MCX® (Waters®) et Strata™-XC (Phenomenex®) subissent deux éluions successives pour éluer dans un premier temps les composés cationiques en milieu acide puis les autres composés en milieu basique. Les rendements d'extraction obtenus sont plus faibles que ceux obtenus avec les cartouches d'échange hydrophile-lipophile (Tableau XIII) : de 1 % à 104 % avec les cartouches Oasis MCX® et de 0 % à 89 % avec les cartouches Strata™-XC. De plus, le rendement d'extraction de la MOR proche de 200 % et une absence de recouvrement de l'HER semblent attester d'une hydrolyse de l'HER lors de ce protocole d'extraction, probablement pendant l'étape d'élution en milieu basique.

Tableau XIII : Rendements d'extraction (en %) obtenus pour dix composés avec les cartouches échangeuses de cations Oasis MCX et Strata-XC.

Conditionnement	Acide	
Élution (2 phases)	MeOH + 2 % acide formique (2x5 mL) suivie de MeOH + 2 % NH ₄ OH (2x5 mL)	
Cartouches	Oasis MCX®	Strata™-XC
BZE	73	54
BZE-D3	71	53
MDMA	7	1
MDMA-D5	1	0
AMP	54	33
AMP-D6	47	19
MOR	218	196
MOR-D6	104	89
HER	0	0
THC-COOH	26	44

IV.A.1.3. CONCLUSION

Les rendements d'extraction les plus élevés, tous composés confondus, ont été obtenus avec les cartouches Oasis HLB®, en condition neutre, en rinçant par de l'eau purifiée pour ensuite éluer par du MeOH additionné de 2 % d'acide formique. Le protocole d'extraction retenu est donc le suivant :

Cartouches Oasis HLB®

- Conditionnement : 2x5 mL de MeOH
- Lavage : 2x5 mL d'eau purifiée
- Percolation en condition neutre par aspiration sous vide
- Élution : 2x5 mL de MeOH additionné de 2 % acide formique.

Dans ces conditions, les rendements d'extraction sont supérieurs à 90 % sauf pour le THC-COOH, proche de 60 %. Les rendements d'extraction des étalons internes deutérés sont équivalents à ceux des molécules d'intérêt ce qui valide leur introduction dans les prélèvements avant l'extraction pour compenser les effets de matrice.

IV.A.2. OPTIMISATION DU PROTOCOLE D'EXTRACTION

IV.A.2.1. CALCUL DES PERFORMANCES DE L'EXTRACTION ET ÉVALUATION DE L'EFFET DE MATRICE

Les lettres A, B, C et D font référence aux protocoles présentés sur la figure 31 (p. 114) du chapitre « Matériels et méthodes ».

IV.A.2.1.1. Rendement (D/A) et recouvrement (C/B) d'extraction

Les rendements d'extraction (D/A) et les recouvrements (C/B), calculés respectivement pour des « eaux propres » (eau purifiée et eau d'Évian®) et des eaux usées, sont compris entre 80 % et 106 % (D/A) et entre 61 % et 124 % (C/B) (Tableau XIV).

Ces valeurs, quelle que soit la matrice, confirment l'efficacité du protocole d'extraction.

Tableau XIV : Rendement et recouvrement d'extraction des différents composés obtenus avec des cartouches Oasis HLB®. NA = non analysé

Composés	Rendements d'extraction (D/A)		Taux de recouvrement (C/B) (%)
	Eau purifiée (%)	eau Évian® (%)	
COC	104	111	107
BZE	96	97	119
EME	NA	88	110
CET	103	107	109
NOR	91	81	105
AMP	94	80	104
MDMA	97	95	113
MDEA	85	88	110
MDA	90	85	103
HER	97	89	121
6-MAM	90	83	124
MOR	NA	94	79
MET	106	85	92
EDDP	80	44	103
BUP	98	75	109
THC-COOH	NA	64	61

IV.A.2.1.2. Efficacité du processus (C/A)

L'efficacité du processus rend compte des performances de l'extraction et de l'influence de l'effet de matrice. Elle correspond au taux de recouvrement (C/B) corrigé de l'effet de matrice (B/A). Les valeurs varient de 23 % pour la MDMA et la MDEA à 93 % pour la BUP (Tableau XV). Compte-tenu des performances de l'extraction, les faibles valeurs s'expliquent essentiellement par des effets de matrice importants en fonction de la composition de l'eau usée analysée et qui peuvent donc varier d'un échantillon à l'autre.

IV.A.2.1.3. Effet de matrice (B/A)

Les effets de matrice, estimés par comparaison de l'aire du pic d'un composé obtenu pour une eau usée dopée après la phase d'extraction à l'aire du pic de ce même composé obtenu pour une solution méthanolique, varient de -11 % pour le THC-COOH à -80 % pour la MDMA (Tableau XV).

Tableau XV : Efficacité du processus et effet matrice mesurés pour tous les composés extraits à l'aide de cartouches Oasis HLB®

Composés	Efficacité du processus (C/A) (%)	Effet de matrice (B/A) (%)
COC	36	-67
BZE	54	-54
EME	24	-77
CET	41	-63
NOR	34	-67
AMP	37	-64
MDMA	23	-80
MDEA	23	-79
MDA	36	-65
HER	82	-32
6-MAM	37	-70
MOR	64	-21
MET	37	-59
EDDP	66	-35
BUP	93	-16
THC-COOH	57	-11

IV.A.2.1.4. Conclusion

Le protocole de préparation des échantillons mis au point permet d'obtenir des rendements d'extraction jugés satisfaisants, supérieurs à 60 % et en majorité supérieurs à 80 % mais l'effet de matrice diminue beaucoup l'efficacité de ce processus d'extraction pour certains composés dont la MOR, la BUP et le THC-COOH. Bien que l'utilisation d'étalons internes deutérés permette de compenser cet effet, des essais ont été réalisés pour tenter d'en réduire l'intensité.

IV.A.2.2. DIMINUTION DE L'EFFET DE MATRICE

IV.A.2.2.1. Essai de purification sur cartouches Florisil™

Les cartouches Florisil™ permettent d'éliminer une partie des molécules non polaires qui polluent la matrice et risquent d'interférer avec l'analyse en spectrométrie de masse. La purification sur cartouche Florisil™ est mise en œuvre après l'extraction sur les cartouches Oasis HLB® et deux protocoles ont été testés, sur des cartouches ayant des masses de phase

stationnaire différents (500 mg ou 1 g) en faisant varier les paramètres de conditionnement, de rinçage et d'élution.

Selon les protocoles, le passage sur Florisil™ apporte un gain (valeurs positives) ou une perte (valeurs négatives) de recouvrement (Tableau XVI).

Le protocole n°1, correspondant à une reprise de l'extrait sec par 5 ml de dichlorométhane, conduit à des résultats similaires quelle que soit la masse des cartouches Florisil™ : une amélioration de 20 à 342 % est obtenue pour la NOR, la MDEA, la MDA et le THC-COOH mais une perte est observée avec les autres composés. Des résultats discordants sont obtenus pour l'AMP et la MDMA.

Le protocole n°2, réalisé sur une reprise de l'extrait sec par 200 µL, avec une élution au MeOH et des cartouches Florisil™ de 500 mg, montre un gain de recouvrement de 3 % à 223 % pour tous les composés sauf ceux de la famille de la COC. Par contre, l'utilisation du même protocole mais avec des cartouches Florisil™ de 1 g conduit à une diminution de recouvrement pour l'ensemble des composés sauf la MDEA, la MET et le THC-COOH.

Tableau XVI : Recouvrements d'extraction et coefficients de variation (CV, n=3) obtenus lors des essais de purification sur cartouche Florisil®. En vert, les recouvrements d'extraction améliorés. En rouge, les recouvrements d'extractions diminués. nd = non détecté après la purification sur cartouche Florisil™

Composés	Protocole n°1				Protocole n°2							
	500 mg (%)	CV (%)	1 g (%)	CV (%)	500 mg Élution MeOH (%)	CV (%)	1 g Élution MeOH (%)	CV (%)	500 mg Élution acétate (%)	CV (%)	1 g Élution acétate (%)	CV (%)
COC	-72	16	-58	9	-44	21	-63	89	-64	156	-99	57
BZE	-68	27	-96	54	-89	28	-93	30	nd	-	nd	-
EME	nd	-	nd	-	-9	71	-66	32	-100	-	nd	-
CET	-51	18	-41	12	199	116	-35	87	-50	153	-99	42
NOR	20	14	60	4	-71	21	-68	36	-78	149	-100	35
AMP	40	8	-28	10	3	64	-40	17	nd	-	nd	-
MDMA	31	8	-28	4	114	24	-9	98	nd	-	nd	-
MDEA	98	8	130	2	201	78	66	34	-93	-	nd	-
MDA	55	15	15	8	61	19	-3	44	nd	-	nd	-
HER	-41	-	nd	-	89	-	nd	-	-89	130	-100	-
6-MAM	-2	14	-6	6	27	173	nd	-	-85	108	nd	-
MOR	-87	17	-79	25	55	9	-9	106	nd	-	nd	-
MET	-7	54	-37	9	116	36	9	83	-84	158	nd	-
EDDP	-83	35	-100	24	11	113	-99	80	-99	154	-100	66
THC-COOH	165	66	342	2	223	20	247	17	-83	53	nd	-

L'élution avec de l'acétate d'éthyle se caractérise par une baisse de recouvrement pour l'ensemble des composés testés.

Ces essais de purification ont été répétés 3 fois et les coefficients de variation obtenus, souvent supérieurs à 20 % et parfois supérieurs à 150 %, attestent d'un manque de répétabilité qui n'avait pas été constaté lors d'une simple extraction sur cartouches Oasis HLB® sans purification.

Au regard de ces résultats, l'étape de purification sur cartouches Florisil™ n'a pas été retenue.

IV.A.2.2.2. Essai de dilution de l'extrait méthanolique

La dilution de l'extrait issu du protocole d'extraction permet de diminuer l'effet de matrice mais entraîne simultanément une baisse de la sensibilité par réduction des concentrations des composés analysés dans l'extrait dilué. Cependant, il existe un compromis optimal entre le gain obtenu sur l'effet de matrice et la baisse de sensibilité qu'il convient de définir par comparaison de plusieurs facteurs de dilution.

Le rapport entre l'aire du pic d'un composé dans un extrait repris et dilué et l'aire du pic de ce composé dans une solution méthanolique diluée dans la même proportion a été calculé pour des facteurs de dilution compris entre 1/10 et 2/3.

Les résultats obtenus pour la BZE sont présentés, à titre d'exemple, dans le tableau XVII et la figure 36.

Tableau XVII : Pourcentage d'augmentation du rapport de l'aire du pic de la BZE extrait sur l'aire du pic de la BZE en solution méthanolique, évalué pour chaque dilution, par comparaison au rapport calculé pour l'extrait non dilué.

Dilution	Pourcentage d'augmentation
2/3	28
1/2	47
1/3	42
1/5	42
1/10	94

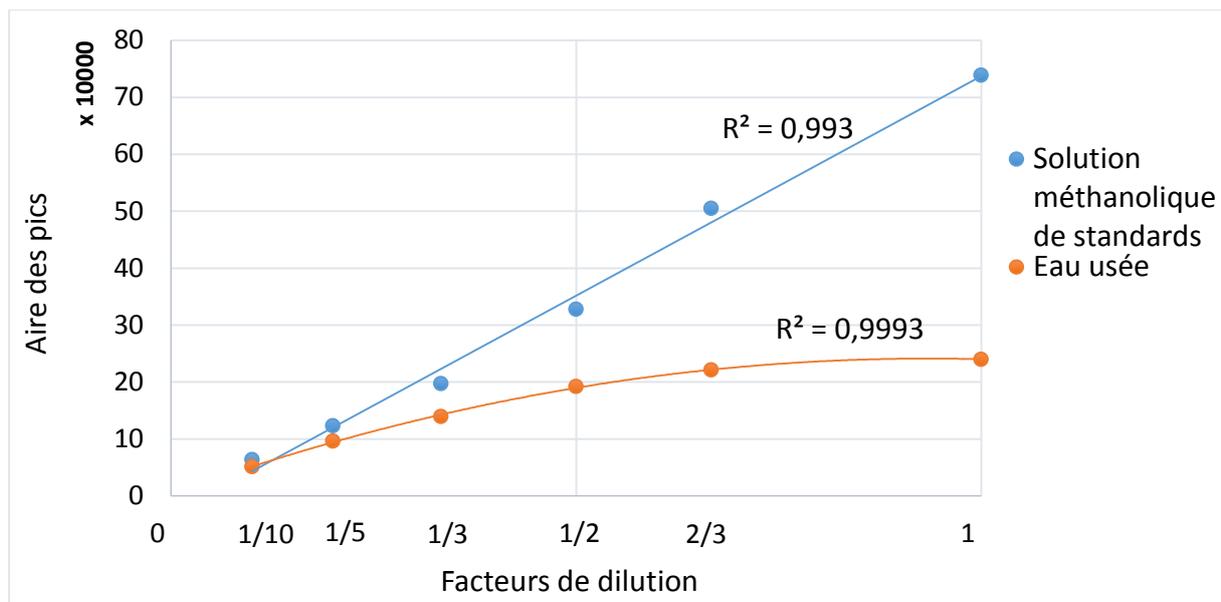


Figure 36 : Relations entre les aires des pics obtenus pour la BZE pour un extrait d'eau usée dopé puis dilué (en orange) et les aires des pics obtenus pour la BZE pour une solution méthanolique diluée dans les mêmes proportions (en bleu).

Après reprise d'un extrait de SPE par 500 μ L puis dilution selon le protocole établi, la perte de signal entre l'extrait d'échantillon d'eau usée dopée et une solution méthanolique diminue, de 72 % pour une dilution au 2/3 à 6 % pour une dilution au 1/10^e. Ceci prouve que l'effet de matrice diminue grâce à la dilution de l'échantillon. Cependant, le gain est calculé par rapport aux intensités de pics qui diminuent quand le facteur de dilution augmente. La relation entre l'aire et le facteur de dilution est linéaire pour les solutions méthanoliques mais présente une saturation pour des facteurs de dilution inférieurs à 1/2 pour les extraits d'eau usée, attestant de l'importance de l'effet de matrice à partir de ce seuil.

Afin de limiter la perte de sensibilité par dilution de l'extrait tout en bénéficiant d'une diminution de l'effet de matrice satisfaisant, la dilution au 1/2 a été retenue comme étant le meilleur compromis. L'extrait évaporé à sec est donc dissous dans 1 mL de MeOH au lieu de 500 μ L.

IV.A.3. VALIDATION DE LA MÉTHODE ANALYTIQUE

IV.A.3.1. LINÉARITÉ

La linéarité de réponse entre l'aire du pic et la concentration a été vérifiée entre 50 et 200 µg/L et les coefficients d'ajustement r^2 obtenus pour tous les composés étudiés sont supérieurs à 0,994 (Tableau XVIII, figures 37 et 38).

Tableau XVIII : Coefficients d'ajustement linéaire calculés pour la fonction de réponse (aire=f(concentration)) et pour la gamme d'étalonnage (aire composé/aire analogue deutéré=f(concentration)).

Composés	Linéarité de réponse (r^2) (50 à 200 µg/L)	Linéarité (r^2) (1,25 à 400 µg/L)	Composés	Linéarité de réponse (r^2) (50 à 200 µg/L)	Linéarité (r^2) (1,25 à 400 µg/L)
COC	0,999	0,999	MET	0,999	0,998
BZE	1,000	0,998	HER	0,999	0,997
EME	0,997	0,999	6-MAM	0,999	0,997
NOR	0,994	0,999	MOR	0,999	0,999
CET	0,999	0,999	MTD	0,999	0,999
AMP	0,999	0,999	EDDP	0,999	0,999
MDMA	0,997	0,997	BUP	0,999	0,998
MDEA	0,999	0,999	THC-COOH	0,998	0,999
MDA	0,999	0,995			

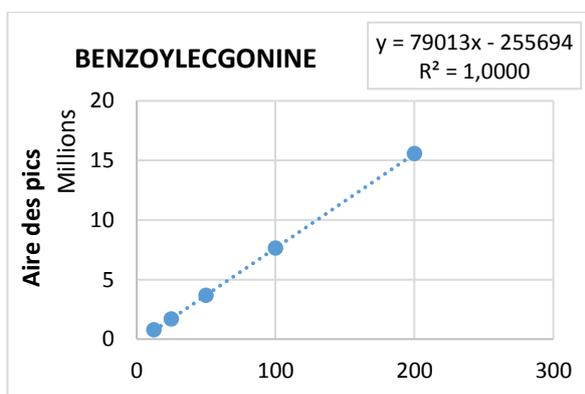
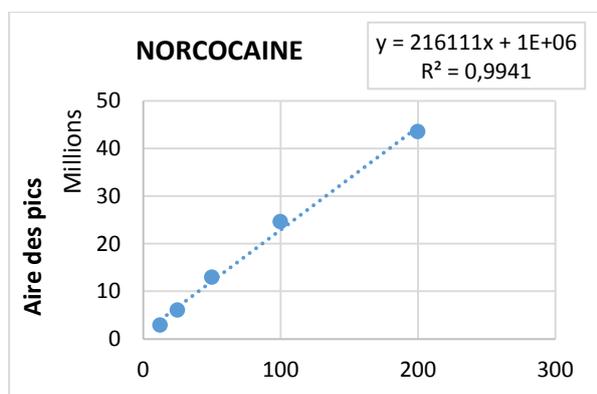


Figure 37 : Fonction de réponse aire=f(concentration). Les exemples choisis correspondent aux molécules pour lesquelles ont été obtenues les valeurs extrêmes des coefficients d'ajustement : à gauche, la valeur minimale (NOR) et à droite, la valeur maximale (BZE).

L'introduction des étalons internes deutérés conduit à utiliser les rapports « aire pic molécule/aire pic analogue deutéré » pour établir la gamme d'étalonnage. La linéarité a été vérifiée pour chacun des composés entre 1,25 et 400 µg/L et les coefficients d'ajustement r^2

obtenus sont compris entre 0,995 et 0,999. Les droites d'étalonnage passent par l'origine et sont donc en faveur d'un modèle proportionnel.

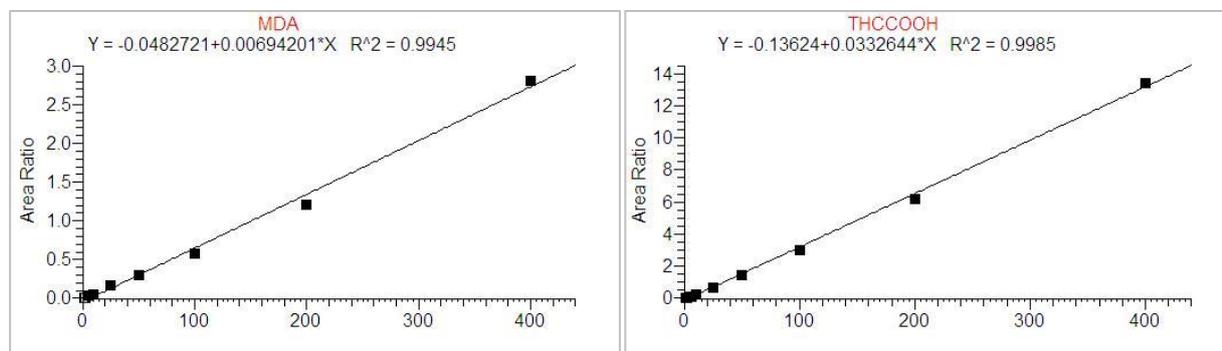


Figure 38 : Droite d'étalonnage aire composé/aire analogue deutéré=f(concentration).
Les exemples choisis correspondent aux valeurs extrêmes des coefficients d'ajustement :
à gauche, la valeur minimale (MDA) et à droite, la valeur maximale (THC-COOH).

IV.A.3.2. PRÉCISION DU PROCÉDÉ DE PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Tableau XIX : Coefficients de variation (en %, n=3) obtenus pour trois répétitions d'analyse, incluant l'extraction sur phase solide, d'eau usée dopée de façon à obtenir des extraits à 5 concentrations différentes.

Concentrations échantillons	50 ng/L	100 ng/L	200 ng/L	400 ng/L	800 ng/L
Concentrations extraits	12,5 µg/L	25 µg/L	50 µg/L	100 µg/L	200 µg/L
COC	3,6	3,2	3,6	0,7	1,7
BZE	6,3	3,7	3,3	2,8	3,7
EME	15,2	5,4	5,6	11,2	0,8
NOR	1,8	3,7	0,5	2,6	0,7
CET	6,1	2,9	2,4	3,4	1,9
AMP	2,8	6,6	7,0	1,9	7,4
MDMA	10,7	0,9	7,7	1,4	4,2
MDEA	1,8	4,4	3,2	2,1	2,9
MDA	9,7	6,5	4,0	2,7	2,5
HER	5,6	8,1	9,7	4,5	2,5
6-MAM	4,2	3,5	7,1	5,0	0,3
MOR	5,9	8,0	0,9	2,6	5,3
MTD	0,5	1,5	2,4	3,1	2,3
EDDP	4,1	3,1	0,4	2,1	2,7
BUP	6,7	10,5	7,5	3,3	3,4
THC-COOH	8,3	10,5	9,3	10,6	5,8

Les coefficients de variation sont inférieurs à 15 % pour l'ensemble des produits et des niveaux de concentration, à l'exception d'une valeur à 15,2 % pour l'EME à la concentration de 12,5 µg/L dans l'extrait (Tableau XIX). Ces performances sont conformes aux spécifications émises pour cette gamme de concentration. Les CV ne diminuent pas avec la concentration, la précision étant parfois meilleure à 12,5 µg/L qu'à 200 µg/L (AMP ou MTD par exemple).

IV.A.3.3. LIMITES DE DÉTECTION ET DE QUANTIFICATION

Tableau XX : Limites de détection (LD) et limites de quantification (LQ) de notre protocole calculées pour les échantillons d'affluents et d'effluents de STEPs.

Composés	LD (ng/L)		LQ (ng/L)	
	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent
COC	6	1,5	20	5
BZE	3	1,5	10	5
EME	12	3	40	10
NOR	6	1,5	20	5
CET	1,5	0,6	5	2
AMP	3	1,5	10	5
MDMA	6	1,5	20	5
MDEA	6	1,5	20	5
MDA	6	1,5	20	5
HER	12	3	40	10
6-MAM	12	3	40	10
MOR	12	6	40	20
MTD	12	1,5	40	5
EDDP	1,5	0,3	5	1
BUP	12	3	40	10
THC-COOH	1,5	0,3	5	1

Les LD, définies par un rapport signal/bruit de 3, et les LQ, définies par un rapport signal/bruit de 10, varient respectivement de 1,5 à 6 ng/L et de 5 ng/L à 40 ng/L dans l'eau usée pour un volume d'extraction de 250 mL.

Ces valeurs sont indicatrices de la performance de la méthode mais peuvent varier d'une analyse à l'autre en raison de l'importance des effets de matrice qui sont fonction de la composition de l'échantillon d'eaux usées analysé. Elles sont donc évaluées pour chaque

série de mesures : les valeurs précisées dans le tableau XX sont satisfaisantes et compatibles avec les gammes de concentration mesurées dans les affluents et les effluents.

IV.A.3.4. AJOUTS DOSÉS – RÉCUPÉRATION

Les taux de récupération ont été calculés pour chaque composé et chaque prélèvement analysé à partir de l'aliquote de l'échantillon dopé à la concentration de 400 ng/L pour les affluents ou 200 ng/L pour les effluents. Pour cette étude, les limites acceptables des taux de récupération sont fixées à 70 et 130 %.

Pour chaque composé, les taux de récupération moyens ainsi que les minima et les maxima obtenus sur l'ensemble des prélèvements analysés sont présentés dans le tableau XXI.

Quel que soit le composé, les moyennes des taux de récupération sont comprises entre 87 et 127 % et ne diffèrent pas entre affluents et effluents. Les valeurs extrêmes sont plus éloignées des limites d'acceptation pour les affluents avec des valeurs maximales souvent comprises entre 140 et 150 % voire 160 % et quatre valeurs minimales inférieures à 70 %.

Les taux de récupération sont toujours dans les limites pour MDEA, MTD et EDDP mais plus dispersés pour le groupe des opiacés, HER, MOR et 6-MAM.

Cette technique de validation par utilisation d'ajouts dosés associée au calcul de CV pour les 3 répétitions de mesure a permis de garantir les dosages de chaque composé dans les affluents et effluents de STEPs, tenant ainsi compte de la variabilité de composition de la matrice des différents prélèvements.

Tableau XXI : Moyenne des taux de récupération (minima et maxima), calculés pour chaque composé dans les échantillons d'affluents (n=62) et d'effluents (n=62) dopés, exprimés en pourcentage.

Composés	Affluent	Effluent
COC	110 (81 - 145)	109 (89 - 147)
BZE	111 (77 - 140)	107 (81 - 130)
EME	125 (106 -140)	127 (73 - 147)
NOR	124 (97 - 143)	119 (81 - 135)
CET	96 (61 - 134)	105 (90 - 125)
AMP	124 (97 - 155)	117 (95 - 140)
MET	118 (93 - 145)	113 (95 - 133)
MDMA	114 (93 - 166)	113 (94 - 134)
MDEA	99 (83 - 125)	104 (78 - 129)
MDA	104 (88 - 130)	111 (92 - 137)
HER	87 (35 - 116)	93 (65 - 130)
6-MAM	103 (64 - 139)	97 (45 - 136)
MOR	98 (56 - 155)	93 (48 - 140)
MTD	106 (76 - 129)	109 (95 - 132)
EDDP	105 (81 - 129)	106 (88 - 129)
BUP	101 (65 - 128)	108 (91 - 134)
THC-COOH	116 (90 - 142)	109 (98 - 126)

IV.B. RÉSULTATS DES CAMPAGNES DE MESURES

IV.B.1. CONCENTRATIONS DANS LES AFFLUENTS ET LES EFFLUENTS DE 25 STEPs

Au total, 124 prélèvements (62 affluents et 62 effluents) ont été effectués sur les 25 STEPs réparties sur le territoire français essentiellement métropolitain, pour la plupart entre janvier et juillet 2012, avec au moins un prélèvement durant la semaine et un pendant le weekend. Les pourcentages de détection de chaque composé sont détaillés dans la figure 39. Les concentrations mesurées sont présentées dans l'annexe VII et illustrées par la figure 40.

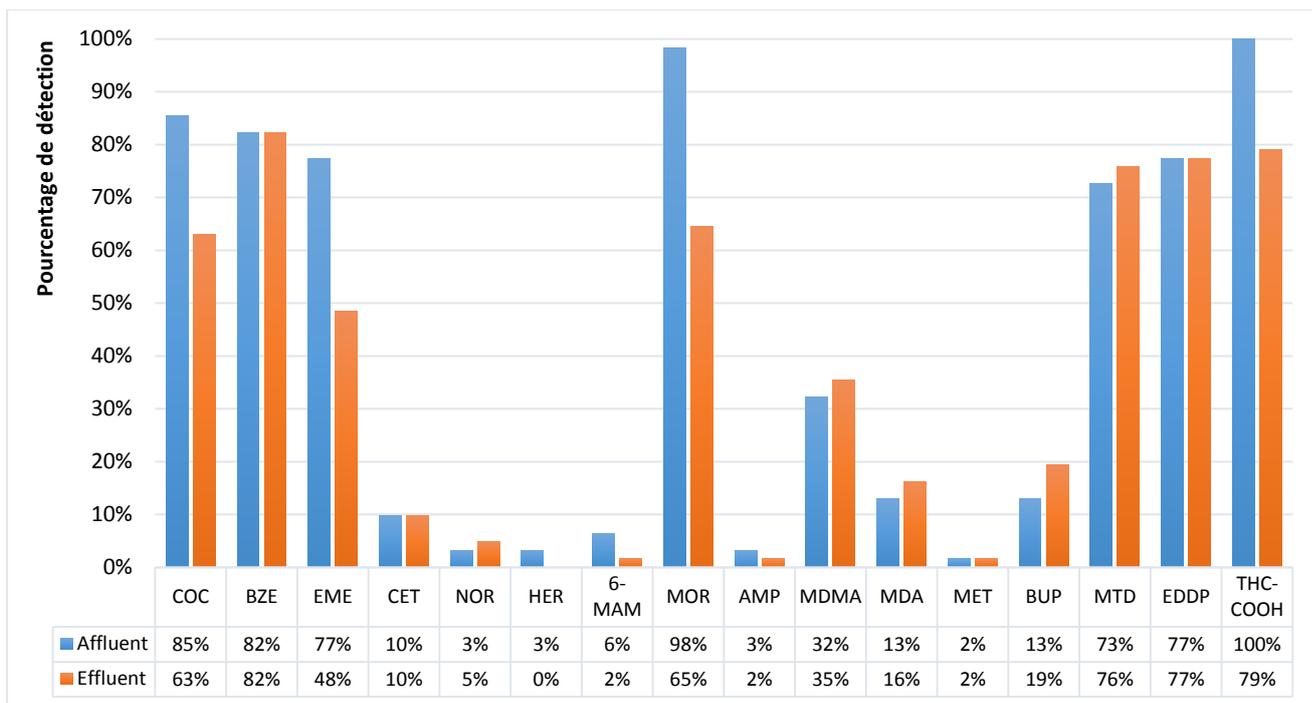


Figure 39 : Pourcentages de détection de chaque composé dans les affluents et les effluents de STEPs pour l'ensemble des campagnes de prélèvements.

Le THC-COOH est le composé le plus fréquemment retrouvé, détecté dans 100 % des affluents et 78 % des effluents. Les pourcentages de détection de MOR, BZE, COC, EME, MTD et EDDP sont supérieurs à 75 % dans les affluents. Pour ces molécules, les pourcentages de détection dans les effluents diminuent mais restent supérieurs à 60 % pour la COC, la MOR, la MTD et l'EDDP et supérieur à 80 % pour la BZE, seul le pourcentage de détection de l'EME est inférieur à 50 %.

La BUP et la MDMA sont détectées dans environ 15 % des affluents et 30 % des effluents. Les autres composés, MET, HER, NOR, AMP, 6-MAM et CET sont détectés dans moins de 10 % des affluents et des effluents (Figure 39).

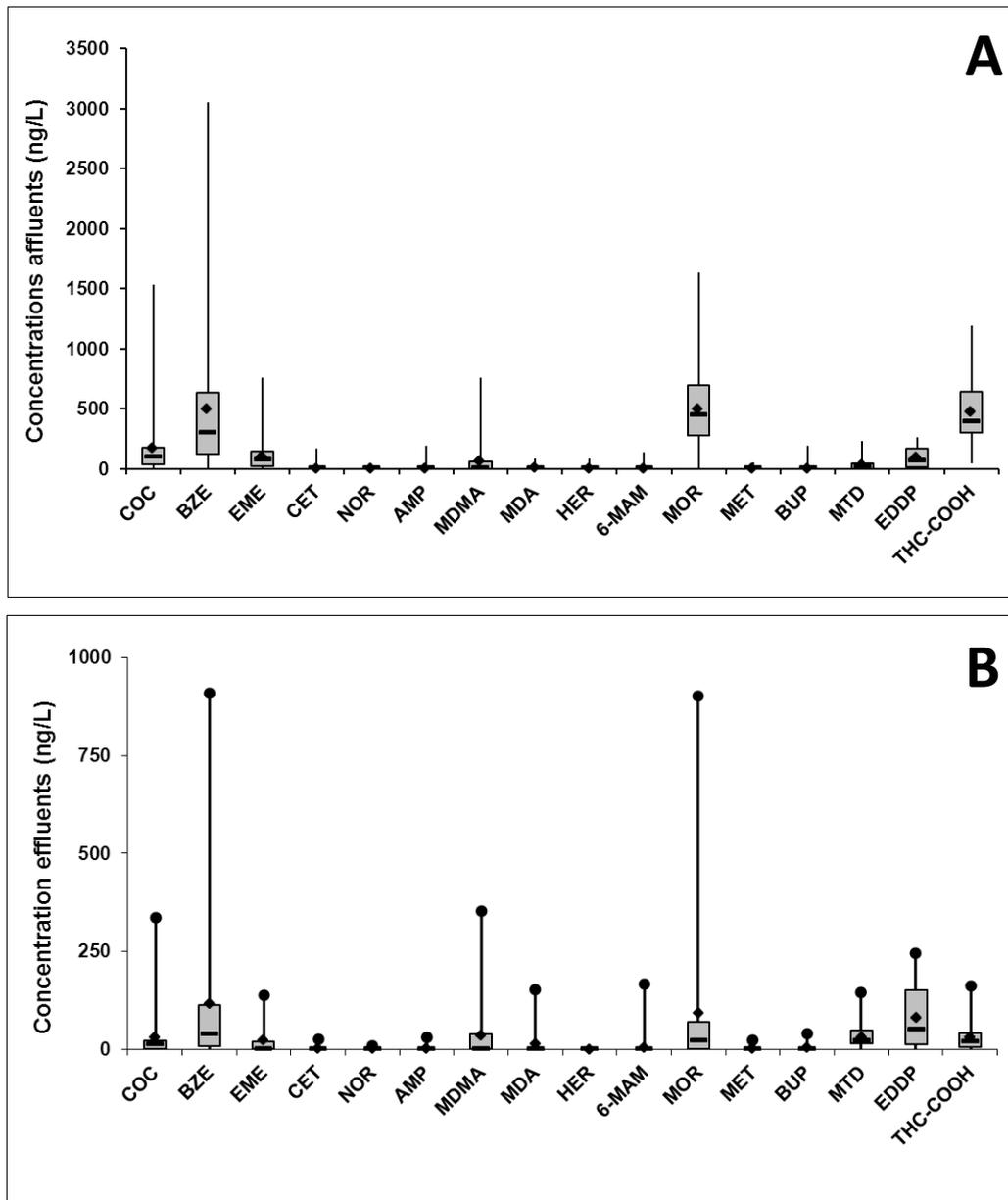


Figure 40 : Représentation des concentrations mesurées dans les affluents (A) et les effluents (B) des 25 STEPs analysées. Les valeurs « non détectable » et « inférieure à la LQ » ont été considérées respectivement comme des valeurs nulles ou correspondant à la moitié de la LQ.

◆ = moyenne, — = médiane.

Tout composé confondu, les concentrations minimales et maximales sont respectivement de 6 ng/L pour l'EDDP à 3050 ng/L pour la BZE dans les affluents et de 5 ng/L pour le CET et le THC-COOH à 910 ng/L pour la BZE dans les effluents (Figure 40).

IV.B.1.1. COCAÏNE ET MÉTABOLITES

La BZE est la molécule présente aux concentrations les plus élevées, dans les affluents et les effluents et n'a pas été détectée dans seulement 17 échantillons sur 124. Pour les autres composés de cette famille, les fréquences de détection dans les affluents sont respectivement de 85 %, 77 %, 10 % et 3 % pour la COC, l'EME, la CET et la NOR. Les pourcentages de détection de la COC et de l'EME sont plus faibles dans les effluents que dans les affluents mais les autres composés sont autant détectés en entrée de STEP qu'après le traitement.

En additionnant toutes les molécules de ce groupe, les concentrations varient de 10 à 3 100 ng/L dans les affluents et 5 à 910 ng/L dans les effluents. Les concentrations les plus élevées pour la BZE (3,1 µg/L), la COC (1,5 µg/L) et le CET (167 ng/L) ont été observées dans les eaux usées arrivant à la STEP SE5 située dans le sud de la France (40 000 équivalent-habitants), seule station où la NOR a été quantifiée. Des concentrations élevées de BZE ont également été observées dans trois STEPs situées dans le sud de la France : deux grandes, SE2 (1,2 µg/L) et SO1 (1,8 µg/L) et une petite, SO5 (1,2 µg/L), dans une petite STEP du Nord-Ouest (NO6, 1,3 µg/L) et en région parisienne (PAR, 1,2 µg/L). Les concentrations de COC (21 ng/L à 1,5 µg/L) et d'EME (40 à 761 ng/L) sont inférieures à celles de la BZE.

Les concentrations de BZE sont supérieures à celles de la COC ce qui est en accord avec les données de métabolisme de la COC qui est éliminée sous forme inchangée dans une proportion 5 fois moindre que sous forme de BZE. Par contre, l'EME qui est éliminée dans les mêmes proportions que la BZE dans les urines est observée en beaucoup plus faibles quantités que les valeurs attendues. Ceci peut confirmer le manque de stabilité de l'EME dans les eaux usées comme l'ont montré les études de biodégradation de Bisceglia *et al.* (2010).

Les concentrations de CET sont comprises entre 10 et 167 ng/L et celles de NOR sont toujours inférieures à 25 ng/L.

Ces concentrations sont dans l'ordre de grandeur de celles obtenues au cours d'études similaires menées en Italie (Mari *et al.*, 2009), en Croatie (Terzic *et al.*, 2010), en Belgique (van Nuijs *et al.*, 2011c), au Canada (Metcalf *et al.*, 2010), en Espagne (Postigo *et al.*, 2010) et aux États-Unis (Chiaia *et al.*, 2008).

Notons que les plus fortes concentrations de BZE et COC que nous avons observées dans les eaux usées en France sont plus élevées que celles décrites dans d'autres pays, à l'exception d'une valeur de BZE mesurée en Espagne (3,8 µg/L, Postigo *et al.*, 2010) et d'une valeur de COC mesurée à Bruxelles (1,6 µg/L, van Nuijs *et al.*, 2011a), cette dernière concentration pouvant correspondre à un rejet direct selon les auteurs.

IV.B.1.2. STIMULANTS DE SYNTHÈSE

Les pourcentages de détection observés pour les molécules du groupe des stimulants de synthèse sont très faibles : la MDMA, l'AMP et la MET ont été détectées respectivement dans 32, 3 et 2 % des échantillons d'affluents.

Les concentrations de MDMA sont comprises entre 49 et 756 ng/L dans les affluents et entre 20 et 352 ng/L dans les effluents. La concentration la plus élevée de MDMA (756 ng/L) a été mesurée dans une grande STEP du sud-est de la France (SE2) au cours d'un weekend. Cette STEP est la seule où l'amphétamine a été détectée à des concentrations relativement élevées, 194 ng/L pendant le weekend et 125 ng/L au cours de la semaine. Des concentrations élevées de MDMA, entre 89 et 320 ng/L, ont été observées dans trois autres STEPs, deux dans le sud (SO1 et SE5) et une dans le nord (NO3). Les concentrations mesurées dans ces STEP sont plus élevées que celles citées dans les pays où la consommation de MDMA est importante, tels que les États-Unis (70 ng/L, Chiaia *et al.*, 2008), le Royaume-Uni (13,9 ng/L, Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2010) et l'Espagne (180 ng/L, Postigo *et al.*, 2009). La valeur maximale mesurée (756 ng/L) est également plus élevée que les valeurs maximales observées dans d'autres études, 598 ng/L dans le nord-est de l'Espagne (Huerta-Fontela *et al.*, 2008a), 380 ng/L dans la province de Castille (Bijlsma *et al.*, 2009) ou 187 ng/L en Australie (Irvine *et al.*, 2011).

La MET a été détectée dans 1 prélèvement sur les 4 réalisés dans un affluent de la STEP SE5 : la concentration mesurée, 51 ng/L, est du même ordre de grandeur que celles observées ailleurs en Europe (Boleda *et al.*, 2009 ; van Nuijs *et al.*, 2011b). Des concentrations jusqu'à 2000 ng/L ont été mesurées aux États-Unis (Chiaia *et al.*, 2008).

IV.B.1.3. OPIACÉS ET TRAITEMENT DE SUBSTITUTION AUX OPIACÉS

Dans le groupe des opiacés, la MOR a été détectée dans 98 % des affluents et 64 % des effluents. Les pourcentages de détection d'HER et de 6-MAM sont respectivement de 3 et 7 % dans les affluents et 0 et 3 % dans les effluents. Les concentrations de MOR varient entre 71 et 1 637 ng/L. Les concentrations les plus élevées ont été mesurées dans l'est de la France, en particulier dans une ville moyenne (NE3), qui est également le seul endroit où l'HER a été détectée. Dans l'ensemble, ces concentrations de MOR sont élevées par comparaison aux valeurs rapportées dans d'autres études menées en Europe : la valeur médiane des mesures (483 ng/L) est plus élevée que les valeurs maximales observées en Italie (Mari *et al.*, 2009), en Croatie (Terzic *et al.*, 2010) et en Espagne (Boleda *et al.*, 2009 ; Postigo *et al.*, 2009).

Parmi les produits de substitution aux opiacés, la MTD a été détectée dans 73 % des affluents et 77 % des effluents, soit plus souvent en sortie qu'en entrée de STEP. Ceci peut s'expliquer par la baisse de la LD dans les effluents moins chargés en matières organiques que les affluents. Les concentrations varient de 42 à 234 ng/L dans les affluents et de 40 à 145 ng/L dans les effluents. Le métabolite de la MTD, l'EDDP, a été détecté dans plus de 75 % des échantillons, principalement ceux dans lesquels la MTD a été détectée, bien que 37 % des affluents et 44 % des effluents contenaient de l'EDDP sans MTD. Les concentrations en EDDP sont du même ordre de grandeur en entrée et sortie de STEP, comprises entre 6 et 260 ng/L dans les affluents et entre 10 et 246 ng/L dans les effluents.

Ces concentrations de MTD et EDDP sont plus élevées que celles observées dans d'autres pays : États-Unis (62 ng/L, Chiaia *et al.*, 2008), Croatie (94 ng/L, Terzic *et al.*, 2010), Belgique (16 ng/L, van Nuijs *et al.*, 2009). La seule étude montrant des concentrations plus élevées que celles que nous avons obtenues correspond à des prélèvements réalisés dans les eaux usées à la sortie d'une prison en Espagne, par Postigo *et al.* (2009) ($4,7 \pm 1,4$ µg/L).

La BUP a été détectée dans trois échantillons d'affluents (195 ng/L à NO6, 56 ng/L à NE3 et 42 ng/L à SO1) et un échantillon d'effluent (40 ng/L, NE2). Ces valeurs sont plus élevées que celles observées dans une étude précédente menée dans la région parisienne, où les valeurs ne dépassaient pas 20 ng/L (Karolak *et al.*, 2010).

IV.B.1.4. THC-COOH

Le THC-COOH a été détecté dans tous les échantillons d'affluents avec des concentrations comprises entre 44 ng/L et 1,3 µg/L. Dans les effluents, la fréquence de détection est de 79 % et les concentrations varient de 5 à 161 ng/L.

La concentration la plus élevée (1,3 µg/L) a été observée dans une petite STEP située dans le sud-ouest (SO5) pendant le weekend. Les concentrations les plus importantes, supérieures à 600 ng/L, ont été observées principalement dans le sud de la France (SE2, SE3, SE5, SO3, SO4, SO5) et dans quatre stations dans le nord-est (NE1, NE4) et le nord-ouest (NO3 et NO7).

Ces concentrations sont les plus élevées parmi celles publiées dans des études similaires menées en Europe, même à Amsterdam (430 ng/L, Thomas *et al.*, 2012) où le cannabis est vendu légalement dans les *coffee shop*.

IV.B.2. CALCUL DES POURCENTAGES D'ABATTEMENT AU SEIN DES STEPs

IV.B.2.1. BILAN DES OBSERVATIONS SUR L'ENSEMBLE DES STEPs ÉTUDIÉES

Les drogues et métabolites analysés ne sont pas totalement éliminés par les STEPs et des résidus sont déversés dans le milieu récepteur pouvant induire un risque environnemental.

Les pourcentages d'élimination dans l'eau ont été calculés pour les composés détectés dans plus de 30 % des échantillons, soit 7 molécules (COC, BZE, EME, MOR, MTD, EDDP, THC-COOH). Les résultats ont été regroupés par type de traitement afin de pouvoir établir une comparaison, prenant toutefois en compte le fait que le nombre restreint de STEPs étudiées par type de traitement ne permet pas d'établir de comparaison statistique.

La figure 41 montre qu'il existe une meilleure efficacité des traitements à boues activées faible charge et un comportement différent de la MTD et de son métabolite par rapport aux autres composés.

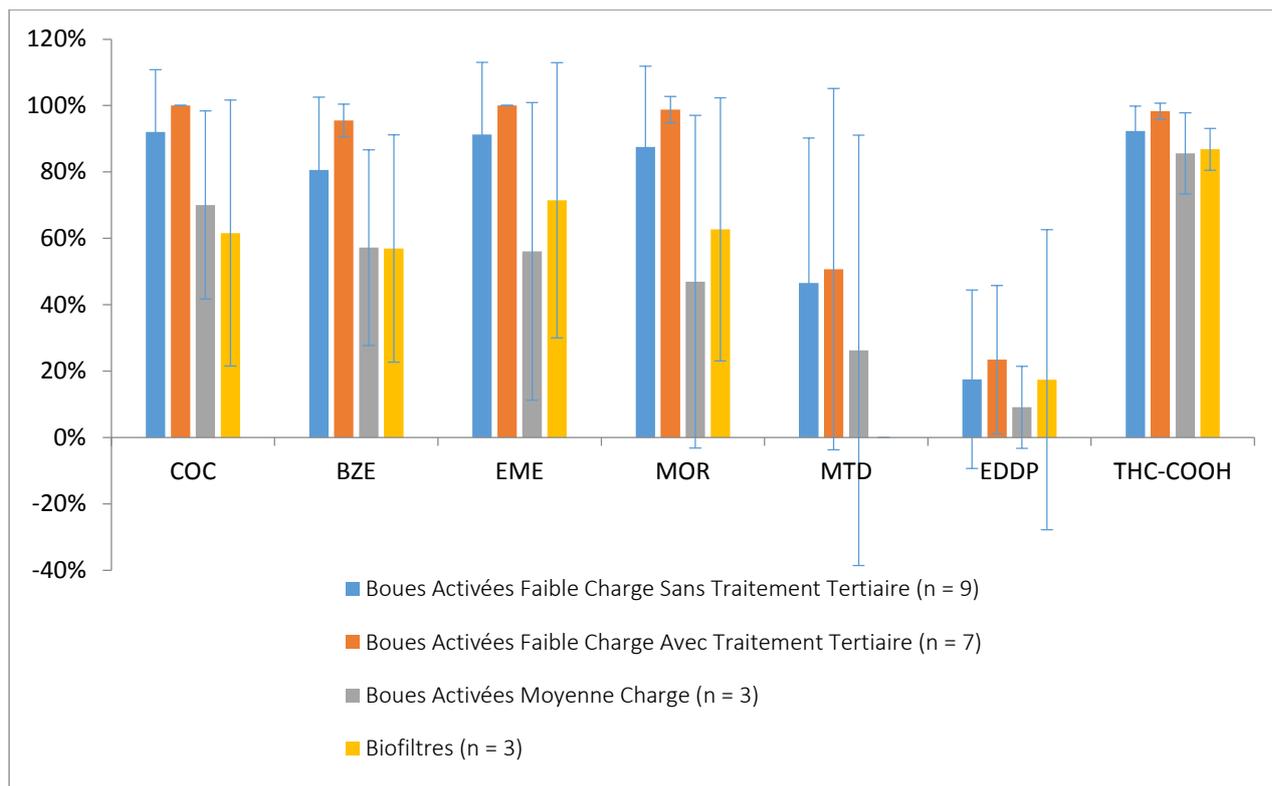


Figure 41 : Pourcentages d'élimination moyens en fonction des technologies d'épuration employées dans les STEPs, calculés pour les sept composés majoritaires.

Les résultats obtenus permettent de répartir les composés en trois groupes :

- les molécules bien éliminées ($E > 80\%$) par la technologie des boues activées faible charge avec ou sans traitement tertiaire mais modérément éliminés ($E > 50\%$) avec des traitements par boues activées moyenne charge : COC, BZE, EME et MOR,
- les molécules faiblement éliminées quelle que soit la technologie employée (MTD et EDDP) avec des pourcentages d'élimination inférieurs à 50% . Cette observation est en accord avec les données de Zuccato et Castiglioni (2009) qui ont déterminé des taux d'abattement entre 9 et 22 % pour la MTD et entre 8 et 27 % pour l'EDDP,
- le THC-COOH qui apparaît éliminé à plus de 80% quelle que soit la technologie utilisée.

Ces observations, malgré leur représentativité limitée, montrent que les traitements par boues activées faible charge semblent plus efficaces que les traitements par boues activées moyenne charge et les biofiltres. La différence d'efficacité entre les boues activées faible

charge et moyenne charge pourrait être attribuée à des temps de rétention hydraulique (TRH) supérieurs en cas de faible charge.

L'influence du TRH sur l'efficacité d'épuration a été étudiée par différents auteurs. Parmi eux, Bernhard *et al.* (2006) et Vieno *et al.* (2007) ont montré que les TRH n'avaient pas d'influence sur l'efficacité de l'abattement du diclofénac et de certains bêta-bloquants (aténolol, acébutolol, métoprolol et sotalol). Chen *et al.* (2008) n'ont pas observé de différences sur le pourcentage d'abattement du bisphénol A à la sortie d'un BRM, quand le TRH varie de 3,9 à 8 heures. Par contre, Hu *et al.* (2007) ont observé une augmentation des taux d'abattement de l'activité œstrogénique des effluents entre des BRM ayant un TRH de 6 heures et des BRM avec des TRH plus longs. Ces résultats discordants montrent que, dans certaines conditions et pour certains composés, le TRH pourrait modifier l'efficacité de traitement de la STEP.

Nos résultats ne montrent aucune différence significative dans l'élimination des composés étudiés entre les STEPs équipées ou non de traitements tertiaires (Déphosphatation biologique ou physico-chimique, nitrification/dénitrification biologique, désinfection UV) pour les composés bien éliminés (COC, BZE, MDMA, MOR, THC-COOH) comme pour les composés plus résistants (MET, EDDP). Les traitements tertiaires présents sur les STEPs analysées apparaissent donc inefficaces pour améliorer l'élimination de ces composés (Figure 41).

Cette étude n'a porté que sur l'analyse des phases liquides des échantillons et la part fixée aux MES ou éliminée par les boues n'est pas prise en compte. Il est donc possible qu'une fraction, disparue de la phase liquide, soit fixée sur les matières solides et non dégradée, conduisant à une possible contamination de l'environnement par épandage des boues.

IV.B.2.2. SUIVI DE L'ÉLIMINATION EN STATION D'ÉPURATION : CAS PARTICULIER DE LA STEP SV

Pour mieux comprendre les étapes importantes dans l'élimination des composés au sein d'une filière de traitement, des échantillonneurs automatiques ont été placés en différents points d'une STEP qui utilise en parallèle deux filières de biofiltration, l'une équipée de la technologie Biofor®, anoxie et anaérobie (Filière 1) et l'autre de la technologie Biostyr®

(Filière 2). Les deux filières subissent ensuite un passage tertiaire sur biofiltre Biostyr® avant rejet dans l'environnement.

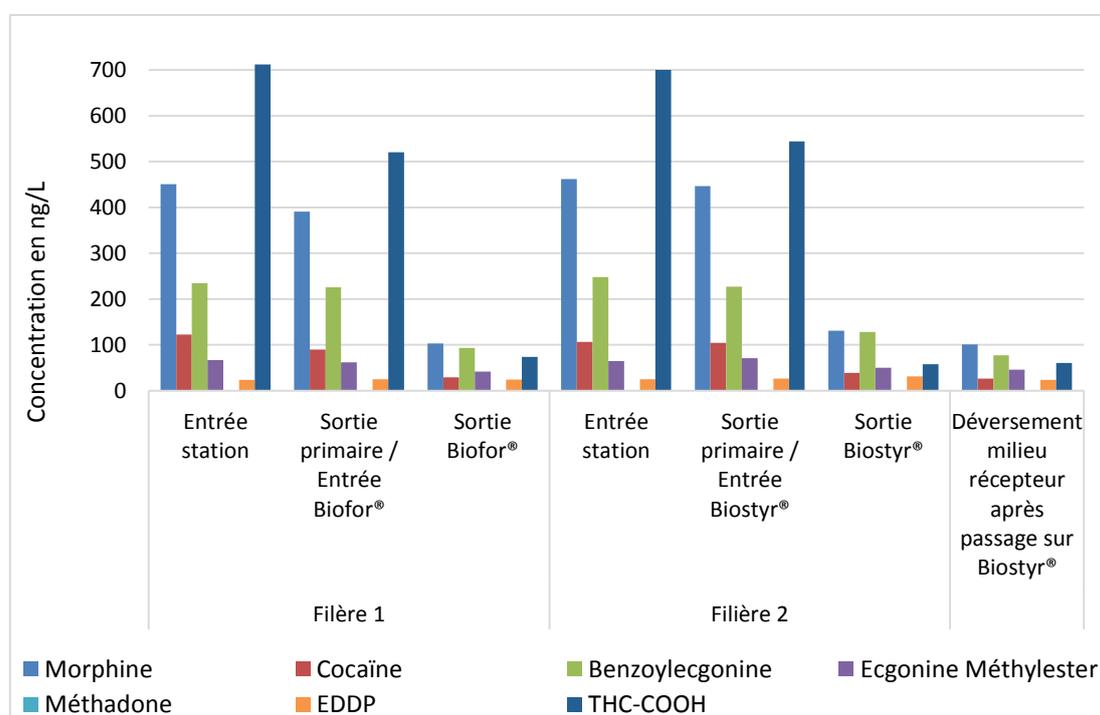


Figure 42 : Concentrations des drogues illicites et de leurs métabolites dans les eaux prélevées en différents points au sein des deux filières de traitement parallèles comportant des unités Biofor® ou Biostyr® de la STEP SV : en entrée, entre les traitements primaires et secondaires, en sortie de traitement secondaire et avant le déversement dans le milieu récepteur.

Tableau XXII : Concentration en entrée de STEP (en ng/L) et pourcentage d'élimination après les traitements primaires et secondaire et avant le déversement dans le milieu récepteur.

	Filière 1			Filière 2			Déversement milieu récepteur après passage sur Biostyr® (%)
	Entrée station (ng/L)	Sortie primaire / Entrée Biofor® (%)	Sortie Biofor® (%)	Entrée station (ng/L)	Sortie primaire / Entrée Biostyr® (%)	Sortie Biostyr® (%)	
MOR	451	-13	-77	462	-3	-72	-78
COC	123	-27	-76	106	-2	-63	-75
BZE	235	-4	-60	248	-8	-48	-69
EME	67	-7	-38	65	10	-22	-29
MTD	<LD	<LQ	<LQ	<LD	<LQ	<LQ	<LQ
EDDP	23	8	3	25	5	24	-7
THC-COOH	712	-27	-90	700	-22	-92	-91

Seuls la MOR, la COC, la BZE, l'EME, la MTD, l'EDDP et le THC-COOH ont été quantifiés à des concentrations supérieures à 20 ng/L dans les affluents de cette STEP et ont donc été retenus pour l'étude de cette filière. Les résultats, présentés dans la figure 42 et le tableau XXII montrent :

- Un faible abattement par les étapes successives du traitement primaire de dégrillage/dessablage/déshuilage/décantation sauf pour la MOR (-13 %) et la COC (-27 %) sur la filière 1 et pour le THC-COOH sur les deux filières (-27 et -22 %).
- que la MTD qui n'était pas détectable dans l'affluent le devient en sortie de traitement primaire à des concentrations inférieures à la LQ évaluée à 40 ng/L. Cette observation peut être liée à une diminution de la LD pour la MTD dans les eaux issues du traitement primaire après élimination de certains composés interférents par les étapes de déshuilage, de dessablage et de décantation.
- que les taux d'élimination, après les biofiltres, quelle que soit la technologie employée, sont d'environ 90 % pour le THC-COOH, 76 % pour la COC, 60 % pour la BZE et 70 % pour la MOR. L'EME est éliminée à moins de 40 %. Ces valeurs sont en accord avec celles observées dans les 3 STEPs équipées de biofiltres (Figure 41).
- que l'EDDP est observée à des concentrations similaires en entrée et en sortie de station attestant d'une absence d'élimination de ce composé.
- que les rendements d'élimination obtenus par la filière 1 sont légèrement supérieurs à ceux obtenus par la filière 2 sauf avec le THC-COOH pour lequel l'inverse est observé.
- qu'un passage supplémentaire des eaux usées traitées et mélangées provenant des deux filières sur un réacteur Biostyr® n'améliore que faiblement l'élimination des composés dans l'eau.

Ces résultats confirment les données déjà obtenues à partir des mesures réalisées dans trois des 25 STEPs étudiées, équipées de biofiltres. Les traitements biologiques ne sont pas suffisants pour éliminer totalement ces composés, notamment la MTD et son métabolite principal. Il est à noter que les composés dont l'élimination est la plus faible sont ceux dont les concentrations sont les plus faibles en entrée de STEP.

IV.B.3. ESTIMATION DES CONSOMMATIONS

Les estimations de consommation dans les bassins de vie associés aux réseaux de collecte des eaux usées de chaque STEP ont été effectuées pour la COC, la MDMA, l'amphétamine, le cannabis et la méthadone. L'absence d'HER dans les échantillons et le faible taux de détection de la 6-MAM n'ont pas permis d'estimer la consommation d'HER. Cependant, les charges massiques de morphine retrouvées dans les affluents ont été comparées entre les différentes STEPs étudiées, sans distinction des consommations licite et illicite d'opiacés.

La consommation de méthamphétamine n'a pas été calculée car cette molécule n'a été détectée que dans un seul prélèvement.

Les quantités consommées ont été rapportées à 1000 habitants. Le nombre d'habitants raccordés à une STEP correspond à la capacité nominale de la STEP, établie par les gestionnaires.

L'ensemble des résultats est présentés dans l'annexe VIII.

IV.B.3.1. COCAÏNE

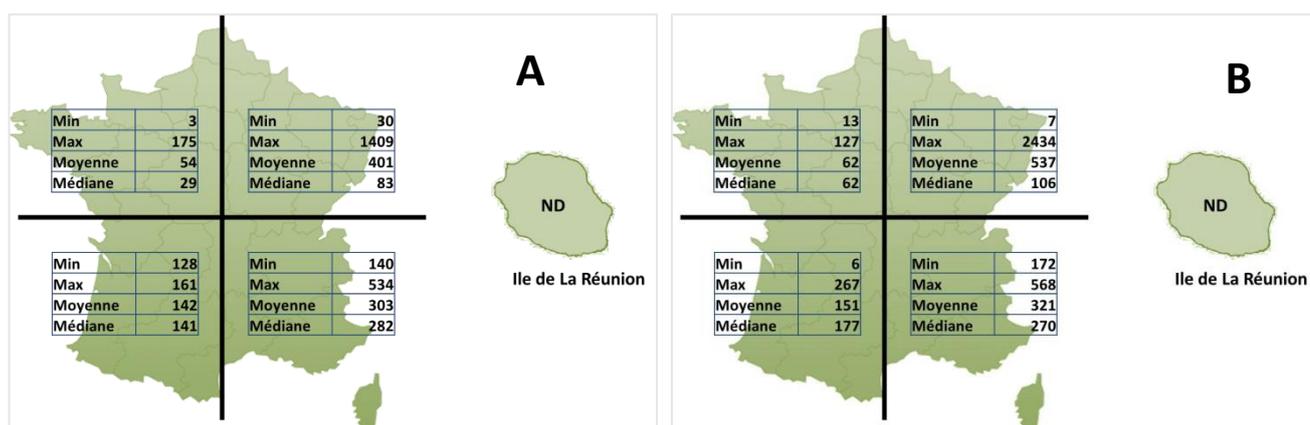


Figure 43 : Cartographie des consommations de cocaïne estimées à partir des analyses des eaux usées brutes pour les sites analysés (1 ou 2 prélèvements par site). Quantités consommées en mg/jour/1 000 hab. en semaine (A) et le weekend (B). ND = non détecté. Les cartes représentant les quantités consommées par zone urbaine ont été volontairement supprimées. Pour plus de détails veuillez vous référer à la publication jointe à la fin de ce document.

Les estimations de consommation de COC, calculées à partir des concentrations mesurées de BZE, varient de 3 mg à plus de 2 400 mg/jour/1 000 hab. avec des valeurs médianes de 111 et 130 mg/jour/1 000 hab. respectivement durant le weekend et la semaine. La zone urbaine connectée à la STEP NE1 présente les données de consommation estimées les plus élevées, de 1,4 g/jour/1 000 hab. au cours de la semaine et 2,4 g/jour/1 000 hab. pendant le weekend. Ces valeurs sont plus élevées que les estimations faites à partir d'eaux usées prélevées dans d'autres villes européennes comme à Anvers où a été signalée la plus forte consommation de COC en Europe qui s'élève à 2 g/jour/1 000 hab. (Thomas *et al.*, 2012). Des consommations importantes ont également été mesurées en région parisienne et dans le sud de la France où 5 bassins de collecte (SO1, SO5, SE1, SE2, SE3) présentent des consommations supérieures à 200 mg/jour/1 000 hab. et un site, SE5, une consommation supérieure à 500 mg/jour/1 000 hab.

En considérant l'ensemble des données, la consommation est significativement plus importante durant le weekend que durant la semaine (t Student, $p < 5\%$), différence imputable à une consommation de cocaïne importante dans un cadre festif.

Ces observations sont en accord avec de précédentes campagnes que nous avons menées en région parisienne où la consommation de cocaïne était estimée entre 700 et 800 mg/jour/1 000 hab. (Karolak *et al.*, 2010 ; Thomas *et al.*, 2012), semaine et weekend confondus. Notons que les deux campagnes ont été effectuées dans la même STEP et au cours d'un même intervalle de 7 jours mais à des périodes différentes de l'année, en juillet pour l'étude de 2010 et en mars pour celle de 2012. Un « effet weekend » significatif avait également été observé pendant ces campagnes.

La COC et ses métabolites n'ont pas été détectés dans deux STEPs seulement, l'une située en zone rurale (SE4) et l'autre sur l'île de La Réunion (REU). Ces résultats indiquent une absence de consommation de cocaïne, ou une consommation non détectable, au moment où les prélèvements ont été réalisés. Ceci pourrait s'expliquer par une absence de trafic dans le secteur géographique correspondant : l'île de La Réunion se trouve dans l'océan Indien et les principales voies d'acheminement vont de l'Amérique du Sud vers l'Europe, directement ou en passant par l'Afrique. Ainsi, peu de cocaïne est transportée vers l'Afrique de l'est et l'Asie (Figure 3). En revanche, il est étonnant que la cocaïne et surtout ses métabolites n'aient pas été détectés dans une zone urbaine métropolitaine (SE4) car

tous les autres échantillons prélevés, parfois même dans des bassins plus petits et plus ruraux étaient chargés en résidus de ces composés.

En dehors de NE1 où les consommations estimées élevées correspondent à un événement festif particulier dans cette zone urbaine, les résultats sont en accord avec les données de l'EMCDDA. La prévalence de consommation de la cocaïne en France au cours de la vie chez les 15-64 ans est estimée à 3,66 %. Dans les pays où les estimations de consommation de COC obtenues à partir des mesures de BZE dans les eaux usées sont les plus élevées, en Espagne, aux Pays-Bas et au Royaume-Uni (Thomas *et al.*, 2012), les prévalences sont respectivement de 8,8, 5,2 et 9,6 % (EMCDDA, 2013). Concernant l'Italie où l'estimation de la consommation de COC à partir des concentrations de BZE mesurées dans les eaux de Milan est légèrement supérieure à celle estimée pour la région parisienne (Thomas *et al.*, 2012), la prévalence est également légèrement supérieure (4,2 %) à celle donnée pour la France (EMCDDA, 2013).

Les pourcentages de consommateurs estimés à partir des quantités consommées calculées varient, selon les zones urbaines et sans distinction entre semaine et weekend, entre 0,01 et 9,74 % de la population générale et entre 0,02 et 16,23 % de la population âgée de 15 à 64 ans avec des valeurs moyennes respectives de 1,08 et 1,80 % (Annexe IX). Contrairement aux observations précédentes, ces moyennes sont inférieures à la prévalence au cours de la vie pour la population âgées de 15 à 64 ans (3,66 %) estimée par l'OFDT. Notons que le calcul de la prévalence au cours de la vie inclut des individus n'ayant consommé qu'une seule fois au cours de leur existence et ne représente pas les usagers réguliers, qui constitueraient la majeure partie des consommateurs estimés par l'analyse des eaux usées.

Les limites de l'estimation des consommations par la méthode d' « épidémiologie des eaux usées » seront discutées dans un paragraphe à la fin de ce chapitre.

La consommation de COC peut également être estimée à partir des concentrations de COC ou d'EME et les valeurs obtenues ont été comparées à celles obtenues à partir de la BZE (Figure 44).

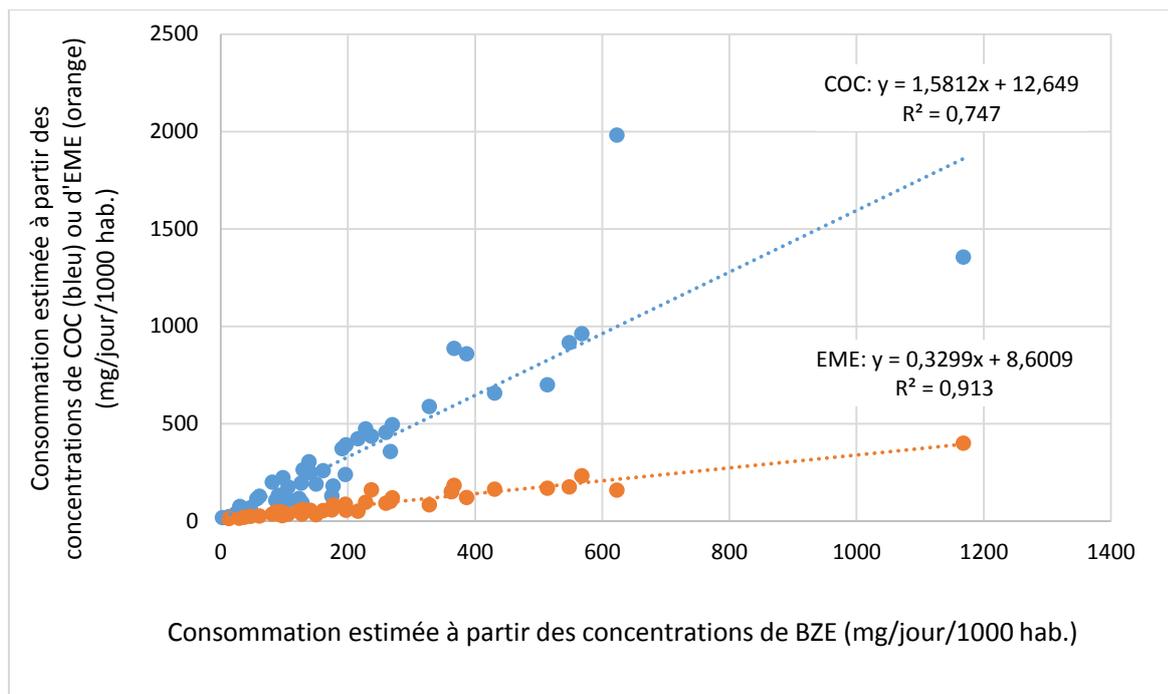


Figure 44 : Corrélation entre les estimations de consommations faites à partir de l'analyse de la COC (bleu) ou de l'EME (orange) et les estimations faites à partir de l'analyse de la BZE.

Les calculs réalisés à partir de la concentration en COC dans les eaux usées montrent des résultats supérieurs de 50 % à ceux obtenus à partir de la concentration en BZE. À l'opposé, les résultats obtenus avec les données d'EME représentent un tiers de ceux obtenus à partir de la BZE. Les corrélations entre les estimations sont significatives ($r=0,864$ pour COC/BZE et $r=0,956$ pour EME/BZE) mais il apparaît deux valeurs éloignées de la droite de corrélation :

- Pour le site NE1, le weekend du 3 septembre 2011, les quantités de cocaïne consommées estimées à partir de la COC et de la BZE sont respectivement de 1,4 et 1,2 g/jour/1 000 hab. Contrairement aux résultats obtenus pour les autres STEP, ces estimations sont proches et peuvent être expliquées par une concentration élevée de BZE par rapport à la COC.
- Pour le site SE5, en semaine (17 juillet 2011), la quantité estimée à partir de la BZE est très faible (623 mg/jour/1 000 hab.) comparée à celle estimée à partir de la COC (environ 2 g/jour/1 000 hab.), ce qui pourrait s'expliquer par une forte concentration de COC en partie générée par une élimination de COC non consommée dans les eaux usées.

Les différences observées entre les estimations faites à partir des différents traceurs peuvent résulter, soit d'une instabilité des composés dans les eaux usées, soit de l'utilisation d'un pourcentage de métabolisme inexact.

Des études de dégradation (cf. chapitre « Synthèse bibliographique », § II.B.4.2., p. 92) ont montré que la BZE est plus stable dans les eaux usées que la COC (Gheorghe *et al.*, 2008) ou l'EME (van Nuijs *et al.*, 2011c). Cependant, la dégradation de la COC en BZE dans les eaux usées peut induire une surestimation de la consommation en augmentant la proportion de BZE dans l'eau. Dans la réalisation de notre étude, les échantillons ont été conservés à 4°C mais Castiglioni *et al.* (2011) ont montré que, même dans ces conditions de conservation, la COC et l'EME subissaient une dégradation respective de 81 % et de 76 % en trois jours. D'autre part, la fraction de BZE fixée aux MES n'est pas prise en compte mais, d'après Baker *et al.* (2011), cette fraction représente 0,5 % de la fraction de BZE totale.

En ce qui concerne les données de métabolisation, les incertitudes sur l'estimation des consommations sont d'autant plus importantes que le pourcentage d'excrétion est faible. L'EME est éliminée dans les urines en proportion plus importante (environ 40 %) que la COC (9 %) et dans les mêmes proportions que la BZE (45 %). En tenant compte de ces pourcentages d'élimination, les ratios des concentrations COC/BZE et COC/EME devraient être respectivement de 0,2 et 0,225. Les ratios moyens calculés à partir des résultats que nous avons obtenus sont de $0,34 \pm 0,15$ (COC/BZE ; moyenne \pm écart-type, n = 46) et de $1,39 \pm 0,59$ (COC/EME ; moyenne \pm écart-type, n = 46). Van Nuijs *et al.* (2009) décrivent un ratio moyen COC/BZE de 0,38 estimé à partir des résultats obtenus sur 60 prélèvements. La valeur que nous trouvons est donc en rapport avec la littérature. Par contre, la valeur très élevée du rapport COC/EME est en faveur d'une dégradation de l'EME et expliquerait la sous-estimation des consommations de COC par comparaison à celles faites à partir des mesures de BZE.

La différence entre les estimations faites à partir de la BZE et de la COC pourrait résulter de la prise en compte de données de métabolisme inexactes : les pourcentages d'élimination varient selon les voies d'administration : de 1 à 14 % pour la COC, de 16 à 60 % pour la BZE et de 7 à 49 % pour l'EME (Castiglioni *et al.*, 2011). Dans la littérature, les premières estimations de consommation étaient faites à partir de la BZE en considérant un pourcentage d'élimination de la COC sous forme de BZE de 45 %. Depuis, certains auteurs

utilisent une valeur plus faible, de 38 %, qui conduit à des estimations de consommation de COC plus élevées de 18 % (Thomas *et al.*, 2012).

IV.B.3.2. MDMA ET AMPHÉTAMINE

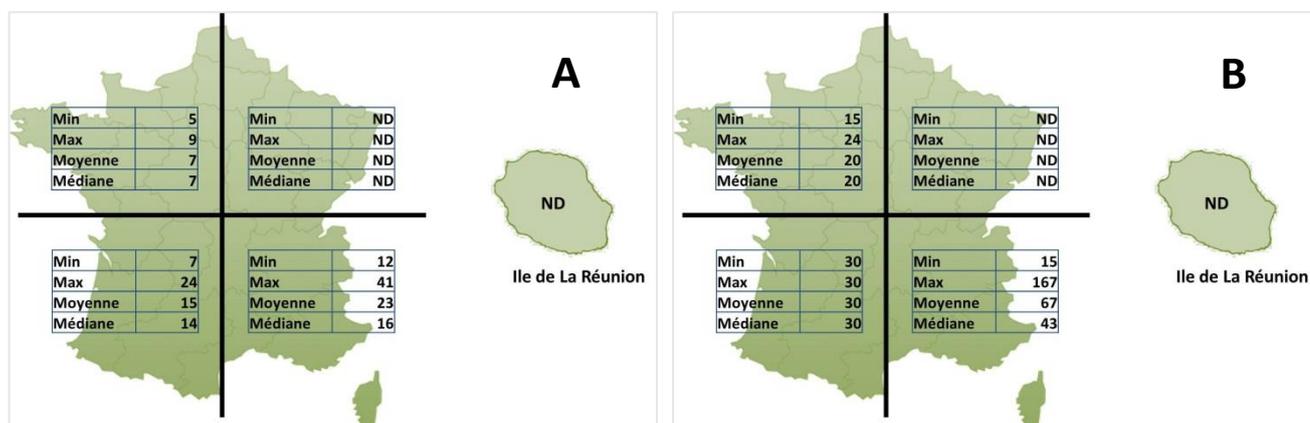


Figure 45 : Cartographie des consommations de MDMA estimées à partir des analyses des eaux usées brutes pour les sites analysés (1 ou 2 prélèvements par site). Quantités consommées en mg/jour/1 000 hab. en semaine (A) et le weekend (B). ND = non détecté.

Les cartes représentant les quantités consommées par zone urbaine ont été volontairement supprimées. Pour plus de détails veuillez vous référer à la publication jointe à la fin de ce document.

La MDMA a été détectée essentiellement dans des STEPs situées dans le Sud de la France et dans deux STEPs du Nord-Ouest (NO3 et NO4). La consommation estimée varie de 5 à 41 mg/jour/1 000 hab. pendant la semaine et de 15 à 167 mg/jour/1 000 hab. au cours du weekend, la significativité de l'effet weekend ne pouvant être vérifiée par manque de données. Bien que la majorité des valeurs calculées se situent entre 10 et 30 mg/jour/1 000 hab., une consommation à plus de 150 mg/jour/1 000 hab. a été estimée dans un bassin de vie du Sud (SE2). Cette valeur correspond à un flux de MDMA dans l'affluent de la STEP de 144 mg MDMA/jour/1000 hab., soit une valeur supérieure aux charges massiques mesurées dans différentes villes européennes dont Paris et sa banlieue lors de la campagne de 2011 (Thomas *et al.*, 2012), inférieures à 80 mg/jour/1 000 hab. Dans cette étude menée sur plusieurs villes européennes, un flux de MDMA de 615 ± 300 mg/jour/1 000 hab. a été observé à Utrecht et expliqué par la mise à l'égout de MDMA par les occupants d'un laboratoire clandestin suite à l'intervention de la police (Thomas *et al.*, 2012).

D'après les données fournies par l'EMCDDA (2013), la prévalence de consommation de la MDMA au cours de l'année pour les personnes âgées de 15 à 64 ans en France (2,4 %) se situe dans la moyenne par rapport aux autres pays européens. Cette information est en adéquation avec les consommations observées dans cette étude et confirme la situation particulière du réseau de collecte de la STEP SE2. Ce réseau est également le seul où l'amphétamine a été détectée avec une consommation estimée à 93 mg/jour/1 000 hab. pendant le weekend soit 0,16 % de la population âgée de 15 à 64 ans. Une explication de la forte consommation de MDMA et d'amphétamine dans ce bassin peut éventuellement être associée à la forte représentation de la tranche d'âge 15-29, environ 27 % pour une moyenne nationale de 19 % (INSEE, 2013).

Le pourcentage de consommateurs de la population âgée de 15 à 64 ans sur la zone urbaine SE2 atteint 0,27 % tandis que la moyenne sur l'ensemble des zones étudiées s'élève à 0,06 %.

Les consommations de MDMA et de cocaïne semblent liées comme en attestent plusieurs sites présentant des valeurs élevées de consommation de cocaïne et de MDMA (SO1, SE2 et SE5). Ceci s'explique par le fait que ces deux drogues sont consommées le plus souvent dans un cadre festif et les 3 bassins cités sont connus pour proposer de nombreuses activités culturelles et de loisirs, notamment pendant la période estivale durant laquelle certains prélèvements ont été effectués.

IV.B.3.3. CANNABIS (THC)

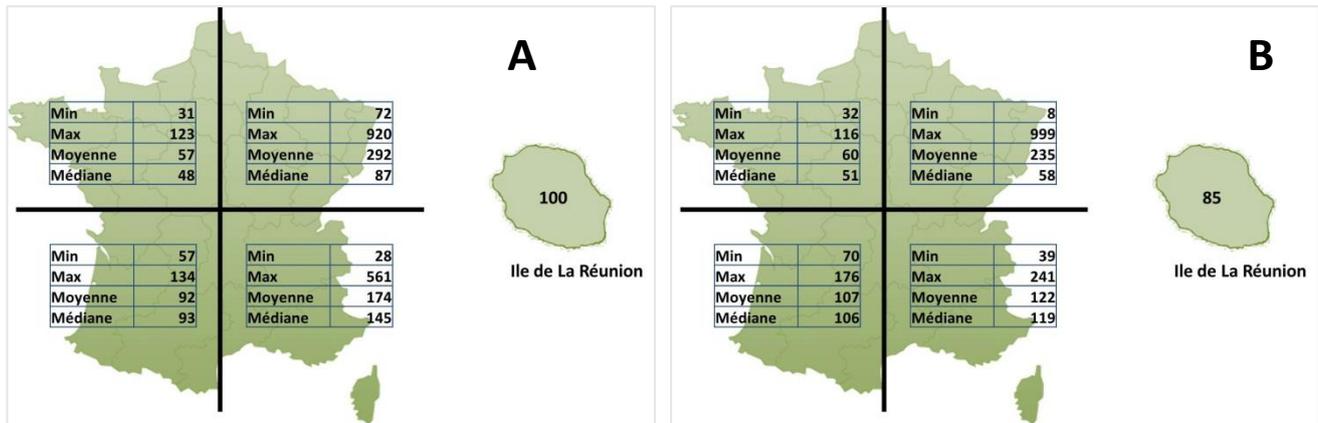


Figure 46 : Cartographie des consommations de THC estimées à partir des analyses des eaux usées brutes pour les sites analysés (1 ou 2 prélèvements par site). Quantités consommées en mg/jour/1 000 hab. en semaine (A) et le weekend (B). ND = non détecté. Les cartes représentant les quantités consommées par zone urbaine ont été volontairement supprimées. Pour plus de détails veuillez vous référer à la publication jointe à la fin de ce document.

La consommation de THC estimée dans cette étude varie entre 3 et 92 g/jour/1 000 hab. au cours de la semaine et entre 3 et 100 g/jour/1 000 hab. pendant le weekend. Il n'apparaît pas de différence de consommation entre la semaine et le weekend (t Student, $p > 5\%$).

Deux zones urbaines, NE1 et SE3, se distinguent des autres par une consommation élevée, respectivement de 100 et 24 g/jour/1 000 hab. pendant le weekend et de 92 et 56 g/jour/1 000 hab. au cours de la semaine. Les valeurs de consommation dans les autres sites sont plus faibles, entre 0,8 et 20 g/jour/1 000 hab., et correspondent à des charges massiques de THC mesurées dans les affluents comprises entre 6 et 129 mg/jour/1 000 hab. Ces valeurs de charges sont inférieures à celles estimées à Amsterdam (Pays-Bas), environ 200 mg/jour/1 000 hab., qui correspondait à la ville à la plus forte consommation de cannabis dans l'étude européenne menée en 2011 (Thomas *et al.*, 2012). En comparaison, les valeurs élevées obtenues pour les réseaux raccordés aux STEP s NE1 et SE3 peuvent s'expliquer par l'existence d'un festival de théâtre lors des prélèvements pour SE3 et la tenue d'une grande manifestation festive pour NE1. La proximité de la frontière belge de la zone urbaine NE1 pourrait également participer à l'augmentation de la disponibilité et donc de la consommation de cannabis.

Ces observations sont en adéquation avec les statistiques de consommation de cannabis en Europe, les Français occupant le deuxième rang après le Danemark avec une prévalence

de consommation durant la vie de 32,12 % des personnes âgés de 15 à 64 ans, soit le double de la moyenne européenne estimée (EMCDDA, 2013).

Le pourcentage moyen de consommateurs estimé pour l'ensemble des zones urbaines atteint 18 % de la population âgée de 15 à 64 ans et les valeurs extrêmes vont de 1,3 à 80 %. Comme pour la COC et la MDMA, ces estimations paraissent corrélées aux données de prévalence de l'EMCDDA. L'estimation la plus haute, 80 %, correspond à la zone urbaine NE1 où la quantité de THC consommée est la plus élevée. Le prélèvement correspondant à cette estimation a été effectué lors d'un grand événement festif rassemblant un grand nombre de personnes. Par conséquent, le nombre d'individus effectivement reliés à la STEP ce jour-là est très probablement supérieur à celui communiqué pour la STEP (Tableau VIII), induisant un biais dans l'estimation du pourcentage de consommateurs surévalué par le calcul.

IV.B.3.4. HÉROÏNE, MORPHINE ET MÉTHADONE

L'HER et son métabolite, la 6-MAM ont été détectés et quantifiés uniquement dans les eaux du bassin raccordé à la station NE3, avec une consommation d'héroïne estimée une première fois en janvier à 1102 mg/jour/1 000 hab. et une seconde fois en juillet à 788 mg/jour/1 000 hab., en considérant que 1,5 % de l'héroïne consommée est éliminée dans les urines sous forme de 6-MAM.

Les charges massiques de MOR varient de 17 mg/jour (NE5) à 87 g/jour (NE1). En dehors de NE1, les valeurs les plus élevées ont été mesurées au niveau des STEP SE1 (52 g/jour), NO1 (59 g/jour) et NE2 (67 g/jour).

Ces variations entre les villes sont difficiles à analyser et à interpréter car les résidus retrouvés dans les eaux usées provenant des consommations licites et illicites se confondent. En considérant que la consommation licite est homogène sur l'ensemble du territoire, il est possible d'attribuer ces différences à des consommations illicites de morphine et/ou d'héroïne plus ou moins importantes. Cependant, des taux élevés peuvent aussi provenir d'une forte consommation de morphine dans un cadre thérapeutique due à l'implantation d'un hôpital dans le bassin de vie étudié.

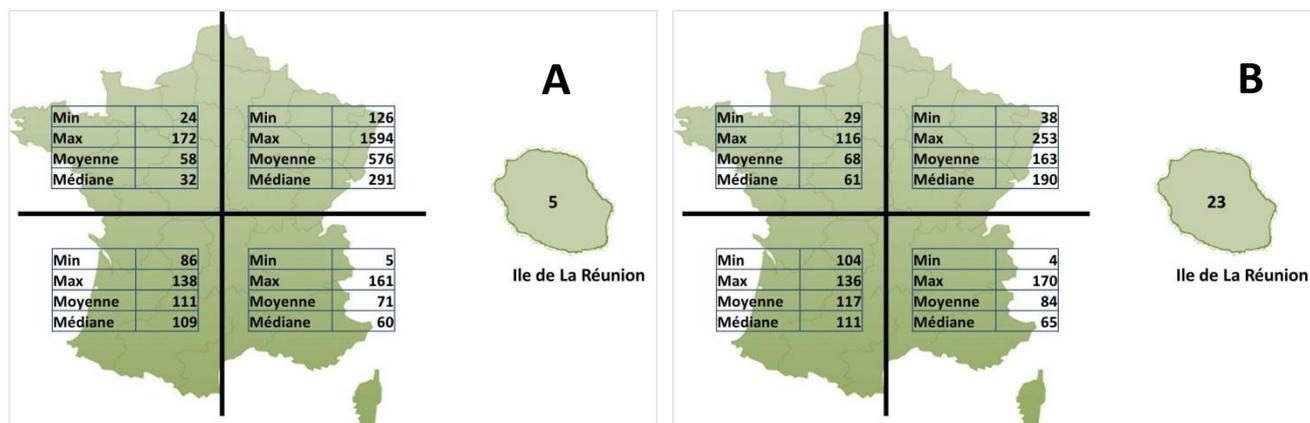


Figure 47 : Cartographie des consommations de méthadone estimées à partir des analyses des eaux usées brutes pour les sites analysés (1 ou 2 prélèvements par site). Quantités consommées en mg/jour/1 000 hab. en semaine (A) et le weekend (B). ND = non détecté. Les cartes représentant les quantités consommées par zone urbaine ont été volontairement supprimées. Pour plus de détails veuillez vous référer à la publication jointe à la fin de ce document.

L'EDDP a été quantifiée dans 77 % des affluents, permettant d'estimer des valeurs de consommation de méthadone comprises entre 4 mg et 1,6 g/jour/1 000 hab., semaine et weekend confondus (Figure 47). Il n'apparaît pas d' « effet weekend », ce qui se justifie et se confirme par le fait que la méthadone est prescrite pour une consommation quotidienne régulière. Les valeurs maximales de consommation sont observées pour les bassins de vie des STEP NE1 (1,6 g/jour/1 000 hab.) et NE3 (407 mg/jour/1 000 hab.), cette dernière étant la seule station où l'HER a été retrouvée.

Un seul site ne présente pas de traces d'EDDP, c'est celui raccordé à la STEP SE4 où seul le THC-COOH a été détecté.

IV.B.4. VARIATIONS GÉOGRAPHIQUES

La réalisation des prélèvements dans des bassins de collecte de taille variable, situés sur l'ensemble du territoire français, en zones rurales et urbaines, permet d'établir une première cartographie limitée des consommations des différentes drogues étudiées afin de rechercher d'éventuelles disparités régionales. Ces cartes doivent être associées à la prudence évidente liée au fait que le nombre de campagnes de prélèvements par site est réduit.

IV.B.4.1. COMPARAISON DES CONSOMMATIONS DE DROGUES EN FONCTION DE LA TAILLE DES BASSINS DE COLLECTE

Les différents bassins de vie liés au STEPs ont été classés en trois catégories :

- les grands : pour des STEPs de capacité > 100000 équivalents habitants
- les moyens : pour des STEP de capacité > 30000 équivalents habitants
- les petits : pour des STEP de capacité < 30000 équivalents habitants

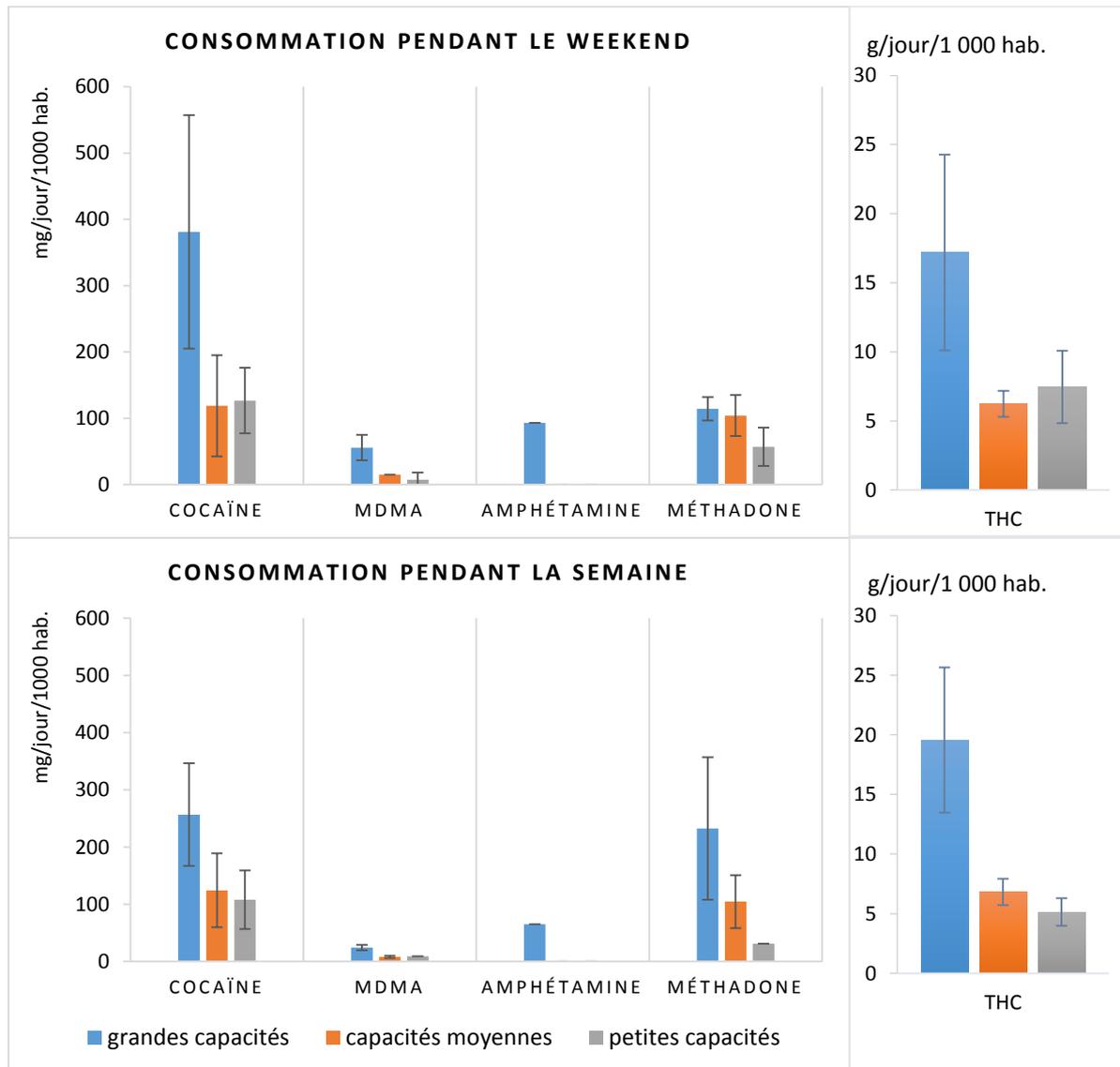


Figure 48 : Moyennes ± écart-types (<LD et <LQ exclus) des quantités estimées de drogues consommées (en mg/jour/1 000 hab. et en g/jour/1 000 hab. pour le THC) en fonction de la capacité nominale des STEPs assimilée à la taille du bassin de collecte.

Les consommations moyennes par produit et par taille de bassin de collecte ont été calculées en distinguant la semaine et le weekend. Il apparaît clairement que les consommations sont plus élevées dans les grandes zones urbaines que dans les moyennes et petites, pour tous les produits, l'effet n'étant cependant pas significatif pour la méthadone. Les consommations apparaissent du même ordre pour les moyens et petits bassins (Figure 48).

Cette différence peut s'expliquer par un marché plus disponible en milieu fortement urbanisé et également par la présence, dans les grands sites urbains, de lieux ou d'évènements festifs plus nombreux. Les petites communes sont généralement situées en zone rurale et l'absence de différence significative observée dans les eaux usées des STEP de moyenne et petite capacité atteste d'une pénétration des marchés des drogues analysées dans l'ensemble du pays.

IV.B.4.2. COMPARAISON DES CONSOMMATIONS DE DROGUES EN FONCTION DES RÉGIONS

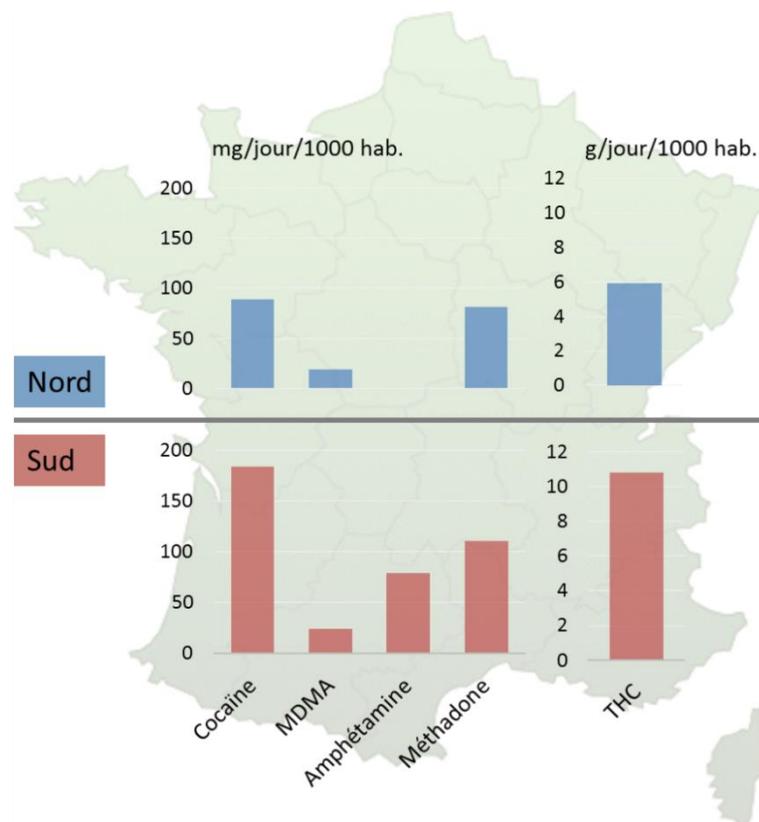


Figure 49 : Médianes des estimations de consommation de drogues (en mg/jour/1 000 hab. et en g/jour/1 000 hab. pour le THC) en fonction de la localisation des sites dans les moitiés Nord ou Sud du territoire métropolitain.

Le territoire métropolitain a été arbitrairement divisé en deux moitiés Nord et Sud afin d'établir des comparaisons statistiques par le test des rangs de Mann-Whitney.

Même si le nombre de données nécessite un examen prudent, la consommation estimée de COC apparaît significativement plus élevée dans la moitié Sud au cours de la semaine et au cours du weekend après élimination de la donnée relative à la STEP NE1. Une tendance similaire est observée pour le cannabis, de façon significative ($p < 5 \%$) seulement le weekend. Ces observations sont en accord avec les données de l'enquête ESCAPAD (OFDT, 2012) qui montre que l'usage du cannabis (Figure 50-A) ou l'expérimentation de la cocaïne (Figure 50-B) chez les jeunes de 17 ans sont plus élevés dans les régions du sud.

Le nombre de données dans notre étude ne nous permet pas d'appliquer de tests statistiques pour les consommations estimées de MDMA, mais la fréquence de détection de ces composés est plus élevée dans le sud que dans le nord. L'amphétamine n'a été détectée que dans une zone urbaine du sud. De manière moins évidente, cette observation est également en accord avec les données de l'enquête ESCAPAD qui relève que certaines régions du sud présentent les plus hauts niveaux d'expérimentation de ces stimulants de synthèse (Figure 51-C et D). Cependant, toujours selon les données de l'enquête ESCAPAD, il apparaît également des taux élevés dans certaines régions du nord où nous n'avons détecté ni MDMA, ni amphétamine.

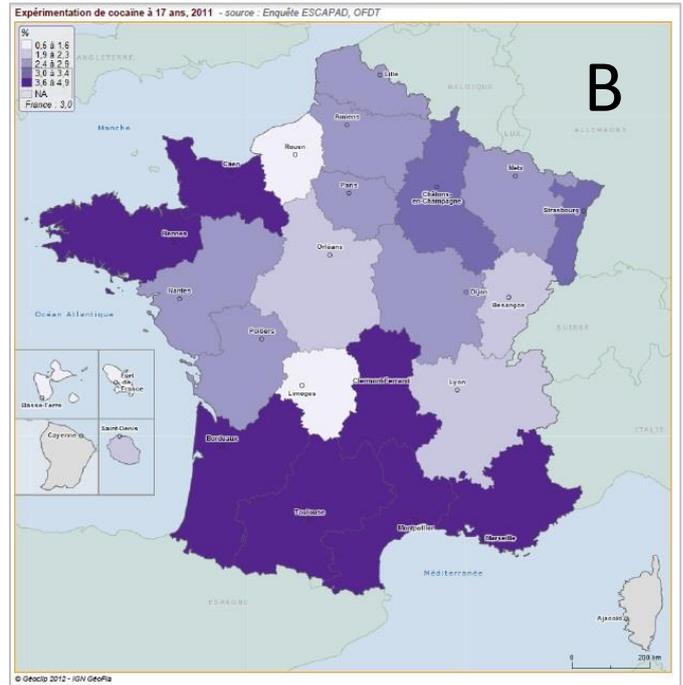
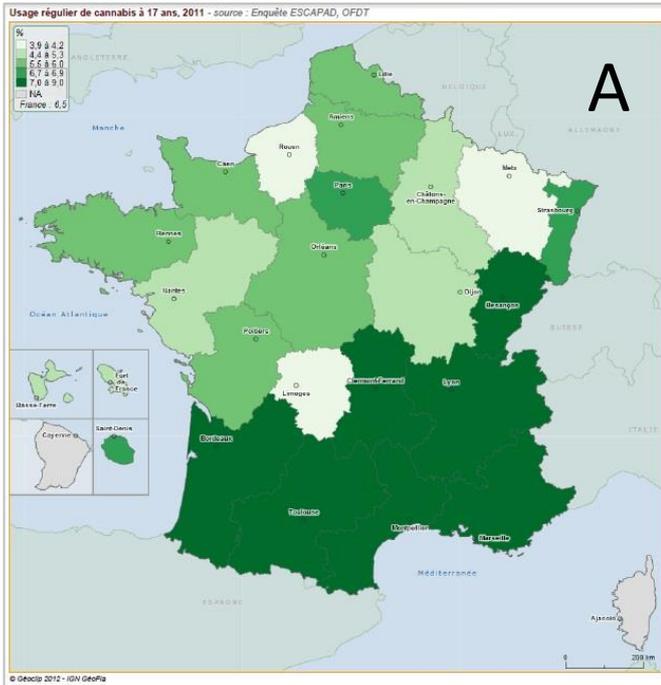


Figure 50 : Cartographie des usages de cannabis (A), de l'expérimentation de la cocaïne (B) au cours de l'année 2011 chez les jeunes âgés de 17 ans (ESCAPAD, 2012). Pourcentage croissant d'utilisateurs ou d'expérimentateurs suivant les couleurs, des plus claires aux plus foncées.

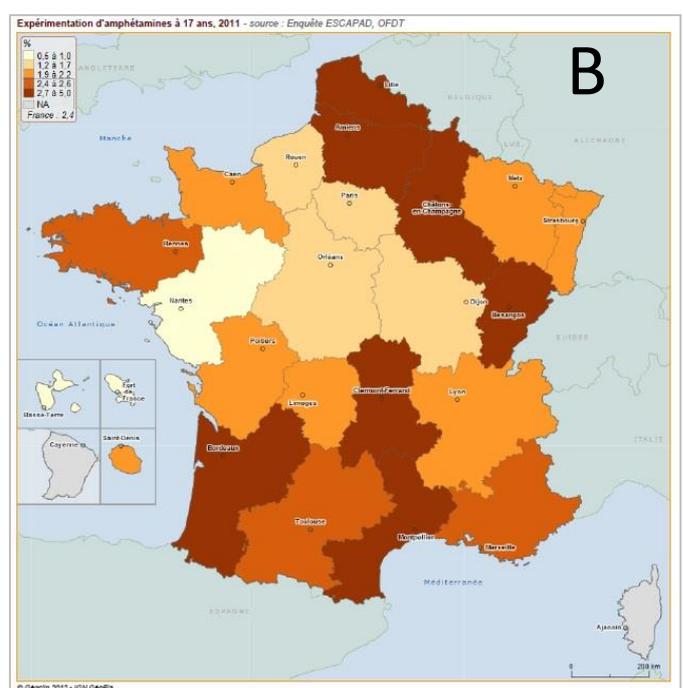
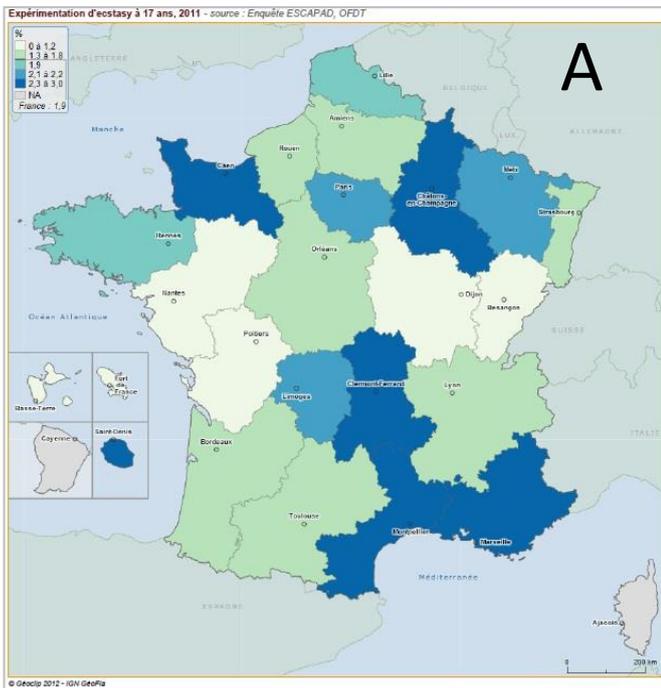


Figure 51 : Cartographie de l'expérimentation de la MDMA (A) et de l'expérimentation de l'amphétamine (B) au cours de l'année 2011 chez les jeunes âgés de 17 ans (ESCAPAD, 2012). Pourcentage croissant d'utilisateurs ou d'expérimentateurs suivant les couleurs, des plus claires aux plus foncées.

Le rapprochement de nos résultats avec les statistiques de l'enquête ESCAPAD doit cependant tenir compte des différences d'approche et de réalisation de ces deux moyens d'estimation des consommations :

- les prélèvements effectués lors de notre étude ont été réalisés à un moment donné et ne reflètent pas la consommation sur une longue période,
- nos calculs représentent la consommation pour une zone urbaine bien définie alors que l'OFDT présente des estimations sur une région entière,
- l'enquête ESCAPAD, effectuée lors de la Journée défense et citoyenneté (ex-JAPD), ne concerne que les jeunes de 17 ans et ne renseigne que sur l'expérimentation et non sur l'usage des drogues, à l'exception du cannabis.

Un autre indicateur fourni par l'OFDT est le nombre d'arrestations pour usage et/ou possession de drogues par région. Ainsi, en ce qui concerne le cannabis (Figure 52-A), en excluant Paris, il apparaît que les régions du sud présentent les plus hauts taux d'arrestations alors que la répartition des arrestations concernant la cocaïne, l'héroïne et le MDMA sur le territoire métropolitain paraît plus homogène (Figure 52-B). Toutefois, cette dernière carte représente les taux d'arrestation liés à la possession ou la consommation de trois drogues confondues et ne permet donc pas de déterminer quelle drogue parmi les trois est à l'origine du plus grand nombre d'arrestations dans chaque région. De plus, le nombre d'arrestations n'est pas un indicateur fiable de la consommation car il peut varier en fonction de l'efficacité des autorités dans une région donnée.

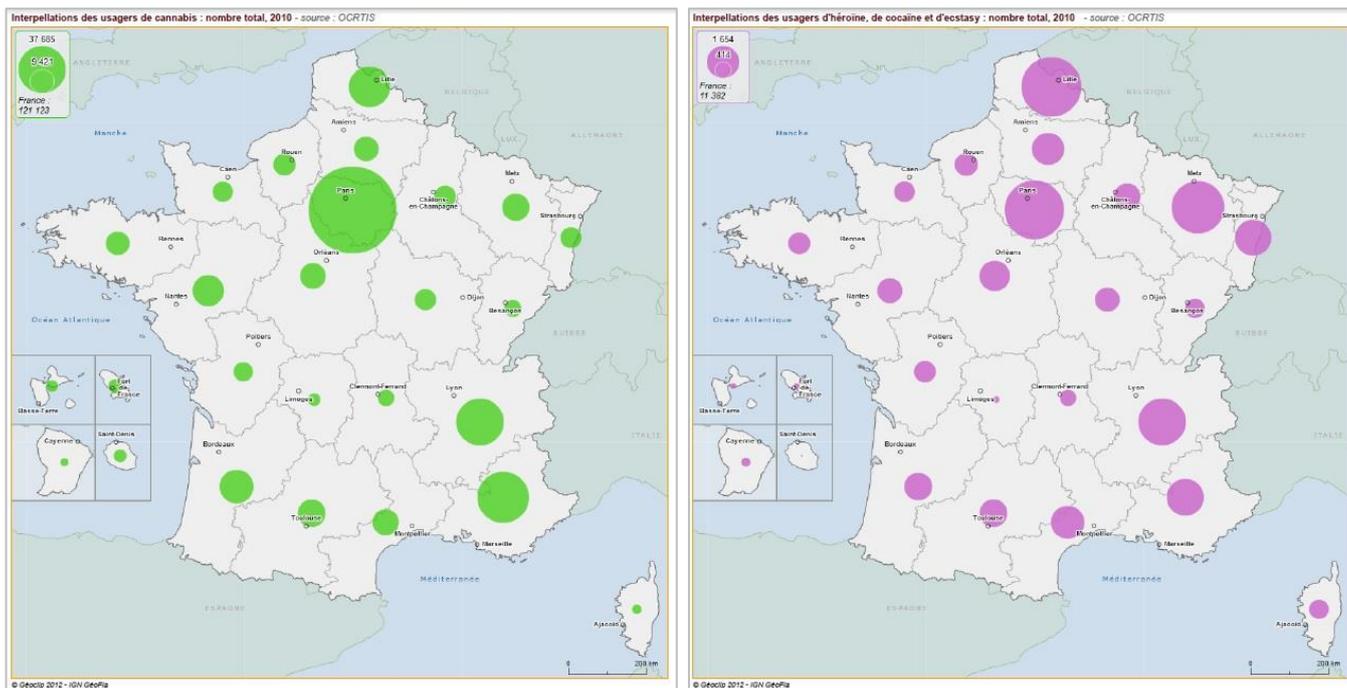


Figure 52 : Cartographies du nombre d'interpellations policières et douanières dans les cas de possession et/ou usage de cannabis (A) ou d'héroïne, de cocaïne et d'ecstasy (B) (OCRTIS, 2010). La taille des cercles est proportionnelle aux nombres d'arrestations.

Les différences nord-sud peuvent s'expliquer par la structuration des réseaux d'approvisionnement : en effet, une grande partie de la cocaïne provient d'Amérique du Sud en transitant par l'Afrique pour rentrer en Europe via les pays du bassin méditerranéen. Par conséquent, la route principale de trafic de cocaïne passe à travers le sud de l'Europe, favorisant probablement une plus grande disponibilité de cette drogue dans le sud de la France. De même, plus de 20 % de la résine de cannabis distribuée en Europe en 2011 provenait du Maroc (ONU DC, 2013).

De forts taux de consommation sont observés également dans des bassins de vie du nord et notamment celui raccordé à la STEP NE1 : outre l'événement festif qui s'est déroulé au moment des prélèvements, l'explication peut également se trouver dans une meilleure disponibilité des produits pour cette région située dans l'axe de trafic en provenance des Pays-Bas.

Une autre explication de la différence nord-sud, notamment pour la consommation de COC, réside dans la forte concentration d'activités festives dans des villes de la côte méditerranéenne.

En ce qui concerne la consommation d'opiacés et surtout de méthadone, même en absence de différence géographique significative, les taux les plus élevés ont été mesurés dans des villes de la moitié nord. Le nombre de résultats obtenus ne nous permet pas de conclure de manière significative à une consommation plus élevée d'opiacés dans cette partie du pays et la méthode de calcul ne nous permet pas de distinguer la consommation de morphine de celle de l'héroïne. Cependant, cette observation mérite d'être approfondie car les données de l'enquête ESCAPAD (cf. note 3) montrent que les régions où les déclarations d'expérimentation de l'héroïne sont les plus élevées se trouvent dans la moitié nord et notamment les régions du nord et du nord-est où les taux de morphine mesurés dans notre étude sont les plus élevés (Figure 53-A). Les données de vente de la méthadone sont également en accord avec nos observations (Figure 47) car les volumes de vente les plus élevés sont dans le nord et l'est de la France (Figure 53-B).

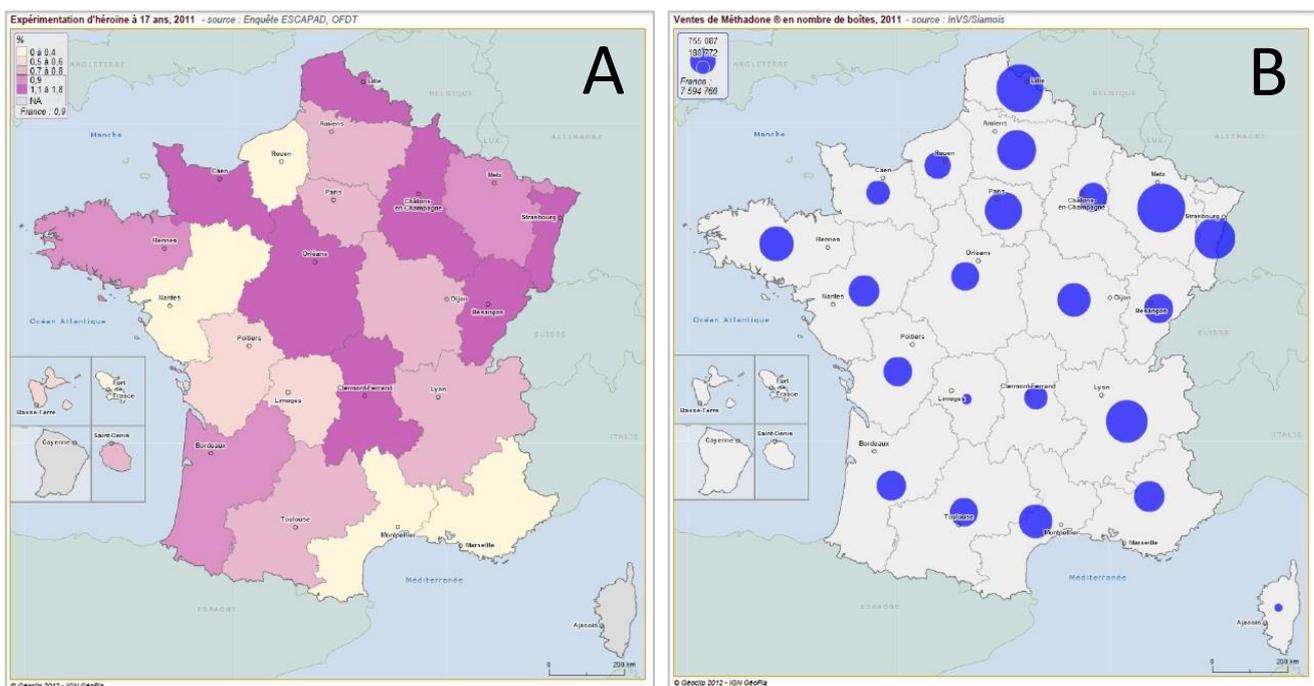


Figure 53 : A – cartographie de l'expérimentation d'héroïne durant l'année 2011 chez les jeunes âgés de 17 ans (ESCAPAD, 2012). Pourcentage croissant d'utilisateurs ou d'expérimentateurs suivant les couleurs, des plus claires aux plus foncées. B – cartographie du nombre de flacons ou boîtes de méthadone vendus durant l'année 2011 (InVS, 2011). La taille des cercles est proportionnelle aux nombres des flacons et boîtes vendues.

IV.B.5. VARIATIONS TEMPORELLES : ÉTUDE POUR PARIS ET SA RÉGION

Les résultats des estimations de consommation réalisées à partir des données des campagnes annuelles réalisées en région parisienne depuis 2009 au sein de notre laboratoire sont présentés sur la figure 54.

Les prélèvements de 2011 et 2013 ont été effectués dans la même station du SIAAP, Seine Centre située à Colombes (92) et les prélèvements de 2012 ont été effectués dans la station du SIAAP des Grésillons à Triel-sur-Seine (78). Les prélèvements des trois dernières années ont été réalisés dans le cadre de la collaboration européenne SCORE, pilotée par K. Thomas (NIVA, Norvège) et S. Castiglioni (Institut Mario Negri, Italie) et associant progressivement une vingtaine de pays. Chacune de ces campagnes correspond à une semaine de prélèvement à peu près à la même période de l'année afin de pouvoir tenir compte des différences de consommation au cours d'une semaine et écarter les différences de consommation saisonnières au cours d'une année. Les consommations de cannabis et de MTD n'ont été estimées respectivement qu'à partir de 2011 et 2012.

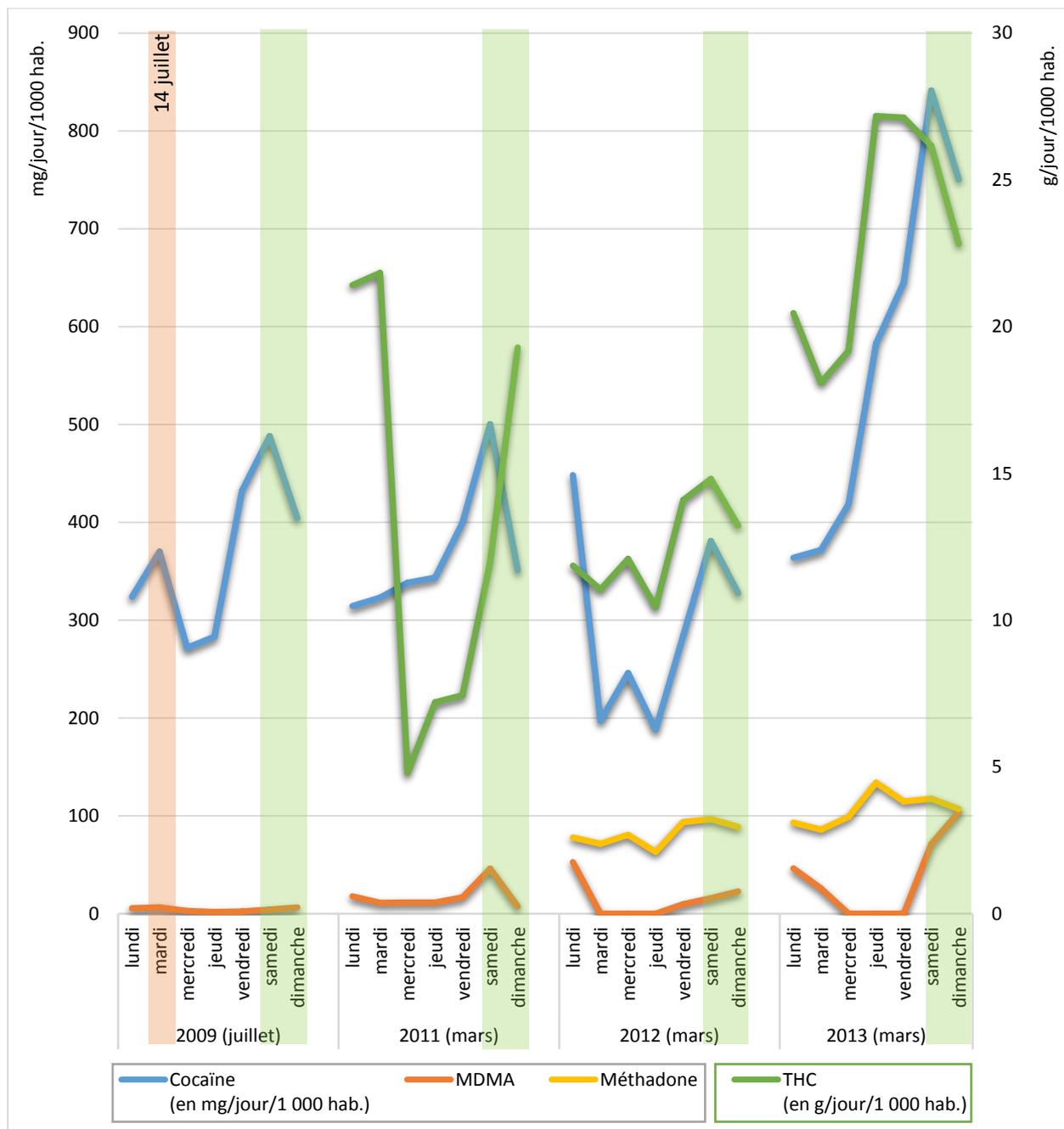


Figure 54 : Quantités estimées de drogues illicites consommées sur Paris et sa banlieue entre 2009 et 2013. Les consommations de THC et méthadone n'ont été estimées respectivement qu'à partir de 2011 et 2012.

La consommation moyenne hebdomadaire estimée de cocaïne a augmenté de 368 mg/jour/1 000 hab. en 2009 à 568 mg/jour/1 000 hab. en 2013, l'évolution étant surtout marquée entre 2012 et 2013.

La consommation moyenne hebdomadaire estimée de MDMA, beaucoup plus faible que celle de cocaïne, montre également une augmentation de 4 mg/jour/1 000 hab. en 2009 à

35 mg/jour/1 000 hab. en 2013, cette augmentation résultant principalement d'une hausse de la consommation durant le weekend, ce composé n'ayant pas été détecté pendant 3 jours de semaine consécutifs (mercredi, jeudi, vendredi) aussi bien en 2012 qu'en 2013. Ceci prouve que la MDMA est de plus en plus consommée dans un cadre festif comme le décrit l'OFDT (Trend, 2013) qui montre un regain de popularité de la MDMA dans les milieux récréatifs et auprès d'un public jeune et « bien inséré ». C'est dans les années 90 que la MDMA a été popularisée auprès des « *clubbers* » qui la consommaient sous forme de comprimés appelés « ecstasy ». Une baisse de la qualité des comprimés, certains pouvant même ne pas contenir de principe actif, a entraîné une diminution de la consommation de MDMA. Celle-ci revient aujourd'hui sur le marché sous la forme de cristaux mieux acceptés par les consommateurs et sa consommation augmente à nouveau.

La consommation de cannabis estimée paraît stable durant les 2 premières années de campagne (2010 et 2011), comprise en moyenne entre 10 et 20 g/jour/1 000 hab. puis augmente en 2013 jusqu'à 27 g/jour/1 000 hab.

La consommation de MTD, estimée seulement pour les deux dernières années de campagne, reste stable autour de 100 mg/jour/1 000 hab. en moyenne sur la semaine.

Notons que les prélèvements de 2009 ont été effectués la semaine du 14 juillet, incluant ainsi les événements festifs organisés pour la Fête Nationale et entraînant une augmentation de la consommation de cocaïne et de MDMA de 100 %. Les valeurs obtenues cette semaine seraient donc des valeurs plus élevées que la moyenne de l'année ce qui renforce l'idée qu'il y a bien une augmentation de la consommation de cocaïne et de MDMA en région Ile-de-France depuis 2009.

IV.B.6. ÉTUDE AU SEIN D'UN VASTE RÉSEAU URBAIN

IV.B.6.1. PARIS ET LA RÉGION PARISIENNE

Nous avons décidé d'organiser une campagne de prélèvements dans Paris, en obtenant l'autorisation de la mairie de Paris et grâce à la collaboration du Service technique de l'Eau et de l'assainissement de la ville de Paris, afin de comparer les consommations par quartier (cf. « Matériels et Méthodes ») et étudier plus précisément la consommation de drogues dans des sites spécifiques, hôpital, lycée et prison.

IV.B.6.1.1. Prélèvements par quartiers

Toutes les molécules incluses dans la méthode analytique ont été recherchées mais seuls la COC, la BZE, l'EME, la MOR, la MDMA, la MET, le THC-COOH, la MTD et l'EDDP ont été détectés et quantifiés (Tableau XXIII). Un épisode orageux durant le weekend de mesure a entraîné la perte du préleveur automatique situé dans le quartier E.

Tableau XXIII : Concentrations (en ng/L) de composés mesurés dans les prélèvements effectués sur différents sites de collecte représentatifs de certains quartiers parisiens.

Concentration (ng/L)	Quartier H		Quartier E		Quartier F		Quartier T	
	SEMAINE	WEEKEND	SEMAINE	WEEKEND	SEMAINE	WEEKEND	SEMAINE	WEEKEND
MOR	163	76	71	-	559	81	72	291
MET	13	15	ND	-	ND	ND	10	58
MDMA	61	197	16	-	24	82	59	160
COC	323	386	248	-	356	321	57	121
BZE	712	511	336	-	1353	524	158	806
EME	114	51	34	-	144	84	31	85
MTD	ND	ND	ND	-	ND	ND	13	15
THC-COOH	497	178	103	-	438	532	954	295

Durant la semaine, les concentrations les plus élevées en MOR, COC, BZE et EME sont observées dans le quartier F et la concentration la plus élevée en THC-COOH dans le quartier T. Durant le weekend, aucune tendance n'apparaît clairement, la concentration la plus élevée en THC-COOH étant cependant observée dans le quartier F. Les concentrations mesurées diminuent durant le weekend en raison des orages accompagnés de précipitations importantes qui ont dilué les eaux usées par ruissellement. Notons que cette diminution n'est pas observée pour le THC-COOH dans le quartier F ce qui indiquerait qu'une quantité importante de THC-COOH ait été éliminée par les habitants de ce quartier pendant le weekend.

Les quantités rejetées durant les 24 heures de prélèvement ont été calculées afin de permettre des comparaisons de consommations estimées entre les quartiers. Le débitmètre n'ayant pas fonctionné pour le quartier H, il n'a pas été possible d'estimer les consommations pour ce secteur.

Tableau XXIV : Quantités de drogues et de métabolites éliminées en mg/jour, calculées à partir des concentrations mesurées dans les prélèvements effectués sur différents sites de collecte représentant différents quartiers parisiens.

Quantité en mg	Quartier E	Quartier F		Quartier T	
	SEMAINE	SEMAINE	WEEKEND	SEMAINE	WEEKEND
MOR	32	1058	204	389	2865
MET				52	567
MDMA	7	46	207	321	1570
COC	112	674	815	309	1185
BZE	152	2560	1328	858	7923
EME	15	272	213	167	833
MTD				73	147
THC-COOH	47	829	1350	5174	2897

Les quantités éliminées les plus importantes des différents composés sont observées dans le quartier T durant le weekend. Durant la semaine, les consommations de MOR et COC sont plus élevées dans le quartier F et celles de MDMA et cannabis dans le quartier T (Tableau XXIV).

Le quartier T est plutôt de type résidentiel, avec des logements variés, allant de l'habitat à loyer modéré à l'appartement de « haut *standing* » et quelques immeubles de bureaux. Le quartier F situé dans le nord de Paris correspond à un secteur de la ville connu pour une grande activité de trafic et une consommation importante de produits stupéfiants. Ce quartier abrite des logements aux loyers peu élevés accueillant des populations souvent défavorisées. Les observations laissent à penser que la majorité des consommateurs du quartier T présentent une consommation qui s'inscrit plus dans un cadre festif, de préférence le weekend, que celle des consommateurs du quartier F.

L'interprétation de ces résultats basée sur un seul prélèvement par quartier est très préliminaire et nécessite d'être confirmée par de nouvelles campagnes, incluant un plus grand nombre de quartiers et de prélèvements par quartier.

IV.B.6.1.2. Prélèvements sur des sites spécifiques

Les prélèvements sur les sites spécifiques sont moyennés sur le temps, sans mesure de débit. Il n'a donc pas été possible de calculer le flux journalier ni d'estimer les consommations. Les résultats, correspondant aux concentrations mesurées dans les

prélèvements d'eaux usées, permettent seulement une étude qualitative des produits consommés dans les différents sites (Tableau XXV).

Tableau XXV : Concentrations (en ng/L) de composés mesurés dans les prélèvements effectués à différents points de collecte à la sortie d'établissements caractérisés.

Concentration en ng/L	HÔPITAL 1 750 lits	PRISON entre 1 000 et 1 500 détenus	BUREAU entre 500 et 1 000 personnes	LYCÉE 1 700 lycéens 15 à 21 ans (internat)	LYCÉE 1 110 lycéens 15 à 21 ans	COLLÈGE LYCÉE 1 700 lycéens 12 à 21 ans
MOR	1 725	230	179	71	ND	ND
MDEA	167	ND	ND	ND	ND	ND
COC	21	87	54	99	ND	ND
BZE	101	1 732	158	358	ND	ND
EME	28	433	36	46	ND	ND
BUP	ND	230	ND	ND	ND	ND
MTD	19	451	ND	ND	ND	ND
EDDP	38	966	46	ND	ND	ND
THC-COOH	402	1 399	725	131	30	527

Le composé majoritairement retrouvé à l'hôpital est la MOR avec une très forte concentration à mettre en relation avec l'utilisation thérapeutique de ce produit. Une concentration de MDEA de 167 ng/L a été observée. En l'absence de MDMA, cette molécule pourrait plutôt correspondre à un produit dérivé d'un médicament. Des consommations de COC et de THC-COOH sont confirmées, sans pouvoir dire si elles sont imputables aux patients, au personnel soignant ou encore aux visiteurs.

Les effluents de la prison contiennent de fortes concentrations en BZE, BUP, MTD, EDDP et THC-COOH. Les fortes concentrations de BUP, MTD et EDDP peuvent s'expliquer par la présence d'un programme de distribution de traitements de substitution aux opiacés au sein des établissements pénitentiaires qui comportent un fort taux d'usagers de drogues. Postigo *et al.* (2011) observent également des concentrations élevées en MTD (4,7 mg/L) et son métabolite l'EDDP (9,3 mg/L) sur des prélèvements d'effluents d'une prison espagnole. Par contre, la présence d'autres stupéfiants dans les eaux usées, notamment avec de très fortes teneurs pour le THC-COOH et la BZE, atteste d'une consommation de drogues au sein de l'établissement, sans pouvoir distinguer les usagers parmi le personnel, les visiteurs ou les détenus. Cette observation, qui s'inscrit en opposition avec les affirmations des

gestionnaires, mérite d'être approfondie dans le cadre d'une politique de maîtrise des consommations et des risques associés dans ce type d'établissement. En effet, il a été démontré que 12 % des usagers de drogues incarcérés ont eu recours à l'injection en prison dont 30 % ont partagé la seringue au cours d'une période d'incarcération (InVS-ANRS, 2004).

L'immeuble de bureaux correspond à un bâtiment présentant une activité de radio. Les concentrations moyennes de COC, de BZE et de THC-COOH sont élevées en comparaison avec les autres sites. Les faibles concentrations mesurées de MOR et EDDP attestent d'une consommation d'opiacés et de substitut.

Le THC-COOH a été quantifié dans les effluents des trois lycées et ce résultat se justifie facilement par les données de l'OFDT qui estime que 41,5 % des jeunes de 17 ans ont déjà expérimenté le cannabis et 6,5 % sont des fumeurs réguliers (OFDT, 2012). La MOR ainsi que la COC et ses métabolites ont été détectés dans un seul établissement qui est le seul à abriter un internat.

Une étude similaire a été menée en 2010 par Zuccato *et al.* (Communication orale, « *Testing the water* », EMCDDA, 2013) dans 8 écoles en Italie et les produits détectés sont les mêmes que ceux que nous avons détectés. Dans cette étude italienne, les concentrations mesurées les plus élevées sont observées pour le THC-COOH et les consommations en THC estimées varient entre 0,2 et 3 g/jour/1 000 hab. suivant les établissements. Les concentrations en BZE correspondent à des consommations estimées de cocaïne toujours en-dessous de 0,25 g/jour/1 000 hab. Les opiacés et stimulants de synthèse n'ont pas été détectés sur l'ensemble des 8 établissements.

IV.B.6.2. CAMPAGNE SUR UNE ZONE URBAINE DE LA MARTINIQUE

Les résultats pour les molécules dont les concentrations étaient supérieures aux LD sont présentés dans la figure 55. Les stimulants de synthèse, le CET, l'HER et son métabolite la 6-MAM ainsi que les produits de substitution et leurs métabolites n'ont jamais été détectés dans ces prélèvements.

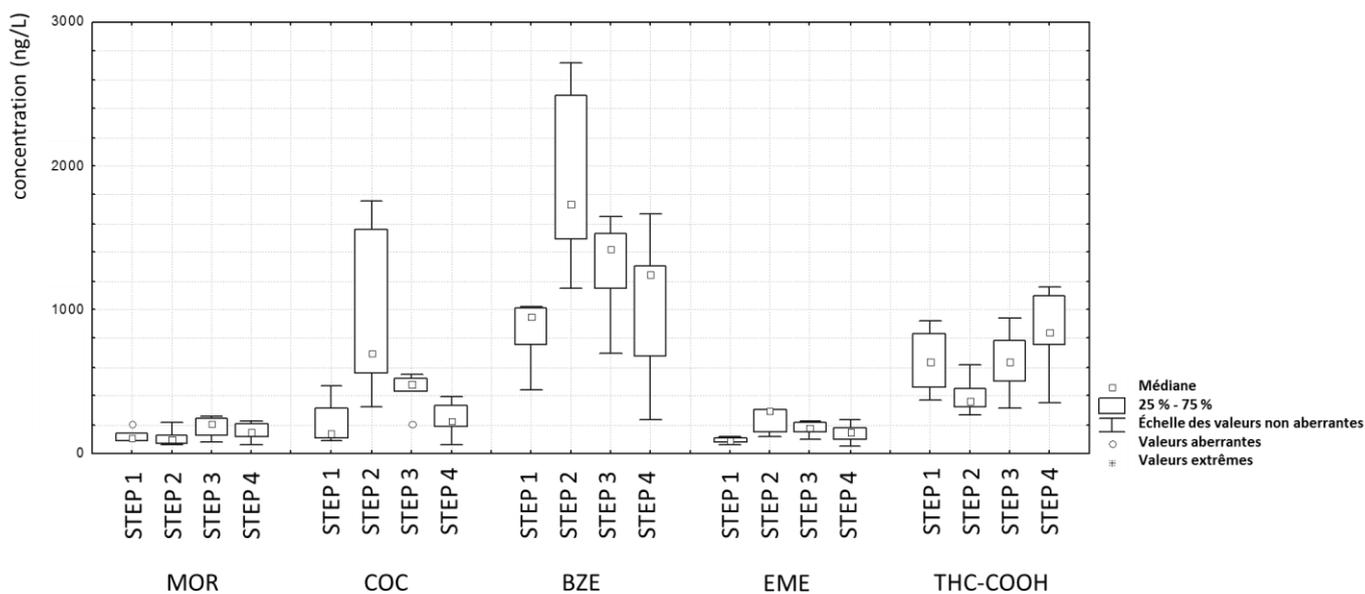


Figure 55 : Box-plot des concentrations mesurées dans les affluents des 4 STEPs analysées. Les valeurs « non détectables » ont été considérées comme des valeurs nulles.

Les concentrations sont comprises entre 46 (EME) et 2 713 ng/L (BZE) avec des valeurs médianes entre 132 (MOR) et 1 198 ng/L (BZE). Ainsi, les valeurs médianes obtenues pour les prélèvements de l'agglomération martiniquaise sont supérieures à celles obtenues en métropole à l'exception de la MOR pour laquelle la valeur médiane en métropole est de 469 ng/L. Les consommations de cocaïne et de THC semblent être plus élevées dans cette agglomération que sur le territoire français métropolitain à l'inverse de la consommation de morphine plus faible qu'en métropole. Cependant, certaines zones urbaines de la métropole présentent, selon les molécules, des concentrations aussi voire plus élevées que celles mesurées dans ce bassin de la Martinique. Par exemple, la concentration maximale de BZE mesurée dans l'agglomération martiniquaise (2 713 ng/L) est inférieure à la maximale obtenue en métropole dans la zone urbaine SE5 (3 050 ng/L).

Les quantités consommées de cocaïne et de THC ont été estimées grâce à l'équation 1 et les résultats sont présentés sur la figure 56 et le tableau XXVII.

Les quantités consommées estimées de cocaïne et de THC dans l'agglomération martiniquaise sont très supérieures à celles estimées en métropole et à celles décrites dans la littérature.

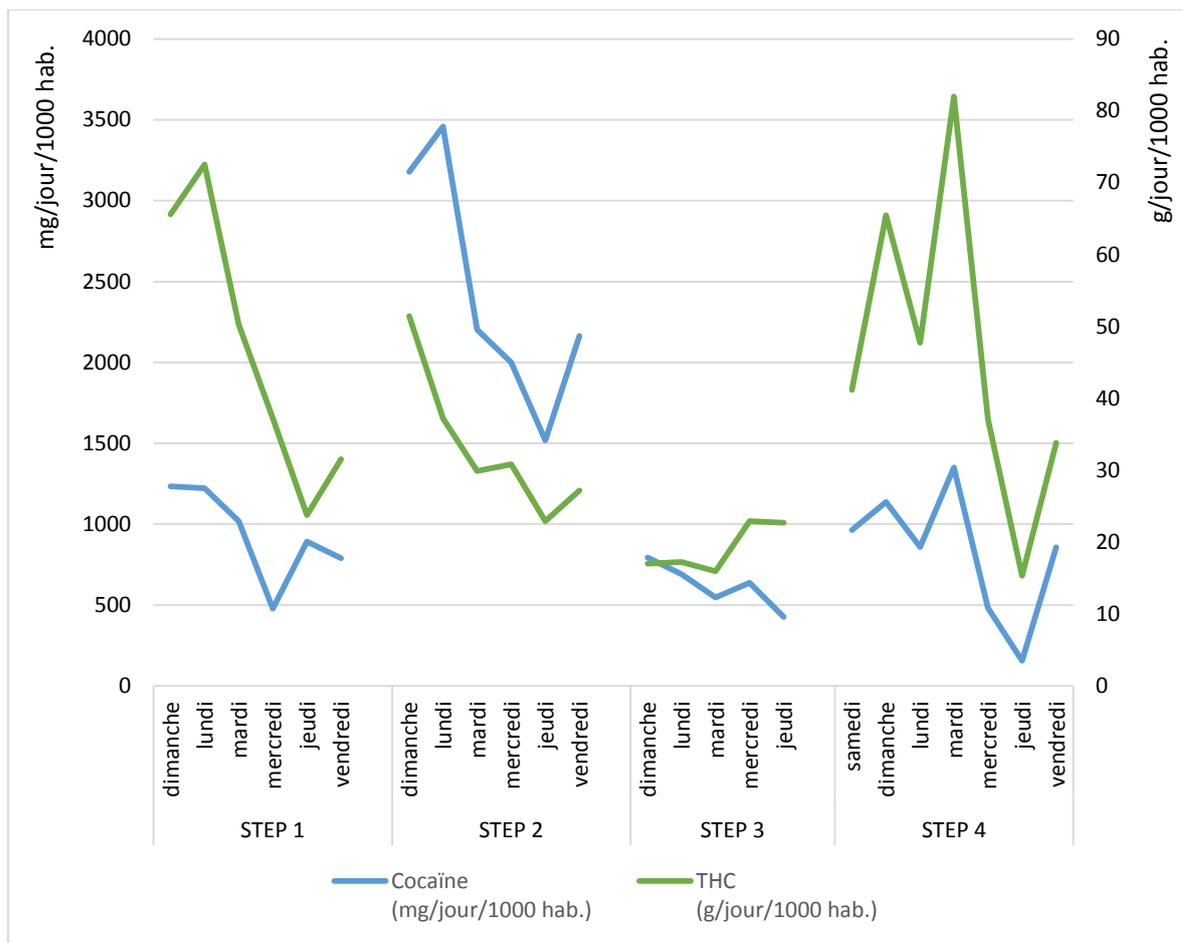


Figure 56 : Quantités estimées de cocaïne et de THC consommées sur la zone urbaine de Fort-de-France durant la semaine de prélèvements du 18 au 24 mai 2013.

La quantité de cocaïne consommée la plus élevée correspond à la zone urbaine reliée à la STEP 2 et s'élève à 3 456 mg/jour/1 000 hab. soit environ 1 g/jour/1 000 hab. de plus que la quantité la plus élevée calculée pour la métropole, dans la zone urbaine NE1 à l'occasion d'un grand rassemblement festif. Les valeurs moyennes des quantités consommées de cocaïne en Martinique et en métropole sont respectivement de 1 210 et 228 mg/jour/1 000 hab., semaine et weekend confondus. La consommation de cocaïne dans l'agglomération martiniquaise apparaît donc au minimum 5 fois plus élevée qu'en métropole. Cette consommation élevée peut s'expliquer par la situation géographique de la Martinique, les Caraïbes étant une plaque tournante du trafic international de cocaïne. La production sud-américaine transite par cette région pour atteindre les États-Unis et l'Europe (Figure 3).

Tableau XXVI : Quantités estimées de cocaïne et de THC consommées sur la zone urbaine de Fort-de-France durant la semaine de prélèvement du 18 au 24 mai 2013.

			Consommation	
			Cocaïne (mg/jour/1 000 hab.)	THC (g/jour/1 000 hab.)
STEP 1	dimanche	19/05/2013	1 234	66
	lundi	20/05/2013	1 221	73
	mardi	21/05/2013	1 019	50
	mercredi	22/05/2013	477	37
	jeudi	23/05/2013	892	24
	vendredi	24/05/2013	790	32
STEP 2	dimanche	19/05/2013	3 178	51
	lundi	20/05/2013	3 458	37
	mardi	21/05/2013	2 202	30
	mercredi	22/05/2013	2 000	31
	jeudi	23/05/2013	1 517	23
	vendredi	24/05/2013	2 164	27
STEP 3	dimanche	20/05/2013	794	17
	lundi	21/05/2013	690	17
	mardi	22/05/2013	547	16
	mercredi	23/05/2013	637	23
	jeudi	24/05/2013	426	23
STEP 4	samedi	18/05/2013	964	41
	dimanche	19/05/2013	1 136	65
	lundi	20/05/2013	859	48
	mardi	21/05/2013	1 351	82
	mercredi	22/05/2013	482	37
	jeudi	23/05/2013	156	15
	vendredi	24/05/2013	856	34

Les quantités de THC consommées estimées dans l'agglomération martiniquaise sont également supérieures aux quantités consommées estimées dans les zones urbaines étudiées en métropole. Malgré une valeur de consommation estimée maximale (82 g/jour/1 000 hab.) en Martinique inférieure à celle estimée en métropole dans la zone urbaine NE1 (100 g/jour/1 000 hab.), la valeur moyenne de consommation estimée en Martinique (37 g/jour/1 000 hab.) est environ 2,5 fois supérieure à la valeur moyenne calculée pour la métropole (14 g/jour/1 000 hab.). L'estimation élevée des quantités de THC consommées peut s'expliquer par une forte production locale de cannabis mais aussi par des teneurs en THC plus importantes dans les plantes cultivées.

Globalement, les taux élevés de consommation en Martinique pourraient être liés à la situation socio-économique et le fort taux de chômage qui s'élève à 25,7 % sur l'île (Pôle emploi, octobre 2013). Des prélèvements plus nombreux et des études plus avancées sur les situations démographiques et socio-économiques de chaque zone urbaine permettraient de confirmer ou d'infirmer ce genre d'hypothèses.

Les campagnes de prélèvement ne représentent que quelques mesures et ne constituent pas une évaluation suffisamment robuste. Elles ont été réalisées à titre ponctuel et mériteraient d'être intégrées dans un programme d'observation avec un suivi temporel.

IV.B.7. INCERTITUDE DE LA MÉTHODE

Chaque grandeur utilisée pour le calcul des consommations apporte une incertitude plus ou moins facile à quantifier.

IV.B.7.1. MODALITÉS DE PRÉLÈVEMENT

L'incertitude est fonction de la représentativité du mode de prélèvement et de la fréquence d'échantillonnage. La fréquence requise pour minimiser les erreurs dépend principalement de l'ampleur des variations à court terme des concentrations des composés dans les eaux usées et du débit des eaux usées au niveau du point de prélèvement. Ces paramètres dépendent eux-mêmes de la taille de la population, du nombre de consommateurs, de la fréquence de consommation mais aussi du pourcentage d'exfiltration des eaux usées dans le réseau et de la fréquence de pompage, s'il existe un processus de pompage dans le réseau de collecte.

Les incertitudes sur l'échantillonnage ont été estimées entre 5 et 10 % et les méthodes de prélèvements privilégiées, déjà évoquées dans la synthèse bibliographique, sont, dans l'ordre de représentativité décroissante, les prélèvements moyennés sur 24 heures asservis au débit, au volume et enfin au temps (Castiglioni *et al.*, 2013). Il est évident que les prélèvements ponctuels ne permettent pas d'estimer les consommations et que l'incertitude sur ce type d'échantillon est supérieure à 10 %. Ainsi, la méthode de prélèvement utilisée dans ce travail est la méthode la plus efficace pour obtenir la meilleure représentativité de ce qui est éliminé dans le réseau d'eaux usées. L'incertitude qui lui est associée est de l'ordre de 5 % (Castiglioni *et al.*, 2013).

IV.B.7.2. DÉGRADATION DES MOLÉCULES CIBLES

L'incertitude due à la dégradation des molécules dans les eaux usées est fonction des taux de dégradation avant et après le prélèvement. Les molécules cibles utilisées pour estimer les consommations de drogues, sont, pour la plupart, assez stables dans les conditions des eaux d'égout (pH à environ 6,5 et températures comprises entre 15 et 20°C). En revanche, la stabilité après le prélèvement va dépendre des conditions de conservation et ces paramètres peuvent varier d'une étude à une autre. Il a été établi que la meilleure méthode de conservation était d'acidifier l'échantillon à pH 2 et de le conserver à -20°C ou de conserver les cartouches d'extraction à 4°C avant l'élution. En suivant ce protocole de conservation, l'incertitude calculée est inférieure à 10 % (Castiglioni *et al.*, 2013). Si ces mesures de conservation ne sont pas observées, l'incertitude augmente en rapport avec la stabilité des molécules. Pour des raisons logistiques, il n'a pas été possible de réaliser l'acidification et la congélation des prélèvements. De plus, l'acidification nous aurait obligés à effectuer les extractions dans des conditions acides or les études sur les rendements d'extraction ont montré que dans ces conditions, ils étaient moins élevés qu'en condition neutre pour certaines molécules. Nous avons tout de même demandé aux équipes techniques des STEPs de réfrigérer les prélèvements à 4°C (température à l'intérieur du préleveur) et organisé leur acheminement jusqu'au laboratoire dans des glacières équipées de blocs de glace en moins de 48 heures. De cette manière, la dégradation des molécules a pu être réduite au maximum. L'incertitude liée à la conservation des composés peut donc être estimée à 10 %.

IV.B.7.3. DOSAGE DES RÉSIDUS

L'incertitude sur le dosage des composés au sein de la matrice eau usée après une SPE a été estimée à 15 % à partir des taux de récupération des ajouts dosés (soit deux fois le taux de récupération moyen).

IV.B.7.4. DONNÉES DE MÉTABOLISME

L'incertitude sur les estimations des consommations obtenues à partir de l'équation 1 doit tenir compte des pourcentages d'absorption des drogues qui dépendent des voies d'administration, des pourcentages de métabolisation et d'élimination urinaire et enfin des

fréquences de consommation. D'autre part, l'incertitude peut également varier en fonction des molécules cibles choisies pour estimer les consommations car suivant les molécules, les variations interindividuelles sur les paramètres évoqués peuvent être plus ou moins importantes. Cette incertitude est très difficile à évaluer étant donné le nombre de variables et les écarts qui peuvent exister entre les individus. Castiglioni *et al.* (2013) ont établi cette incertitude à 26 % dans le cas de l'estimation de la consommation de cocaïne à partir des concentrations mesurées de BZE.

IV.B.7.5. ESTIMATION DE LA POPULATION

Comme cela a déjà été abordé, la taille de la population raccordée aux STEPs dans lesquelles sont effectués les prélèvements peut être estimée de plusieurs manières. Bien que le recensement soit la méthode la plus fiable, il est souvent difficile d'avoir des données actualisées et pas toujours évident de définir exactement les zones urbaines correspondant à une STEP. La méthode préconisée par Castiglioni *et al.* (2013) est d'utiliser les paramètres hydrochimiques mais ceux-ci varient en fonction des types d'eaux usées et de leurs proportions (ménagères, industrielles, hospitalières...). Cela implique de bien connaître le réseau et les rejets. L'incertitude sur l'estimation de la population varie entre 7 et 55 % selon Castiglioni *et al.* (2013) en fonction de la méthode d'estimation employée, des paramètres hydrochimiques utilisés et de la connaissance du réseau. Par exemple, sur la zone urbaine SO1 pour le prélèvement du 31 janvier 2012, l'estimation du nombre d'habitants raccordés à la STEP varie entre 504 499 (estimation à partir de la mesure du P_{tot}) et 739 721 habitants (estimation obtenue à partir de la mesure de N_{gl}). Pour notre étude, nous avons préféré utilisé les capacités nominales des STEPs qui sont évaluées en fonction de leurs capacités à traiter un certain volume d'eau et en considérant qu'une personne rejette en moyenne 150 litres d'eau par jour. Dans nos calculs, la capacité de la STEP est donc une constante pour l'ensemble des calculs effectués et correspond à la donnée du gestionnaire. Cependant, ce paramètre ne prend pas en compte les variations quotidiennes du nombre de personnes rejetant dans le réseau. Ainsi, lors d'événements festifs, comme pendant les prélèvements dans les zones urbaines NE1 et SE5, la population peut augmenter considérablement sans que cette augmentation soit prise en compte dans le calcul ce qui entraîne de fait une surévaluation des quantités consommées et du nombre de consommateurs.

IV.B.7.6. CALCUL DU NOMBRE DE DOSES CONSOMMÉES ET DU NOMBRE DE CONSOMMATEURS

Certains auteurs comme Zuccato *et al.* (2008b) ont tenté de déterminer le nombre de doses qui ont pu être consommées à partir des quantités consommées estimées en tenant compte de la quantité de drogue par prise et de son pourcentage de pureté. Il est également possible d'estimer un pourcentage de consommateurs en considérant le nombre moyen de prises par jour comme nous l'avons fait.

Cependant, les incertitudes, probablement élevées étant donné les grandes variations existant sur tous ces paramètres (pureté, quantité par doses, nombre de doses quotidiennes), s'additionnent et les estimations obtenues ne peuvent pas être considérées comme fiables.

IV.B.7.7. SYNTHÈSE DES INCERTITUDES

La figure 57 représente l'évolution des incertitudes au fur et à mesure de la progression dans la méthode et du mode d'expression du résultat choisi. La première étape, avec des résultats exprimés sous forme de flux de traceur journalier, est principalement entachée des erreurs d'échantillonnage et analytique. En considérant une incertitude sur l'échantillonnage de 5 %, une incertitude sur la stabilité des molécules de 10 % et une incertitude analytique de 15 %, et par application de la loi de propagation des incertitudes, l'incertitude sur le flux de traceur peut être estimée à 20 %.

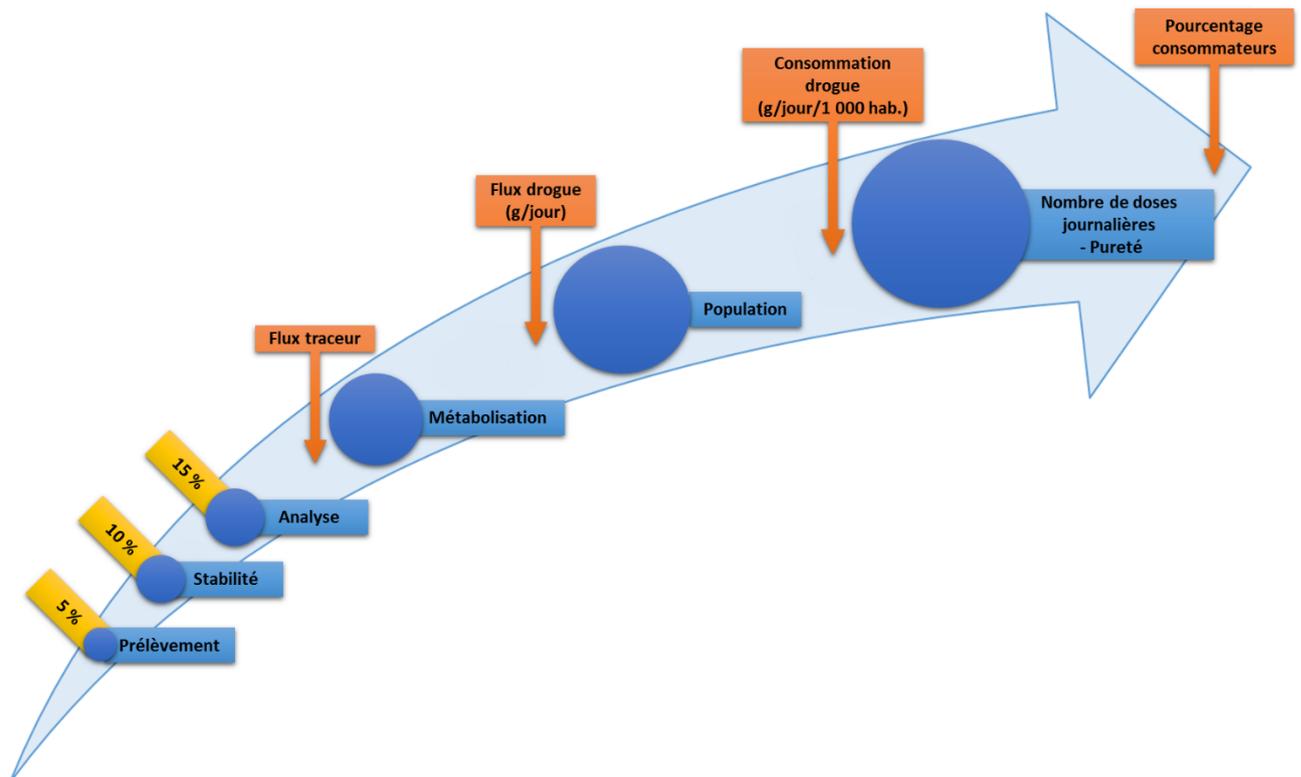


Figure 57 : Schématisation de l'évolution des incertitudes au fur et à mesure de la progression dans la méthode et du mode d'expression du résultat choisi.

Pour ce travail de doctorat, j'ai fait le choix d'estimer les quantités consommées et le nombre de consommateurs car ces paramètres sont plus explicites et se rapprochent des modes d'expression des données statistiques de l'EMCDDA ou de l'OFDT. De plus, un des objectifs de ce travail était de montrer l'intérêt de l'outil pour mettre en évidence des différences territoriales et temporelles : de ce fait, même si les résultats sont biaisés par un facteur d'incertitude, la comparaison des valeurs obtenues pour les différents sites demeure fiable.

IV.C. ÉVALUATION DES EFFETS BIOLOGIQUES

IV.C.1. ÉTUDE DE TOXICITÉ AIGÛE SUR BACTÉRIES : MICROTOX®

L'étude de toxicité aigüe a été réalisée sur 7 composés : COC, BZE, NOR, MOR, HER, AMP et MDMA. Les pourcentages d'inhibition de la luminescence, après l'exposition à chaque drogue à une concentration de 100 mg/L, ont été mesurés après 0, 5, 15 et 30 minutes. La figure 58 représente les rapports des mesures de luminescence entre la solution témoin non toxique (NaCl) et les solutions à tester.

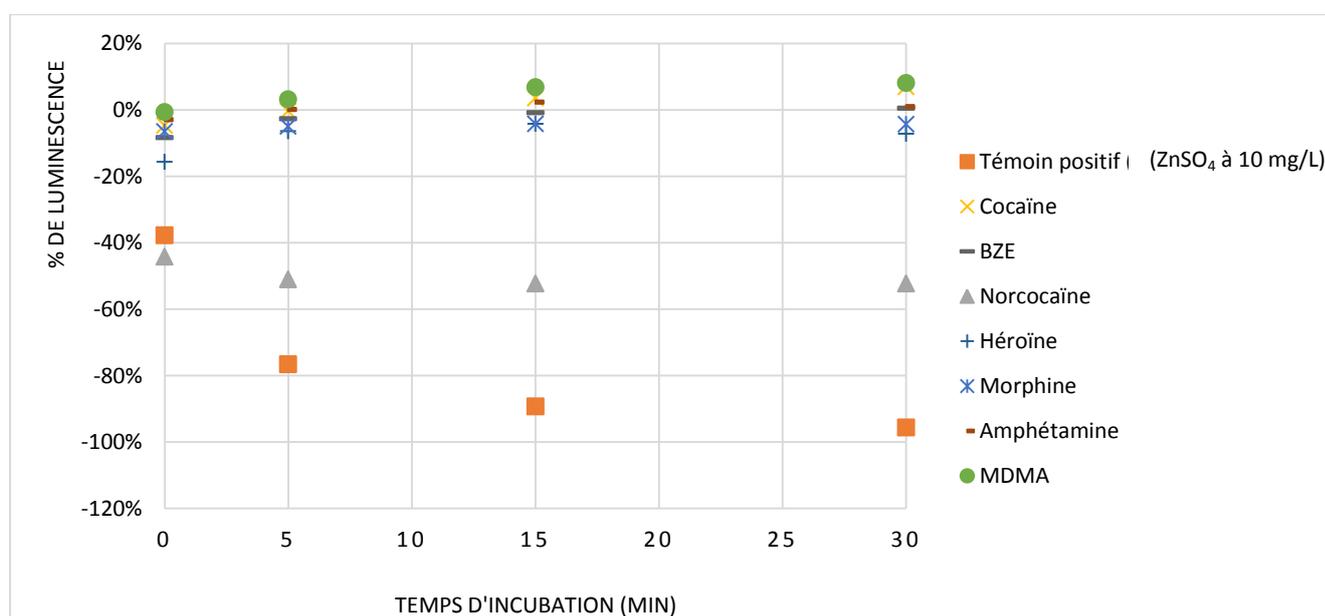


Figure 58 : Pourcentage de variation de la luminescence des bactéries *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177) mesurée après exposition à la drogue (100 mg/L) par rapport à la luminescence mesurée avant exposition.

Le témoin positif de ZnSO₄ à la concentration de 10 mg/L présente une décroissance de luminescence en rapport avec la toxicité du sulfate de zinc et conforme à celle précisée dans la norme (DIN EN ISO 11348-2), validant les conditions opératoires des essais. Ce toxique induit une diminution de 40 % du signal à t₀ évoluant à 100 % après 30 minutes.

La NOR induit également une diminution de la luminescence d'environ 40 % dès la mise en contact à t₀ et d'environ 50 % après 30 minutes soit une diminution supplémentaire du rapport de luminescence entre 5 et 10 %. Les résultats obtenus pour les autres drogues testées ne présentent pas de diminution de la luminescence par rapport au témoin négatif, y compris à t₀.

Afin d'évaluer la concentration minimale de NOR pour laquelle s'observe un effet, de nouveaux essais ont été réalisés avec des concentrations croissantes de NOR entre 0,1 et 100 mg/L. Les courbes des rapports de luminescence entre les solutions analysées et la solution témoin sont représentées sur la figure 59.

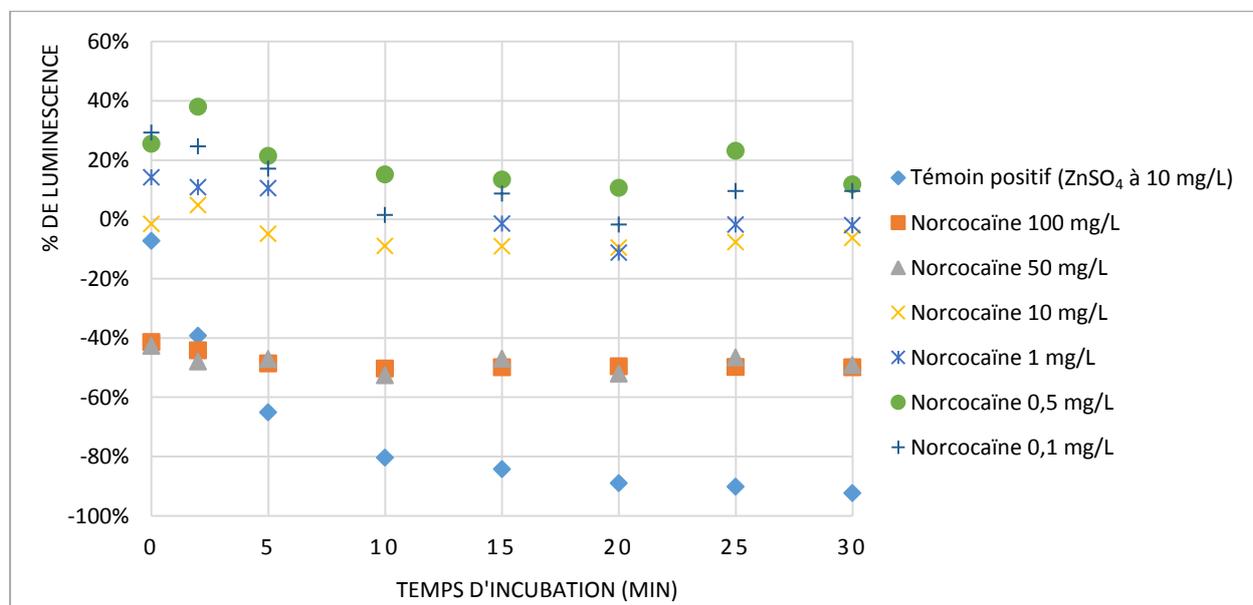


Figure 59 : Pourcentage de luminescence par rapport aux valeurs de luminescence du témoin négatif en fonction du temps et des concentrations de NOR dans le milieu en contact des bactéries *Vibrio fischeri* NRRL B-11177.

Comme dans les essais précédents, le témoin positif présente une décroissance de luminescence avec un rapport de luminescence de -100 % après 30 minutes mais le rapport de -40 % à t_0 n'est pas observé mais est atteint après 3 minutes. En revanche, la NOR, aux concentrations de 50 et 100 mg/L, présente de nouveau un rapport de -40 % à t_0 qui ne diminue pas aux temps suivants jusqu'à $t_{30 \text{ min}}$.

La NOR entraîne peut être, dès la mise en contact, la mort d'une certaine fraction des bactéries, probablement les plus vulnérables, sans agir sur l'ensemble de la population présente dans le milieu. Une autre explication serait que, dans les conditions de l'expérience, certaines bactéries se « réactiveraient » après le quart d'heure de délai entre la mise en solution et le début de l'expérience. Ainsi, la luminescence totale continuerait à augmenter après t_0 .

À l'exception de la NOR, aux concentrations de 50 et 100 mg/L, Les composés étudiés ne présentent pas de toxicité aigüe sur les bactéries *Vibrio fisheri*, suivant le test Microtox®, aux concentrations testées. Comme les concentrations environnementales sont au minimum 100 fois inférieures aux concentrations testées, ces composés ne semblent pas présenter de risque de toxicité aigüe dans l'environnement.

IV.C.2. ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ LOCOMOTRICE SUR UN MODÈLE POISSON : *Brachydanio rerio*

Les essais effectués sur les embryons de poisson zèbre avec la COC, la BZE, la MOR, la MTD et l'EDDP ont permis de déterminer si ces composés avaient, aux concentrations choisies, un impact sur l'activité locomotrice des poissons. Le parcours complet des embryons pendant une période donnée est enregistré (Figure 60) et permet de calculer les différences entre les distances parcourues avant et après l'exposition aux drogues pendant trois intervalles de temps : de 10 à 20 minutes, de 30 à 40 minutes et de 60 à 70 minutes.

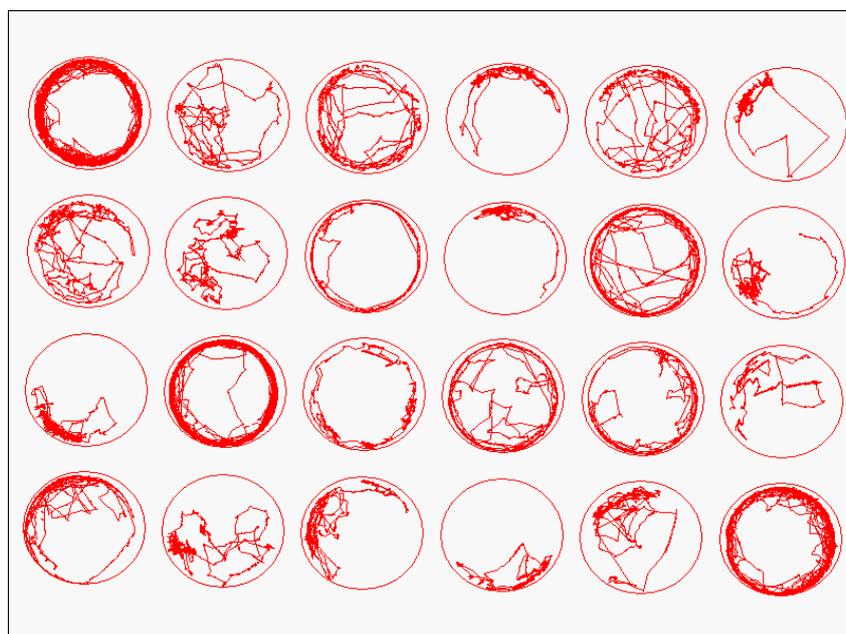
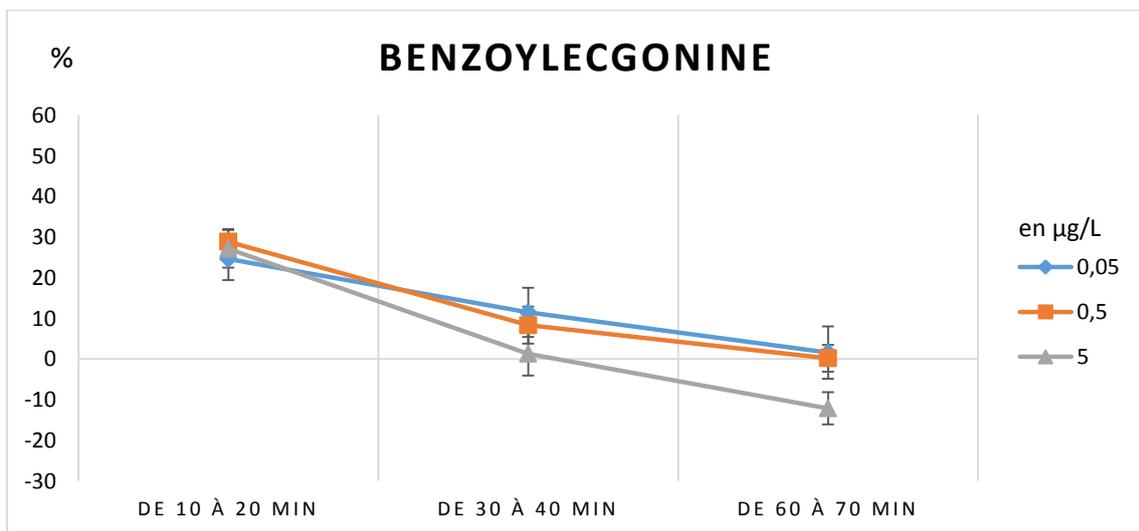
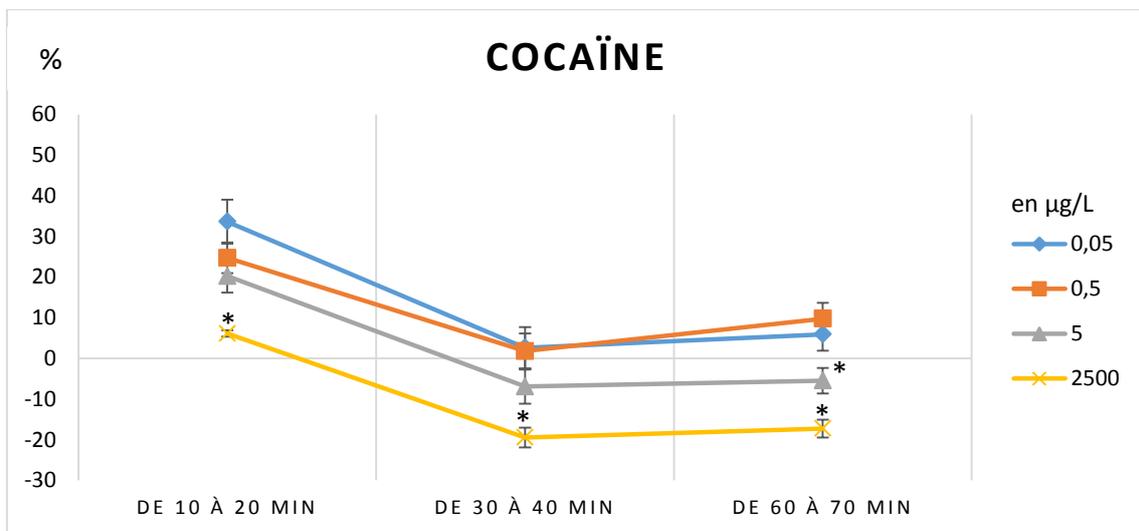


Figure 60 : Exemple de suivi du mouvement des embryons de poissons zèbre dans une plaque 24 puits (1 embryon par puits) grâce au dispositif de ZebraBox associé au logiciel ZebraLab.

Les pourcentages moyens de différence de mouvement pour les différentes drogues et en fonction des concentrations et des temps d'enregistrement sont représentés dans la

figure 61. L'absence de différence entre les distances parcourues avant et après l'exposition à la drogue correspond à un pourcentage nul.

Notons que les milieux dans lesquels les poissons ont été exposés aux drogues ont été analysés et les composés ont été mesurés aux concentrations attendues.



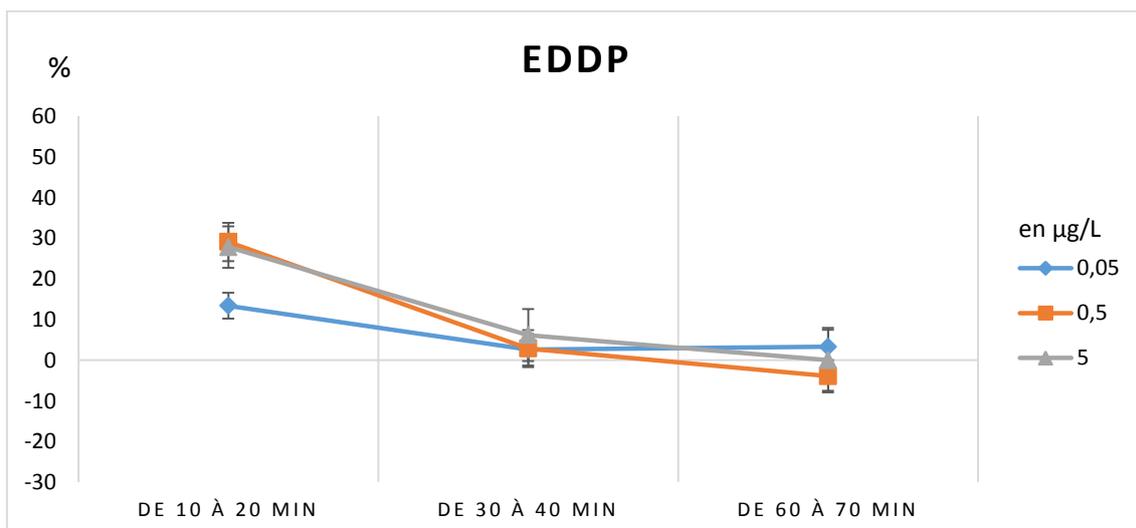
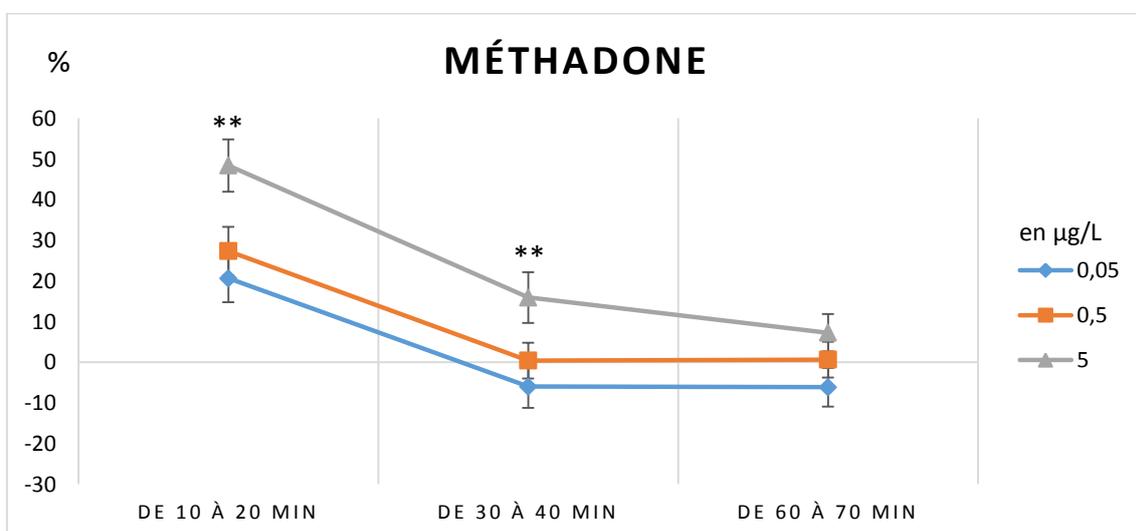
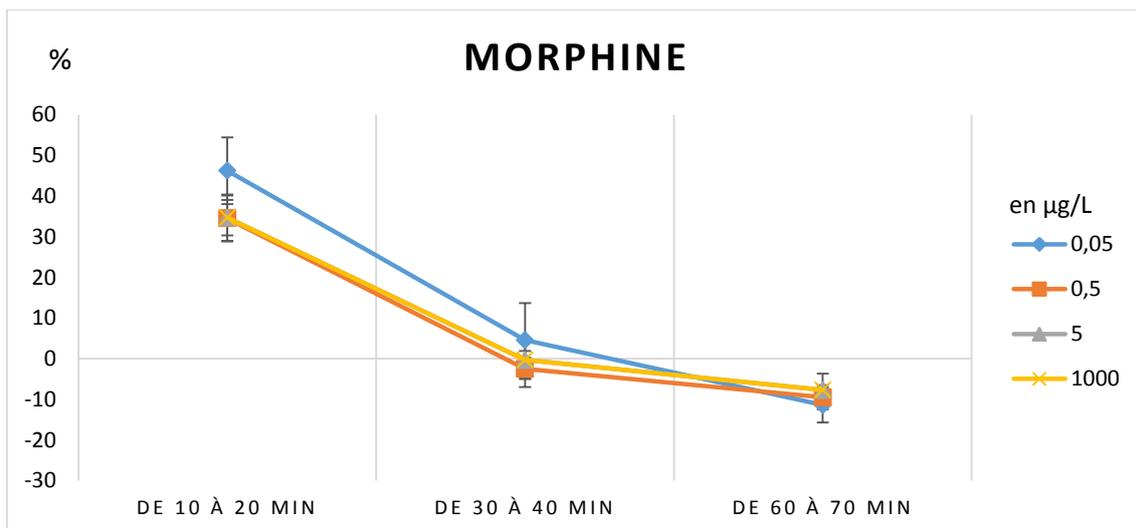


Figure 61 : Pourcentages de différence entre les distances parcourues dans les intervalles de temps de 10 à 20 minutes, de 30 à 40 et de 60 à 70 minutes après l'exposition à la drogue et les distances parcourues pendant 10 minutes avant l'exposition à la drogue.

*** ANOVA 2, F(3,756)=20,6 ; p<0,1 %, ** ANOVA 2, F(2,585)=13,9 ; p<0,1 %.**

La figure 61 illustre le fait que les activités locomotrices des larves de poissons après exposition aux drogues suivent la même tendance comportementale, c'est-à-dire une augmentation de l'activité après 10 minutes et un retour à une activité normale à 30 minutes suivie d'une faible diminution jusqu'à l'intervalle de temps 60-70 minutes. Cette augmentation de l'activité en début de test, qui apparaît quelles que soient les drogues et les concentrations testées, est très probablement due à l'excitation des poissons, provoquée par la manipulation, et ne peut pas être prise en compte pour évaluer l'effet des drogues sur l'activité locomotrice.

Des différences significatives sur le rapport de l'activité locomotrice avant et après l'exposition aux drogues ont été observées entre les concentrations pour les cas suivants :

- avec la COC, aux concentrations de 5 µg/L et 2,5 mg/L, (ANOVA 2, $F(3,756)=20,6$; $p<0,1\%$). Cela signifie que la COC induit une activité inhibitrice de l'activité locomotrice des larves à partir d'une concentration de 5 µg/L après 10 minutes d'exposition.

- avec la MTD, une hyperactivité est enregistrée pour une concentration de 5 µg/L, (ANOVA 2, $F(2,585)=13,9$; $p<0,1\%$). Cette hyperactivité semble diminuer pendant l'intervalle 60-70 minutes puisque les larves présentent un profil d'activité non significativement différent du profil enregistré avant leur exposition à la drogue.

Les drogues testées, aux concentrations testées, n'ont pour la plupart aucun effet sur l'activité locomotrice des larves de *Brachydanio rerio*.

Seules la COC et la MTD présentent des effets aux concentrations les plus élevées. À partir de 5 µg/L, la COC entraîne une diminution significative de l'activité locomotrice ce qui est en accord avec l'étude de Irons *et al.* (2010) qui présente une diminution de la locomotion chez le poisson zèbre pour des concentrations de COC allant de 0,5 à 50 mg/L. À l'inverse, la MTD à 5 µg/L entraîne une augmentation de l'activité locomotrice qui semble se réduire après 60 minutes.

Ces essais permettent d'observer que le risque l'impact des drogues et métabolites les plus présents dans l'environnement est négligeable sur l'activité locomotrice du poisson zèbre. Les concentrations pour lesquelles des effets ont été observés sont très supérieures à celles mesurées dans l'environnement.

Cependant, les tests ont été réalisés pour chaque produit, indépendamment les uns des autres or dans l'environnement tous les composés se retrouvent en mélange avec certains résidus de médicaments, de pesticides, de détergents, de plastifiants... et il n'est pas improbable que des composés puissent agir en synergie. De plus, nous n'avons pu évaluer qu'un seul paramètre du comportement du poisson zèbre, l'activité locomotrice, et il est intéressant de poursuivre ces recherches par des essais sur le développement, la mémoire ou l'addiction.

V - CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de doctorat avait plusieurs objectifs.

- la recherche des résidus de drogues illicites et de leurs métabolites dans les affluents et effluents de STEPs dans le but de mesurer les quantités de résidus de ces molécules rejetées par la consommation humaine dans l'environnement,
- d'évaluer l'efficacité d'élimination de ces molécules dans l'eau par les STEPs en fonction des technologies employées et de finalement mesurer les quantités rejetées dans l'environnement,
- d'estimer les quantités de drogues consommées dans les zones urbaines définies par la méthode de l' « épidémiologie des eaux usées »,
- de mener une première évaluation de l'impact que pouvait présenter ces résidus de drogues illicites sur la faune aquatique à des niveaux de concentrations environnementales.

Vingt-cinq stations d'épuration ont été sélectionnées et des échantillons ont été prélevés au moins deux fois dans chacune d'elles. En dépit du nombre réduit de prélèvements par station, des différences apparaissent entre les taux d'élimination des composés dans l'eau, suivant les types de traitements. Nos observations semblent mettre en évidence une meilleure efficacité des STEPs utilisant des boues activées avec des TRH élevés et des charges massiques faibles et une faible épuration de la MTD et de l'EDDP quelles que soient les technologies de traitement. Pour compléter la connaissance, il serait intéressant de réaliser des prélèvements au sein de STEPs utilisant d'autres types de traitement (lagune, filtres plantés de roseaux,...).

Malgré l'efficacité des STEPs à éliminer une grande partie des composés que nous avons recherchés, certains sont détectés dans les effluents et sont donc rejetés dans l'environnement. Les essais de toxicité aiguë sur un modèle bactérien et de comportement sur une espèce de poisson ont permis de montrer que les molécules les plus abondantes dans les rejets de STEPs n'étaient pas toxiques et ne perturbaient pas l'activité locomotrice aux concentrations environnementales. Cependant, cela ne concerne que les modèles employés lors des essais et d'autres études sur d'autres modèles pourraient permettre de confirmer et généraliser ces résultats. D'autre part, les essais n'ont été effectués que sur les composés isolés et il serait intéressant de réaliser de nouveaux essais en utilisant des mélanges de plusieurs drogues entre elles et/ou avec d'autres polluants organiques ou

minéraux sachant que l'étude écotoxique des mélange de contaminants est un sujet en plein développement et de grande importance.

Cette étude propose pour la première fois en France une démonstration de cartographie à l'échelle fine d'estimation des consommations de drogue illicites. Les sites d'échantillonnage ont été répartis dans tout le pays et un soin particulier a été pris pour sélectionner des villes de différentes tailles et pour tenter de mettre en évidence et comparer les tendances de la consommation de drogues entre régions françaises et entre la France et les autres pays. Des études à plus petite échelle, au niveau de quartiers, ont également été effectuées au sein de deux zones urbaines (Ile-de-France et Martinique) et des sites spécifiques ont été étudiés pour caractériser la consommation de drogues dans des secteurs d'activité définis. L'estimation des consommations de drogue dans les différentes zones urbaines du territoire français a mis en évidence des différences aussi bien quantitatives que qualitatives. Ainsi, il a été observé une plus grande consommation de drogues stimulantes dans le sud et une consommation plus importante d'opiacés et de produits de substitution dans le nord-est. Des taux de consommation plus élevés dans les grandes villes. Des disparités de consommation ont été observées entre différents quartiers d'une même ville.

Dans cette étude, les situations socio-économiques et/ou démographiques des quartiers ou zones urbaines et la consommation de drogue n'ont pas pu être corrélées en raison du caractère ponctuel des prélèvements par zone ou par site. Cependant, à partir des données récoltées, il a été possible d'établir une cartographie qui donne une image de la consommation de drogue dans certains sites urbains de France à un moment donné. L'accroissement du nombre de prélèvements par site et du nombre de sites permettrait à terme de mieux connaître les consommations de drogues illicites région par région dans le but de mieux comprendre les différentes pratiques de consommation et de suivre les évolutions de consommation et de la nature des produits consommés. Cette connaissance permettrait aux associations et organisations publiques d'adapter leurs campagnes de prévention et de réduction des risques liés à l'usage de drogues, de mieux cibler les lieux de leurs interventions, de mieux répartir leurs effectifs et leurs budgets d'action.

Bien qu'il existe certains facteurs d'incertitude (incertitude des dosages de traces dans des matrices chargées, stabilité des molécules, recensement des populations étudiées), nous

pouvons affirmer que le monitoring des eaux usées est un très bon outil pour estimer la consommation de produits stupéfiants, d'autant plus qu'il est rapide, totalement anonyme et non-intrusif. Il a pour objectif, comme le souhaite l'EMCDDA, d'être inclus au dispositif d'observation de la consommation de drogues en complémentarité des enquêtes habituelles de population et des statistiques qui ne permettent pas d'obtenir des données aussi localisées et de rendre compte aussi clairement et aussi rapidement des variations temporelles.

RÉFÉRENCES

- Andreottola G, Bonomo L, Poggiali L, Zaffaroni C. (1994). A methodology for the estimation of unit nutrient and organic loads from domestic and non-domestic sources. *Eur Water Pollut Contr.* ; 4:13–9.
- ANSM. (2009). Résultats enquête OSIAP.
- Bailly E. (2013). Étude de l'applicabilité des POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) au dosage des résidus de médicaments dans les effluents hospitaliers. Sous la direction de Yves Levi et de Laurence Karolak.
- Baker DR, Kasprzyk-Hordern B. (2011). Critical evaluation of methodology commonly used in sample collection, storage and preparation for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface water and wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* ; 1218(44):8036–59.
- Bartelt-Hunt SL, Snow DD, Damon T, Shockley J, Hoagland K. (2009). The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska. *Environ Pollut* ; 157(3):786–91.
- Baselt RC. (2004). *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. 3rd ed. Foster City, CA : Biomedical Publications.
- Bedford JA, Turner CE, Elsohly HN. (1982). Comparative lethality of coca and cocaine. *Pharmacol Biochem Behav* ; 17(5):1087-8.
- Bernhard M, Müller J, Knepper TP. (2006). Biodegradation of persistent polar pollutants in wastewater: comparison of an optimised lab-scale membrane bioreactor and activated sludge treatment. *Water Res* ; 40(18):3419–28.
- Berset J-D, Brenneisen R, Mathieu C. (2010). Analysis of illicit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography--electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *Chemosphere* ; 81(7):859–66.
- Bijlsma L, Sancho J V, Pitarch E, Ibáñez M, Hernández F. (2009). Simultaneous ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of amphetamine and amphetamine-like stimulants, cocaine and its metabolites, and a cannabis metabolite in surface water and urban wastewater. *J Chromatogr A* ; 1216(15):3078–89.
- Bijlsma L, Emke E, Hernández F, de Voogt P. (2012). Investigation of drugs of abuse and relevant metabolites in Dutch sewage water by liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *Chemosphere* ; 89(11):1399–406.
- Binelli a, Pedriali a, Riva C, Parolini M. (2012). Illicit drugs as new environmental pollutants: cytogenotoxic effects of cocaine on the biological model *Dreissena polymorpha*. *Chemosphere* ; 86(9):906–11.
- Bisceglia KJ, Roberts a L, Schantz MM, Lippa K. (2010). Quantification of drugs of abuse in municipal wastewater via SPE and direct injection liquid chromatography mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* ; 398(6):2701–12.
- Boleda MR, Galceran MT, Ventura F. (2007). Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* ; 1175(1):38–48.
- Boleda MR, Galceran MT, Ventura F. (2009). Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. *Water Res* ; 43(4):1126–36.

- Boleda MR, Galceran MT, Ventura F. (2011). Behavior of pharmaceuticals and drugs of abuse in a drinking water treatment plant (DWTP) using combined conventional and ultrafiltration and reverse osmosis (UF/RO) treatments. *Environ Pollut* ; 159(6):1584–91.
- Bones J, Thomas K V, Paull B. (2007). Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *J Environ Monit.* ; 9(7):701–7.
- Brethaud S, Li Q, Lockwood BL, Kobayashi K, Lin E, Guo S. (2007). A choice behavior for morphine reveals experience-dependent drug preference and underlying neural substrates in developing larval zebrafish. *Neuroscience* ; 146(3):1109–16.
- Budavari S. (1996). *The Merck Index - An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. p. 631. Whitehouse Station, NJ. Merck and Co.
- Castiglioni S, Zuccato E, Crisci E, Chiabrando C, Fanelli R, Bagnati R. (2006). Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chem* ; 78(24):8421–9.
- Castiglioni S, Zuccato E, Chiabrando C, Fanelli R, Bagnati R. (2008). Mass spectrometric analysis of illicit drugs in wastewater and surface water. *Mass Spectrom Rev.* 27:378–94.
- Castiglioni S, Bagnati R, Melis M, Panawennage D, Chiarelli P, Fanelli R, *et al.* (2011). Identification of cocaine and its metabolites in urban wastewater and comparison with the human excretion profile in urine. *Water Res.* ; 45(16):5141–50.
- Castiglioni S, Bijlsma L, Covaci A, Emke E, Hernández F, Reid M, *et al.* (2013) Evaluation of uncertainties associated with the determination of community drug use through the measurement of sewage drug biomarkers. *Environ Sci Technol* ; 47(3):1452–60.
- Chen J, Huang X, Lee D. (2008). Bisphenol A removal by a membrane bioreactor. *Process Biochem* ; 43(4):451–6.
- Chiaia AC, Banta-Green C, Field J. (2008). Eliminating solid phase extraction with large-volume injection LC/MS/MS: analysis of illicit and legal drugs and human urine indicators in U.S. wastewaters. *Environ Sci Technol* ; 42(23):8841–8.
- Cone EJ, Gorodetzky CW, Yousefnejad D, Buchwald WF, Johnson RE. (1984). The metabolism and excretion of buprenorphine in humans. *Drug Metab Dispos* ; 12(5):577–81.
- Cone EJ, Huestis MA. (1993). Relating blood concentrations of tetrahydrocannabinol and metabolites to pharmacologic effects and time of marijuana usage. *Therapeut. Drug Monit* ; 15:527–532.
- Cone EJ. (1998). Recent discoveries in pharmacokinetics of drugs of abuse. *Toxicol. Lett* ; 102-103:97–101.
- Darland T, Dowling JE. (2001). Behavioral screening for cocaine sensitivity in mutagenized zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* ; 98(20):11691–11696.
- Davis JM, Kopin IJ, Lemberger L, Axelrod J. (1971). Effects of urinary pH on amphetamine metabolism. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* ; 179:493–501.
- Davis WA, Hatoum HT, Waters LW. (1987). Toxicity of MDA considered for relevance to hazards of MDMA (ecstasy) abuse. *Alcohol Drug Res.* ; 7:123–134.
- Di Chiara G. (1995). The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug Alcohol Depend.* ; 38(2):95–137.
- De la Torre R., Farré M., Ortuño J., Mas M., Brenneisen R., Roset P.N., *et al.* (2000). Non-linear pharmacokinetics of MDMA ('ecstasy') in humans. *Br J Clin Pharmacol* 49(2):104–9.
- EMCDDA (2009), Annual report on the state of the drugs problem in Europe. Lisbon, Portugal.
- EMCDDA (2012), Annual report on the state of the drugs problem in Europe. Lisbon, Portugal.
- EMCDDA (2013), Annual report on the state of the drugs problem in Europe. Lisbon, Portugal.
- Ersche KD, Roiser JP, Robbins TW, Sahakian BJ. (2008). Chronic cocaine but not chronic amphetamine use is associated with perseverative responding in humans. *Psychopharmacology*. 24 Jan (e-pub ahead of print).
- Escohotado A. (1995). "Histoire élémentaire des drogues. Des origines à nos jours." Editions du Lézard.

- Faura CC, Collins SL, Moore RA, McQuay HJ. (1998). Systematic review of factors affecting the ratios of morphine and its major metabolites. *Pain*. 74(1):43-53.
- Ferrari A, Coccia CPR, Bertolini A, Sternieri E. (2004). Methadone--metabolism, pharmacokinetics and interactions. *Pharmacol Res* ; 50(6):551–9.
- Gheorghe A, van Nuijs A, Pecceu B, Bervoets L, Jorens PG, Blust R, *et al.* (2008). Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* ; 391(4):1309–19.
- Ghysel MH. (1998). Amphétamines. In: *Toxicologie et pharmacologie médicolégales*. p. 465-541. ed. Elsevier Option Bio. Paris.
- Gilman AG, Goodman LS, Gilman A. (1985). *The pharmacological basis of therapeutics*. 7th edition. p. 550. New York. Macmillan.
- Goldstein RA, C Des Lauries, Burda AM. (2009). Cocaine: history, social implications and toxicity - A review. *Disease Month* ; 55:6-38
- González-Mariño I, Quintana JB, Rodríguez I, Cela R. (2010). Determination of drugs of abuse in water by solid-phase extraction, derivatisation and gas chromatography-ion trap-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* ; 1217(11):1748–60.
- González-Mariño I, Quintana JB, Rodríguez I, González-Díez M, Cela R. (2012). Screening and selective quantification of illicit drugs in wastewater by mixed-mode solid-phase extraction and quadrupole-time-of-flight liquid chromatography-mass spectrometry ; 84(3):1708–17.
- Gossel TA, Bricker JD. (1994). *Principles of clinical toxicology*. 3rd edition. p. 421. New York, NY. Raven Press.
- Grimal JC. (2000). "Drogue: l'autre mondialisation." Edition Gallimard.
- Guilhermino L, Diamantino T, Silva MC, Soares AMVM; (2000). Acute toxicity test with *Daphnia magna*: An alternative to mammals in the prescreening of chemical toxicity? *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 46:357-362.
- Haddad LM. (1990). *Clinical management of Poisoning and drug overdose*, second edition, p. 731. Philadelphia, PA. WB Saunders.
- Hawks RL, Kopin IG, Colburn RW, Thoa NB. (1974). Norcocaine: a pharmacologically active metabolite of cocaine found in brain. *Life Sci*. 15:2189-2195.
- Huestis MA, Cone EJ. (1998). Urinary excretion half-life of 11-nor-9-carboxy-delta9-tetrahydrocannabinol in humans. *Therapeut. Drug Monit*. 20:570-576.
- Huestis MA, Cone EJ. (2007). Methamphetamine disposition in oral fluid, plasma and urine. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 1098:104-121.
- Hogenboom a C, van Leerdam J a, de Voogt P. (2009). Accurate mass screening and identification of emerging contaminants in environmental samples by liquid chromatography-hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry. *J Chromatogr A* ; 1216(3):510–9.
- Hostettmann K. (2002). "Tout savoir sur les plantes qui deviennent des drogues." Edition Favre.
- Hu JY, Chen X, Tao G, Kekred K. (2007). Fate of endocrine disrupting compounds in membrane bioreactor systems. *Environ Sci Technol* ; 41(11):4097–102.
- Huerta-Fontela M, Galceran MT, Ventura F. (2007). Ultrapformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters. *Anal Chem* ; 79(10):3821–9.
- Huerta-Fontela M, Galceran MT, Martin-Alonso J, Ventura F. (2008a). Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Sci Total Environ* ; 397(1-3):31–40.
- Huerta-Fontela M, Galceran MT, Ventura F. (2008b) Stimulatory drugs of abuse in surface waters and their removal in a conventional drinking water treatment plant. *Environ Sci Technol* ; 42(18):6809–16.
- Hummel D, Löffler D, Fink G, Ternes T. (2006). Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass Spectrometry. *Environ Sci Technol* ; 40(23):7321–8.
- INPES. (2010). *Baromètre santé 2010*.
- InVS. (2008). *Enquête Coquelicot 2004 - 2007*.

- Irons TD, MacPhail RC, Hunter DL, Padilla S. (2010). Acute neuroactive drug exposures alter locomotor activity in larval zebrafish. *Neurotoxicol Teratol* ; 32(1):84–90.
- Irvine RJ, Kostakis C, Felgate PD, Jaehne EJ, Chen C, White JM. (2011). Population drug use in Australia: a wastewater analysis. *Forensic Sci Int* ; 210(1-3):69–73.
- Johnson SW, North RA. (1992). Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. *J Neurosci*. 12(2):483-8.
- Jones-Lepp TL, Alvarez D a, Petty JD, Huckins JN. (2004). Polar organic chemical integrative sampling and liquid chromatography-electrospray/ion-trap mass spectrometry for assessing selected prescription and illicit drugs in treated sewage effluents. *Arch Environ Contam Toxicol* ; 47(4):427–39.
- Jurado A, Mastroianni N, Vázquez-Suñé E, Carrera J, Tubau I, Pujades E, *et al.* (2012). Drugs of abuse in urban groundwater. A case study: Barcelona. *Sci Total Environ* ; 424:280–8.
- Kalant H., Kalant Josseau O. (1975). Death in amphetamine users: causes and rates. *Can Med Assoc J*. 112(3):299-304.
- Karolak S, Nefau T, Bailly E, Solgadi A, Levi Y. (2010). Estimation of illicit drugs consumption by wastewater analysis in Paris area (France). *Forensic Sci Int* ; 200(1-3):153–60.
- Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ. (2008a). Multiresidue methods for the analysis of pharmaceuticals, personal care products and illicit drugs in surface water and wastewater by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* ; 391(4):1293–308.
- Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ. (2008b). The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res* ; 42(13):3498–518.
- Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ. (2009a). Illicit drugs and pharmaceuticals in the environment--forensic applications of environmental data, Part 2: Pharmaceuticals as chemical markers of faecal water contamination. *Environ Pollut* ; 157(6):1778–86.
- Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ. (2009b). Illicit drugs and pharmaceuticals in the environment--forensic applications of environmental data. Part 1: Estimation of the usage of drugs in local communities. *Environ Pollut* ; 157(6):1773–7.
- Kasprzyk-Hordern B, Kondakal VVR, Baker DR. (2010). Enantiomeric analysis of drugs of abuse in wastewater by chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* ; 1217(27):4575–86.
- Kasprzyk-Hordern B, Baker DR. (2012a). Enantiomeric profiling of chiral drugs in wastewater and receiving waters. *Environ Sci Technol* ; 46(3):1681–91.
- Kasprzyk-Hordern B, Baker DR. (2012b). Estimation of community-wide drugs use via stereoselective profiling of sewage. *Sci Total Environ* ; 423:142–50.
- Kim I, Oyler JM, Moolchan ET, Cone EJ, Huestis MA. (2004). Urinary pharmacokinetics of methamphetamine and its metabolite, amphetamine following controlled oral administration to humans. *Ther Drug Monit* ; 26(6):664-72.
- Kraemer T, Maurer HH. (2002). Toxicokinetics of amphetamines: metabolism and toxicokinetic. Data of designer drugs, amphetamine, methamphetamine and their N-alkyl derivatives. *Therapeut. Drug Monit.* ; 24:277-289.
- Lai FY, Ort C, Gartner C, Carter S, Prichard J, Kirkbride P, *et al.* (2011). Refining the estimation of illicit drug consumptions from wastewater analysis: Co-analysis of prescription pharmaceuticals and uncertainty assessment. *Water Res* ; 45(15):4437–48.
- Lilius H, Hastbacka T, Isomaa B. (1995). A comparison of the toxicity of 30 reference chemicals to *Daphnia magna* and *Daphnia pulex*. *Environ. Toxicol. Chem.* ; 14:2085-2088.
- Loganathan B, Phillips M, Mowery H, Jones-Lepp TL. (2009). Contamination profiles and mass loadings of macrolide antibiotics and illicit drugs from a small urban wastewater treatment plant. *Chemosphere* ; 75(1):70–7.
- López-Patiño M a, Yu L, Cabral H, Zhdanova IV. (2008). Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in zebrafish. *Physiol Behav* ; 93(1-2):160–71.

- Mari F, Politi L, Biggeri A, Accetta G, Trignano C, Di Padua M, *et al.* (2009). Cocaine and heroin in waste water plants: a 1-year study in the city of Florence, Italy. *Forensic Sci Int* ; 189(1-3):88–92.
- Mathieu C, Rieckermann J, Berset J-D, Schürch S, Brenneisen R. (2011). Electronic supplementary material: Assessment of total uncertainty in cocaine and benzoylecgonine wastewater load measurements. *Water Res.* ; 45(20):6650–60.
- Matthes HW, Maldonado R, Simonin F, Valverde O, *et al.* (1996). Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene. *Nature* ; 383(6603):819-23.
- Matthews RT, German DC. (1984). Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by morphine. *Neuroscience* ; 11(3):617-25.
- McAleer SD, Mills RJ, Polack T, Hussain T, *et al.* (2003). Pharmacokinetics of high-dose buprenorphine following single administration of sublingual tablet formulations in opioid naïve healthy male volunteers under a naltrexone block. *Drug Alcohol Depend.* ; 72(1):75-83.
- Metcalfe C, Tindale K, Li H, Rodayan A, Yargeau V. (2010). Illicit drugs in Canadian municipal wastewater and estimates of community drug use. *Environ Pollut* ; 158(10):3179–85.
- Morrow D, Corrigan D, Waldren S. (2001). Development of bioassay for phytochemicals using *Daphnia pulex*. *Planta Med.* ; 67(9):843-846.
- Nieto MM, Wilson J, Cupo A, Roques BP, Noble F. (2002). Chronic morphine treatment modulates the extracellular levels of endogenous enkephalins in rat brain structures involved in opiate dependence: a microdialysis study. *J Neurosci.* ; 22(3):1034-41.
- Nilsson MI, Meresaar U, Anggård E. (1982). Clinical pharmacokinetics of methadone. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl.* ; 74:66-9.
- OFDT. (2004). Tendances récentes et nouvelles drogues (TREND). Juin 2004
- OFDT. (2012). Phénomènes marquants et émergents en matière de drogues illicites (2010-2011). Tendances n°78.
- OFDT. (2012). Rapport national 2012 (données 2011) à l’OEDT.
- OFDT. (2013). Rapport national 2013 (données 2012) à l’OEDT.
- Ohtani M, Kotaki H, Uchino K, Sawada Y, Iga T. (1994). Pharmacokinetic analysis of enterohepatic circulation of buprenorphine and its active metabolite, norbuprenorphine, in rats. *Drug Metab Dispos.* ; 22(1):2-7.
- Ort C, Lawrence MG, Rieckermann J, Joss A. (2010). Sampling for pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and illicit drugs in wastewater systems: are your conclusions valid? A critical review. *Environ Sci Technol* ; 44(16):6024–35.
- Oyler JM, Cone JE, Joseph Jr RE, Moolchan ET, Huestis MA. (2002). Duration of detectable methamphetamine and amphetamine excretion in urine after controlled oral administration of methamphetamine to humans. *Clin Chem.* ; 48:1703-1714.
- Pedrouzo M, Borrull F, Pocurull E, Marcé RM. (2011). Drugs of abuse and their metabolites in waste and surface waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Sep Sci* ; 34(10):1091–101.
- Postigo C, Lopez de Alda MJ, Barceló D. (2008). Analysis of drugs of abuse and their human metabolites in water by LC-MS. *TrAC Trends Anal Chem* ; 27(11):1053–69.
- Postigo C., Lopez de Alda MJ. (2008). Fully Automated Determination in the Low Nanogram per Liter Level of Different Classes of Drugs of Abuse in Sewage Water by On-Line Chromatography-Electrospray-Tandem Mass Spectrometry. *Anal Chem.* 2008;80(9):3123–34.
- Postigo C, Lopez de Alda MJ, Barceló D. (2010). Drugs of abuse and their metabolites in the Ebro River basin: occurrence in sewage and surface water, sewage treatment plants removal efficiency, and collective drug usage estimation. *Environ Int* ; 36(1):75–84.
- Postigo C, Lopez de Alda MJ, Barceló D. (2011). Evaluation of drugs of abuse use and trends in a prison through wastewater analysis. *Environ Int* ; 37(1):49–55.

- Projean D, Morin PE, Tu TM, Ducharme J. (2003). Identification of CYP3A4 and CYP2C8 as the major cytochrome P450 s responsible for morphine N-demethylation in human liver microsomes. *Xenobiotica* ; 33(8):841-54.
- Richard D., Senon J.-L. (1999). "Dictionnaire des drogues, des toxicomanies et des dépendances." Larousse.
- Rook EJ, Huitema AD, van den Brink W, van Ree JM, Beijnen JH. (2006). Pharmacokinetics and pharmacokinetic variability of heroin and its metabolites: review of the literature. *Curr Clin Pharmacol.* ; 1(1):109-18. Review.
- Salmon AY, Goren Z, Avissar Y, Soreq H. (1999). Human erythrocyte but not brain acetylcholinesterase hydrolyses heroin to morphine. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* ; 26(8):596-600.
- Shima N, Kamata HT, Katagi M, Tsuchihashi H. (2006). Urinary excretion of the main metabolites of methamphetamine, including p-hydroxymethamphetamine-sulfate and p-hydroxymethamphetamine-glucuronide, in humans and rats. *Xenobiotica* ; 36(2-3):259-67.
- Shulgin A., Shulgin Ann. (1991). *PIHKAL: A Chemical Love Story*. Transform Press.
- Stead AH, Moffat AC. (1985). A collection of therapeutic, toxic and fatal blood drug concentrations in man. *Human Toxicol.* ; 3:437-64.
- Stein P. (1986). "Tout savoir sur la cocaïne". Editions Favre.
- Terzic S, Senta I, Ahel M. (2010). Illicit drugs in wastewater of the city of Zagreb (Croatia)--estimation of drug abuse in a transition country. *Environ Pollut* ; 158(8):2686–93.
- Thomas RJ. (1975). The toxicologic and teratologic effects of delta9-tetrahydrocannabinol in the zebrafish embryo. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* ; 32(1):184-190.
- Thomas K V, Bijlsma L, Castiglioni S, Covaci A, Emke E, Grabic R, *et al.* (2012). Comparing illicit drug use in 19 European cities through sewage analysis. *Sci Total Environ* ; 432:432–9.
- Tracqui A, Tournoud C, Flesch F, Kopferschmitt J, Kintz P *et al.* (1998). Acute poisoning during substitution therapy based on high-dosage buprenorphine. 29 clinical cases--20 fatal cases. *Presse Med.* ; 27(12):557-61.
- UNODC (2010), *Rapport mondial sur les drogues*.
- UNODC (2012), *Rapport mondial sur les drogues*.
- Valcárcel Y, Martínez F, González-Alonso S, Segura Y, Catalá M, Molina R, *et al.* (2012). Drugs of abuse in surface and tap waters of the Tagus River basin: heterogeneous photo-Fenton process is effective in their degradation. *Environ Int* ; 41:35–43.
- Van Nuijs A, Pecceu B, Theunis L, Dubois N, Charlier C, Jorens PG, *et al.* (2009a). Can cocaine use be evaluated through analysis of wastewater? A nation-wide approach conducted in Belgium. *Addiction* ; 104(5):734–41.
- Van Nuijs A, Pecceu B, Theunis L, Dubois N, Charlier C, Jorens PG, *et al.* (2009b). Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. *Environ Pollut* ; 157(1):123–9.
- Van Nuijs A, Pecceu B, Theunis L, Dubois N, Charlier C, Jorens PG, *et al.* (2009c). Spatial and temporal variations in the occurrence of cocaine and benzoylecgonine in waste- and surface water from Belgium and removal during wastewater treatment. *Water Res* ; 43(5):1341–9.
- Van Nuijs A, Tarcomnicu I, Bervoets L, Blust R, Jorens PG, Neels H, *et al.* (2009d). Analysis of drugs of abuse in wastewater by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* ; 395(3):819–28.
- Van Nuijs A, Castiglioni S, Tarcomnicu I, Postigo C, Lopez de Alda M, Neels H, *et al.* (2011a). Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis: a critical review. *Sci Total Environ* ; 409(19):3564–77.
- Van Nuijs A, Mougél J-F, Tarcomnicu I, Bervoets L, Blust R, Jorens PG, *et al.* (2011b). A one year investigation of the occurrence of illicit drugs in wastewater from. *J Environ Monit.* ; 13:1008–16.

- Van Nuijs A, Mougel J-F, Tarcomnicu I, Bervoets L, Blust R, Jorens PG, *et al.* (2011c). Sewage epidemiology--a real-time approach to estimate the consumption of illicit drugs in Brussels, Belgium. *Environ Int* ; 37(3):612–21.
- Van Nuijs A, Abdellati K, Bervoets L, Blust R, Jorens PG, Neels H, *et al.* (2012). The stability of illicit drugs and metabolites in wastewater, an important issue for sewage epidemiology? *J Hazard Mater* ; 239-240:19–23.
- Verstraete AG. (2004). Detection times of drugs of abuse in blood, urine and oral fluid. *Drug Monit.* ; 26:200-205.
- Vieno N, Tuhkanen T, Kronberg L. (2007). Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland. *Water Res* ; 41(5):1001–12.
- Weil A., Rosen W. (1983). "From chocolate to morphine. Everything you need to know about mind-altering drugs." Edition Houghton Mifflin Company, New York.
- Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, Calamari D, Bagnati R, Schiarea S, *et al.* (2005). Cocaine in surface waters : a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ Heal.* ; 7:1–7.
- Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R. (2008). Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environ Health Perspect* ; 116(8):1027–32.
- Zuccato E, Castiglioni S, Bagnati R, Chiabrando C, Grassi P, Fanelli R. (2008). Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Res* ; 42(4-5):961–8.
- Zuccato E, Castiglioni S. (2009). Illicit drugs in the environment. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* ; 367(1904):3965–78.
- Zuccato E, Castiglioni S, Tettamanti M, Olandese R, Bagnati R, Melis M, *et al.* (2011). Changes in illicit drug consumption patterns in 2009 detected by wastewater analysis. *Drug Alcohol Depend* ; 118(2-3):464–9.

ANNEXES

Annexe I : Concentrations de drogues illicites et leurs métabolites dans les affluents de STEPs publiées dans la littérature.

Références	Lieu	Molécules (concentrations en ng/L)															
		COC	BZE	EME	NOR	CET	AMP	MET	MDMA	MDA	MDEA	6-MAM	MOR	THC	THC-COOH	MTD	EDDP
- ITALIE -																	
Zuccato <i>et al.</i> 2005	Cagliari	83	640														
	Latina	76	420														
	Cuneo	120	750														
	Varese	42	390														
Castiglioni <i>et al.</i> 2006	Milan	421,4	1 132,1		13,7	11,5	14,7	16,2	14,2	4,6	1,5	11,8	83,3		62,7	11,6	19,8
Mari <i>et al.</i> 2009	Florence	50	127										12,3				
- SUISSE -																	
Castiglioni <i>et al.</i> 2006	Lugano	218,4	547,4		4,3	5,9			13,6	<LQ		10,4	204,4		91,2	49,7	91,3
Berset <i>et al.</i> 2010	5 villes	248	604						26			38	1 007			112	315
- ESPAGNE -																	
Huerta-Fontela <i>et al.</i> 2007	Catalogne	79	810				15		49		28						
Huerta-Fontela <i>et al.</i> 2008	42 villes NE	4>4 700	9>7 500				3>688	3>277	2>598	3>266	6>114						
Postigo <i>et al.</i> 2008	Côte est	592	2 149			78,3	25,9	8,2	135				91,8				
Postigo <i>et al.</i> 2010	7 STEPs	384	1 310			18,1	148	4,6	20,4			2,7	94,4	48,4	18,0		
Postigo <i>et al.</i> 2011	Prison	128	556				97	87	61	1 690		63	1 346			4 704	9 262
Bijlsma <i>et al.</i> 2009	Castellon	608	4 750			150	1 400		15								
Boleda <i>et al.</i> 2007	STEPs NE												54,1	63,8		12,7	19,7
Boleda <i>et al.</i> 2009	Catalogne												25,5 >278	11,3 >127	23,5 >402	3,4 >1 531	3,3 >1 029
Gonzalez-Marino <i>et al.</i> 2010	5 STEPs NO	163	907										137				

Références	Lieu	Molécules (concentrations en ng/L)															
		COC	BZE	EME	NOR	CET	AMP	MET	MDMA	MDA	MDEA	6-MAM	MOR	THC	THC-COOH	MTD	EDDP
- ESPAGNE -																	
Gonzalez-Marino <i>et al.</i> 2012	STEPs NO	179	447				64		26				21		126	29	40
Bueno <i>et al.</i> 2011	Almeria	474	2541				496	614		266			152			45	138
- BELGIQUE -																	
Gheorghe <i>et al.</i> 2008	STEPs Flandres	205	753														
van Nuijs <i>et al.</i> 2009	11 STEP s	126	375	89			206	3,5	34,5							19,1	36,8
van Nuijs <i>et al.</i> 2009	30 STEP s	189 346	485 831														
van Nuijs <i>et al.</i> 2009	37 STEP s	153	510														
van Nuijs <i>et al.</i> 2009	41 STEP s	218	603														
van Nuijs <i>et al.</i> 2011	Bruxelles	329	645				59	3,3	10,5			13				54	109
- ROYAUME-UNI -																	
Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2008	Cilfynydd	526	1 229				5 236										
Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2009	Cilfynydd Coslech	521 207	992 1 082				4 310 1 196										
Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2010	4 STEP s						85,9		6,4								
- ALLEMAGNE -																	
Hummel <i>et al.</i> 2006	12 STEP s		78										310				
- IRLANDE -																	
Bones <i>et al.</i> 2007	4 villes	489	290														

Références	Lieu	Molécules (concentrations en ng/L)															
		COC	BZE	EME	NOR	CET	AMP	MET	MDMA	MDA	MDEA	6-MAM	MOR	THC	THC-COOH	MTD	EDDP
- FRANCE -																	
Karolak <i>et al.</i> 2009	4 STEPs Paris	4,8>282	64>849														
- CROATIE -																	
Terzic <i>et al.</i> 2010	Zagreb	52	178				7,3		3,4			12	287			55	136
- ETATS-UNIS -																	
Chiaia <i>et al.</i> 2008	STEPs divers	235	1 131		19,5		206	800	23,2	5						33,7	
- CANADA -																	
Metcalfe <i>et al.</i> 2010	3 villes	209>823	287>2 624				3>25	7>65	9>35								
- AUSTRALIE -																	
Irvine <i>et al.</i> 2011	ville du sud		52					587	187								

Annexe II : Concentrations de drogues illicites et leurs métabolites dans les effluents de STEPs publiées dans la littérature.

Références	Lieu	Molécules (concentrations en ng/L)															
		COC	BZE	EME	NOR	CET	AMP	MET	MDMA	MDA	MDEA	6-MAM	MOR	THC	THC-COOH	MTD	EDDP
- ITALIE -																	
Castiglioni <i>et al.</i> 2006	Milan	<LQ	<LQ		<LQ	<LQ	<LQ	3,5	4,4	1,1	<LQ	<LQ	<LQ		<LQ	9,1	22,6
- SUISSE -																	
Castiglioni <i>et al.</i> 2006	Lugano	10,7	100,3		0,7	0,2			5,1	0,9		<LQ	55,4		7,2	36,2	72,1
Berset <i>et al.</i> 2010	5 villes	<LQ	96						<LQ			<LQ	929			65	294
- ESPAGNE -																	
Huerta-Fontela <i>et al.</i> 2007	Catalogne	17	216				<LQ		41		<LQ						
Huerta-Fontela <i>et al.</i> 2008	42 villes NE	1>100	1>1 500				4>210	3>90	2>267	1>200	6>114						
Postigo <i>et al.</i> 2008	Côte est	57	155			3,6	1,8	3,1	132				20,5				
Postigo <i>et al.</i> 2010	7 STEPs	16,8	115			1,5	25,7	1,3	12,7				46,4	<LQ	7,9		
Bijlsma <i>et al.</i> 2009	Castellon	540	3 425			80	210		11								
Boleda <i>et al.</i> 2007	STEPs NE												51	39,2		11,4	22,4
Boleda <i>et al.</i> 2009	Catalogne												12 >81,1	4,2	14,8 >71,7	3,4 >732	2,7 >1150
Gonzalez-Marino <i>et al.</i> 2010	5 STEPs NO	52	407										102				
Gonzalez-Marino <i>et al.</i> 2012	STEPs NO	26,5	189												32,2	17,6	27,5
Bueno <i>et al.</i> 2011	Almeria	171	1 010				225						73			18	64

Références	Lieu	Molécules (concentrations en ng/L)														
		COC	BZE	EME	NOR	CET	AMP	MET	MDMA	MDA	MDEA	6-MAM	MOR	THC	THC-COOH	MTD
- ROYAUME-UNI -																
Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2008	Cilfynydd	149	1 597				127									
Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2009	Cilfynydd Coslech	128 <LQ	1 091 13				201 2									
Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2010	4 STEPs								6,7							
- ALLEMAGNE -																
Hummel <i>et al.</i> 2006	12 STEPs		49										40			
- IRLANDE -																
Bones <i>et al.</i> 2007	4 villes	93,3	26,5													
- FRANCE -																
Karolak <i>et al.</i> 2009	4 STEPs Paris	1,2>5,3	7,9>149													
- CROATIE -																
Terzic <i>et al.</i> 2010	Zagreb	25	79				1,0		2,0			1,8	53		36	124
- CANADA -																
Metcalf <i>et al.</i> 2010	3 villes	<LQ >530	62>775				<LD >14	<LD >95	<LD >32							

Annexe III : Concentrations de drogues illicites et leurs métabolites dans les eaux de surface publiées dans la littérature.

Références	Lieu	Molécules (concentrations en ng/L)													
		COC	BZE	EME	NOR	CET	AMP	MET	MDMA	MDA	MOR	THC	THC-COOH	MTD	EDDP
- ITALIE -															
Zuccato <i>et al.</i> 2005		1,2	25												
Zuccato <i>et al.</i> 2008	Po	0,5	3,7						0,2				0,3	0,2	1
	Olona	44	183		3,6	1,3		1,7	1,7		38		8,6	18	
	Lambro	15	50		0,4	0,2		2,1	1,1		3,5		3,7	3,4	9,9
	Arno	1,7	21,8		0,1	0,1			1,0	1,2	3		0,5	4,8	4,3
- SUISSE -															
Berset <i>et al.</i> 2010	22 rivières et ruisseaux	0,4	1,6								2,2			1,7	4,9
- ESPAGNE -															
Huerta-Fontela <i>et al.</i> 2007	Llobregat	6	77						3						
Huerta-Fontela <i>et al.</i> 2008	Llobregat	23,8	64				20	1,3	14,1	9,2					
Postigo <i>et al.</i> 2010	Ebro 15 points	1,4	11,4			0,3	6,8	0,4	1,0		9,8		5,5		
Boleda <i>et al.</i> 2007	Llobrega source eau potable										5,5		24	6,4	12,3
Boleda <i>et al.</i> 2009	Llobregat										4,1			2,4	6,0
Gonzalez-Marino <i>et al.</i> 2010	Sar	30	316								89				
Valcarcel <i>et al.</i> 2012	Tagus		29,2					3,2	2,1		1,7		126	2,6	7,6
Bueno <i>et al.</i> 2011	Henares	44	142				309				16			7	35
- BELGIQUE -															
Gheorghe <i>et al.</i> 2008		15,3	96												
van Nuijs <i>et al.</i> 2009	rivières et ruisseaux	22,4	84												
van Nuijs <i>et al.</i>	28 rivières et	11,9	48,5												

2009	ruisseaux														
- ROYAUME-UNI -															
Zuccato <i>et al.</i> 2008	Tamise	4,7	11,2						3,6	3	15,8			1	
Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2008	Taff	2	85				4								
Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2009	Taff Ely	2	55 12				5 1								
- ALLEMAGNE -															
Hummel <i>et al.</i> 2006	Rhine, Moselle, Lahn		3								10				
- IRLANDE -															
Bones <i>et al.</i> 2007	Broadmeadow, Liffey	29													
- ETATS-UNIS -															
Bartelt-Hunt <i>et al.</i> 2009	Loup, Big Blue, Wood River, Salt creek							16,6							

Annexe IV : Estimation des consommations exprimées sous forme de quantités consommées mg/jour/1 000 hab. et en g/jour ou sous forme de flux en mg/jour/1 000 hab. et en g/jour.

Pays	Références	Lieu / Particularité	Quantités mesurées ou consommées										
			COC	BZE	AMP	MET	MDMA	HER	MOR	THC	THC-COOH	MTD	EDDP
CONSOMMATION (mg/jour/1000 hab.)													
Italie	Zuccato <i>et al.</i> 2005	Cagliari	470										
		Latina	210										
		Cuneo	730										
		Varese	320										
Australie	Lai <i>et al.</i> 2011	12 jours	98,8 à 521		123 à 360	110 à 345	44,7 à 343			364 à 1 410		34,8 à 60,8	
Etats-Unis	Bones <i>et al.</i> 2007	4 villes	180 à 1440										
Belgique	van Nuijs <i>et al.</i> 2009	41 STEPs	40 à 1 830										
	van Nuijs <i>et al.</i> 2009	1 STEP 19 jours	284 à 800										
	van Nuijs <i>et al.</i> 2011	n = 235	519		76		13	415					
France	Karolak <i>et al.</i> 2009	Paris et banlieue 4 STEPs	110 à 973				2 à 16						
Europe	Thomas <i>et al.</i> 2012	Anvers (BE)	2 000										
		Bruxelles (BE)	500										
		Budweis (CS)	-										
		Barcelone (ES)	1 250										
		Castellon (ES)	1 000										
		Saint-Jacques de Compostelle (ES)	600										
		Valence (ES)	1 300										
		Helsinki (FI)	-										
		Turku (FI)	-										
		Paris (FR)	600										
		Londres (GB)	1 000										
		Zagreb (HR)	200										
		Milan (IT)	700										
		Amsterdam (NL)	1 700										
		Eindhoven (NL)	1 250										
		Utrecht (NL)	800										
Stockholm (SE)	200												
Oslo (NO)	200												

Pays	Références	Lieu / Particularité	Quantités mesurées ou consommées										
			COC	BZE	AMP	MET	MDMA	HER	MOR	THC	THC-COOH	MTD	EDDP
CONSOMMATION (g/jour)													
Italie (Milan)	Zuccato <i>et al.</i> 2011	2005	1 250			10		100			4 000		
		2006	1 100			15		75			3 500		
		2008	1 150			30		80			3 000		
		mars 2009	600			45		25			2 800		
		septembre 2009	600			65		35			3 800		
Espagne	Postigo <i>et al.</i> 2009	7 STEPs	1700		260	0,6	20	20		650			
Suisse	Mathieu <i>et al.</i> 2011	*Evénement festif	15 à 272*	42 à 468*									
FLUX (mg/jour/1000 hab.)													
Italie	Zuccato <i>et al.</i> 2008	Milan	157	390	2,7	4,5	4,2		32		20		
		Lugano	109	267	ND	ND	7,3		102		43		
Espagne	Boleda <i>et al.</i> 2009 Huerta-Fontela <i>et al.</i> 2008	Catalogne 1 semaine							53,5 ± 13,5		22,8 ± 0,6	8,3 ± 2,1	19,8 ± 5,4
		Nord-Est 42 STEPs	0,1 à 1 464	0,1 à 2 322	0,1 à 427	0,1 à 78	0,3 à 192						
Europe	Thomas <i>et al.</i> 2012	Anvers (BE)			300	-	50				NA		
		Bruxelles (BE)			20	-	10				NA		
		Budweis (CS)			20	180	5				50		
		Barcelone (ES)			10	-	20				100		
		Castellon (ES)			-	-	-				100		
		Saint-Jacques de Compostelle (ES)			20	-	5				80		
		Valence (ES)			10	-	5				20		
		Helsinki (FI)			-	350	20				NA		
		Turku (FI)			-	300	5				NA		
		Paris (FR)			-	-	20				120		
		Londres (GB)			20	-	30				NA		
		Zagreb (HR)			10	-	5				30		
		Milan (IT)			10	30	10				30		
		Amsterdam (NL)			100	-	70				180		
		Eindhoven (NL)				3 040	-	60			100		
		Utrecht (NL)			80	-	615				100		
Stockholm (SE)			10	-	-				NA				
Oslo (NO)			20	250	-				NA				

Pays	Références	Lieu / Particularité	Quantités mesurées ou consommées										
			COC	BZE	AMP	MET	MDMA	HER	MOR	THC	THC-COOH	MTD	EDDP
Australie	Irvine <i>et al.</i> 2011	Adélaïde (n = 20)		12 ± 2		85 ± 7	39 ± 7						
FLUX (g/jour)													
Italie	Mari <i>et al.</i> 2009	Florence	35 à 66					1,5 à 7					
	Castiglioni <i>et al.</i> 2011	Milan (valeurs maximales)	110	350									
Belgique	van Nuijs <i>et al.</i> 2009	37 STEPs	0,1 à 88	0,5 à 327									
	van Nuijs <i>et al.</i> 2011	1 STEPs pendant 1 an	59 à 102	122 à 208	12 à 18	1	1 à 4				8 à 16	19 à 31	
Royaume-Uni	Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2012	7 STEPs 5 campagnes sur 8 mois			0 à 35	0 à 0,08	0 à 1,4						
Pays-Bas	Bijlsma <i>et al.</i> 2012	Amsterdam	30 à 214	300 à 600	10 à 25		10 à 80						
		Apeldoorn	0 à 80	20 à 50	3 à 10		± 10						
		Eindhoven	10 à 40	100 à 140	50 à 170		10 à 20						
		Utrecht	10 à 30	30 à 110	10 à 20		± 10						
		Schiphol (Aéroport)	1 à 4	3 à 12	<1		<1						

Annexe V : Résultats des études de dégradation des drogues illicites et leurs métabolites publiés dans la littérature.

	Castiglioni <i>et al.</i> , 2006	Gheorghe <i>et al.</i> , 2008		Gonzalez-Marino <i>et al.</i> , 2010	Bisceglia, 2010	Baker <i>et al.</i> , 2011	Castiglioni <i>et al.</i> , 2011	Van Nuijs <i>et al.</i> , 2012
	Eau usée 72 h, 4°C pH 7,5	Eau de surface 9 h, 20°C pH 6	Eau de surface 5 jours, -20°C, 4°C, 20°C, pH 2	Eau usée 24 h, 4°C pH 7,5	Eau usée 12h, 23°C pH 7,4	Eau usée 12 h, 19°C pH 7,4	Eau usée 24 h, 4°C pH 7,5	Eau usée 12 h, 20°C pH 7,5
Cocaïne	- 36 %	- 75 %	Stable	- 7 %	- 50 %	- 8 %	- 25 %	- 40 %
Benzoylécgonine	+ 14 %	+ 15 %	Stable	+ 7 %	+ 10 %	+ 7 %	+ 20 %	+ 6 %
Ecgonine méthylester	NA	- 40 %	NA	NA	- 40 %	NA	- 50 %	- 20 %
6-MAM	- 14 %	NA	NA	NA	- 15 %	- 12 %	NA	- 20 %
Méthadone	+ 5 %	NA	NA	- 20 %	NA	- 7 %	NA	+ 9 %
EDDP	+ 2 %	NA	NA	NA	NA	- 13 %	NA	- 5 %
Amphétamine	+ 5 %	NA	NA	+ 0 %	-15 %	+ 47 %	NA	+ 3 %
Méthamphétamine	+ 0 %	NA	NA	NA	+ 0 %	+ 8 %	NA	+ 2 %
MDMA	+ 1 %	NA	NA	NA	+ 0 %	+ 1 %	NA	+ 3 %
THC-COOH	- 8 %	NA	NA	+ 2 %	NA	NA	NA	NA

Annexe VI : Modes de préparation et d'analyse des échantillons dans les études publiées sur l'analyse des résidus de drogues dans les eaux usées.

Molécules analysées	Volume extrait	Méthode d'extraction	Rendements d'extraction (%)	Types de prélèvements	Auteurs
Amphétamine, méthamphétamine		POCIS		Etats-Unis (effluents et eau de surface)	Bartelt-Hunt <i>et al.</i> 2009
cocaïne, benzoylecgonine amphétamine, méthamphétamine and MDMA, morphine, codéine, 6-acetylmorphine, héroïne, 6-acetylcodeine, méthadone, EDDP THC-COOH	100 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement</u> : 6 mL MeOH, 6 mL H ₂ O		Suisse (affluents, effluents et eau de surface) Moyennés 24h, asservi au débit + ponctuels 4°C, 2 jours	Berset <i>et al.</i> 2010
Normorphine, Morphine Norcodéine, Codéine 6-MAM, Héroïne EDDP, Méthadone THC-COOH	200 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement</u> : 5 mL MeOH, 5mL H ₂ O <u>Elution</u> : 8 mL MeOH	90, 100 99, 92 106, 86 60, 93 43	Espagne (affluents, effluents et eau de surface) Moyennés 24h 4°C, 3 jours maximum	Boleda <i>et al.</i> 2007
Normorphine, morphine, norcodeine, codeine, 6-acetylmorphine, héroïne, fentanyl, méthadone, EDDP THC, THC-COOH	200 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement</u> : 5 mL MeOH, 5mL H ₂ O <u>Elution</u> : 8 mL MeOH	> 70	Espagne (affluents, effluents, eau de surface et eau de boisson) Moyennés 24h + ponctuels 4°C, 3 jours maximum	Boleda <i>et al.</i> 2009
Cocaïne Benzoylecgonine Ecgonine Methyl Ester	100 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement</u> : 3 mL MeOH, 3 mL H ₂ O <u>Elution</u> : 8 mL MeOH	96 ± 6 92 ± 2 73 ± 5	Belgique (Affluents, effluents et eau de surface) Moyennés 24h + ponctuels pH 2, -20°C	Gheorghe <i>et al.</i> 2008

Molécules analysées	Volume extrait	Méthode d'extraction	Rendements d'extraction (%)	Types de prélèvements	Auteurs
amphétamine, méthamphétamine, MDA, MDMA, MDEA, cocaïne, cocaéthylène, benzoylecgonine, morphine, codéine, héroïne, méthadone, THC, THC-COOH	100 mL 200 mL 500 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement</u> : 5mL acétate d'éthyl, 5mL d'acétone, 5mL H ₂ O <u>Elution</u> : 2mL acétate d'éthyl 8mL acétone	106, 119 103, 137, 136 100, 98, 124 69, 63, 98 134 107, 67	Espagne (affluents, effluents et eau de surface) Moyennés 24h Echantillons extrait dans les 24 heures, conservation des cartouches après séchage	Gonzales et al. 2010
Amphétamine Métamphétamine, MDA MDMA, MDEA Cocaïne, Benzoylecgonine	100 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement</u> : 10 mL MeOH, 10 mL H ₂ O <u>Elution</u> : 6 mL MeOH	85 ± 3 87 ± 2, 80 ± 1 94 ± 3, 101 ± 2 90 ± 2, 100 ± 4	Espagne (affluents, effluents et eau de surface) Moyennés 24h 4°C, obscurité	Huerta-Fontela et al. 2007
Amphétamine, méthamphétamine MDA, MDEA, MDMA LSD, kétamine Cocaïne, benzoylecgonine	100 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement</u> : 10 mL MeOH, 10 mL H ₂ O <u>Elution</u> : 6 mL MeOH		Espagne (affluents et effluents) Moyennés 24h, asservi au temps 4°C, 24h maximum	Huerta-Fontela et al. 2008
Benzoylecgonine Codéine, Dihydrocodéine Oxycodone, Hydrocodone Morphine, Méthadone	100 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement</u> : 2 mL heptane, 2 mL acétone, 6 mL MeOH, 8 mL H ₂ O (pH 7) <u>Elution</u> : 4x2 mL acétone	40 ± 5 48 ± 2, 36 ± 1 50 ± 5, 49 ± 1 29 ± 1, 44 ± 2	Allemagne (affluents, effluents et eau de surface) Ponctuels 4°C, 24h maximum	Hummel et al. 2006

Molécules analysées	Volume extrait	Méthode d'extraction	Rendements d'extraction (%)	Types de prélèvements	Auteurs
Cocaïne Benzoylecgonine Ecgonine Methyl Ester	100 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement :</u> 3 mL MeOH, 3 mL H ₂ O <u>Elution :</u> 8 mL MeOH	96 ± 6 92 ± 2 73 ± 5	Belgique (Affluents, effluents et eau de surface) Moyennés 24h + ponctuels pH 2, -20°C	Gheorghe <i>et al.</i> 2008
Cocaine, benzoylecgonine Amphetamine MDMA Buprénorphine	250 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement :</u> 2x5 mL MeOH + 2x5 mL H ₂ O <u>Elution :</u> 2x5 mL MeOH	92, 116 90 98 99	France (affluents et effluents) Moyennés 24h, asservis au débit 4°C, 24h maximum	Karolak <i>et al.</i> 2010
Méthamphetamine MDMA	250 mL	Oasis HLB <u>Conditionnement :</u> 5 mL MeOH + 2x5 mL H ₂ O <u>Elution :</u> 4x5 mL MeOH avec acide acétique 1%		Etats-Unis (affluents, effluents, après traitement boues activées, avant et après chlorination) Ponctuels Transport à 4°C, stockage à -20°C	Loganathan <i>et al.</i> 2009
Amphetamine Métamphetamine, MDA MDMA, MDEA Cocaïne, Norcocaïne Cocaéthylène, Benzoylecgonine Norbenzoylecgonine THC-COOH	50 mL	Oasis MCX <u>Conditionnement :</u> 6 mL MeOH, 3 mL H ₂ O, 3 mL H ₂ O pH 2 <u>Elution :</u> 8 mL MeOH + ammoniacque 2%	113 ± 8 116 ± 12, 90 ± 7 73 ± 5, 75 ± 18 87 ± 10, 73 ± 8 85 ± 5, non calc. 50 ± 15 72 ± 9	Espagne (effluents et eau de surface) Moyennés 24h -20°C, obscurité	Bijlsma <i>et al.</i> 2009

Molécules analysées	Volume extrait	Méthode d'extraction	Rendements d'extraction (%)	Types de prélèvements	Auteurs
MDMA Cocaïne, Cocaéthylène Benzoylecgonine Morphine Méthadone, EDDP	1000 mL	Strata-XC <u>Conditionnement :</u> 12 mL MeOH, 12mL H ₂ O <u>Elution :</u> 10 mL ACN/Acétate d'éthyle 1/1 (v/v) + hydroxyde d'ammonium 5%	52 ± 1 56 ± 2, 65 ± 3 53 ± 3 4 ± 0 55 ± 0, 59 ± 2	Irlande (affluents, effluents et eau de surface) Moyennés 24h + ponctuels Echantillons extrait dans les 24 heures, conservation des cartouches après séchage	Bones <i>et al.</i> 2007
Amphétamine, Métamphétamine, MDA MDMA, MDEA Cocaïne, Norcocaïne Cocaéthylène, Benzoylecgonine Norbenzoylecgonine Morphine, 6-MAM Morphine-3β-D-glucuronide Méthadone, EDDP THC-COOH	500 mL	Oasis MCX <u>Conditionnement :</u> 6 mL MeOH, 3 mL H ₂ O, 3 mL H ₂ O pH 2 <u>Elution :</u> 2 mL MeOH, 2 mL MeOH + ammoniacale 2%, 2 mL MeOH + NaOH 2%	110±4, 112± 6, 102±3 104 ± 2, 107 ± 3 96 ± 4, 112 ± 6 109 ± 4, 107 ± 8 85 ± 4 88 ± 6, 106 ± 4 90 ± 10 105 ± 3, 88 ± 3 51 ± 1	Italie Suisse (affluents et effluents) Moyennés 24h, asservi au temps 4°C, 3 jours maximum	Castiglioni <i>et al.</i> 2006
Méthamphétamine, amphétamine, éphédrine, cocaïne, benzoylecgonine, norcocaïne Norbenzoylecgonine, hydrocodone, oxycodone, méthadone MDA, MDMA, MDEA, MBDB Kétamine, norkétamine Flunitrazepam, Cotinine, caffeine, créatinine 2-oxo-3-hydroxy-LSD, LSD				Etats-Unis (affluents et effluent) Moyennés 24h, asservi au débit Transport à 4°C -20°C, 3 jours maximum	Chiaia <i>et al.</i> 2008

Molécules analysées	Volume extrait	Méthode d'extraction	Rendements d'extraction (%)	Types de prélèvements	Auteurs
Méthamphétamine MDMA benzoylecgonine	300 mL	UCT™ XRDAH <u>Conditionnement :</u> 6 mL de tampon acetate à pH 5,7 2 mL d'acide acétique à 0.1 M 6 mL MeOH <u>Elution :</u> 96% dichlorométhane:isopropanol (80:20)/4% ammoniac	81 à 86 87 à 92 98 à 102	Australie (affluents) Moyennés 24h, asservis au débit + ponctuels Au frais	Irvine <i>et al.</i> 2011
Méthamphétamine MDMA		POCIS		Etats-Unis (effluents)	Jones-Lepp <i>et al.</i> 2004
Amphétamine Cocaïne Benzoylecgonine	1000 mL	Oasis MCX <u>Conditionnement :</u> 6 mL MeOH, 2 mL H ₂ O + HCOOH 0,2% <u>Elution :</u> 2 mL MeOH, 2 mL MeOH + ammoniacque 5%	91 70 131	Pays de Galles (affluents, effluents et eau de surface) Ponctuels 4°C, pH 2	Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> 2008
cocaïne, benzoylecgonine, ecgonine méthyl ester amphétamine, méthamphétamine MDMA, MDEA, MDA THC, THC-COOH, méthadone, EDDP codeine, morphine	200 mL	Oasis MCX <u>Conditionnement :</u> 6 mL MeOH + 4 mL H ₂ O + 4 mL H ₂ O acidifiée à pH 2 avec du HCl <u>Elution :</u> MeOH MeOH + ammoniacque 2%		Australie (affluents) Moyennés 24h, asservis au débit -20°C, pH 2	Lai <i>et al.</i> 2011
Cocaïne Benzoylecgonine Morphine	1500 mL	Bond-Elut Certify LRC	97 91 96	Italie (affluents) Moyennés 24h 4°C, 3 jours maximum	Mari <i>et al.</i> 2009

Molécules analysées	Volume extrait	Méthode d'extraction	Rendements d'extraction (%)	Types de prélèvements	Auteurs
Cocaine, benzoylecgonine morphine, 6-acetylmorphine methadone, EDDP codeine, dihydrocodeine THC- COOH		Oasis MCX <u>Conditionnement :</u> 5 mL MeOH, 2 mL H ₂ O <u>Elution :</u> 8 mL MeOH, NH ₄ OH 5%		Espagne (affluents et effluents) Moyennés 24h 4°C, pH 3, 24h maximum	Pedrouzo <i>et al.</i> 2011
Ephédrine, Amphétamine Méthamphétamine, MDMA Cocaïne, Cocaéthylène Benzoylecgonine Héroïne, Morphine 6-MAM THC, 11-OH-THC, THC-COOH LSD, nor-LSD, OH-LSD	5 mL	Oasis HLB for cannabinoïdes PLRP pour les autres SPE en ligne	15, 15 20, 27 59, 52 8 22, 14 21 9, 37, 13 17, 22, 11	Espagne (affluents et effluents) Moyennés 24h -20°C, obscurité	Postigo <i>et al.</i> 2008
Ephédrine, Amphétamine Méthamphétamine, MDMA Cocaïne, Cocaéthylène Benzoylecgonine Héroïne, Morphine 6-MAM THC, 11-OH-THC, THC-COOH LSD, nor-LSD, OH-LSD	5 mL	SPE en ligne		Espagne (affluents, effluents et eau de surface) Moyennés 24h, asservis au temps + ponctuels Transport à 4°C Stockage après filtration à -20°C	Postigo <i>et al.</i> 2009
Cocaïne, Benzoylecgonine Ecgonine méthylester Amphétamine Méthamphétamine, MDMA 6-MAM Méthadone, EDDP	50 mL	Oasis MCX <u>Conditionnement :</u> 6 mL MeOH, 4 mL H ₂ O, 4 mL H ₂ O à pH 2 <u>Elution :</u> 4 mL MeOH, 4 mL MeOH/NH ₃ 5%	102 ± 6, 87 ± 3 35 ± 3 102 ± 6 99 ± 4, 100 ± 4 92 ± 4 103 ± 3, 61 ± 8	Belgique (affluents) Moyennés 24h, asservis au débit -20°C, pH 2	van Nuijs <i>et al.</i> 2009

Molécules analysées	Volume extrait	Méthode d'extraction	Rendements d'extraction (%)	Types de prélèvements	Auteurs
Cocaïne, benzoylecgonine, ecgonine méthylester amphétamine, méthamphétamine MDMA Méthadone, EDDP 6-monoacetylmorphine	50 mL	Oasis MCX <u>Conditionnement :</u> 6 mL MeOH, 4 mL H ₂ O, 4 mL H ₂ O à pH 2 <u>Elution :</u> 4 mL MeOH, 4 mL MeOH/NH ₃ 5%		Belgique (affluents) Moyennés 24h, asservis au débit -20°C, pH 2	van Nuijs <i>et al.</i> 2011
Cocaïne Benzoylecgonine	500 mL	Oasis MCX <u>Conditionnement :</u> 6 mL MeOH, 3 mL H ₂ O, 3 mL H ₂ O pH 2 <u>Elution :</u> 2mL MeOH, 2 mL MeOH + ammoniacque 2%	>90 >90	Italie (affluents et eau de surface) Moyennés 24h, asservis au temps 4°C, 3 jours maximum	Zuccato <i>et al.</i> 2005

Annexe VII : Concentrations des résidus de drogues illicites et les métabolites dans les affluents et effluents des 25 STEPs étudiées.

STEPs	Dates			Concentrations en ng/L															
				COC		BZE		EME		CET		NOR		AMP		MDMA		MDA	
	Weekend (W)	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent		
NW1	W	Dim	18/03/2012	117	nd	368	52	90	<LQ	nd	nd								
	S	Mar	27/03/2012	137	nd	291	45	78	nd	nd									
NW2	S	Mar	20/03/2012	<LQ	nd	100	nd	<LQ	nd	nd									
	W	Dim	25/03/2012	76	nd	214	17	63	nd	nd									
NW3	S	Mar	28/02/2012	96	nd	320	32	97	nd	95	nd	nd							
	W	Dim	11/03/2012	186	<LQ	616	36	173	nd	nd	nd	nd	nd	nd	250	73	nd	nd	
	W	Dim	01/07/2012	164	<LQ	835	47	221	<LQ	nd	nd	nd	nd	nd	520	164	nd	nd	
NW4	W	Dim	26/02/2012	nd	nd	134	<LQ	<LQ	nd	nd									
	S	Mar	13/03/2012	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
	W	Dim	01/07/2012	35	<LQ	97	12	55	<LQ	nd	nd								
	S	Mar	17/07/2012	21	<LQ	21	<LQ	nd	<LQ	nd	nd	nd	nd	nd	49	32	nd	nd	
NW5	W	Dim	18/03/2012	41	20	121	74	<LQ	<LQ	nd	nd								
	S	Mar	27/03/2012	52	<LQ	156	60	47	<LQ	nd	nd								
NW6	W	Dim	18/03/2012	144	nd	566	29	189	<LQ	nd	nd								
	S	Mar	27/03/2012	204	nd	1 327	35	258	nd	nd									
NW7	S	Mar	20/03/2012	nd	nd	58	<LQ	nd	115	nd	nd	nd							
	W	Dim	25/03/2012	100	nd	787	40	239	nd	nd	nd	nd	nd	nd	186	nd	nd	nd	
NE1	S	Mer	31/08/2011	159	54	558	298	111	50	nd	78	71							
	W	Sam	03/09/2011	234	140	963	782	201	137	nd	83	99							
NE2	W	Dim	12/02/2012	125	75	364	225	71	73	nd	nd								
	S	Mar	21/02/2012	131	60	254	152	68	63	nd	nd								
NE3	W	Dim	29/01/2012	44	<LQ	209	39	nd	nd										
	S	Lun	06/02/2012	34	<LQ	139	20	nd	nd										
	W	Dim	22/07/2012	127	nd	535	21	91	nd	nd									
NE4	W	Dim	04/03/2012	nd	nd	126	nd	nd											
	S	Jeu	15/03/2012	79	nd	152	nd	nd											
NE5	W	Mer	23/05/2012	29	<LQ	126	13	<LQ	<LQ	nd	40	31							
PAR	S	Mar	17/04/2012	313	34	674	139	128	<LQ	nd	nd	nd	nd	nd	69	55	nd	nd	
	W	Dim	22/04/2012	421	23	1 203	175	234	<LQ	nd	nd	nd	nd	nd	204	52	nd	nd	
	S	Mar	24/04/2012	148	<LQ	358	63	60	nd	32	nd	nd							
	W	Dim	29/04/2012	232	50	617	279	95	nd	nd	nd	nd	nd	nd	65	85	nd	nd	

STEPS	Dates			Concentrations en ng/L																
				COC		BZE		EME		CET		NOR		AMP		MDMA		MDA		
	Semaine (S)		Weekend (W)	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	
SW1	S	Mar	31/01/2012	230	<LQ	545	142	147	nd	133	28	54								
	S	Mar	03/07/2012	376	<LQ	1 126	60	224	nd	nd	16	nd	nd	nd	nd	nd	146	84	nd	32
	W	Dim	08/07/2012	732	<LQ	1 788	109	247	nd	nd	25	nd	nd	nd	nd	nd	375	96	nd	29
SW2	S	Jeu	05/07/2012	83	<LQ	315	43	40	<LQ	10	<LQ	nd	nd	nd	nd	77	20	70	70	
SW3	W	Dim	12/02/2012	92	nd	456	52	108	nd	nd										
	S	Mar	21/02/2012	98	nd	640	92	107	nd	nd										
SW4	W	Dim	12/02/2012	<LQ	<LQ	32	<LQ	nd	nd											
	S	Mar	21/02/2012	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	70	nd	nd	nd	nd
SW5	W	Dim	19/02/2012	331	nd	1 182	nd	270	nd	nd										
	W	Dim	15/07/2012	195	<LQ	1 087	31	135	<LQ	nd	72	nd	nd	nd						
SW6	S	Mar	13/03/2012	49	nd	116	23	<LQ	nd	nd										
	W	Dim	01/07/2012	77	<LQ	363	104	104	<LQ	nd	nd									
	S	Mer	11/07/2012	115	<LQ	312	59	73	<LQ	nd	nd									
SE1	S	Mar	31/01/2012	52	47	114	95	nd	nd											
	W	Dim	26/02/2012	52	61	204	222	54	60	nd	nd									
	S	Mar	03/07/2012	70	48	172	114	<LQ	<LQ	nd	35	nd	nd	nd						
	W	Dim	08/07/2012	103	82	269	225	72	71	nd	nd	nd	nd	nd	nd	53	39	nd	nd	nd
SE2	W	Dim	29/01/2012	379	195	1 189	789	274	131	nd	nd	nd	nd	194	nd	756	352	70	70	nd
	S	Mar	07/02/2012	284	149	777	575	165	106	nd	nd	nd	nd	125	31	171	216	nd	55	nd
SE3	W	Dim	16/10/2011	77	<LQ	200	<LQ	83	<LQ	nd	nd									
	S	Lun	07/11/2011	<LQ	nd	56	nd	<LQ	nd	nd										
	S	Mer	11/07/2012	84	<LQ	193	20	49	<LQ	nd	nd									
	W	Dim	22/07/2012	26	<LQ	299	29	75	<LQ	26	5	nd	nd	nd	nd	63	<LQ	nd	nd	nd
SE4	S	Mar	14/02/2012	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	W	Dim	19/02/2012	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
SE5	S	Lun	26/09/2011	919	256	1 816	569	555	102	59	13	nd	<LQ	nd	nd	89	100	40	133	nd
	W	Dim	02/10/2011	1 082	335	3 050	910	761	131	72	21	<LQ	<LQ	nd	nd	123	165	65	152	nd
	S	Mar	17/07/2012	1 532	42	2 300	193	354	<LQ	167	nd	25	<LQ	nd	nd	404	207	nd	nd	nd
	W	Dim	15/07/2012	101	<LQ	231	17	58	<LQ	22	nd	nd	nd	nd	nd	84	<LQ	nd	nd	nd
REU	S	Mar	28/02/2012	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	W	Dim	11/03/2012	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

STEPS	Dates			Concentrations en ng/L															
				HER		6-MAM		MOR		MET		BUP		MTD		EDDP		THC-COOH	
	Semaine (S) Weekend (W)			Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent
NW1	W	Dim	18/03/2012	nd	nd	nd	nd	730	<LQ	nd	nd	nd	nd	44	47	124	133	516	6
	S	Mar	27/03/2012	nd	nd	nd	nd	504	nd	nd	nd	nd	nd	47	48	187	151	558	7
NW2	S	Mar	20/03/2012	nd	nd	nd	nd	353	49	nd	nd	nd	nd	<LQ	10	60	53	527	9
	W	Dim	25/03/2012	nd	nd	nd	nd	516	<LQ	nd	nd	nd	nd	48	<LQ	126	89	693	10
NW3	S	Mar	28/02/2012	nd	nd	nd	nd	748	nd	nd	nd	nd	nd	44	45	159	133	777	nd
	W	Dim	11/03/2012	nd	nd	nd	nd	727	nd	nd	nd	nd	nd	46	58	154	150	607	nd
	W	Dim	01/07/2012	nd	nd	nd	nd	642	nd	nd	nd	nd	nd	59	51	nd	nd	658	19
NW4	W	Dim	26/02/2012	nd	nd	nd	nd	707	nd	nd	nd	nd	nd	47	<LQ	186	195	44	nd
	S	Mar	13/03/2012	nd	nd	nd	nd	588	nd	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	136	104	317	nd
	W	Dim	01/07/2012	nd	nd	nd	nd	618	<LQ	nd	nd	nd	nd	44	<LQ	nd	nd	367	10
	S	Mar	17/07/2012	nd	nd	nd	nd	353	<LQ	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	55	24	316	<LQ
NW5	W	Dim	18/03/2012	nd	nd	nd	nd	323	<LQ	nd	nd	nd	nd	43	<LQ	109	40	353	8
	S	Mar	27/03/2012	nd	nd	nd	nd	611	80	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	63	60	285	24
NW6	W	Dim	18/03/2012	nd	nd	nd	nd	364	nd	nd	nd	195	nd	<LQ	<LQ	71	46	500	6
	S	Mar	27/03/2012	nd	nd	nd	nd	357	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	<LQ	87	78	546	7
NW7	S	Mar	20/03/2012	nd	nd	nd	nd	534	nd	618	nd								
	W	Dim	25/03/2012	nd	nd	nd	nd	658	nd	20	30	649	19						
NE1	S	Mer	31/08/2011	nd	nd	nd	nd	875	462	nd	nd	nd	nd	nd	nd	223	151	559	87
	W	Sam	03/09/2011	nd	nd	nd	nd	891	902	nd	nd	nd	nd	nd	nd	32	231	607	132
NE2	W	Dim	12/02/2012	nd	nd	nd	nd	71	73	nd	nd	nd	<LQ	81	118	221	237	281	102
	S	Mar	21/02/2012	nd	nd	nd	nd	764	758	nd	nd	<LQ	40	68	98	221	214	378	84
NE3	W	Dim	29/01/2012	82	nd	<LQ	nd	1 186	280	nd	nd	<LQ	<LQ	90	67	183	154	131	13
	S	Lun	06/02/2012	52	nd	51	nd	1 637	466	nd	nd	<LQ	<LQ	111	88	225	201	185	24
	W	Dim	22/07/2012	nd	nd	136	nd	1 169	nd	nd	nd	53	<LQ	234	145	nd	nd	303	5
NE4	W	Dim	04/03/2012	nd	nd	nd	nd	1 169	nd	nd	nd	nd	nd	<LQ	46	228	161	561	nd
	S	Jeu	15/03/2012	nd	nd	nd	nd	930	nd	nd	nd	nd	nd	69	55	236	171	731	nd
NE5	W	Mer	23/05/2012	nd	nd	nd	nd	774	<LQ	nd	nd	nd	nd	nd	<LQ	260	151	240	12
PAR	S	Mar	17/04/2012	nd	nd	nd	nd	280	33	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	95	52	494	32
	W	Dim	22/04/2012	nd	nd	nd	nd	329	34	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	57	43	374	19
	S	Mar	24/04/2012	nd	nd	nd	nd	537	25	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	48	40	308	22
	W	Dim	29/04/2012	nd	nd	nd	nd	305	46	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	62	115	382	39

STEPS	Dates			Concentrations en ng/L															
				HER		6-MAM		MOR		MET		BUP		MTD		EDDP		THC-COOH	
	Semaine (S)		Weekend (W)	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent	Affluent	Effluent
SW1	S	Mar	31/01/2012	nd	nd	nd	nd	280	<LQ	nd	nd	nd	<LQ	58	<LQ	146	115	860	46
	S	Mar	03/07/2012	nd	nd	nd	nd	469	<LQ	nd	nd	42	<LQ	44	<LQ	nd	nd	738	24
	W	Dim	08/07/2012	nd	nd	nd	nd	487	<LQ	nd	nd	<LQ	<LQ	51	40	nd	nd	923	24
SW2	S	Jeu	05/07/2012	nd	nd	nd	nd	305	<LQ	nd	nd	nd	nd	42	<LQ	107	92	328	10
SW3	W	Dim	12/02/2012	nd	nd	nd	nd	964	132	nd	nd	nd	nd	60	63	251	236	849	20
	S	Mar	21/02/2012	nd	nd	nd	nd	1 010	125	nd	nd	nd	nd	<LQ	56	228	246	828	19
SW4	W	Dim	12/02/2012	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	56	234	159	616	nd
	S	Mar	21/02/2012	nd	nd	nd	nd	668	nd	nd	nd	nd	nd	67	57	217	181	601	nd
SW5	W	Dim	19/02/2012	nd	nd	nd	nd	782	30	nd	nd	nd	nd	nd	nd	171	170	1 196	20
	W	Dim	15/07/2012	nd	nd	nd	nd	358	56	nd	nd	nd	nd	68	<LQ	103	31	858	70
SW6	S	Mar	13/03/2012	nd	nd	nd	nd	315	nd	34	29	329	nd						
	W	Dim	01/07/2012	nd	nd	nd	nd	483	16	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	nd	nd	335	14
	S	Mer	11/07/2012	nd	nd	nd	nd	314	nd	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	nd	nd	283	<LQ
SE1	S	Mar	31/01/2012	nd	nd	nd	nd	164	191	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	33	29	182	44
	W	Dim	26/02/2012	nd	nd	nd	nd	139	144	nd	nd	nd	nd	nd	nd	25	28	235	46
	S	Mar	03/07/2012	nd	nd	nd	nd	218	<LQ	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	nd	nd	205	41
SE2	W	Dim	08/07/2012	nd	nd	nd	nd	163	106	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	nd	nd	183	33
	W	Dim	29/01/2012	nd	nd	nd	nd	612	506	nd	nd	nd	<LQ	nd	48	171	134	750	101
SE3	S	Mar	07/02/2012	nd	nd	nd	nd	581	505	nd	nd	nd	<LQ	70	52	164	153	825	143
	W	Dim	16/10/2011	nd	nd	nd	nd	196	<LQ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	88	72	911	161
	S	Lun	07/11/2011	nd	nd	nd	nd	84	nd	37	31	370	74						
	S	Mer	11/07/2012	nd	nd	nd	nd	121	<LQ	nd	nd	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	nd	nd	729	143
SE4	W	Dim	22/07/2012	nd	nd	nd	nd	135	<LQ	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	52	23	305	31
	S	Mar	14/02/2012	nd	nd	nd	nd	203	nd	76	nd								
SE5	W	Dim	19/02/2012	nd	nd	nd	nd	86	nd	180	11								
	S	Lun	26/09/2011	nd	nd	nd	nd	392	170	nd	nd	nd	nd	nd	nd	17	10	312	44
	W	Dim	02/10/2011	nd	nd	nd	nd	416	185	nd	319	49							
	S	Mar	17/07/2012	nd	nd	nd	nd	149	49	51	24	nd	nd	<LQ	<LQ	50	22	304	33
REU	W	Dim	15/07/2012	nd	nd	nd	nd	132	<LQ	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	56	23	269	18
	S	Mar	28/02/2012	nd	nd	nd	nd	146	nd	6	10	487	nd						
	W	Dim	11/03/2012	nd	nd	nd	nd	392	nd	nd	nd	nd	nd	<LQ	<LQ	26	21	392	nd

Annexe VIII : Estimations des consommations de drogues illicites et de méthadone dans différentes zones urbaines de France calculées, à partir des taux de métabolites quantifiés dans les affluents de STEP selon l'équation 1. NC = non calculé.

STEP	en mg/jour/1 000 hab.								en g/jour/1 000 hab.	
	Cocaïne		MDMA		Amphétamine		Méthadone		Cannabis	
	Semaine	Weekend	Semaine	Weekend	Semaine	Weekend	Semaine	Weekend	Semaine	Weekend
NO1	99	127	NC	NC	NC	NC	172	116	12	12
NO2	18	37	NC	NC	NC	NC	30	59	6	8
NO3	47	91	NC	24	NC	NC	63	62	7	6
NO4 - 1	-	23	NC	NC	NC	NC	55	85	3	5
NO4 - 2	3	13	5	NC	NC	NC	24	NC	3	3
NO5	29	23	NC	NC	NC	NC	32	58	3	5
NO6	175	87	NC	NC	NC	NC	31	29	5	5
NO7	7	95	9	15	NC	NC	NC	NC	5	5
NE1	1 409	2 434	NC	NC	NC	NC	1 594	216	92	100
NE2	74	115	NC	NC	NC	NC	175	190	7	6
NE3	93	106	NC	NC	NC	NC	407	253	8	4
NE4	30	24	NC	NC	NC	NC	126	117	9	7
PAR - 1	387	548	26	61	NC	NC	148	78	19	11
PAR - 2	197	328	NC	23	NC	NC	72	89	11	13
SO1 - 1	130	-	NC	-	NC	-	94	-	13	-
SO1 - 2	161	216	14	30	NC	NC	NC	NC	7	7
SO2	150	-	24	-	NC	-	138	-	10	-
SO3	128	91	NC	NC	NC	NC	124	136	10	11
SO4	NC	6	7	NC	NC	NC	86	111	6	7
SO5	-	267	-	NC	-	NC	-	104	-	18
SO6	141	177	NC	NC	NC	NC	-	-	8	11
SE1 - 1	140	196	NC	NC	NC	NC	110	65	15	15
SE1 - 2	191	270	NC	35	NC	NC	NC	NC	15	12
SE2	282	398	41	167	65	93	161	156	20	16
SE3	228	363	16	50	NC	NC	NC	170	56	24
SE4	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	3	6
SE5	367	568	12	15	NC	NC	9	4	4	4
REU	NC	NC	NC	NC	NC	NC	5	23	10	9

Annexe IX : Estimations du pourcentage de consommateurs de drogues illicites dans les différentes zones urbaines de la France métropolitaine.
 NC = non calculé.

STEPS	Semaine/Weekend	% de consommateurs Cocaïne		% de consommateurs MDMA		% de consommateurs Amphétamine		% de consommateurs Cannabis	
		Population totale	de 15 à 64 ans	Population totale	de 15 à 64 ans	Population totale	de 15 à 64 ans	Population totale	de 15 à 64 ans
NO1	Semaine	0,40	0,66	-	-	-	-	12,30	20,50
	Weekend	0,51	0,85	-	-	-	-	11,60	19,33
NO2	Semaine	0,07	0,12	-	-	-	-	6,20	10,33
	Weekend	0,15	0,25	-	-	-	-	7,90	13,17
NO3	Semaine	0,19	0,31	-	-	-	-	7,40	12,33
	Weekend	0,36	0,61	0,02	0,04	-	-	5,90	9,83
NO4	Semaine	-	-	-	-	-	-	3,10	5,17
	Weekend	0,09	0,15	-	-	-	-	4,90	8,17
	Semaine	0,01	0,02	0,00	0,01	-	-	3,30	5,50
	Weekend	0,05	0,09	-	-	-	-	3,20	5,33
NO5	Semaine	0,12	0,19	-	-	-	-	3,40	5,67
	Weekend	0,09	0,15	-	-	-	-	4,50	7,50
NO6	Semaine	0,70	1,17	-	-	-	-	4,70	7,83
	Weekend	0,35	0,58	-	-	-	-	5,00	8,33
NO7	Semaine	0,03	0,05	0,01	0,01	-	-	4,80	8,00
	Weekend	0,38	0,63	0,01	0,02	-	-	5,10	8,50
NE1	Semaine	5,64	9,39	-	-	-	-	33,50	55,83
	Weekend	9,74	16,23	-	-	-	-	48,00	80,00
NE2	Semaine	0,30	0,49	-	-	-	-	7,18	11,97
	Weekend	0,46	0,77	-	-	-	-	5,79	9,66
NE3	Semaine	0,37	0,62	-	-	-	-	8,07	13,44
	Weekend	0,43	0,71	-	-	-	-	4,35	7,25
NE4	Semaine	0,12	0,20	-	-	-	-	9,40	15,67
	Weekend	0,10	0,16	-	-	-	-	6,90	11,50
NE5	Weekend	0,03	0,05	-	-	-	-	0,80	1,33
PAR	Semaine	1,55	2,58	0,02	0,04	-	-	18,50	30,83
	Weekend	2,19	3,65	0,06	0,10	-	-	11,10	18,50
	Semaine	0,79	1,31	-	-	-	-	11,00	18,33
	Weekend	1,31	2,19	0,02	0,04	-	-	13,20	22,00

STEPS	Semaine/Weekend	% de consommateurs Cocaïne		% de consommateurs MDMA		% de consommateurs Amphétamine		% de consommateurs Cannabis	
		Population totale	de 15 à 64 ans	Population totale	de 15 à 64 ans	Population totale	de 15 à 64 ans	Population totale	de 15 à 64 ans
SO1	Semaine	0,52	0,87	-	-	-	-	13,40	22,33
	Semaine	0,64	1,07	0,01	0,02	-	-	6,80	11,33
	Weekend	0,86	1,44	0,03	0,05	-	-	7,30	12,17
SO2	Semaine	0,60	1,00	0,02	0,04	-	-	10,20	17,00
SO3	Semaine	0,51	0,86	-	-	-	-	10,82	18,03
	Weekend	0,37	0,61	-	-	-	-	11,09	18,49
SO4	Semaine	-	-	0,01	0,01	-	-	5,75	9,58
	Weekend	0,02	0,04	-	-	-	-	7,02	11,71
SO5	Weekend	1,07	1,78	-	-	-	-	17,60	29,33
SO6	Semaine	0,56	0,94	-	-	-	-	8,30	13,83
	Weekend	0,71	1,18	-	-	-	-	10,60	17,67
SE1	Semaine	0,56	0,93	-	-	-	-	14,50	24,17
	Weekend	0,78	1,31	-	-	-	-	14,70	24,50
	Semaine	0,76	1,27	-	-	-	-	14,80	24,67
	Weekend	1,08	1,80	0,03	0,06	-	-	11,90	19,83
SE2	Semaine	1,13	1,88	0,04	0,07	0,87	1,44	19,50	32,50
	Weekend	1,59	2,65	0,16	0,27	1,24	2,07	16,40	27,33
SE3	Semaine	0,91	1,52	0,02	0,03	-	-	18,70	31,17
	Weekend	1,45	2,42	0,05	0,08	-	-	24,10	40,17
SE4	Semaine	-	-	-	-	-	-	2,75	4,58
	Weekend	-	-	-	-	-	-	5,71	9,52
SE5	Semaine	1,47	2,45	0,01	0,02	-	-	4,10	6,83
	Weekend	2,27	3,79	0,01	0,02	-	-	3,90	6,50
REU	Semaine	-	-	-	-	-	-	10,00	16,67
	Weekend	-	-	-	-	-	-	8,50	14,17

PUBLICATIONS

Presence of illicit drugs and metabolites in influents and effluents of 25 sewage water treatment plants and map of drugs consumption in France.

Thomas Nefau^{1,2}, Sara Karolak¹, Luis Castillo², Véronique Boireau², Yves Levi¹

¹Univ. Paris Sud / UMR CNRS 8079, Public Health & Environment group, France.

²Veolia Environment Research and Innovation, Maisons-Laffitte, France.

ABSTRACT

Consumption of illicit drugs is a new concern for water management that must be considered not only because of the social and public health aspects but also in an environmental context in relation with the contamination of surface waters. Indeed, sewage treatment plant (STP) effluents contain drug residues that have not been eliminated since STP treatments are not completely efficient in their removal.

We developed and validated an HPLC–MS/MS analytical method to assess the concentrations of 17 illicit drugs and metabolites in raw urban wastewaters: cocaine and its metabolites, amphetamine and amphetamine-likes (methamphetamine, MDMA, MDEA, MDA), opiates and opiate substitutes (methadone and buprenorphine), and THC-COOH cannabis metabolite.

This method has been applied to the analysis of influent and effluent samples from 25 STPs located in France all over the country. The results allowed evaluating the drug consumption in the areas connected to the STPs and the efficiency of the treatment technology implied.

We selected STPs according to their volume capacity, their treatment technologies (biofilters, activated sludges, MBR) and their geographical location.

In influents, the concentrations varied between 6 ng/L for EDDP (main metabolite of methadone) and 3050 ng/L for benzoylecgonine (cocaine metabolite). Consumption maps were drawn for cocaine, MDMA, opiates, cannabis and amphetamine-like compounds. Geographical significant differences were observed and highlighted the fact that drug consumption inside a country is not homogeneous. In parallel, comparisons between STP technology processes showed differences of efficiency. More, some compounds appear very resistant to STP processes leading to the contamination of receiving water.

1. Introduction

The increasing use of illicit drugs and the nonmedical use of prescription medications are a growing concern for public health authorities. According to data supplied by surveys on populations, some 230 million people worldwide use illicit drugs each year (UNODC, 2012). When consumption data for the different drugs are combined, the numbers of European citizens who have used an illicit drug during their life reach approximately a third of the population (EMCDDA, 2012). These estimations are calculated from population surveys, seizures data and mortality rates related to illicit drug use. Such data makes it possible to improve our understanding of the evolution of drug consumption to develop appropriate prevention and harm-reduction programs. These approaches are however limited by their biases, especially a lack of representativeness. Using them, it takes a long time to establish a complete overview of consumption and, generally, results are published several years after the surveys. Hence, it is difficult to obtain a true estimation of current consumption and to follow its evolution. Moreover, current assessment techniques are generally not deployed to a defined scale, thus limiting true information for a specified area inside a country.

Over recent years studies have been conducted to detect and measure the presence of illicit drugs in wastewaters. Indeed, drugs and medication are consumed, metabolized and eliminated

from the human body in urinary and faecal excretions and the excreted parent compounds and metabolites are detectable in sewage. Based on this observation, Daughton (2001) proposed analyzing illicit drug residues to estimate the global consumption of a community. Then, Zuccato *et al.* (2005) published a new calculation method called “sewage epidemiology” that appears to be efficient for obtaining local and real-time estimates of drug consumption. Since 2005, different authors worldwide have used this method: Belgium (Gheorghe *et al.*, 2008; van Nuijs *et al.*, 2011b), Croatia (Terzic *et al.*, 2010), France (Karolak *et al.*, 2010), Germany (Hummel *et al.*, 2006), Ireland (Bones *et al.*, 2007), Italy (Castiglioni *et al.*, 2006; Zuccato *et al.*, 2005; Mari *et al.*, 2009), UK (Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2010), Spain (Huerta-Fontela *et al.*, 2008; Boleda *et al.*, 2009; Postigo *et al.*, 2009; Bijlsma *et al.*, 2012; González-Mariño *et al.*, 2010; Pedrouzo *et al.*, 2011), Switzerland (Berset *et al.*, 2010), United States (Jones-Lepp *et al.*, 2004; Chiaia *et al.*, 2008; Loganathan *et al.*, 2009; Bartelt-Hunt *et al.*, 2009), Canada (Metcalf *et al.*, 2010) and Australia (Irvine *et al.*, 2011; Lai *et al.*, 2011). Recently, a multisite study has been run to compare drug consumption in nineteen European cities (Thomas *et al.*, 2012).

In this study, seventeen compounds have been analyzed in influents and effluents from 25 STPs located in metropolitan France and an overseas department. We estimated drug consumption using sewage epidemiology method in order to establish a map and evaluate geographical drug consumption variations in France. In addition, we compared influent and effluent concentrations of the compounds in the different STPs in relation with their treatment process.

The following compounds were analyzed: first, the cocaine group that contains cocaine and its metabolites, benzoylecgonine, ecgonine methyl ester, norcocaine and cocaethylene which is formed when cocaine and alcohol are consumed simultaneously. Then, we analyzed the group of synthetic stimulant drugs including amphetamine, methamphetamine, 3,4-methylene-dioxy-N-methylamphetamine, 3,4-methylenedioxyamphetamine and 3,4-methylenedioxy-N-ethylamphetamine. In the opiates group, we chose to analyze heroin and its metabolites 6-monoacetylmorphine and morphine even if the latter has therapeutic prescriptions. We also analyzed two opiate substitutes, buprenorphine and methadone with its main metabolite 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine. Finally, we analyzed the 11-nor-delta-9-hydroxytetrahydrocannabinol that corresponds to the main metabolite of cannabis.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals and materials

Standard solutions of cocaine (COC), benzoylecgonine (BZE), norcocaine (NOR), ecgonine methyl ester (EME), cocaethylene (CET), morphine (MOR), 6-monoacetylmorphine (6-MAM), heroin (HER), 3,4-methylene-dioxy-N-methylamphetamine (MDMA), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxy-N-ethylamphetamine (MDEA), methamphetamine (MET), amphetamine (AMP), methadone (METD), 2-ethylidène-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine (EDDP), buprenorphine (BUP), 11-nor-delta-9-hydroxytetrahydrocannabinol (THC-COOH), cocaine-d3, BZE-d3, EME-d3, CET-d8, MOR-d6, 6-MAM-d3, HER-d9, MDMA-d5, MDA-d5, MDEA-d5, MET-d5, AMP-d6, METD-d3, EDDP-d3, BUP-d4, THC-COOH-d3, in methanol (MeOH) or acetonitrile (ACN), were purchased from LGC Standards (Molsheim, France).

MeOH and ACN, HPLC grade (Hipersolv Chromanorm), formic acid (FA) (Normapur) and ammonium formate (AF) (Normapur) were purchased from VWR (Fontenay-sous-Bois, France). Ultra-pure water was produced using successive Milli-RO reverse-osmosis filtration and the Milli-Q Plus water purification system (Millipore SAS, Molsheim, France).

Solid Phase Extraction (SPE) cartridges Oasis HLB (500 mg / 6 mL) and Xbridge Phenyl 3.5 mm, 3 mm x 150 mm HPLC column were purchased from Waters (Guyancourt, France).

Analysis was carried out with a Thermo Accela pump and Accela sampler coupled to a triple quadrupole mass spectrometer Quantum Access Max equipped with Xcalibur software (ThermoFisher Scientific, Courtaboeuf, France).

2.2. Sampling strategy

25 sewage treatment plants (STP) were selected in order to have representative capacities, French locations and types of treatment (Figure 1). We classified the STPs in three capacity groups of equivalent inhabitants (EI): big with EI > 100,000 EI, medium with EI ranging from 30,000 to 100,000 EI and small with EI close to 10,000 EI. Selected STPs were spread across the French metropolitan territory. Characteristics of the selected STPs are summarized in Table 1.

We arbitrarily divided the French metropolitan territory into 4 parts, North West (NW), North East (NE), South West (SW) and South East (SE) with big, medium and small STPs in each (Figure 1). Besides, one STP in Paris (PAR) and one STP in Réunion Island (REU), a French overseas territory in the Indian Ocean, were also investigated.

At least two samplings were made, one during weekdays and one during the weekend for all STPs except SW5 due to logistic problems.

Sampling was carried out using cooling autosamplers to obtain 24 h flow-weighted composite influent or effluent samples with a sampling frequency of at least 6 times per hour according to the local STP procedures. At the end of sampling, 2L samples were collected in polypropylene bottles and sent to laboratory in a cool box intended to be used for 24 h shipments. Upon receipt, samples were filtered and extracted according to the following protocol and the extracts were stored at 4°C before analysis.

2.3. Analytical methods

2.3.1. SPE extraction:

Samples were filtered on glass fiber filters (1 mm, GF/B Whatman) before SPE extraction. Isotopically labelled compounds were added to 250 mL of WWTP influent or 500 mL of effluent samples (250 µL of a 200 µg/L methanolic solution of each deuterated compound). Cartridges were conditioned by following elution of 2 x 5 mL MeOH and 2 x 5 mL ultra-pure water. Samples were percolated at a flow rate of 2 mL/min. The SPE cartridges were then washed using 2 x 5 mL ultra-pure water and dried for 30 min. Analytes were eluted with 2 x 5 mL of MeOH and eluates were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen. Extracts were reconstituted in 500 mL of MeOH and kept frozen until analysis. A 5 µL volume was injected for LC-MS/MS analysis.

2.3.2. LC-MS/MS measurement:

Chromatographic separation was performed using a 0.4 mL/min flow gradient elution composed from solvents A: ACN and B: AF buffer, 5 mM, pH 4 with the following program: 0–3 min, 2% solvent A; 3–22 min, increase to 90% solvent A; 22–24 min, 90% solvent A; 24–24.5 min decrease to 2% solvent A; 24.5–30 min, 2% solvent A.

Mass spectrometry was performed with positive and negative mode electrospray ionization and the following conditions were applied:

- For the positive mode: capillary voltage, 2.5 kV; source temperature, 300 °C; desolvation temperature, 300 °C; desolvation gas flow rate, 800 L/h.

- For the negative mode: capillary voltage, -2.5 kV; source temperature, 300 °C; desolvation temperature, 300 °C; desolvation gas flow rate, 800 L/h.
Specific conditions are reported in Table 2.

Quantitative analyses were done in the selected multiple reactions (SMR) monitoring mode according to European requirement 2002/657/CE with two transitions for each compound (Table 2). Calibration standards in MeOH were prepared in the range of 12.5 – 400 µg/L for all compounds. A calibration curve was drawn for each run using the internal standard (IS) method with addition of labeled compounds.

2.3.3. Method validation

Recovery was determined as the ratio of the peak area obtained for a wastewater sample spiked at 400 ng/L (corresponding to a 200 µg/L extract after SPE) before extraction to the peak area obtained for an extract of the same wastewater sample spiked at 200 µg/L.

Efficiency was determined as the ratio of the peak area obtained for the wastewater sample spiked at 400 ng/L before extraction to the peak area obtained for a 200 µg/L MeOH solution.

Linearity was evaluated from the calibration curves obtained with methanolic solutions at the following concentrations: 12.5; 25; 50; 100 and 200 µg/L.

Intra-run precision was calculated as the relative standard deviation obtained for three repetitions of the analysis – including SPE extraction – of wastewater samples spiked at a concentration of 400 ng/L corresponding to 100 µg/L in the extracts.

To determine the limit of quantification (LOQ), influent wastewater aliquots were spiked with decreasing volumes (500 µL to 5 µL) of a 20 µg/L methanolic solution of deuterated compounds and were extracted by SPE. LOQ were then determined as a signal to noise ratio of 10 and expressed in ng/L, taking account of the concentration factor of samples.

2.4. Comparison of influent concentrations (IC) and effluent concentrations (EC)

Influent and effluent samplings were made simultaneously following the sampling procedure of each STP that we had to follow. Consequently, residence time was not taken into account and we could not calculate exact removal efficiencies. However, comparison between IC and EC allows to roughly describe the trends of the compound elimination. For this purpose, we calculated the ratio EC/IC in order to compare the results observed in the different STP.

2.5. Calculation of drug consumption

Cocaine, MDMA, amphetamine, cannabis and methadone consumptions were back-calculated from the measured daily loads of the drug target residues (DTR), respectively, BZE, MDMA, AMP, THC-COOH and EDDP using the model suggested by Zuccato *et al.* (2008) with the following equation (Eq1):

$$Q \text{ (mg/day/1000 inh.)} = Q_{\text{day}}/U_{\text{ex}} \times M_{\text{ratio}} \times 1000/N_{\text{inh}}$$

where Q_{day} is the load of the DTR, U_{ex} is the percentage of the DTR urinary excretion, M_{ratio} is the parent drug/DTR molar ratio (Table 3) and N_{inh} is the number of inhabitants provided by the STP staffs and corresponds to the evaluation of the population linked to the STPs.

DTR percentages of excretion were obtained from Zuccato *et al.* (2008) for BZE, MDMA, AMP and THC-COOH and from Ferrari *et al.* (2004) for EDDP.

3. Results and Discussion

3.1. Method validation

In sewage water, recoveries ranged from 61% for THC-COOH to 124% for 6-MAM. Because of the loss during SPE extraction and the matrix effect, the efficiency values ranged from 23% to 93% in influents and effluents (Table 4). Linearity was confirmed for all of the compounds in their relative concentration range using the IS addition method with correlation coefficient r values above 0.99 (Table 4).

Spiking solutions were added in samples before SPE extraction and analysis was repeated three times. R.S.D values for the 400 ng/L concentration ranged from 0.52% for BZE to 18.8% for MOR (Table 4).

According to a signal to noise ratio of 10, LOQ ranged from 5 ng/L to 40 ng/L (Table 4).

3.2. Evaluation of uncertainties in drug consumption estimation

The estimation of illicit drug consumption using the formula proposed by Zuccato (2008) takes account of four parameters that cannot be exactly determined: DTR concentration, sewage flow, metabolism data and population size (Mathieu *et al.*, 2011; Castiglioni *et al.*, 2013). Precision of analytical measurements is less than 20% but the representativeness of the sample should be also considered. In this study, the STP staffs were in charge of the sampling that was carried out using the local procedure. In all cases, influent and effluent were taken with flow-proportional and cooled auto samplers with at least six samplings per hour. According to Castiglioni *et al.* (2013), such a sampling procedure presents an uncertainty between 5 and 10%. Another factor that can affect the analytical results is the stability of the compounds during sampling and storage before treatment. Sampling locations were more or less distant from our laboratory but all the precaution were taken to limit the latency delay: in practice, the delay from the beginning of the sampling to the extraction was 48h except for rare cases but never exceeded 72h. Samples were always kept at -4°C , and, according to (Castiglioni *et al.*, 2006), concentration variations should remain within 15% except for COC, NOR and MOR. The back calculation of consumption needs to define the elimination percentage of the DTR compound: parent drug were used for MDMA and AMP and a major metabolite were used for the other compounds, BZE for COC, THC-COOH for cannabis and EDDP for MTD. However, excretion percentages present individual variations and may be influenced by the route of administration, leading to uncertainty over 20% (Castiglioni *et al.*, 2013). The DTR excretion rates used in this study are the same as those used in previous studies (Zuccato 2008, Ferrari, 2004). For COC, we used an excretion rate of 45% although recent paper proposed revised values of 38% (Thomas *et al.*, 2012) or 29% (Castiglioni *et al.*, 2013). To relate drug consumption to population, it is necessary to know the population size of the STP area. There are various models using hydrochemical parameters to calculate population size (Andreottola *et al.*, 1994). Because of the numerous investigated STPs and the difficulty to adapt a model to each case, we kept the design capacity provided by each STP.

3.3. Occurrence of illicit drugs in influents and effluents of 25 STPs

Concentrations measured in influent and effluent wastewater samples from 25 STPs are summarized in supplementary file S1 and represented as box-plot in Figure 2. THC-COOH is the most frequently detected compound. It was found in all influent samples and in 78% of effluent samples. The percentages of detection of MOR, BZE, COC, EME, METD and EDDP in influents were $>75\%$ whereas those of MET, HER, NOR, AMP, 6-MAM and CET were $\leq 10\%$ (Figure 3).

Concentrations ranged from 6 ng/L for EDDP to 3,050 ng/L for BZE in the influents while they ranged from 5 ng/L for CET and THC-COOH to 910 ng/L for BZE in the effluents.

In the cocaine group, BZE was the most quantitatively abundant compound in influents and effluents. It remained undetected in only 17 samples out of 124. CET and NOR were rarely detected, respectively in only 10% and 3% of the influents and 10% and 3% of the effluents. Considering all the compounds of this group, the concentrations ranged from 10 to 3,050 ng/L in influents and from 5 to 910 ng/L in effluents. The highest concentrations for BZE (3,050 ng/L), COC (1,532 ng/L) and CET (167 ng/L) were observed in a small STP in the south of France, SE5. Moreover, it was the only place where we found NOR. High concentrations of BZE were also observed in three STPs located in the south of France: two big STPs, SE2 (1,189 ng/L) and SW1 (1,788 ng/L) and one small, SW5 (1,182 ng/L). However, we also found high values of BZE in a small STP in the North West: (NW6 (1,327 ng/L) and in Paris (PAR: 1,203 ng/L). The concentrations of COC and EME were lower than those of BZE, between 21 and 1,532 ng/L for COC and between 40 and 761 ng/L for EME. The concentrations of CET remained between 10 and 167 ng/L and the concentrations of NOR were always under 25 ng/L. These concentrations are in the range of those reported in similar studies carried out in Italy (Mari *et al.*, 2009), in Croatia (Terzic *et al.*, 2010), in Belgium (van Nuijs *et al.*, 2009b; 2011a), in Canada (Metcalf *et al.*, 2010), in Spain (Postigo *et al.*, 2009) and in the US (Chiaia *et al.*, 2008). It is to note that the highest concentrations of BZE and COC found in France are higher than those found in other countries with the exception of one value reported for BZE in Spain (3,790 ng/L, Postigo *et al.*, 2009) and one value reported for COC in Brussels (1,603 ng/L, van Nuijs *et al.*, 2011a). The latter concentration could correspond to a direct discharge.

The percentages of detection observed for the amphetamine-like stimulant group were very low: MDMA was detected in 20% of the samples while AMP and MET were observed respectively in only 3% and 2% of the samples. Concentrations of MDMA remained between 49 and 756 ng/L in influents and between 20 and 352 ng/L in effluents. The highest concentration (756 ng/L) was measured in a big STP in the South East of France (SE2) during a weekend and is higher than those reported in similar studies, 598 ng/L in north-eastern Spain (Huerta-Fontela *et al.*, 2008), 380 ng/L in Castellon province (Bijlsma *et al.*, 2009) or 187 ng/L in Australia (Irvine *et al.*, 2011). This STP is the only one where amphetamine was detected at relatively high values, 194 ng/L during the weekend and 125 ng/L during the week. High MDMA concentrations, between 89 and 320 ng/L, were observed in three other STPs, two in the South (SW1 and SE5) and one in the North (NW3). These concentrations are higher than those reported for countries with a sizeable MDMA consumption, such as the US (70 ng/L, Chiaia *et al.*, 2008), UK (13.9 ng/L, Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2010) and Spain (180 ng/L, (Postigo *et al.*, 2009).

MET was found in only 1 out of 4 samples taken at the entry of a STP located in the South (SE5): the concentration measured, 51 ng/L, was of the same order as those observed elsewhere in Europe (Boleda *et al.*, 2009; van Nuijs *et al.*, 2011a). Values up to 2,000 ng/L have been quantified in the US (Chiaia *et al.*, 2008).

Concerning the opiate group, MOR was detected in 98% of the influent samples and 64% of the effluent samples. The percentages of detection of HER and 6-MAM were respectively 3 and 7% in the influents and 0 and 3% in the effluents. The concentrations of MOR varied between 71 and 1,637 ng/L. The highest concentrations were found in the East of France, in particular in a medium-sized STP (NE3), which is the only place where HER was detected. The concentrations of MOR are higher than those reported in similar studies carried out in Europe: the median value observed in this study, 483 ng/L, is higher than the highest values observed in Italy (Mari *et al.*, 2009), in Croatia (Terzic *et al.*, 2010) and in Spain (Boleda *et al.*, 2009; Postigo *et al.*, 2009).

Among the opiate substitutes, METD was detected in less than 50 % of the samples (influent and effluent) and was even less often detected in the influents (13 %) than in the

effluents (19 %). Influent concentrations of METD ranged from 42 to 234 ng/L and effluent concentrations from 40 to 145 ng/L. In contrast, the METD metabolite, EDDP, was detected in more than 75 % of the samples, mainly in parallel with METD. The EDDP concentrations remained between 6 and 260 ng/L in the influents, and between 10 and 246 ng/L in the effluents. However, 37 % of influents and 44 % of effluents contained only EDDP. No difference appeared between concentrations observed in influents and effluents.

These concentrations of METD and EDDP are higher than values observed in other countries: the US (62 ng/L, Chiaia *et al.*, 2008), Croatia (94 ng/L, Terzic *et al.*, 2010), Belgium (16 ng/L, van Nuijs *et al.*, 2009b). The only study showing higher concentrations was made in prison sewage water in Spain, by Postigo *et al.*, 2009 ($4,704 \pm 1,424$ ng/L).

BUP was detected in only three influent samples (195 ng/L, NW6, 56 ng/L, NE3 and 42 ng/L, SW1) and one effluent sample (40 ng/L, NE2). These values are higher than those observed in a previous study carried out in the Parisian region, remaining under 20 ng/L (Karolak *et al.*, 2010).

THC-COOH was observed in all influent samples with concentrations ranging from 44 to 1,196 ng/L. In effluents, the concentrations ranged from 5 to 161 ng/L. The highest concentration was observed in a small STP located in the SW of France (SW5) during the weekend. The sizeable concentrations, over 600 ng/L, were observed mainly in the south of France, with the exceptions of four STPs (NE1, NE4, NW3 and NW7).

These concentrations are the highest reported for similar studies carried out in Europe, even compared to the Netherlands (430 ng/L in Amsterdam, Thomas *et al.*, 2012) where the drug policy concerning cannabis is more liberal.

3.4. Comparison of influent concentrations (IC) and effluent concentrations (EC)

Drug and prescription medications residues are not totally removed by the STPs. They reach the surface water and may represent an environmental risk. Figure 4 presents the mean EC/IC ratio for STPs classified according to their type of treatment: low-load activated sludge (LAS) without tertiary treatment (NW2, NW5, NW7, NE1, NE3, NE5, SW3, SW6, SE3), LAS with tertiary treatment (NW3, NW4, NW6, NE4, SW2, SW5, SE4), medium-load activated sludge (MAS) (NE2, SW1, SE2), biofilters BF (PAR, SE1, SE5). Only EC/IC ratio for the seven compounds that were detected in more than 30 % of the samples are presented. It is difficult to compare the efficiency of the different kinds of treatment because of the insufficient number of samples but trends could nevertheless be observed.

The mean EC/IC expressed in Figure 4 allow us to divide the compounds in three different groups: first, molecules which are well-eliminated ($EC/IC < 0.2$) by LAS technology with or without tertiary treatments but moderately eliminated ($EC/IC < 0.5$) with MAS treatment: COC, BZE, EME and MOR. Secondly, molecules which are badly eliminated whatever the technology, MTD and EDDP with EC/IC ratio > 0.5 (this observation is in agreement with Zuccato and Castiglioni, 2009) who reported removal rates between 9 and 22 % for METD and between 8 and 27 % for EDDP); finally, THC-COOH, which seems always well-eliminated ($EC/IC < 0.2$) whatever the technology used.

These observations, in spite of the lack of representativeness, allow drawing the following remarks:

- among the tested compounds, MTD and its metabolite EDDP appeared difficult to remove: this observation should be specially considered for ecotoxicologic purpose,
- LAS treatments appear to be more efficient than MAS treatments and biofilters,

The difference in EC/IC ratio between LAS and MAS could be attributed to higher hydraulic and solids retention time of LAS technologies leading to a lower food to microorganism ratio

(F/M ratio) (Table 1). Anyway, this study takes into account compounds quantified in liquid phase and sorption to solids should be kept in mind in removal estimation.

3.5. Estimation of drug and prescription medication consumption

According to equation 1 and load data (supplementary file S2), consumption estimations showed noteworthy differences between the cities retained for this study (Figure 5 and Table 5).

During the week, the highest rates of consumption are observed as COC > METD > cannabis. AMP and MDMA consumptions are much lower. During the weekend, similar tendencies are observed except that the cannabis consumption was slightly higher than the METD one.

3.5.1. Cocaine

COC consumption can be calculated using COC, BZE or EME concentrations but calculations based on BZE data are more reliable for several reasons. First, the BZE excretion percentage is higher leading to concentrations superior to those of COC. Secondly, BZE is more stable in wastewater than COC (Gheorghe *et al.*, 2008) or EME (van Nuijs *et al.*, 2011b). Finally, COC may be directly disposed of in sewage. Therefore, considering COC metabolism with 9% of unchanged COC and 45% of BZE in urine, the ratio COC/BZE concentrations in influents should be 0.2. In this study, the mean ratio is 0.34 ± 0.15 (mean \pm SD, $n = 46$), in agreement with van Nuijs *et al.* (2009a). COC consumption values ranged from 3 mg to more than 2400 mg/day/1000 inhabitants (inh.) with median values of 111 and 130 mg/day/1,000 inh. during weekends and weekdays respectively. The city linked to NE1 presents the highest consumption data: 1,409 mg/day/1,000 inh. during the week and 2,434 mg/day/1,000 inh. during the weekend. Such consumption is higher than the consumption data found in other European countries. Indeed, the weekend consumption data in this city is over the values determined in Antwerp (192 mg/day/1,000 inh.) where the highest consumption was reported (Thomas *et al.*, 2012). Cities where the consumption is superior to the median value are mainly located in the south of France and we note three cities with consumption exceeding 500 mg/day/1,000 inh. The weekend consumption is superior to the weekday consumption (Student, $p < 5\%$).

These observations agree well with our previous observations in the Parisian region where the consumption of cocaine was close to 500 mg/day/1,000 inhabitants (Karolak *et al.*, 2010; Thomas *et al.*, 2012). In these studies, a significant weekend effect was also observed.

Just two cities showed no cocaine consumption, one in a rural area (SE4) and the other one located on Réunion Island.

3.5.2. MDMA & Amphetamine

MDMA was exclusively found in STPs located in the South, with two exceptions in the North West (NW3 and NW4). Consumption ranged from 5 to 41 mg/day/1,000 inh. during the week and from 15 to 167 during the weekend. Although the majority rates of consumption stood between 10 and 30 mg/day/1,000 inh., we estimated consumptions over 150 mg/day/1,000 inh. in a city located in the South (SE2). This estimation of consumption corresponds to a load in influent of 144 mg MDMA/day/1,000 inh., and thus it is not in agreement with the reported prevalence of MDMA consumption in France and appears superior to the majority of the MDMA loads in European cities (Thomas *et al.*, 2012), which are below 80 mg/day/1,000 inh., including Paris. The city linked to SE2 is also the only one where we observed amphetamine, for which we estimate a consumption of 93 mg/day/1,000 inh. during the weekend. This is an unexpectedly high value given the low prevalence of AMP consumption in France, 0.2% between 15 and 64 years of age (EMCDDA, 2012). In view of the nature of the results, MDMA consumption appears

to be correlated to cocaine consumption. Indeed, the same cities simultaneously show high consumptions of MDMA and cocaine (SW1, SE2 and SE5). This is probably linked to the fact that these compounds are both drugs of recreational use. They are mainly consumed in big cities where there are more festive events. However, with the exception of the city linked to STP SE2, the consumption of MDMA in France is lower than expected considering EMCDDA (2012) statistics. For the SE2 city, MDMA consumption could be explained by the high youth population with many students.

3.5.3. Cannabis

Cannabis rates of consumption range from 28 to 920 mg/day/1,000 inh. during the week and from 32 to 999 mg/day/1,000 inh. during the weekend. The difference in consumption between weekdays and the weekend is not significant (Student, $p > 5\%$).

Two cities, NE1 and SE3, stand out from the others with consumption of respectively 999 and 241 mg/day/1,000 inh. during the weekend and 920 and 561 mg/day/1,000 inh. during the week. The values of consumption in the other cities are lower but relatively high, between 28 to 176 mg/day/1,000 inh., corresponding to loads in influent between 30 and 203 mg/day/1,000 inh. These values are close to the ones estimated for Amsterdam (Netherlands) which seems to be the place where cannabis consumption is the most significant in Europe, around 200 mg/day/1,000 inh. (Thomas *et al.*, 2012). In comparison, data obtained for NE1, SE3 and SW5 cities are approximately five times higher: the sample from city SE3 was taken during a famous summer drama art festival; NE1 and SW5 cities stand close to the northern and the southern borders respectively, in areas where consumption of other drugs (cocaine and MDMA) also appear sizeable.

Our observations are in agreement with cannabis use statistics reported by EMCDDA (2012) which concludes that French people are the leading consumers of cannabis in Europe. The consumption of this drug remains unchanging between cities even if the highest rates are observed in the places where consumption of cocaine and MDMA are also the highest, except for city SE5 where cannabis consumption is quite low compared to the other cities. However, the lack of weekend effect corroborates the fact that cannabis is not a festive drug such as cocaine or MDMA.

3.5.4. Heroin, morphine and opiate substitutes

MOR is used mainly as an analgesic but a part of morphine residues found in wastewater can be related to heroin consumption. HER and 6-MAM were detected in only one city, linked to WWTP NE3, where we also estimated a high consumption of METD, 407 mg/day/1,000 inh. on weekdays. Regarding this opiate substitute, we calculated consumption ranging from 5 to 1594 mg/day/1,000 inh., weekdays and weekends alike. The lack of weekend effect is explained by the fact that METD is prescribed for a daily intake. We note that METD consumption is higher in big cities and even if there is no notable geographical variation, three cities on the NE showed high consumption (NE1, NE2 and NE3). It was also in this geographical zone that highest concentrations of MOR and traces of HER and 6-MAM were observed, although these drugs were not detected anywhere else.

There is only one city where the samples were EDDP free, SE4 where only THC-COOH was found.

3.5.5. Geographical variations

In spite of the lack of sampling campaigns, geographical differences of illicit drug uses were noticed. The uncertainty of the calculations, linked to analysis, sampling and back calculation, impairs to give accurate estimations but should allow comparing and drawing tendencies for drug use in France. As can be seen in figure 6, cocaine consumption is higher in the large cities than the others, especially during the weekend. Similar, but less clear trends were observed for MDMA, amphetamine and cannabis consumption. AMP was found only in influent water of a STP linked to a large city. In view of the nature of the results, it now appears that illicit drug consumption is more prevalent in large cities than in middle or small cities which are, in this study, particularly located in rural areas. This can easily be explained by a larger market in the big cities than in the others. The second reason is that these products are mostly consumed for recreational use and big cities present more opportunities of festive events.

Regarding the data obtained across the country, we note that COC is consumed more in the south of France during the week (Mann-Whitney, $p < 5\%$). It is not statistically significant during the weekend because of the important cocaine consumption in the city linked to the STP NE1, but when the data from this city is eliminated for the Mann-Whitney statistical test, the difference is significant ($p < 5\%$). A difference between the south and the north is also observed with cannabis consumption with a more significant consumption in the south during the weekend (Mann-Whitney, $p < 5\%$). On the opposite, there is no difference between the consumption of methadone between north and south (Mann-Whitney, $p > 5\%$). Finally, concerning MDMA and amphetamine consumption, the lack of data inhibits us from applying statistical tests but it seems possible that the consumption of these drugs is higher in the south where they are more frequently detected (Supplementary file S1). In spite of the difficulties in interpreting these results due to the lack of local information about drug consumption in France, the high rates of cocaine and cannabis consumption in the south of France could be explained by different hypotheses. First, it is known that cocaine arrives from South America to Africa then to Europe. Consequently, the main traffic road of this drug is through the south of Europe, which may explain more availability of cocaine in the south of France. In the same way, the highest quantity of cannabis comes from Morocco. Secondly, COC, MDMA and AMP are known to be consumed highly during festive or recreational events and the south of France, in particular in cities located along the sea, offers more possibilities for such activities than does the north.

Concerning the city linked to STP NE1, where high levels of consumption were found during the weekend, the samples were taken during a large flea-market which draws a lot of people into the region. On the other hand, the weekday sampling, carried out several days before, also resulted in high drug concentrations and proved a high level of illicit drug consumption in this region. Moreover, this city is located close to the northern border, which could also be considered as a major traffic road for illicit drugs.

Unlike COC and MDMA, consumption of METD is homogeneous in France and higher than METD consumption rates in other European countries where EDDP was analyzed. The three cities that we investigated in the east of France presented surprisingly high levels of EDDP given their sizes. HER and 6-MAM were only found in the influent of NE3 located in the east. In spite of the limited number of samples contributing to our results, it seems that consumption of opiates and opiate substitutes is higher in this region and acts as a counterbalance to the low consumption of COC and MDMA. This hypothesis needs to be further investigated.

In view of these results, it appears that the consumption of drugs is not homogeneous across the French territory. The drugs which are consumed and the quantities consumed are not the same from one city to another. Hence, it is now proven that the population surveys and the other tools used to estimate illicit drug consumption are not sufficient because data are generally expressed as national consumption without taking account of regional specificity. In

contrast, “wastewater epidemiology” appears to be an important complementary tool because of its capacity to be used in a restricted area and over a defined period. Considering these advantages, this method appears to be the best tool to support prevention and harm-reduction programs.

4. Conclusion

This study had two aims, the assessment of illicit drug consumption in France and the evaluation of the behaviour of these compounds during different wastewater treatment technologies. 25 STPs were investigated and samples were collected at least two times in each.

In spite of the low scale of this study, significant differences appear quantitatively and qualitatively for drug consumption inside the French territory: for example, cocaine consumption during the weekend is estimated at a level of 6 mg/day/1,000 inhabitants for SW4 and 2434 mg/day/1,000 inhabitants for NE1. Likewise, a greater stimulation drug consumption in the South and an important opiate and opiate substitute consumption in the North East were observed. Differences were noted between small and big cities, the later showing higher rates of consumption. These results prove that sewage epidemiology is a useful complementary tool for drug consumption assessment inside a country offering information for a defined area that usual surveys on the basis of population investigation and policy statistics are unable to give.

Variable trends of removal were observed between the compounds and to a lesser extent between the treatment technologies. Taking all data together, the values of the IC/EC ratio ranged from 0.00 for cocaine for low-load activated sludge with tertiary treatment to 1.87 for EDDP for biofilters. Our observations seem to highlight a possible resistance of methadone and EDDP whatever the treatment technologies and are in favour of higher treatment efficiencies for the STPs with longer retention times.

This study offers for the first time in France a map of drug consumption. Sampling locations were spread all over the country and special care has been taken to select cities of various sizes to highlight trends of drug consumption in France and compare with other countries. It proves the relevance of the sewage epidemiology method that should be considered as an efficient tool to support harm-reduction activities and prevention policy. This study could be the reason for the launching of a large-scale study with repeated campaigns, intended for risk reduction management and health purpose.

Acknowledgements

The authors want to thank the technical staff of the sewage treatment plants of Veolia Eau. We would thank the staff of Veolia Environment Research & Innovation at Maisons-Laffitte for their precious collaboration in logistic, in particular, Sylvain Chastrusse. We appreciate the help of Donald White for the grammar correction.

References

- Andreottola G, Bonomo L, Poggiali L, Zaffaroni C. A methodology for the estimation of unit nutrient and organic loads from domestic and non-domestic sources. *Eur Water Pollut Contr* 1994;4:13–9.
- Bartelt-Hunt SL, Snow DD, Damon T, Shockley J, Hoagland K. The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska. *Environmental pollution* 2009;157:786–91. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19110357>.
- Berset J-D, Brenneisen R, Mathieu C. Analysis of illicit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography--

- electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *Chemosphere* 2010;81:859–66. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20801487>.
- Bijlsma L, Emke E, Hernández F, De Voogt P. Investigation of drugs of abuse and relevant metabolites in Dutch sewage water by liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *Chemosphere* 2012;89:1399–406. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22784865>.
- Bijlsma L, Sancho J V, Pitarch E, Ibáñez M, Hernández F. Simultaneous ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of amphetamine and amphetamine-like stimulants, cocaine and its metabolites, and a cannabis metabolite in surface water and urban wastewater. *Journal of chromatography. A* 2009;1216:3078–89. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19201418>.
- Boleda M a R, Galceran M a T, Ventura F. Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. *Water research* 2009;43:1126–36. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19176231>.
- Bones J, Thomas K V, Paull B. Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *Journal of environmental monitoring : JEM* 2007;9:701–7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17607391>.
- Castiglioni S, Bijlsma L, Covaci A, Emke E, Hernández F, Reid M, et al. Evaluation of uncertainties associated with the determination of community drug use through the measurement of sewage drug biomarkers. *Environmental science & technology* 2013;47:1452–60. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23259772>.
- Castiglioni S, Zuccato E, Crisci E, Chiabrando C, Fanelli R, Bagnati R. Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical chemistry* 2006;78:8421–9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17165835>.
- Chiaia AC, Banta-Green C, Field J. Eliminating solid phase extraction with large-volume injection LC/MS/MS: analysis of illicit and legal drugs and human urine indicators in U.S. wastewaters. *Environmental science & technology* 2008;42:8841–8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19192807>.
- Daughton CG. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 210*. Ed. David M. Whitacre. vol. 210. Springer New York: New York, NY; 2011.
- EMCDDA. 2012 Annual report on the state of the drugs problem in Europe. EMCDDA. Lisbon, Portugal; 2012. Available at: www.emcdda.europa.eu/attachements.cfm/att_190854_EN_TDAC12001ENC_.pdf.
- Ferrari A, Coccia CPR, Bertolini A, Sternieri E. Methadone--metabolism, pharmacokinetics and interactions. *Pharmacological research* 2004;50:551–9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15501692>.
- Gheorghe A, Van Nuijs A, Pecceu B, Bervoets L, Jorens PG, Blust R, Neels H, Covaci A. Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry* 2008;391:1309–19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18066537>.
- González-Mariño I, Quintana José Benito, Rodríguez I, Cela R. Determination of drugs of abuse in water by solid-phase extraction, derivatisation and gas chromatography-ion trap-tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography. A* 2010;1217:1748–60. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20149380>.
- Huerta-Fontela M, Galceran MT, Martin-Alonso J, Ventura F. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *The Science of the total environment* 2008;397:31–40. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18433836>.
- Hummel D, Löffler D, Fink G, Ternes T a. Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass Spectrometry. *Environmental science & technology* 2006;40:7321–8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17180984>.

- Irvine RJ, Kostakis C, Felgate PD, Jaehne EJ, Chen C, White JM. Population drug use in Australia: a wastewater analysis. *Forensic science international* 2011;210:69–73. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21388761>.
- Jones-Lepp T L, Alvarez D a, Petty JD, Huckins JN. Polar organic chemical integrative sampling and liquid chromatography-electrospray/ion-trap mass spectrometry for assessing selected prescription and illicit drugs in treated sewage effluents. *Archives of environmental contamination and toxicology* 2004;47:427–39. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15499492>.
- Karolak S, Nefau T, Bailly E, Solgadi A, Levi Y. Estimation of illicit drugs consumption by wastewater analysis in Paris area (France). *Forensic science international* 2010;200:153–60. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20447786>.
- Kasprzyk-Hordern B, Kondakal VVR, Baker DR. Enantiomeric analysis of drugs of abuse in wastewater by chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography. A* 2010;1217:4575–86. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20537654>.
- Lai FY, Ort C, Gartner C, Carter S, Prichard J, Kirkbride P, Bruno R, Hall W, Eaglesham G, Mueller JF. Refining the estimation of illicit drug consumptions from wastewater analysis: Co-analysis of prescription pharmaceuticals and uncertainty assessment. *Water research* 2011;45:4437–48. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21745676>.
- Loganathan B, Phillips M, Mowery H, Jones-Lepp Tammy L. Contamination profiles and mass loadings of macrolide antibiotics and illicit drugs from a small urban wastewater treatment plant. *Chemosphere* 2009;75:70–7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19121838>.
- Mari F, Politi L, Biggeri A, Accetta G, Trignano C, Di Padua M, Bertol E. Cocaine and heroin in waste water plants: a 1-year study in the city of Florence, Italy. *Forensic science international* 2009;189:88–92. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19467810>.
- Mathieu C, Rieckermann J, Berset J-D, Schürch S, Brenneisen R. Assessment of total uncertainty in cocaine and benzoylecgonine wastewater load measurements. *Water research* 2011;45:6650–60. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22048016>.
- Metcalf C, Tindale K, Li H, Rodayan A, Yargeau V. Illicit drugs in Canadian municipal wastewater and estimates of community drug use. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 2010;158:3179–85. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20667638>.
- Van Nuijs A, Mougél J-F, Tarcomnicu I, Bervoets L, Blust R, Jorens PG, Neels H, Covaci A. A one year investigation of the occurrence of illicit drugs in wastewater from. *Journal of environmental monitoring : JEM* 2011a;13:1008–16.
- Van Nuijs A, Mougél J-F, Tarcomnicu I, Bervoets L, Blust R, Jorens PG, Neels H, Covaci A. Sewage epidemiology--a real-time approach to estimate the consumption of illicit drugs in Brussels, Belgium. *Environment international* 2011b;37:612–21. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21257204>.
- Van Nuijs A, Pecceu B, Theunis L, Dubois N, Charlier C, Jorens PG, Bervoets L, Blust R, Neels H, Covaci A. Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 2009a;157:123–9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18789832>.
- Van Nuijs A, Tarcomnicu I, Bervoets L, Blust R, Jorens PG, Neels H, Covaci A. Analysis of drugs of abuse in wastewater by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry* 2009b;395:819–28. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19685341>.
- Pedrouzo M, Borrull F, Pocurull E, Marcé RM. Drugs of abuse and their metabolites in waste and surface waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of separation science* 2011;34:1091–101. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21491600>.
- Postigo C, López de Alda MJ, Barceló D. Drugs of abuse and their metabolites in the Ebro River basin: occurrence in sewage and surface water, sewage treatment plants removal efficiency, and collective drug usage estimation. *Environment international* 2009;36:75–84. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19913915>.

- Terzic S, Senta I, Ahel M. Illicit drugs in wastewater of the city of Zagreb (Croatia)--estimation of drug abuse in a transition country. *Environmental pollution* (Barking, Essex : 1987) 2010;158:2686–93. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20510491>.
- Thomas K V, Bijlsma L, Castiglioni S, Covaci A, Emke E, Grabic R, et al. Comparing illicit drug use in 19 European cities through sewage analysis. *The Science of the total environment* 2012;432:432–9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22836098>.
- UNODC. *World Drug Report 2012*. Vienna, Austria; 2012. Available at: https://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR2012/WDR_2012_web_small.pdf.
- Zuccato E, Castiglioni S. Illicit drugs in the environment. *Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences* 2009;367:3965–78. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19736230>.
- Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R. Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environmental health perspectives* 2008;116:1027–32. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2516581&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, Calamari D, Bagnati R, Schiarea S, Fanelli R. Cocaine in surface waters : a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environmental Health* 2005;7:1–7.

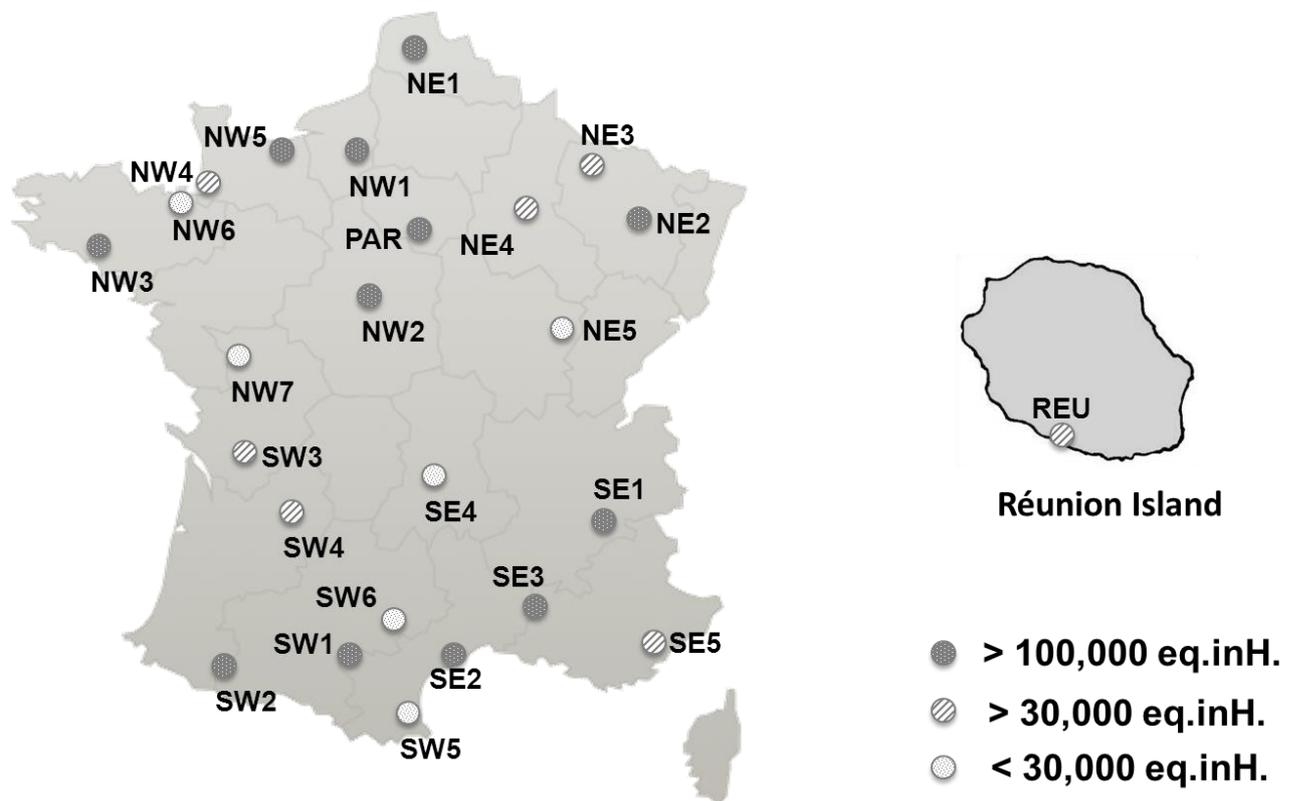


Figure 1 – Location of investigated STPs.

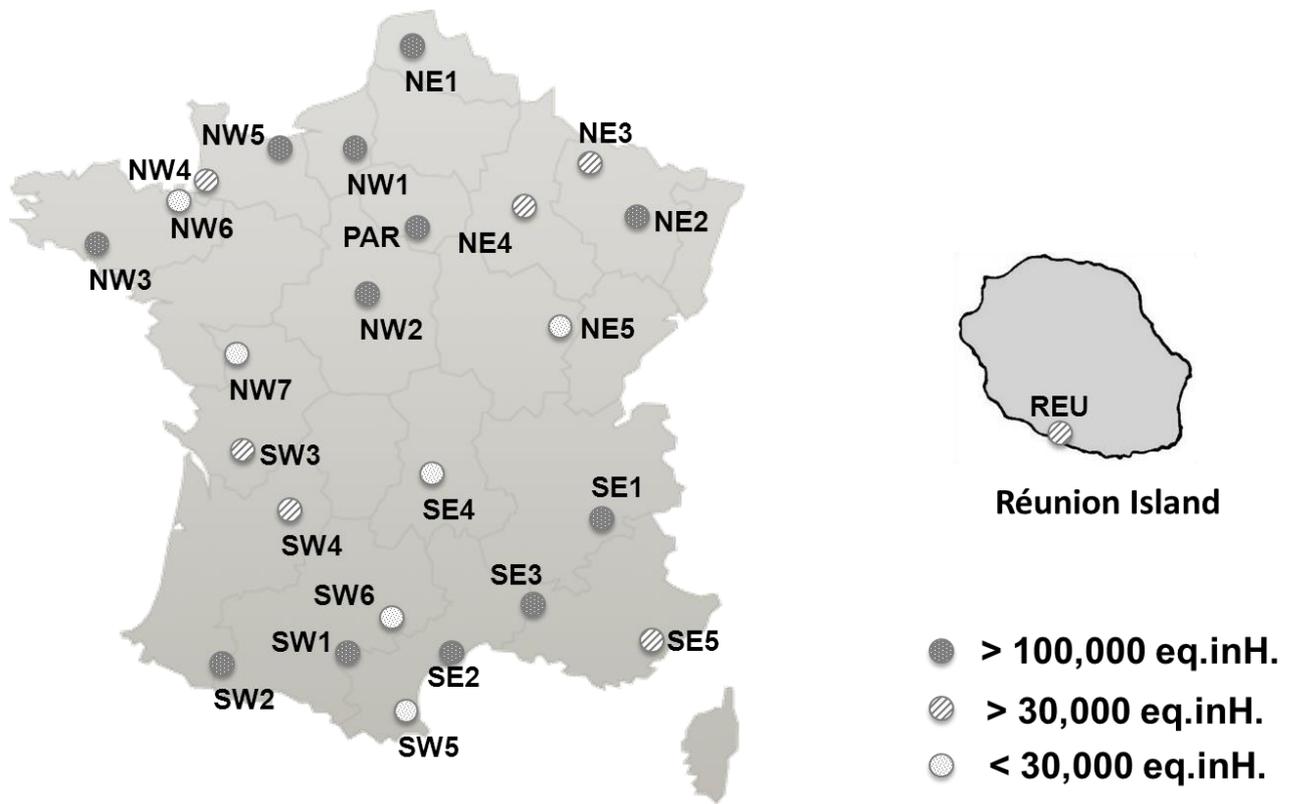


Figure 1 – Location of investigated STPs.

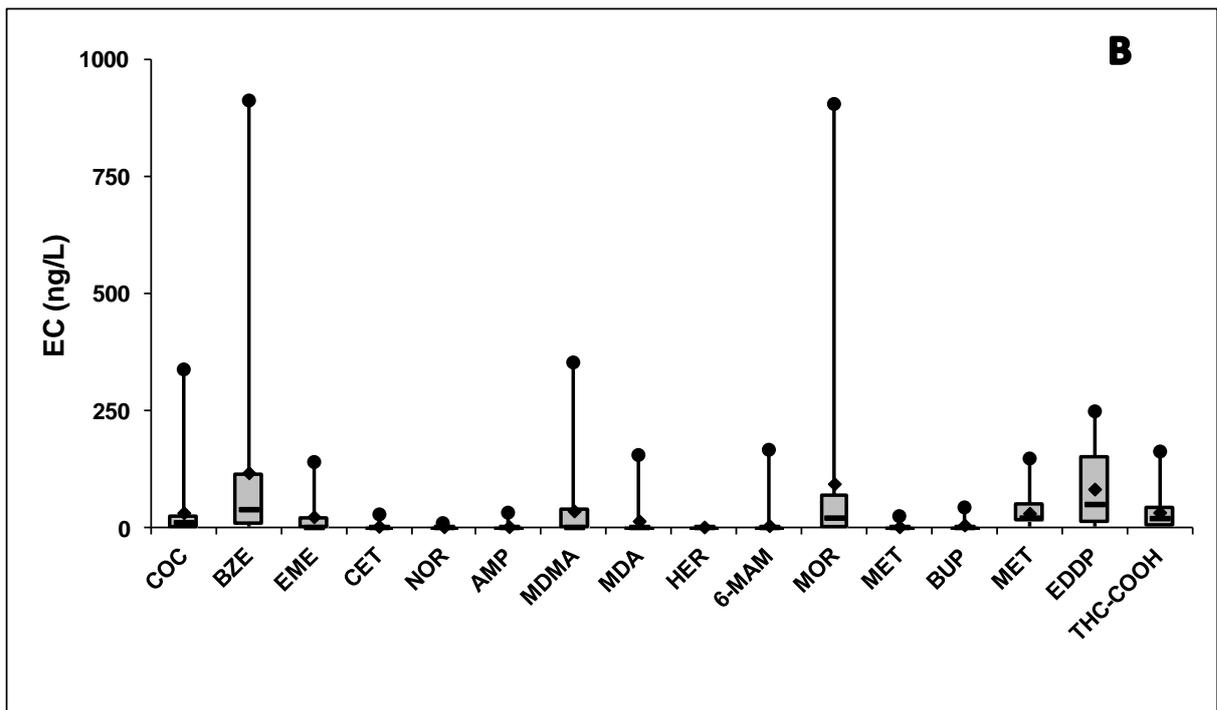
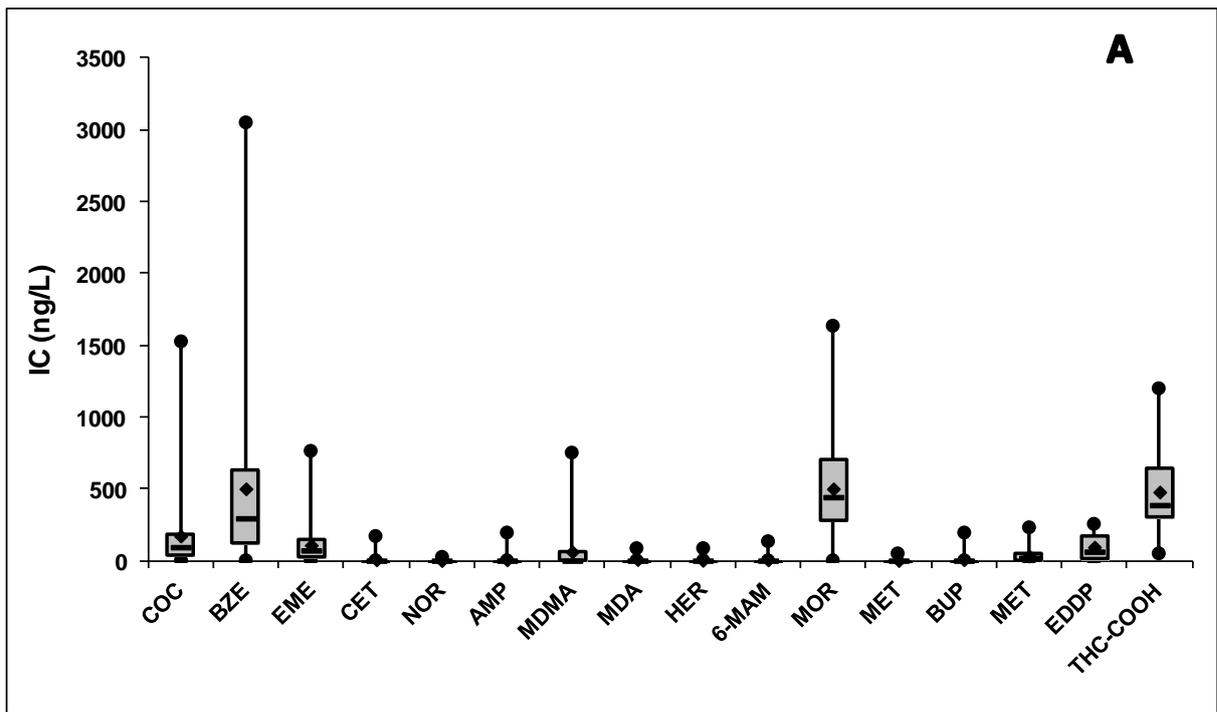


Figure 2 - Box-plot representation of influent (A) and effluent (B) concentrations observed in the 25 STP. For graphic drawing, “no detectable” values have been taken as “0” and “<LOQ” values have been taken as the half of LOQ value for each compound. ♦ mean, — median level.

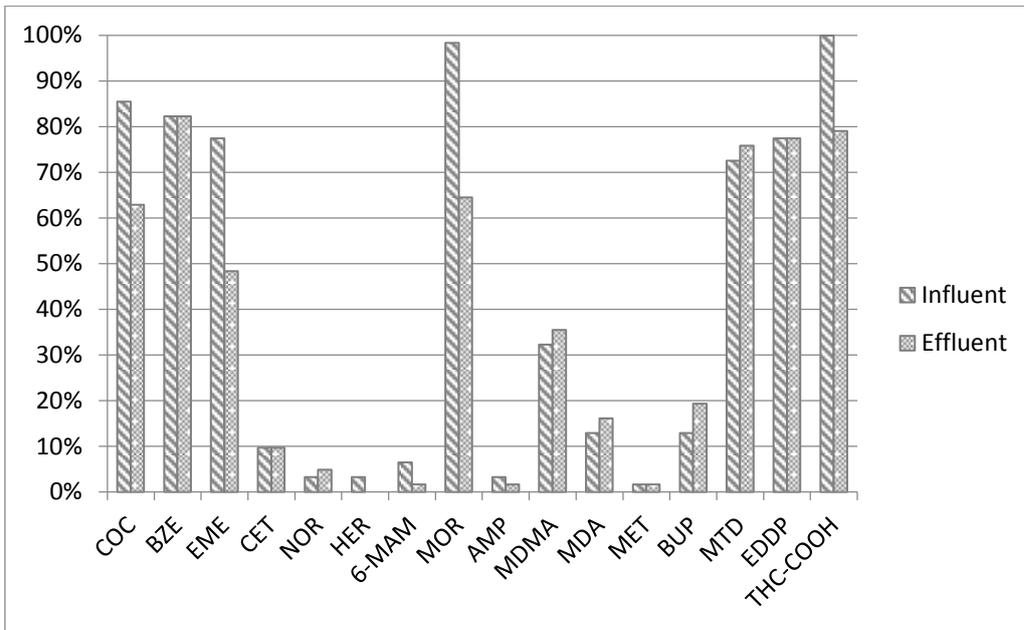


Figure 3 – Frequency of detected analytes in sewage water samples.

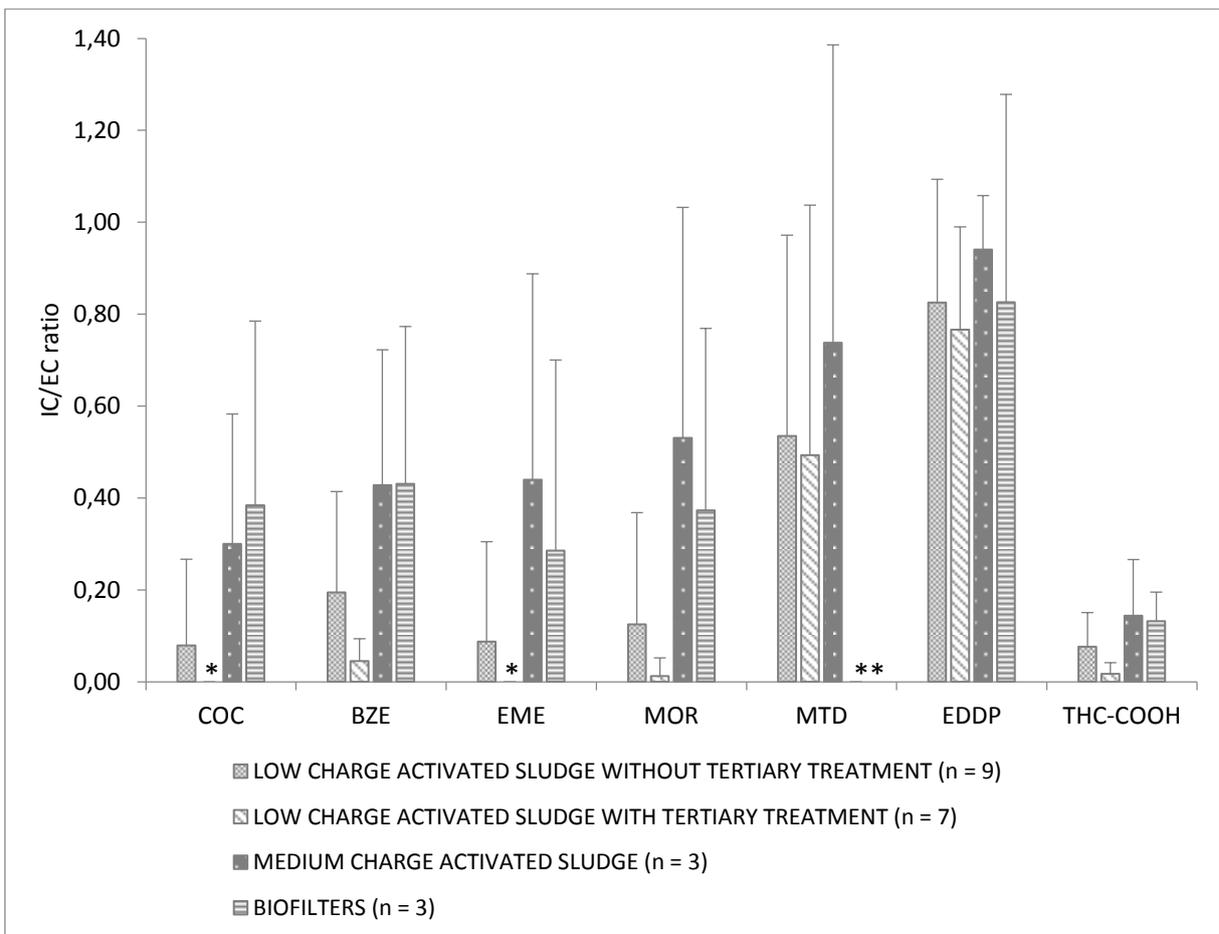
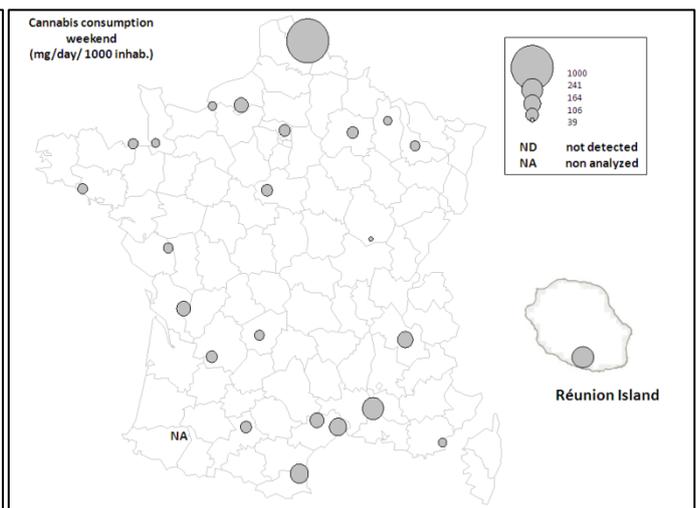
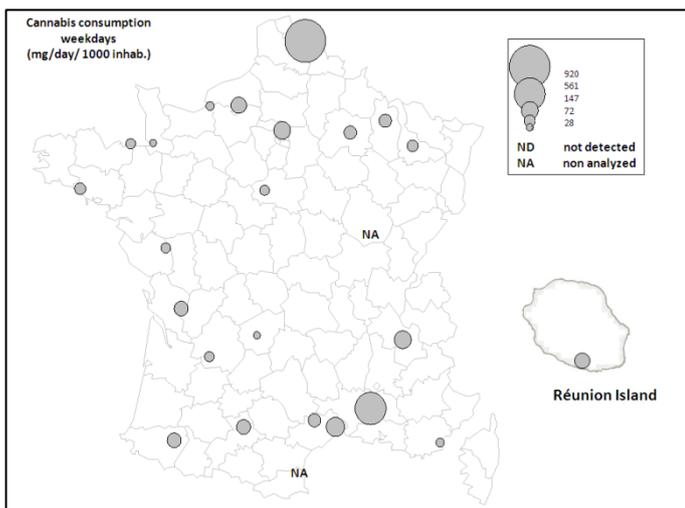
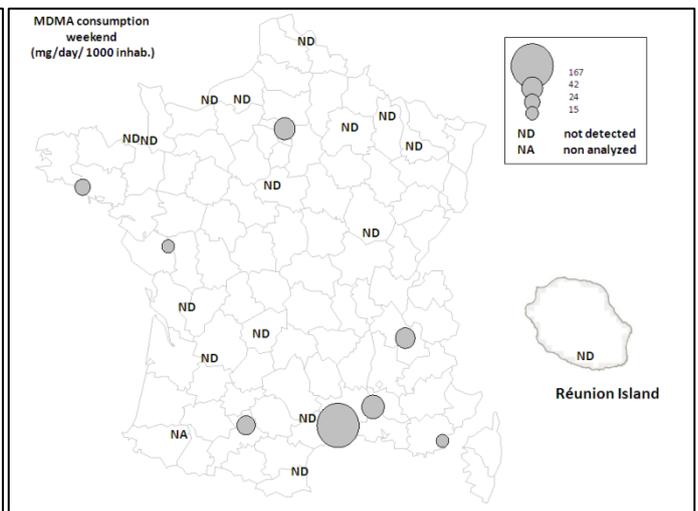
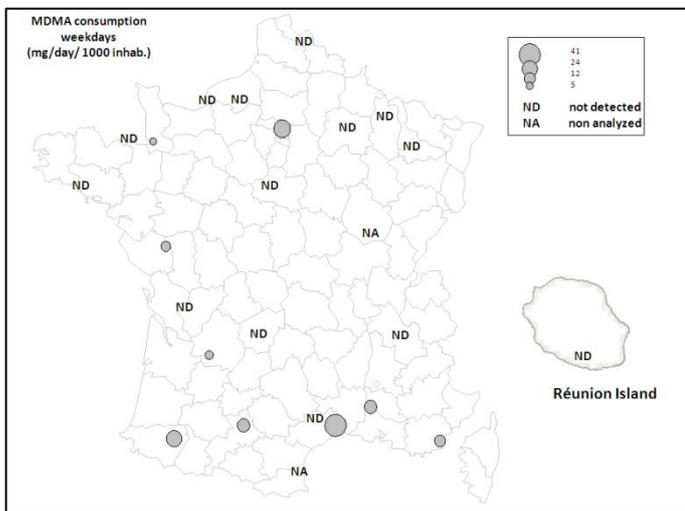
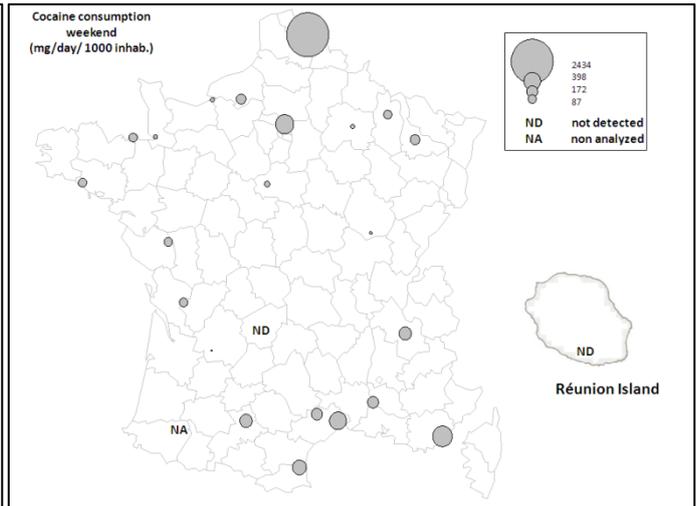
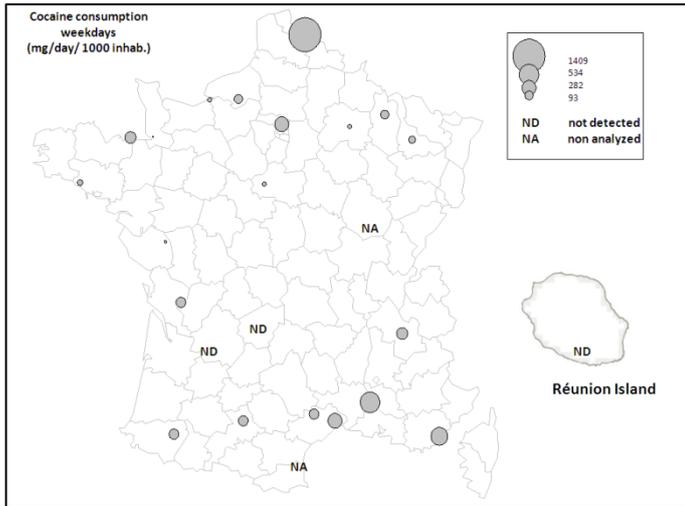


Figure 4 – Mean IC/EC ratio depending on STP treatments.

* IC/EC ratio = 0, COC and EME were never detected in effluent samples of STPs with LAS with tertiary treatment technologies.

** IC/EC not calculated, MTD was not detected or the concentrations were below the LOQ in samples of STPs with biofilters technologies.



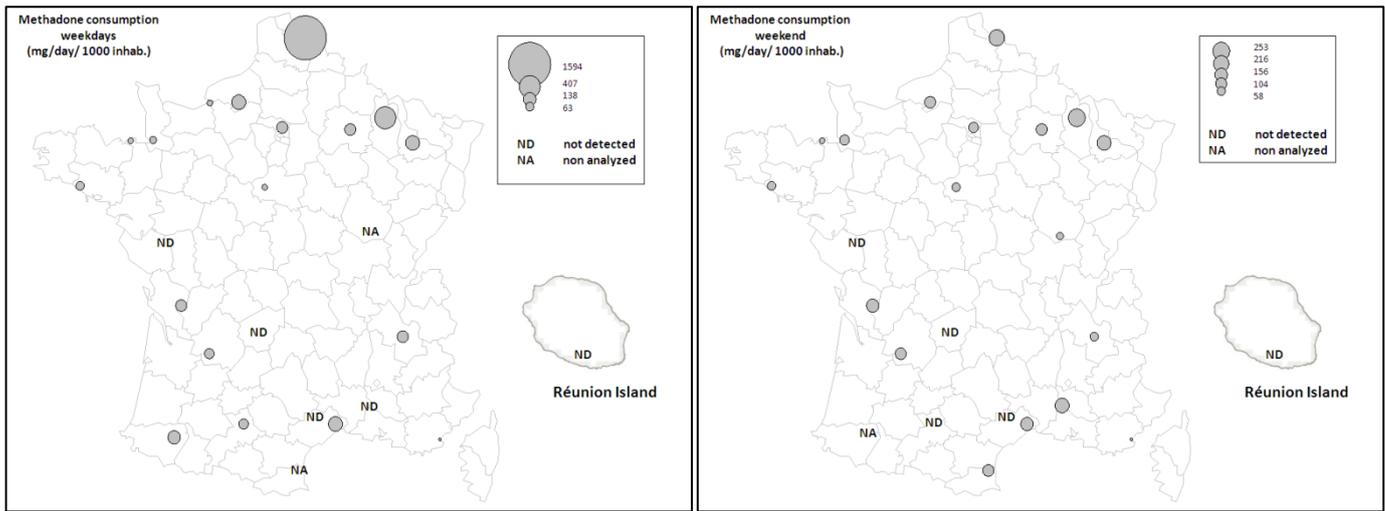


Figure 5 – Maps of illicit drugs and methadone consumption in France based on sewage water analysis. Made with CoucouCarto: <http://coucoucarto.free.fr>

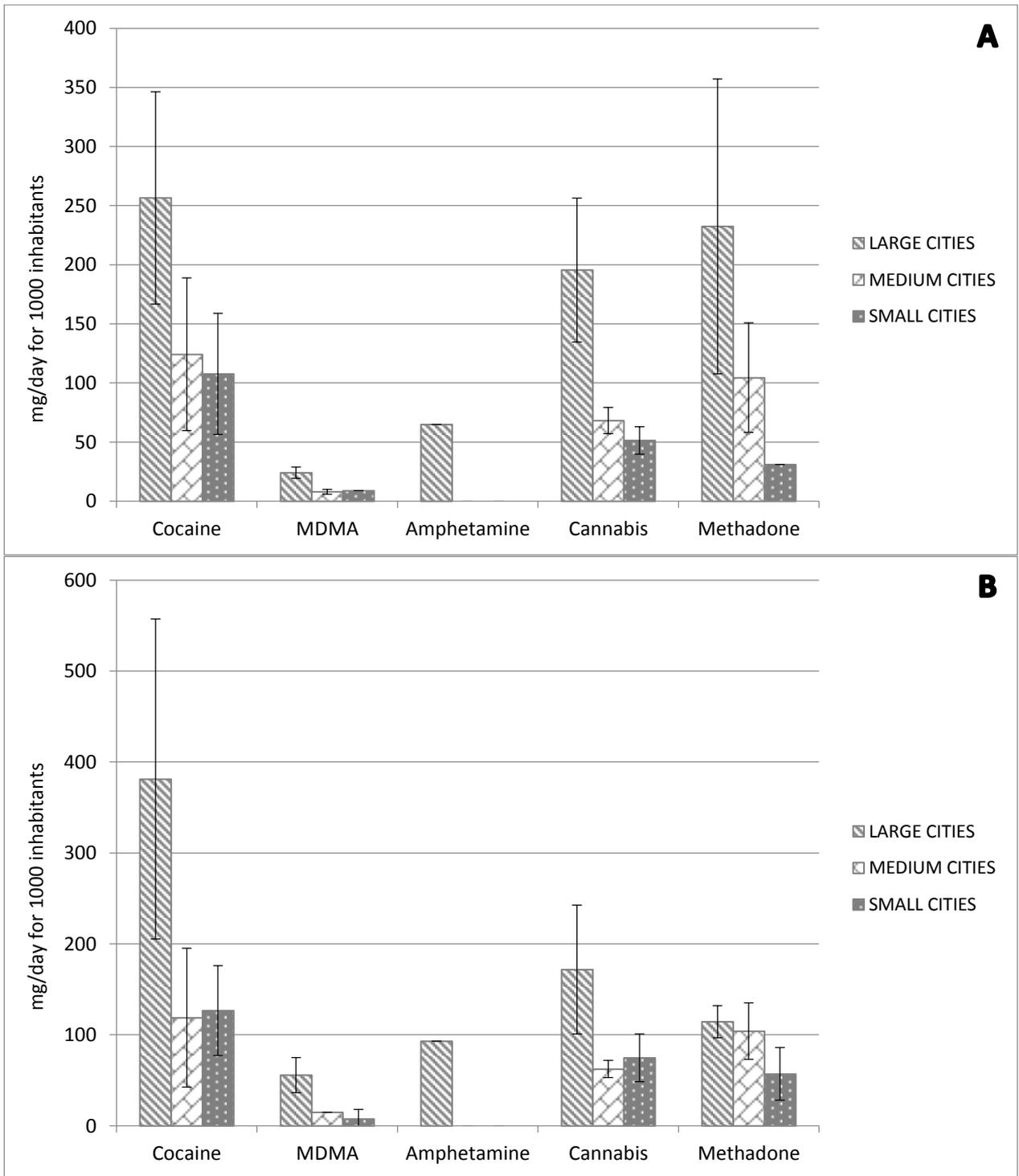


Figure 6 – Mean \pm SEM rates of drug consumption depending on the size of cities. A=during week, B=during weekend.

Table 1 - Characteristics of the investigated sewage treatment plants.

Code	Design capacity (Eq. Inh.)	Type of treatment	Tertiary treatment
NE1	188,333	low-load activated sludge – extended aeration	None
NE2	650,000	medium-load activated sludge	None
NE3	36,300	Low-load activated sludge - extended aeration	None
NE4	99,200	low-load activated sludge	Biological dephosphatation
NE5	22,000	low-load activated sludge – extended aeration	None
NW1	550,000	No data	No data
NW2	400,000	low-load activated sludge - extended aeration	Physical and chemical dephosphatation
NW3	160,000	low-load activated sludge	Biological dephosphatation Biological nitrification
NW4	40,000	membrane bioreactor	Biological and chemical dephosphatation Biological nitrification
NW5	115,000	membrane bioreactor	None
NW6	12,000	activated sludge	Physical and chemical dephosphatation
NW7	13,417	low-load activated sludge - extended aeration	None
PAR	372,000	activated sludge	Biological nitrification and denitrification
SE1	500,000	biofiltration	None
SE2	466,667	medium-load activated sludge	Physical and chemical dephosphatation
SE3	177,167	low-load activated sludge	None
SE4	20,000	low-load activated sludge	Biological nitrification
SE5	40,000	Biofiltration	None
SW1	950,000	medium-load activated sludge + biofiltration	Biological nitrification Biological dephosphatation
SW2	190,000	low-load activated sludge - extended aeration	Biological nitrification/denitrification
SW3	35,000	low-load activated sludge	None
SW4	50,000	No data	UV disinfection
SW5	14,000	low-load activated sludge	None
SW6	13,250	low-load activated sludge	None
REU	80,000	high-load activated sludge	None

high-load activated sludge corresponds to F/M ratio between 0.50 and 1.50 kg BOD/kg SS (suspended solids) and a mean retention time of 2.4h.

medium-load activated sludge corresponds to F/M ratio between 0.25 and 0.50 kg BOD/kg SS and a mean retention time of 4h.

low-load activated sludge corresponds to F/M ratio between 0.10 and 0.25 kg BOD/kg SS and a mean retention time of 8h.

low-load activated sludge with extended aeration corresponds to F/M ratio < 0.10 kg BOD/kg SS and a mean retention time of 20h.

Table 2 - Selected analytes, HPLC and optimized MRM conditions.

Molecules	Retention Time (min)	Mode	Precursor	Quantification ion		Qualification ion	
				Transition	E _{col} (eV)	Transition	E _{col} (eV)
Ecgonine methyl ester	2.12	+	200.06	182.09	18	82.22	25
Ecgonine methyl ester-D3	2.12	+	203.08	185.12	16		
Morphine	7.79	+	286.13	152.11	58	165.13	35
Morphine-D6	7.73	+	292.16	165.10	42		
Amphetamine	9.59	+	136.13	91.22	17	119.18	6
Methamphetamine	10.15	+	150.21	91.23	20	119.21	10
Methamphetamine-D5	10.10	+	155.22	92.20	19		
MDA	9.93	+	180.10	105.20	22	135.13	19
MDA-D5	9.91	+	185.11	110.21	22		
MDMA	10.38	+	194.11	135.12	19	105.24	22
MDMA-D5	10.36	+	199.13	135.19	19		
Benzoylcegonine	10.56	+	290.11	168.10	18	105.12	29
Benzoylcegonine-D3	10.55	+	293.13	105.15	33		
6-Monoacetylmorphine	10.10	+	328.08	164.99	34	211.05	26
6-Monoacetylmorphine - MDEA	10.14	+	331.10	165.01	38		
MDEA	10.98	+	208.04	163.11	13	135.12	22
MDEA-D5	10.96	+	213.12	163.11	13		
Norcocaine	12.71	+	290.11	168.14	14	136.17	21
Cocaine	12.69	+	304.12	182.15	19	82.26	33
Cocaine-D3	12.68	+	307.14	85.38	35		
Heroin	12.18	+	370.10	268.01	27	165.01	47
Heroin-D9	12.13	+	379.15	165.19	45		
Cocaethylene	13.60	+	318.09	82.22	31	196.08	18
Cocaethylene-D8	13.62	+	326.17	85.23	31		
Buprenorphine	14.95	+	468.31	396.20	40	414.26	34
Buprenorphine-D4	14.90	+	472.27	400.13	37		
EDDP	15.76	+	278.11	234.06	30	249.08	23
EDDP-D3	15.75	+	281.13	234.05	30		
Methadone	16.44	+	310.14	265.06	13	105.12	31
Methadone-D3	16.43	+	313.15	268.06	13		
THC-COOH	19.86	-	343.12	299.10	23	245.00	31
THC-COOH-D3	19.84	-	346.14	248.14	28		

Table 3 - Analytical drug target residues (DTR) selected for illicit drug monitoring in wastewater

Drug	DTR	Relation of DTR to parent drug	Percentage of drug excreted as DTR	Molar ratio (parent drug / DTR)	Correction factor
Cocaine	Benzoylcegonine	Major metabolite	45	1.05	2.33
MDMA	MDMA	Parent drug and major excretion product	65	1.0	1.5
Amphetamine	Amphetamine	Parent drug and major excretion product	30	1.0	3.3
Cannabis	THC-COOH	Major metabolite	0.6	0.91	152
Methadone	EDDP	Major metabolite	13	0.82	6.3

Table 4 – Analytical validation data

Molecules	Recovery (%) (400 ng/L)	Efficiency (%) (400 ng/L)	Linearity (r²)	Intra-run precision (%)	LOQ (ng/L)
Cocaine	107	36	0.999	2.42	20
Benzoylcegonine	119	54	1.000	0.52	10
Ecgonine methylester	110	24	0.997	3.58	40
Norcocaine	105	34	0.994	2.35	20
Cocaéthylène	109	41	0.999	4.02	5
Amphetamine	104	37	0.999	1.56	10
MDMA	113	23	0.997	2.97	20
MDEA	110	23	0.999	2.04	20
MDA	103	36	0.999	3.67	20
Heroin	121	82	0.999	1.33	40
6-monoacetylmorphine	124	37	0.999	3.79	40
Morphine	79	64	0.999	18.8	40
Methadone	92	37	0.999	6.69	40
EDDP	103	66	0.999	7.38	5
Buprenorphine	109	93	0.999	4.57	40
THC-COOH	61	57	0.998	14.41	5

Intra-run precision : three times analyses of a 400 ng/L spiked wastewater sample

Linearity range : 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/L

Table 5 – Illicit drugs and methadone consumption in different cities in France based on sewage water analysis.

	Consumption in mg/day/1,000 inhabitants									
	Cocaine		MDMA		Amphetamine		Cannabis		Methadone	
	weekdays	weekend	weekdays	weekend	weekdays	weekend	weekdays	weekend	weekdays	weekend
NW1	99	127	NC	NC	NC	NC	123	116	172	116
NW2	18	37	NC	NC	NC	NC	62	79	30	59
NW3	47	91	NC	24	NC	NC	74	59	63	62
NW4 - 1	-	23	-	NC	-	NC	31	49	55	85
NW4 - 2	3	13	5	NC	NC	NC	33	32	24	NC
NW5	29	23	NC	NC	NC	NC	34	45	32	58
NW6	175	87	NC	NC	NC	NC	47	50	31	29
NW7	7	95	9	15	NC	NC	48	51	NC	NC
NE1	1,409	2,434	NC	NC	NC	NC	920	999	1,594	216
NE2	74	115	NC	NC	NC	NC	72	58	175	190
NE3	93	106	NC	NC	NC	NC	81	43	407	253
NE4	30	24	NC	NC	NC	NC	94	69	126	117
PAR 1	387	548	26	61	NC	NC	185	111	148	78
PAR 2	197	328	NC	23	NC	NC	110	23	72	89
SW1 - 1	130	-	NC	-	NC	-	134	-	94	-
SW1 - 2	161	216	14	30	NC	NC	68	73	NC	NC
SW2	150	-	24	-	NC	-	102	-	138	-
SW3	128	91	NC	NC	NC	NC	108	111	124	136
SW4	NC	6	7	NC	NC	NC	57	70	86	111
SW5	-	267	-	NC	-	NC	-	176	-	104
SW6	141	177	NC	NC	NC	NC	83	106	-	-
SE1 - 1	140	196	NC	NC	NC	NC	145	147	110	65
SE1 - 2	191	270	NC	35	NC	NC	148	119	NC	NC
SE2	282	398	41	167	65	93	195	164	161	156
SE3	534	172	16	50	NC	NC	561	241	NC	170
SE4	NC	NC	NC	NC	NC	NC	28	57	NC	NC
SE5	367	568	12	15	NC	NC	41	39	9	4
REU	NC	NC	NC	NC	NC	NC	100	85	5	23

NC: not calculated

Corrigendum to “Presence of illicit drugs and metabolites in influents and effluents of 25 sewage water treatment plants and map of drug consumption in France”
[*Sci. Total Environ.* 461–462 (2013) 712–722]

Thomas Nefau^{a, b}, Sara Karolak^a, Luis Castillo^b, Véronique Boireau^b, Yves Levi^a

^a *Univ. Paris Sud/UMR CNRS 8079, Public Health & Environment Group, France.*

^b *Veolia Environment Research and Innovation, Maisons-Laffitte, France.*

Dear readers,

First, we would like to apologize about some mistakes that we have missed in our published article. They concern the cannabis consumption data but without impact on the interpretations. Nevertheless, please refer to the corrigendum concerning the cannabis consumption that we now prefer to name THC consumption.

Consequently the figures 5 and 6 and the table 5 have been changed for the THC (cannabis) consumption values.

Please note that the supplementary files S1 and S2 have also been changed.

Cannabis / THC

THC rates of consumption range from 3 to 92 g/day/1000 inh. during the week and from 3 to 100 g/day/1000 inh. during the weekend. The difference in consumption between weekdays and the weekend is not significant (Student, $p > 5\%$).

Two cities, NE1 and SE3, stand out from the others with consumption of respectively 100 and 24 g/day/1000 inh. during the weekend and 92 and 56 g/day/1000 inh. during the week. The values of THC consumption in the other cities are lower but relatively high, between 3 and 20 g/day/1000 inh., corresponding to loads of THC-COOH in influent between 18 and 129 mg/day/1000 inh. These values are close to the ones estimated in Spain and Netherlands which seems to be the places where THC consumption is the most significant in Europe with loads of THC-COOH between 100 and 200 mg/day/1000 inh. (Thomas et al., 2012). The highest THC consumption values are observed in NE1 and SE3 where THC-COOH loads measured could be more than 2 times higher than in Amsterdam (200 mg/day/1000 inh.). The sample from city SE3 was taken during a famous summer drama art festival and NE1 city stands close to the northern border, in area where consumption of other drugs (cocaine and MDMA) also appears sizeable. Our observations are in agreement with cannabis use statistics reported by EMCDDA (2012) which concludes that French people are the leading consumers of cannabis in Europe. The consumption of this drug remains unchanging between cities even if the highest rates are observed in the places where consumptions of cocaine and MDMA are also the highest, except for city SE5 where cannabis consumption is quite low compared to the other cities. However, the lack of weekend effect corroborates the fact that cannabis is not a festive drug such as cocaine or MDMA.

Consequently, the highest rates of consumption are observed as THC > COC > METD and not as COC > METD > cannabis as mentioned in paragraph 3.5.

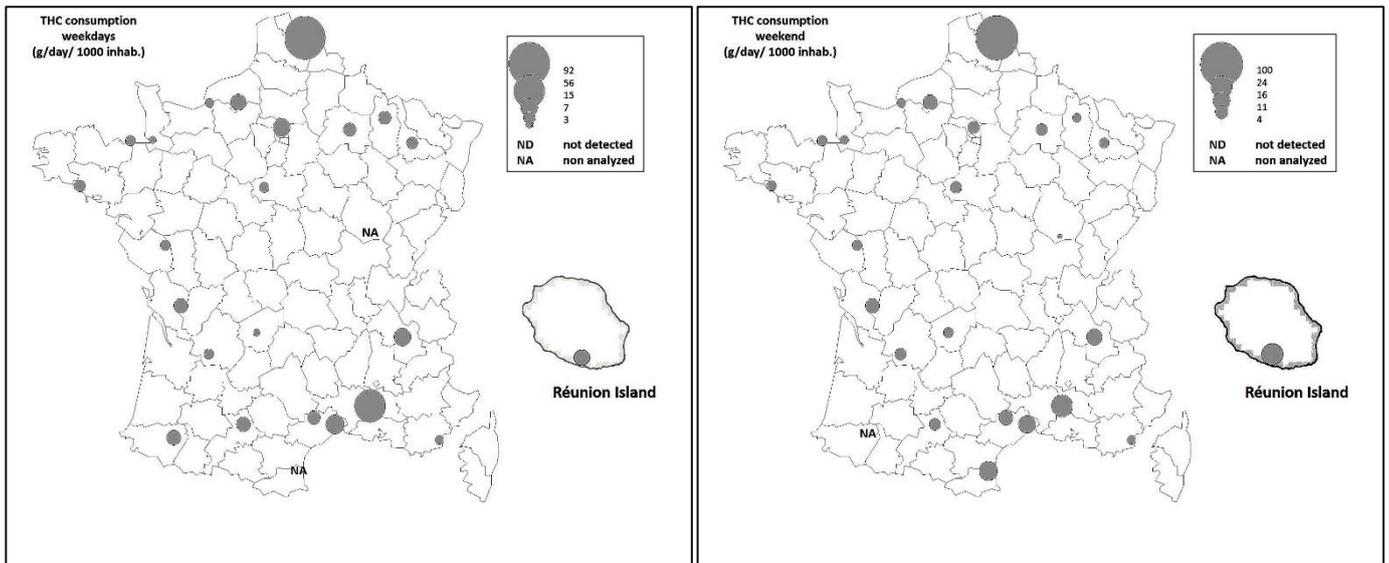


Figure 5 – Maps of THC consumption in France based on sewage water analysis. Made with CoucouCarto: <http://coucoucarto.free.fr>.

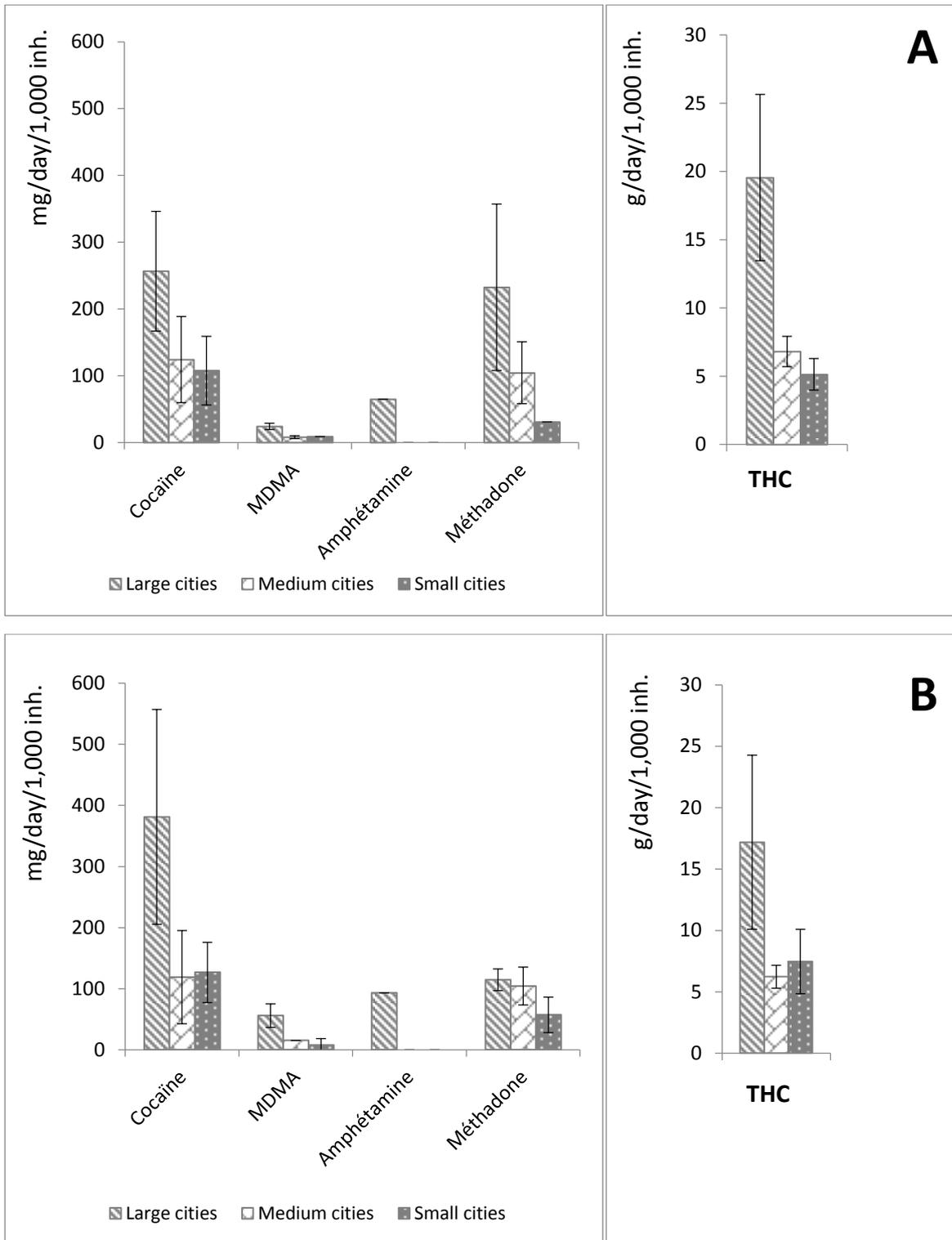


Figure 6: Mean \pm SEM rates of drug consumption depending on the size of cities. A = during week, B = during weekend.

Table 5 – Illicit drugs and methadone consumption in different cities in France based on sewage water analysis.

	in mg/day/1,000 inh.								in g/day/1,000 inh.	
	Cocaine ^a		MDMA ^a		Amphetamine ^a		Methadone ^a		THC	
	weekdays	weekend	weekdays	weekend	weekdays	weekend	weekdays	weekend	weekdays	weekend
NW1	99	127	NC	NC	NC	NC	172	116	12	12
NW2	18	37	NC	NC	NC	NC	30	59	6	8
NW3	47	91	NC	24	NC	NC	63	62	7	6
NW4 - 1	-	23	-	NC	-	NC	55	85	3	5
NW4 - 2	3	13	5	NC	NC	NC	24	NC	3	3
NW5	29	23	NC	NC	NC	NC	32	58	3	5
NW6	175	87	NC	NC	NC	NC	31	29	5	5
NW7	7	95	9	15	NC	NC	NC	NC	5	5
NE1	1,409	2,434	NC	NC	NC	NC	1,594	216	92	100
NE2	74	115	NC	NC	NC	NC	175	190	7	6
NE3	93	106	NC	NC	NC	NC	407	253	8	4
NE4	30	24	NC	NC	NC	NC	126	117	9	7
PAR 1	387	548	26	61	NC	NC	148	78	19	11
PAR 2	197	328	NC	23	NC	NC	72	89	11	13
SW1 - 1	130	-	NC	-	NC	-	94	-	13	-
SW1 - 2	161	216	14	30	NC	NC	NC	NC	7	7
SW2	150	-	24	-	NC	-	138	-	10	-
SW3	128	91	NC	NC	NC	NC	124	136	10	11
SW4	NC	6	7	NC	NC	NC	86	111	6	7
SW5	-	267	-	NC	-	NC	-	104	-	18
SW6	141	177	NC	NC	NC	NC	-	-	8	11
SE1 - 1	140	196	NC	NC	NC	NC	110	65	15	15
SE1 - 2	191	270	NC	35	NC	NC	NC	NC	15	12
SE2	282	398	41	167	65	93	161	156	20	16
SE3	534	172	16	50	NC	NC	NC	170	56	24
SE4	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	3	6
SE5	367	568	12	15	NC	NC	9	4	4	4
REU	NC	NC	NC	NC	NC	NC	5	23	10	9

NC: not calculated

Résumé

Les drogues illicites consommées sont éliminées sous forme inchangée ou métabolisée dans les urines et/ou les fèces et rejoignent le réseau d'égout. La quantification de ces produits d'élimination dans les eaux usées présente un double intérêt : d'une part, permettre d'évaluer la contamination des milieux naturels par ces composés et d'autre part, contribuer à l'estimation de la consommation de drogues illicites dans une population dépendant d'un même bassin collecteur des eaux usées urbaines. Des méthodes analytiques adaptées à la charge organique complexe des eaux usées ont été développées et validées pour évaluer les niveaux de contamination des affluents et effluents de 26 stations d'épuration en France pour dix-sept composés (drogues illicites et métabolites). Les résultats d'analyses ont permis d'évaluer les taux d'élimination de ces composés en fonction des technologies de traitement utilisées dans les stations d'épuration. Les concentrations mesurées dans les affluents ont été utilisées pour estimer les consommations de drogues illicites par un calcul en retour et ont montré des différences qualitatives et quantitatives de consommation de stupéfiants entre zones urbaines en France métropolitaine et en Outre-mer. Dans une dernière partie, des études de toxicologie sur un modèle bactérien et des études comportementales sur un modèle animal ont été conduites à des niveaux de concentrations proches des teneurs relevées en eau de surface et aucun effet notable n'a été observé.

Mots clés : eaux usées, drogues illicites, épuration, station d'épuration, consommation, écotoxicologie

Abstract

Illicit drugs are metabolized or eliminated unchanged in the urine and/or feces then join the sewer system. The quantification of these products in wastewater disposal has two advantages: firstly, to assess the contamination of the environment and also contribute to the estimation of illicit drug consumption in a catchment. Analytical methods adapted to the complex organic load of wastewater have been developed and validated to assess the levels of contamination of influents and effluents from 26 sewage treatment plants in France for seventeen compounds (illicit drugs and metabolites). The results of the analysis were used to evaluate the elimination of these compounds depending on the treatment technologies used in wastewater treatment plants. Concentrations in the influent were used to estimate the illicit drug consumption by back calculation and showed qualitative and quantitative differences of drug use among urban areas in metropolitan France and overseas. In the last part, toxicology studies on a bacterial model and behavioural studies with an animal model have been conducted with concentration levels close to the levels found in surface water and no significant effect was observed.

Keywords : wastewater, illicit drugs, removal, sewage treatment plant, consumption, ecotoxicology

Laboratoire Santé Publique – Environnement
UMR 8079
Faculté de Pharmacie
5 rue Jean-Baptiste Clément
92290 Châtenay-Malabry

Veolia Environnement Recherche et Innovation
Chemin de La Digue
78600 Maisons-Laffitte