Sara Castiglioni
Mario Negri Institute
Department of Environmental Health Sciences
Laboratory of Nutrition's Toxicology

# Analisi di farmaci e droghe d'abuso in acque reflue e di superficie

Sara Castiglioni, Sonia Carminati, Ettore Zuccato

*Contaminanti emergenti nei fiumi trentini*
Trento, 18 Maggio 2017

# Obiettivi del progetto

**MONITORAGGIO DI CONTAMINANTI EMERGENTI IN ACQUE REFLUE E DI SUPERFICIE PER VALUTARNE IL DESTINO AMBIENTALE**

**STIMA DEL CONSUMO DI DROGHE D'ABUSO E ALCOOL MEDIANTE ANALISI DI METABOLITI URINARI IN ACQUE REFLUE NON TRATTATE**

RACE-TN

VALUTAZIONE DEL RISCHIO AMBIENTALE
DEI CONTAMINANTI EMERGENTI NEI FIUMI TRENTINI

# Contaminanti Emergenti nelle Acque

(Richardson and Kimura, *Anal. Chem.* 2016, 86, 2813-2848)

## Origine Umana ed Industriale

**Prodotti per la cura personale**

**Farmaci**

Ormoni naturali e sintetici
Prodotti di trasformazione

**Droghe d'abuso**

**Microorganismi**

**Tossine algali**

Composti perfluorati(PFCs)
Ritardanti di Fiamma,
Benzotriazolo, Dioxano, Siloxano
Perclorati
Nanomateriali

**Produzione cibi e acque**

Dolcificanti (Sucralosio)
Antimonio da plastiche o prodotti derivati dal petrolio
Prodotti della disinfezione delle acque

**Agricoltura**

Pesticidi e prodotti di trasformazione

# Caratteristiche comuni

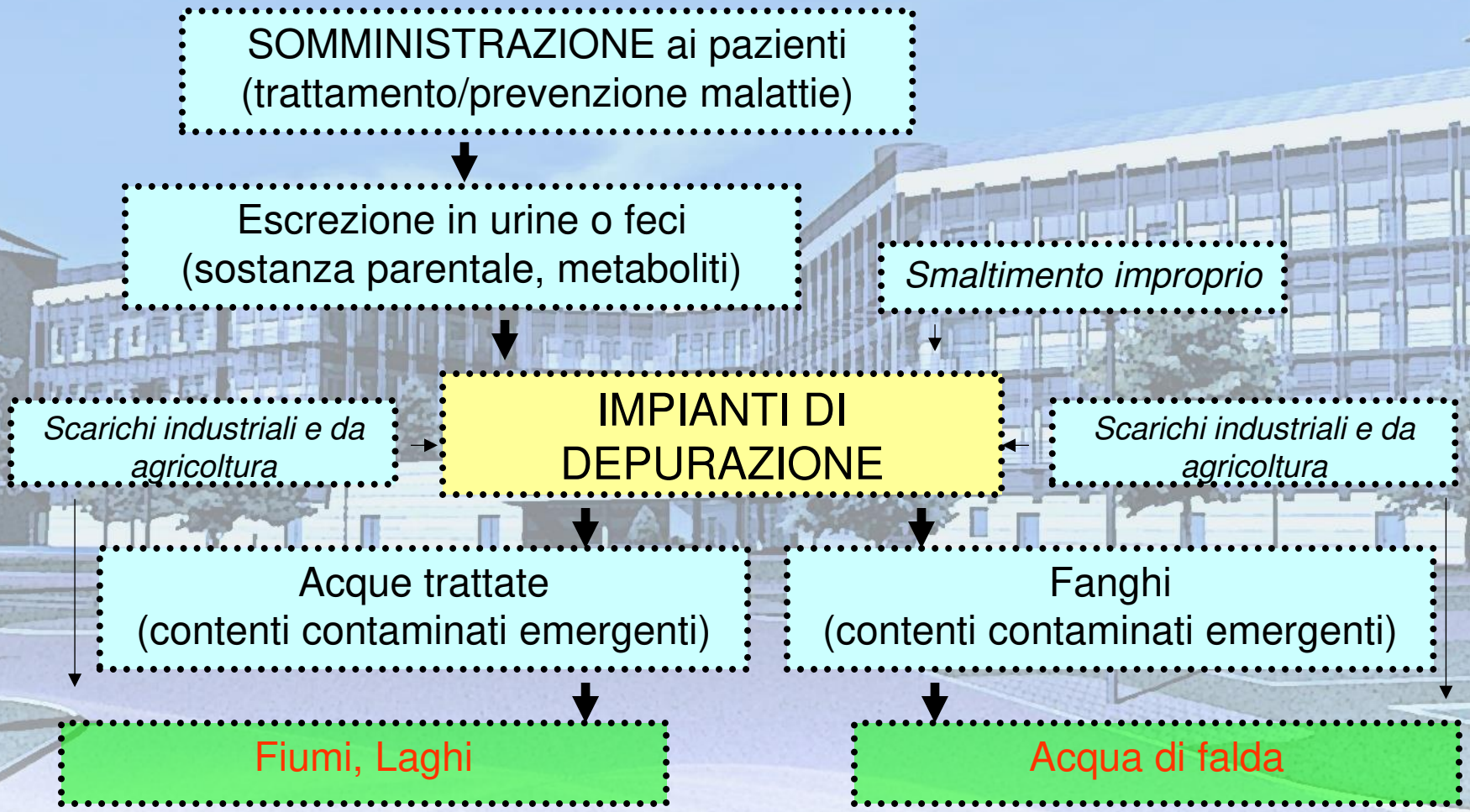
- ✓ Usati in **quantità elevate**
- ✓ **Gruppi eterogenei** di sostanze
- ✓ Scarico **continuo**
- ✓ **Composti polari** (generalmente molecole piccole)
- ✓ Sostanze **biologicamente attive**
- ✓ **Miscele complesse** – potenziali **effetti tossici**
- ✓ **Non regolate** dalla legislazione vigente

ISTITUTO DI RICERCHE FARMACOLOGICHE MARIO NEGRI IRCCS

RACE-TN
VALUTAZIONE DEL RISCHIO AMBIENTALE DEI CONTAMINANTI EMERGENTI NEI FIUMI TRENTINI

# Fonti di contaminazione ambientale

**Come è possibile trovare queste sostanze nelle acque reflue urbane????**



# Vie di contaminazione ambientale

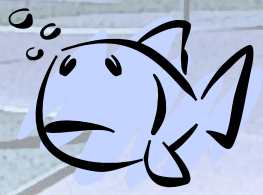
## Farmaci, droghe d'abuso e prodotti per la cura personale

Fonte principale

**L'UOMO**

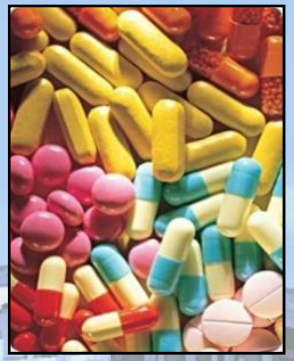
↓

**Effluenti** degli impianti di depurazione



# Contaminanti emergenti

## Farmaci



**First report** in wastewater

**1976 - USA** *(Hignite, Azarnoff, 1977)*

**Systematic** research **'90s**

*(Halling-Sørensen, 1998; Daughton and Ternes, 1999; Zuccato, 2000; Heberer 2002)*

## Droghe d'abuso

**First reports:**

- Amphetamines **2004-USA** *(Jones-Leep, 2004)*
- Cocaine **2005-Italy** *(Zuccato, 2005)*
- Cocaine and metabolites, opioids, amphetamines, cannabinoids **2006-Italy** *(Castiglioni, 2006)*

ISTITUTO DI RICERCHE FARMACOLOGICHE MARIO NEGRI IRCCS

# Studi precedenti su farmaci nell'ambiente

RESEARCH LETTERS

**Presence of therapeutic drugs in the environment**

*Ettore Zuccato, Davide Calamari, Marco Natangelo, Roberto Fanelli*

**Therapeutic drugs can contaminate the environment because of metabolic excretion, improper disposal, or industrial waste. To assess the extent of this contamination, we listed drugs thought to be putative priority pollutants according to selected criteria, and measured them in Lombardy, Italy. Most drugs were measurable in drinking or river waters and sediments, suggesting that pharmaceutical products are widespread contaminants, with possible implications for human health and the environment.**

**The Lancet, 2000, 355, 1789-1790**

**First monitoring** of pharmaceuticals in surface and drinking water in Italy

**Strategic Survey of Therapeutic Drugs in the Rivers Po and Lambro in Northern Italy**

DAVIDE CALAMARI,*,† ETTORE ZUCCATO,‡ SARA CASTIGLIONI,†,‡ RENZO BAGNATI,‡ AND ROBERTO FANELLI‡

*Department of Structural and Functional Biology, University of Insubria, Via J.H. Dunant 3, 21100 Varese, Italy, and Department of Environmental Health Sciences, Mario Negri Institute for Pharmacological Research, via Eritrea 62, 20157 Milan, Italy*

**Environmental Science and Technology, 2003, 37, 1241-1248**

**Mass balance** study of pharmaceuticals in the main rivers in Italy

**Removal of Pharmaceuticals in Sewage Treatment Plants in Italy**

SARA CASTIGLIONI,†,‡ RENZO BAGNATI,‡ ROBERTO FANELLI,‡ FRANCESCO POMATI,† DAVIDE CALAMARI,† AND ETTORE ZUCCATO*,‡

*Department of Biotechnology and Molecular Sciences, University of Insubria, Via J.H. Dunant 3, 21100 Varese, Italy, and Department of Environmental Health Sciences, Mario Negri Institute for Pharmacological Research, via Eritrea 62, 20157 Milan, Italy*

**Environmental Science and Technology, 2006, 407, 357-363**

**Monitoring behaviour and fate of** pharmaceuticals and antibiotics

Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment

Ettore Zuccato*, Sara Castiglioni, Renzo Bagnati, Manuela Melis, Roberto Fanelli

*Department of Environmental Health Sciences, Mario Negri Institute for Pharmacological Research, Via La Masa 19, 20156 Milan, Italy*

**Journal of Hazardous Materials, 2010, 179, 1042-1048**

# Progetto RACE-TN
# Selezione delle molecole

**FARMACI**
(Castiglioni et al., *J Chrom A.* 2005)

Antibiotici
Antipertensivi
Diuretici
Antinfiammatori
Ansiolitici
Regolatori lipidici
Inibitori della pompa protonica
Antidiabetici
Estrogeni
Antidepressivi
Broncodilatatori
ACE-inibitori
Analgesici
Antistaminici
Antiepilettici

**DROGHE E METABOLITI**
(Castiglioni *et al*., *Anal. Chem.* 2006)

Cocaina
Amfetamine
Metamfetamine
MDMA
Oppiacei
Cannabis
Droghe sintetiche

**ALCOOL**
(Reid et al., Alcohol Clin Exp Res. 2011)

Etilsolfato (metabolita)

# Progetto RACE-TN Campionamento

**23 FEBBRAIO 2016**
(stagione turistica)

**Passo del Tonale e Campodenno (TN)**

Acque reflue* in entrata e in uscita ai depuratori

Acque del Torrente Noce

**26 GIUGNO 2016**
(stagione non turistica)

**Passo del Tonale**

Acque reflue* in entrata e in uscita al depuratore

Acque del Torrente Noce

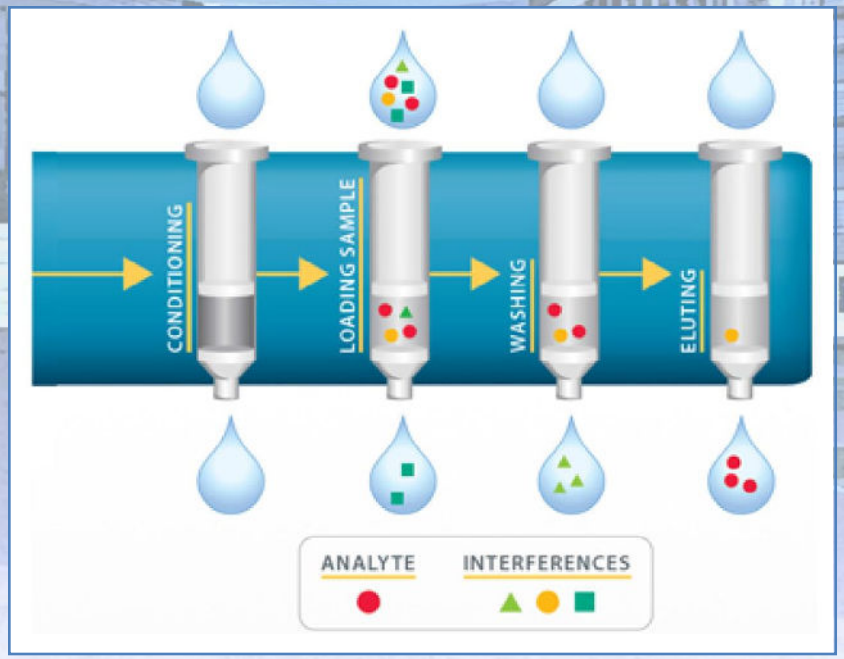
* campioni compositi di 24 ore

# Metodi Analitici

Castiglioni et al., *J Chrom A* 2005; Castiglioni et al., *Anal Chem*, 2006

## Sample preparation

- Filtration (1.6 and 0.45 µm)
- Solid Phase Extraction (SPE)
  Oasis MCX (60 mg)



# Metodi Analitici

Castiglioni et al., *J Chrom A* 2005; Castiglioni et al., *Anal Chem*, 2006

## Analisi HPLC-MS/MS

**Colonna HPLC**: Fase C18
**Spettrometro di massa**: AB-SCIEX API 5500
Triplo quadrupolo, turbo ion spray sorgente

## Analisi e Quantificazione

- Analisi di ioni **positivi e negativi**
- **Analisi in modalità "Selected Reaction Monitoring (SRM)"**
- **Due transizioni** ione precursore/ione prodotto più abbondanti
- **Metodo della diluizione isotopica** usando specific standard marcate

# Risultati – Farmaci nelle acque reflue

**CONCENTRAZIONI MEDIE**
**Acque non trattate**

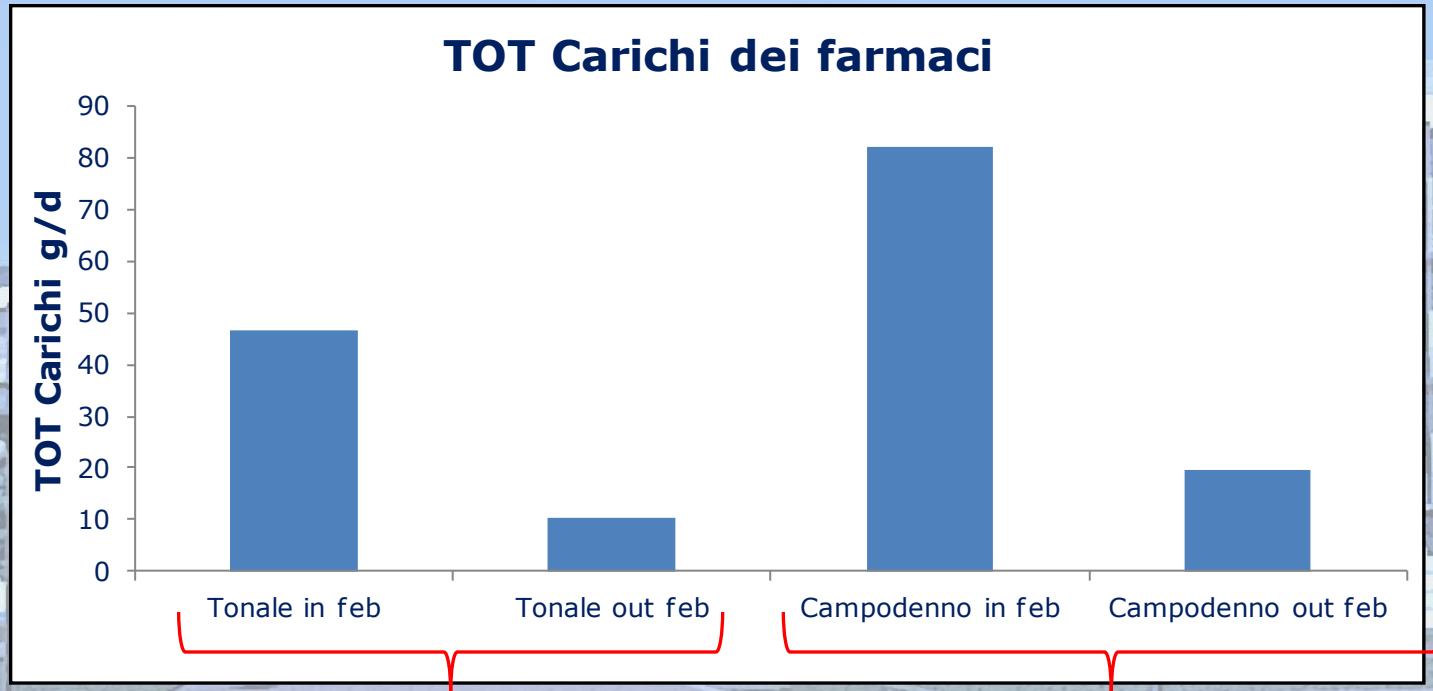
2 composti > 5 µg/L
15 composti 50-1000 ng/L
14 composti 1-45 ng/L
2 composti < LOQ
(gemfibrozil, eritromicina)

**CONCENTRAZIONI MEDIE**
**Acque trattate**

1 composto > 5 µg/L
15 composti 50 - 470 ng/L
Tutti gli altri 2-45 ng/L
Tutti > LOQ

# Risultati – Rimozione dei Farmaci

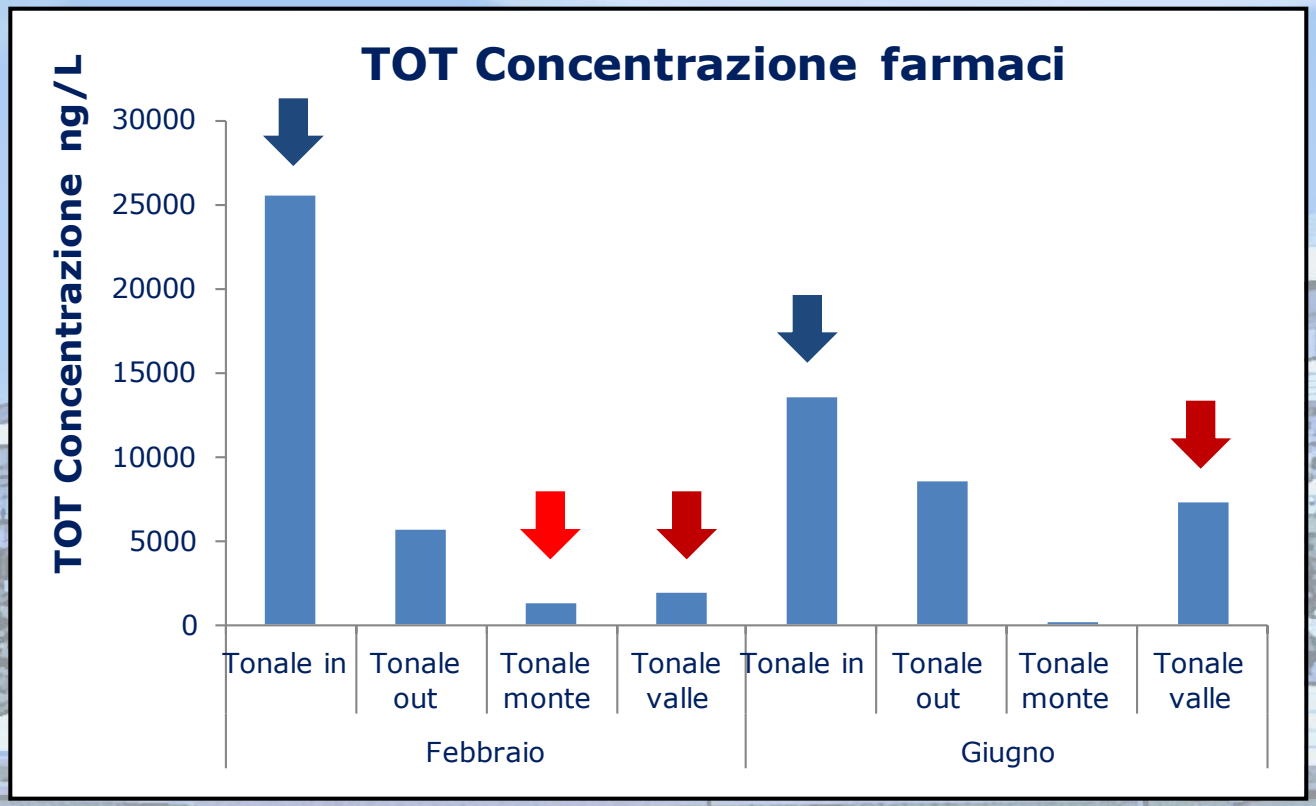
Carichi ottenuti moltiplicando le concentrazioni (ng/L) per la portata ($m^3$/giorno)
e **percentuali di rimozione**




**Buone percentuali di rimozione !!**

# Risultati – Farmaci nelle acque di superficie

## Impatto dei depuratori




Concentrazioni superiori durante la stagione turistica

Presenza di farmaci nel torrente Noce a monte del depuratore
Possibili sversamenti diretti

# Epidemiologia delle acque reflue

**STIMA DEL CONSUMO DI DROGHE D'ABUSO E ALCOOL MEDIANTE ANALISI DI METABOLITI URINARI IN ACQUE REFLUE NON TRATTATE**

Droghe

-cocaina

-cannabis

-eroina

-amfetamine

**CONSUMATORE**

Elimina i residui delle droghe con le urine nelle acque reflue

**DEPURATORE**

Riceve le acque fognarie che contengono i residui delle droghe consumate

**PRELIEVO E ANALISI DELLE ACQUE REFLUE**

Campioni di acque reflue sono prelevati e analizzati con spettrometria di massa

**STIMA DEI CONSUMI**

I residui misurati servono a stimare i consumi di droghe nella popolazione servita dal depuratore

# Epidemiologia delle acque reflue

**Illicit Drugs in Municipal Sewage**

**Proposed New Non-Intrusive Tool to Heighten Public Awareness of Societal Use of Illicit/Abused Drugs and Their Potential for Ecological Consequences**

[also note: *Post-Publication Commentary:* http://www.epa.gov/nerlesd1/chemistry/pharma/book-post.htm]

**Christian G. Daughton**
Chief, Environmental Chemistry Branch, ESD/NERL, Office of Research and Development, Environmental Protection Agency, Las Vegas, NV 89119, USA; e-mail: daughton.christian@epa.gov; 702-798-2207; fax 702-798-2142.

In: Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment. American Chemical Society, Symposium Series 791, 348-364. **2001**

**Environmental Health: A Global Access Science Source**

BioMed Central

Research

Open Access

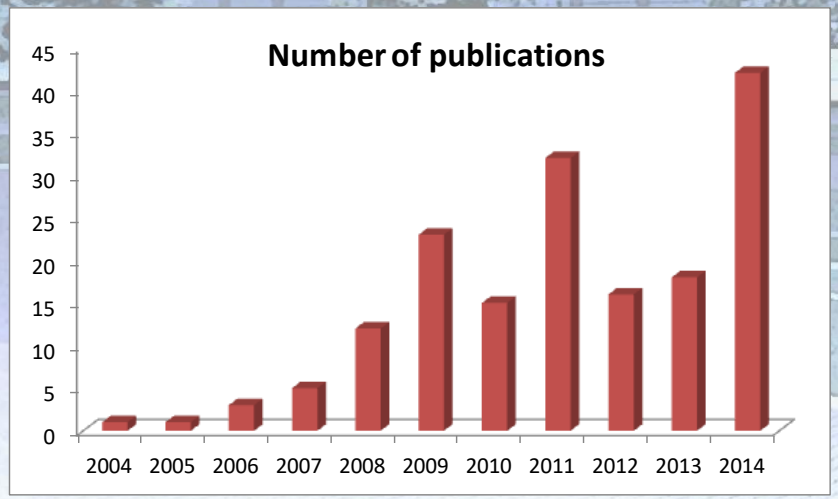
**Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse**

Ettore Zuccato*[1], Chiara Chiabrando[1], Sara Castiglioni[1,2], Davide Calamari[2], Renzo Bagnati[1], Silvia Schiarea[1] and Roberto Fanelli[1]

Zuccato *et al.*, *Environ. Health* 2005

**Prima applicazione** per stimare il consumo di cocaina a partire dalla misurazione del principale metabolita benzoilecgonina

**Numero di pubblicazioni**
è aumentato progressivamente negli anni successivi



# Epidemiologia delle acque reflue

Raccolta di campioni di **acque reflue non trattate**
Campioni compositi medi 24 ore

**Analisi in spettrometria di massa**
Concentrazioni delle **sostanze target**

**Portate Impianti**

**Quantità di sostanza target**
che entra negli impianti giornalmente (mg/giorno)

**Metabolismo umano**

**Quantità di sostanza** consumata dalla popolazione che afferisce al depuratore (mg/giorno/1000 abitanti)

# Epidemiologia delle acque reflue

**Approccio nuovo ed efficace in grado di monitorare abitudini, stili di vita e condizioni di salute a livello di popolazione**

- Stime **oggettive** e **in tempo reale**
- Valutazioni **qualitative e quantitative**
- Informazioni **aggiornate** sulle sostanze consumate
- Informazioni riguardanti **variazioni dei consumi nella popolazione**
- Informazioni riguardanti **l'utilizzo di nuove sostanze**

**Informazioni complementari ai metodi di stima epidemiologici**

# Epidemiologia delle acque reflue

## Quali applicazioni ?

✓ Stima del **consumo di droghe d'abuso**
*cocaina, amfetamina, metamfetamina, ecstasy, cannabis, eroina*

✓ Monitoraggio del **consumo di alcool**
*etilsolfato ed etilglucuronide*

✓ Monitoraggio **delle abitudini al fumo**
*cotinina e trans-3'-idrossicotinina*

✓ Monitoraggio **dell'uso di caffeina**
*metabolita della caffeina (1,7-dimethyluric acid)*

✓Identificare l'uso di **nuove droghe sintetiche**
*cannabinoidi sintetici, catinoni*

✓Altre applicazioni per stimare **l'esposizione a contaminati alimentari**
*pesticidi*

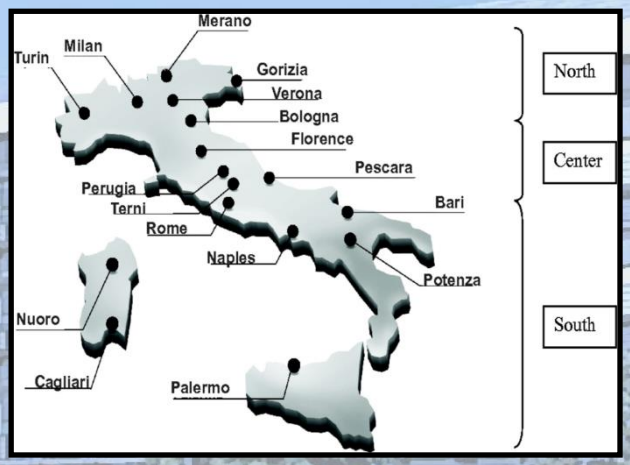
# Epidemiologia delle acque reflue

## Quali applicazioni?

### Consumi in Italia

Consumi mg/giorno/1000 abitanti

| Sostanza | 17 città Italiane (2011-2013) | |
|---|---|---|
| | *Media* | *Range* |
| THC | 4000 | 2500-6000 |
| Cocaina | 600 | 200-800 |
| Eroina | 60 | 20-120 |
| MDMA (Ecstasy) | 5 | 0.5-10 |
| Metamfetamina | 7.5 | 1-12 |




Zuccato et al., *Drug and Alcohol Dependence*, 2016

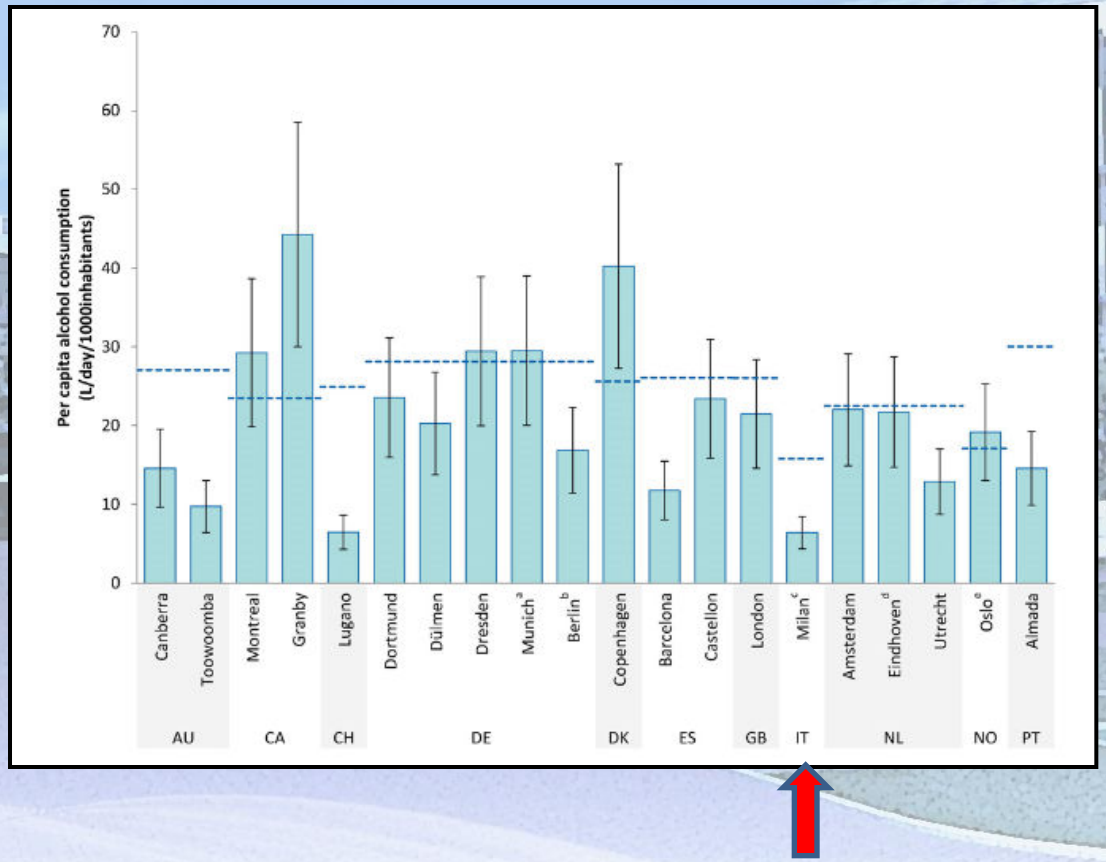
# Epidemiologia delle acque reflue

## Quali applicazioni?

**Alcool**

Consumi L/giorno/1000 abitanti

Consumo di alcool in 20 Città (EU, Canada, Australia) (Ryu et al., *STOTEN,* 2016)



# Conclusioni

- ✓ Monitoraggio di **presenza e destino ambientale** di **farmaci e droghe d'abuso** in acque reflue e di superficie
- ✓ Identificazione di **composti persistenti**
- ✓ Valutazione dell'impatto del turismo sullo sversamento di **questi contaminanti nell'ambiente**
- ✓ Stima del **consumo di droghe d'abuso ed alcool** e identificazione di differenze legate al turismo

# Grazie

Sonia Carminati
Francesco Riva
Ettore Zuccato
Sara Villa
Antonio Finizio

IRCCS - Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano

Università di Milano Bicocca, Milano

RACE-TN
VALUTAZIONE DEL RISCHIO AMBIENTALE DEI CONTAMINANTI EMERGENTI NEI FIUMI TRENTINI

Valeria Lencioni

## Grazie per l'attenzione!