



**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



VALUTAZIONE DEL RISCHIO AMBIENTALE DEI
CONTAMINANTI EMERGENTI NEI FUMI TRENTEINI

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**



Contaminanti Emergenti nelle Acque

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

Origine Umana ed Industriale

Prodotti per la cura personale

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

Farmaci

Ormoni naturali e sintetici
Prodotti di trasformazione

Produzione cibi e acque

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

Droghe d'abuso

Microorganismi

Agricoltura

Pesticidi e prodotti di trasformazione

Tossine algali

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

Fonti di contaminazione ambientale

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



Vie di contaminazione ambientale

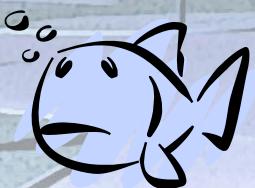
Farmaci, droghe d'abuso e prodotti per la cura personale

Fonte principale

L'UOMO

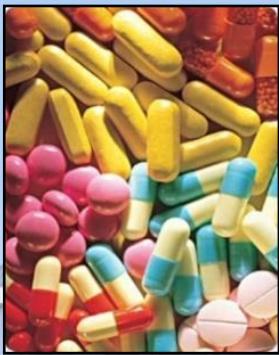


Effluenti degli impianti
di depurazione



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)

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

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

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

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
Droghes sintetiche

ALCOOL

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

Etilsolfato (metabolita)

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

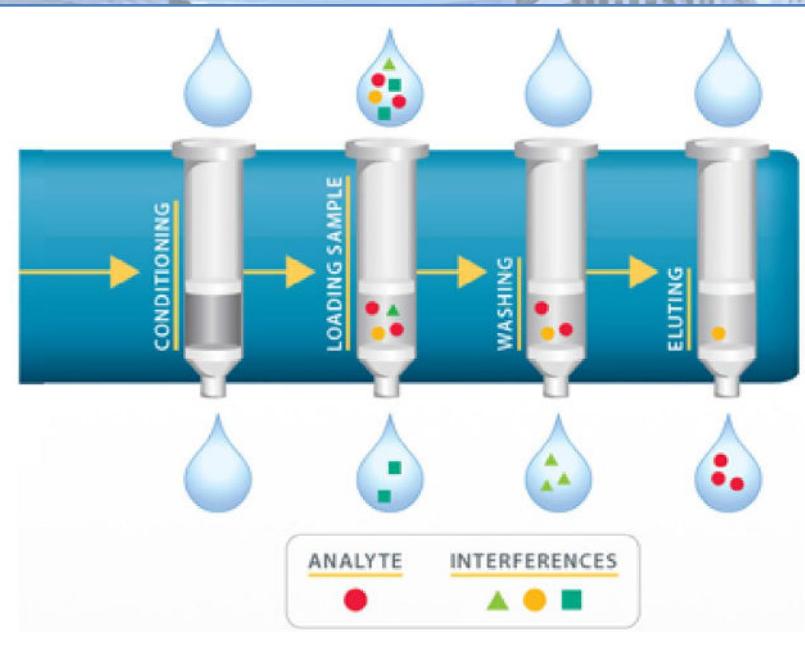


* campioni compositi di 24 ore

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)



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 μ g/L
15 composti 50-1000 ng/L
14 composti 1-45 ng/L
2 composti < LOQ
(gemfibrozil, eritromicina)

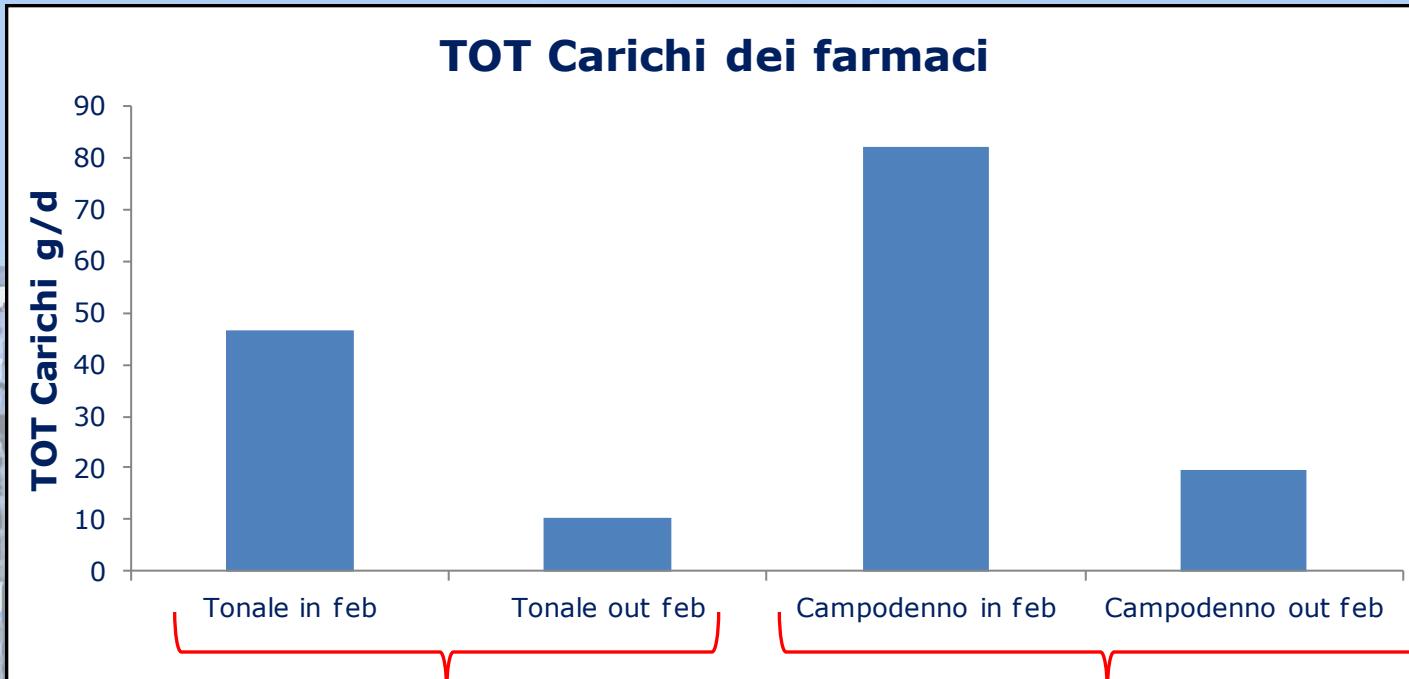
CONCENTRAZIONI MEDIE

Acque trattate

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

Risultati – Rimozione dei Farmaci

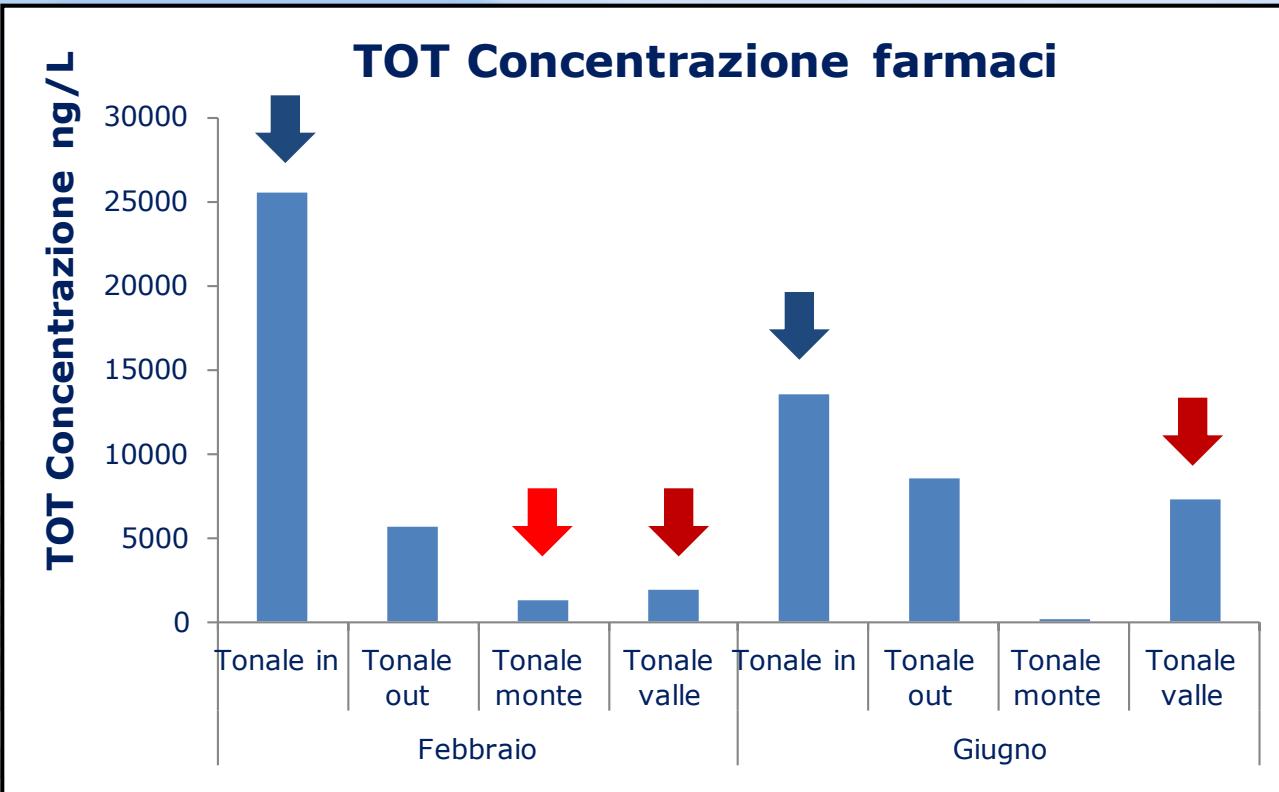
Carichi ottenuti moltiplicando le concentrazioni (ng/L) per la portata (m³/giorno)
e **percentuali di rimozione**



Buone percentuali di rimozione !!

Risultati – Farmaci nelle acque di superficie

Impatto dei depuratori

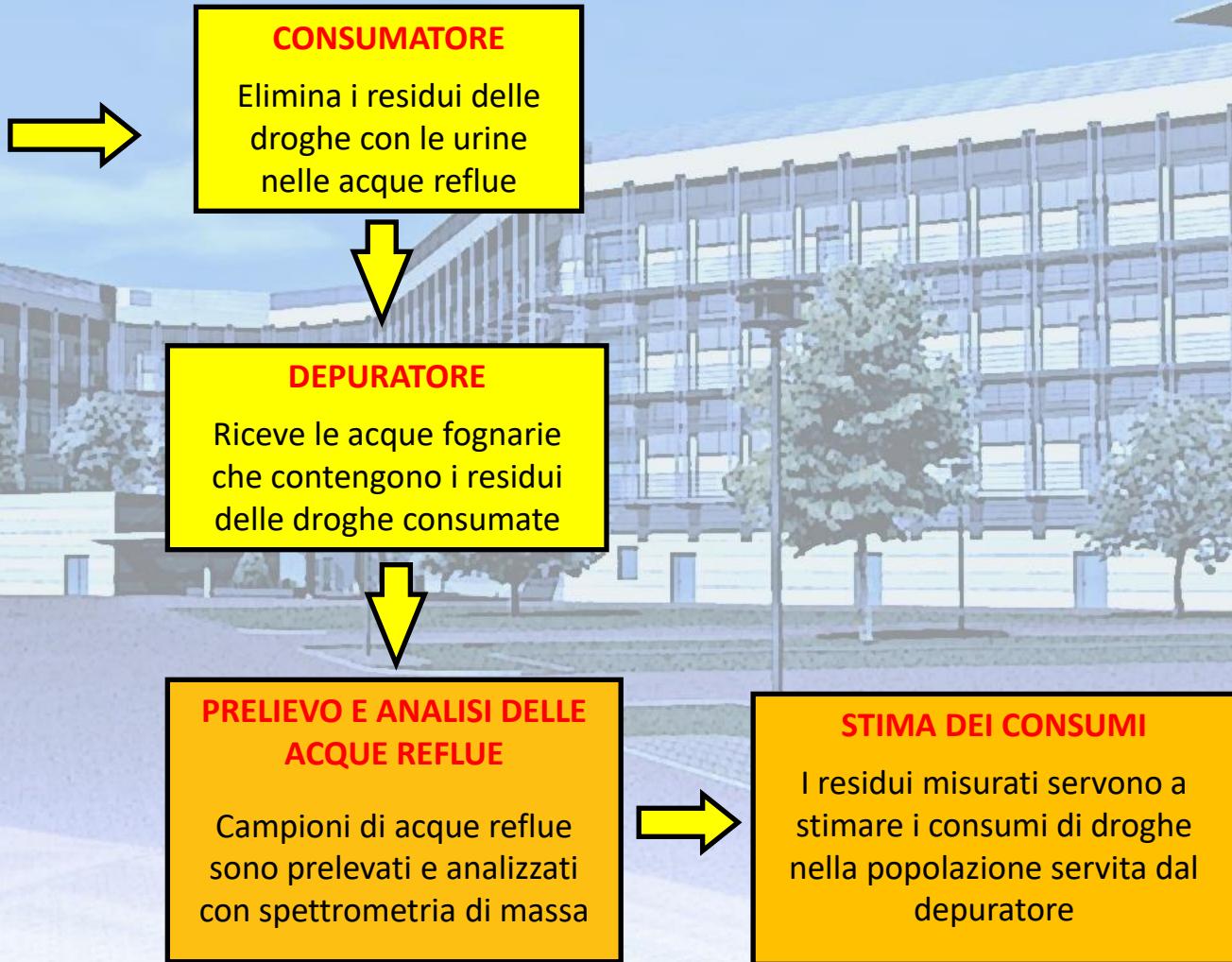


Concentrazioni superiori durante la stagione turistica

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



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



Research

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

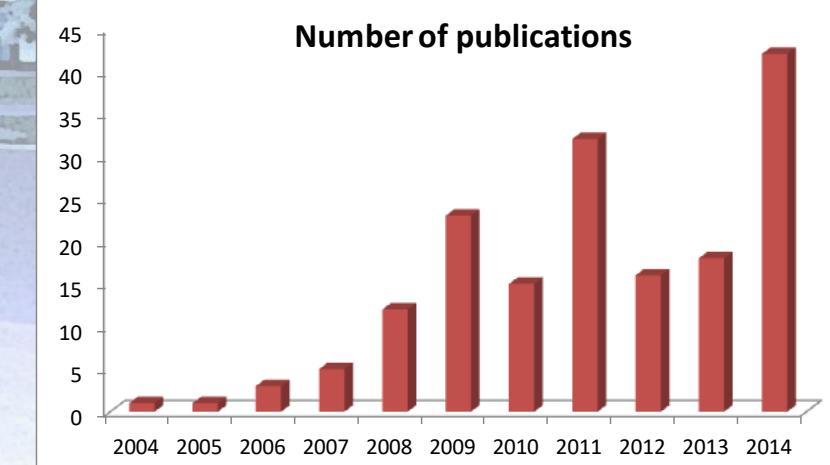
Ettore Zuccato¹, Chiara Chiabrando¹, Sara Castiglioni^{1,2}, Davide Calamari², Renzo Bagnati¹, Silvia Schiarea¹ and Roberto Fanelli¹

Zuccato *et al.*, Environ. Health 2005

Numero di pubblicazioni

è aumentato progressivamente negli anni successivi

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



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

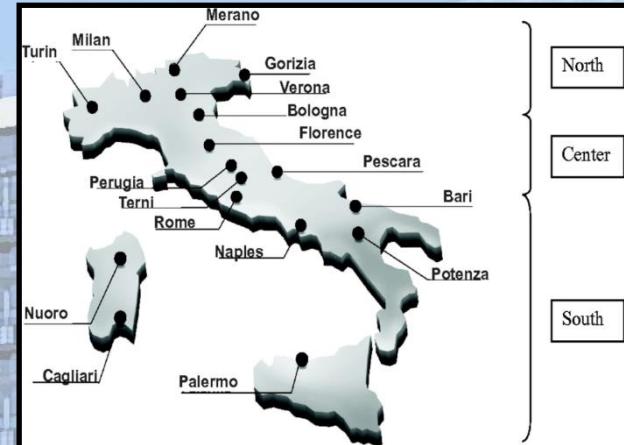
Quali applicazioni?

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



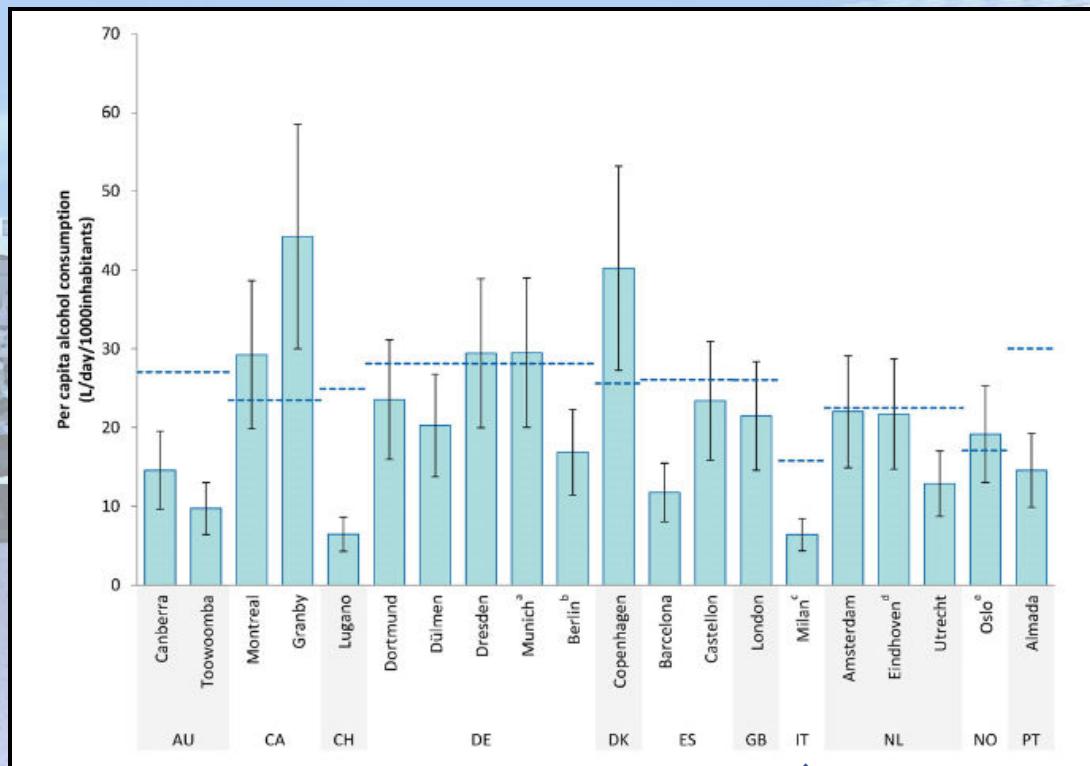
Zuccato et al., *Drug and Alcohol Dependence*, 2016

Epidemiologia delle acque reflue

Quali applicazioni?

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

Alcool
Consumi L/giorno/1000 abitanti



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

Valeria Lencioni

Grazie per l'attenzione!

