



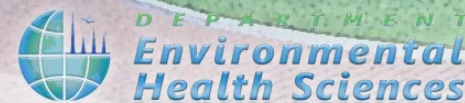
**Sara Castiglioni**  
**Mario Negri Institute**  
Department of Environmental Health Sciences  
Laboratory of Nutrition's Toxicology

## **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**



# 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**

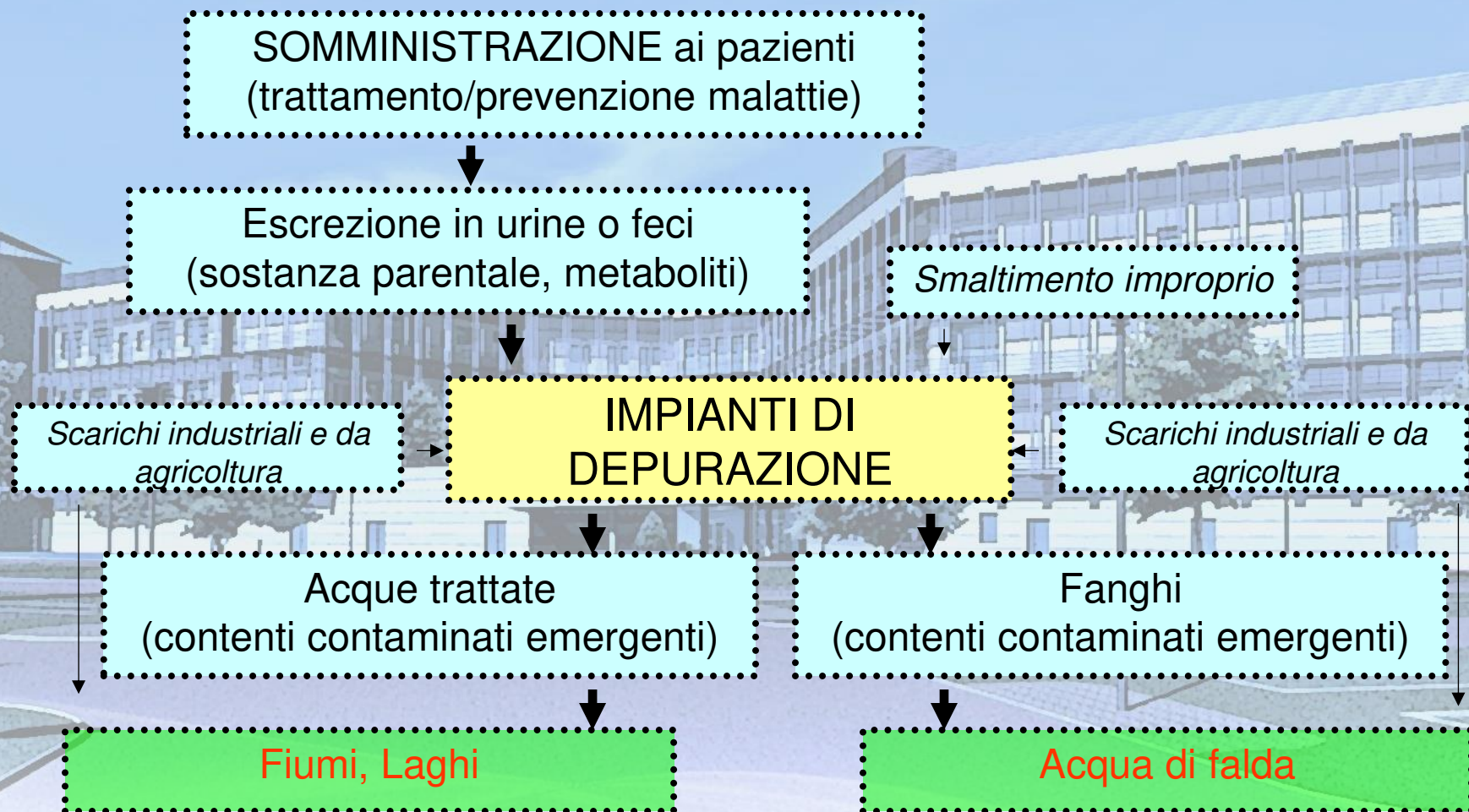
# Caratteristiche comuni

- ✓ 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

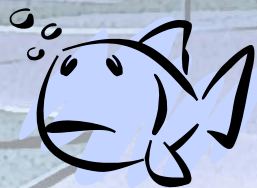
Farmaci, droghe d'abuso e prodotti per la cura personale

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,<sup>†,‡</sup> RENZO BAGNATI,<sup>‡</sup> ROBERTO FANELLI,<sup>‡</sup> FRANCESCO POMATI,<sup>†</sup> DAVIDE CALAMARI,<sup>†</sup> AND ETTORE ZUCCATO<sup>\*,‡</sup>

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,<sup>\*,†</sup> ETTORE ZUCCATO,<sup>‡</sup> SARA CASTIGLIONI,<sup>†,‡</sup> RENZO BAGNATI,<sup>‡</sup> AND ROBERTO FANELLI<sup>‡</sup>

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<sup>\*</sup>, 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  
Opiacei  
Cannabis  
Droghe sintetiche

### **ALCOOL**

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

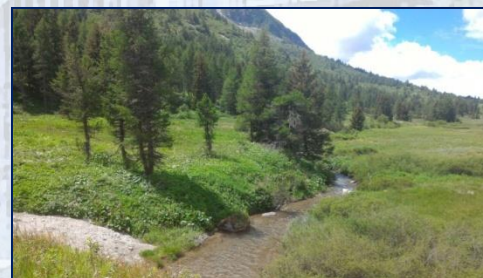
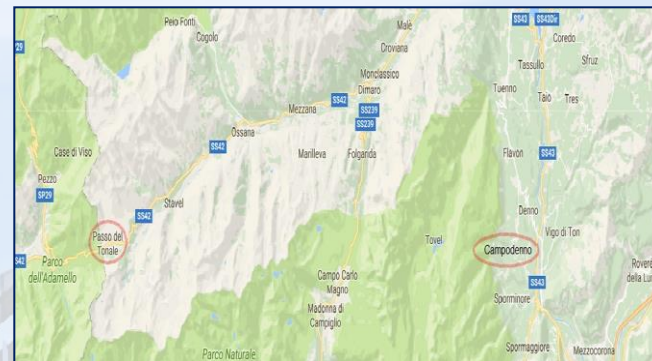
Etilsolfato (metabolita)

**23 FEBBRAIO 2016**  
(stagione turistica)

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

Acque reflue\* in entrata e in uscita ai  
depuratori

Acque del Torrente Noce

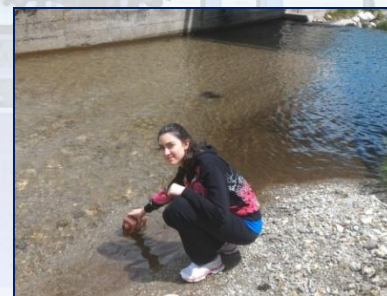


**26 GIUGNO 2016**  
(stagione non turistica)

## **Passo del Tonale**

Acque reflue\* in entrata e in uscita al  
depuratore

Acque del Torrente Noce

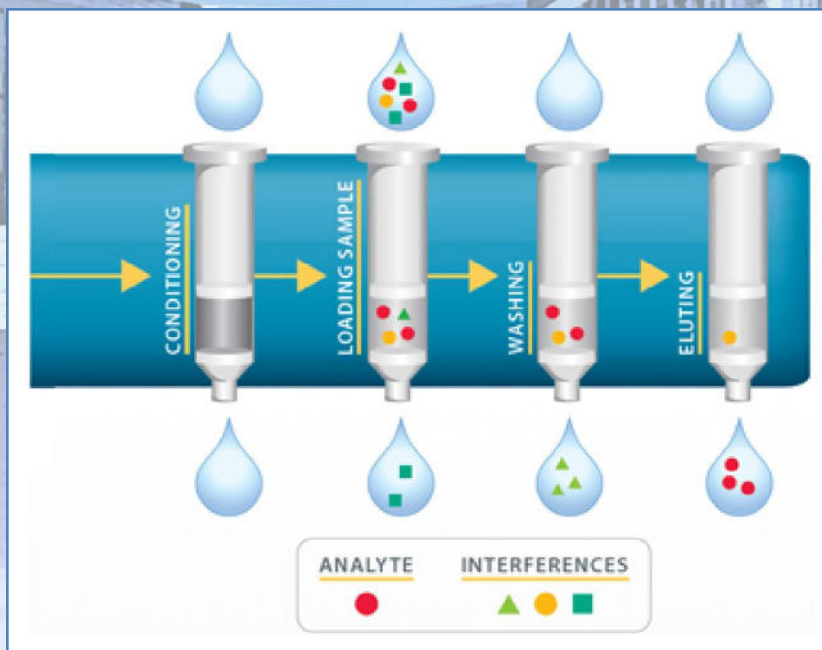


\* campioni composti di 24 ore



## Sample preparation

- Filtration (1.6 and 0.45  $\mu\text{m}$ )
- Solid Phase Extraction (SPE)  
Oasis MCX (60 mg)



## 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



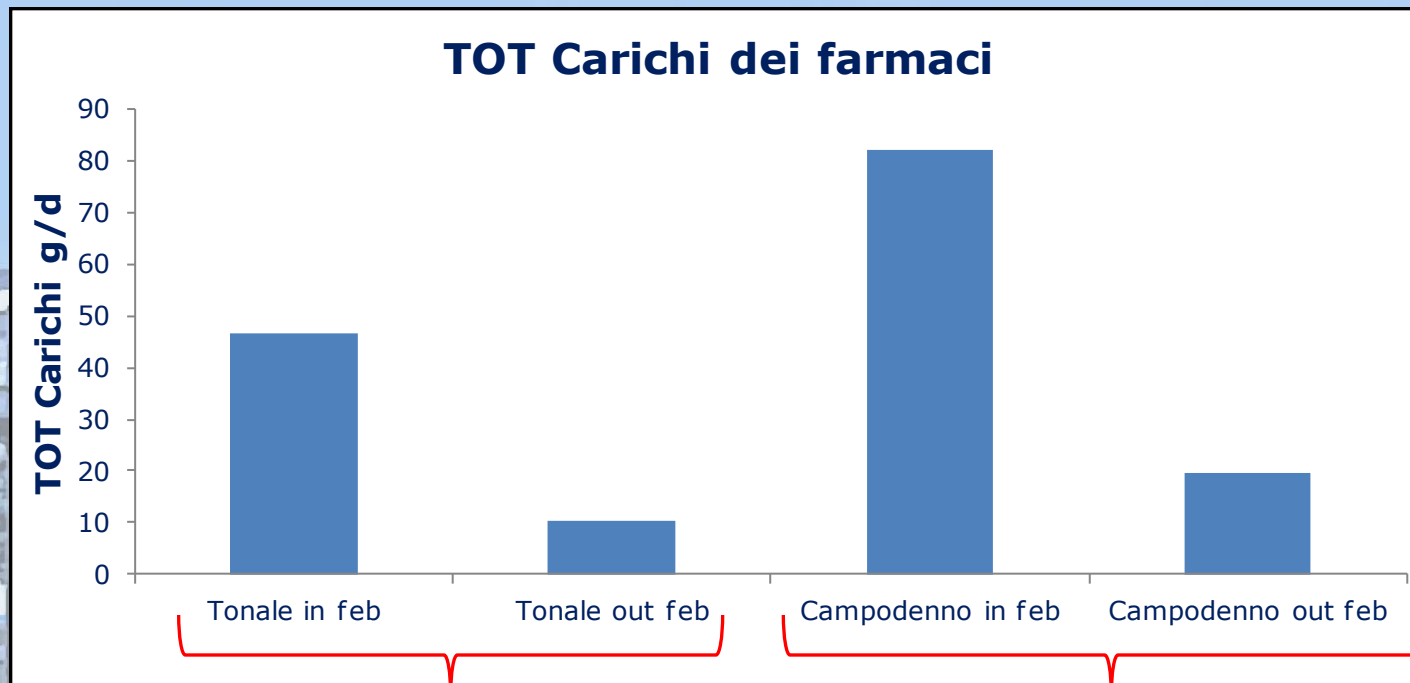
## **CONCENTRAZIONI MEDIE** **Acque non trattate**

2 composti > 5  $\mu\text{g/L}$   
15 composti 50-1000 ng/L  
14 composti 1-45 ng/L  
2 composti < LOQ  
(gemfibrozil, eritromicina)

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

1 composto > 5  $\mu\text{g/L}$   
15 composti 50 - 470 ng/L  
Tutti gli altri 2-45 ng/L  
Tutti > LOQ

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



**78%**

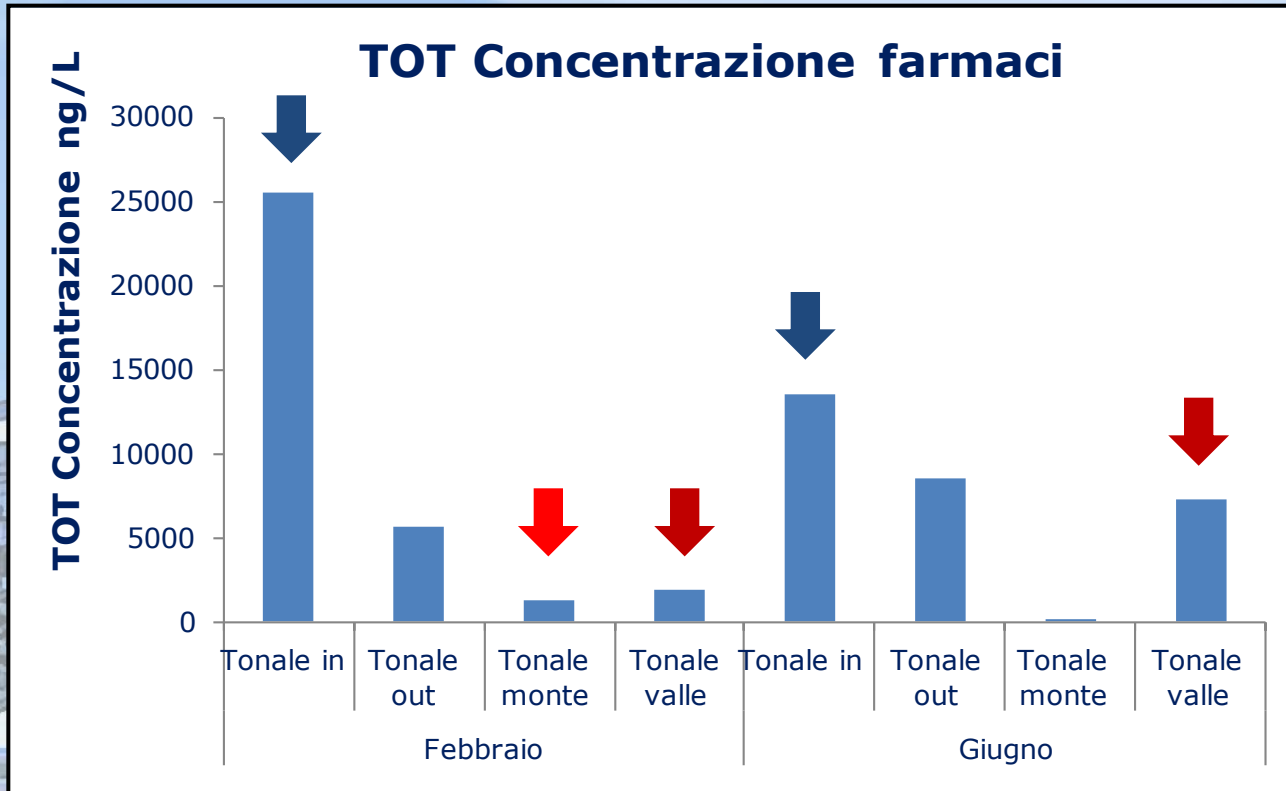
**76%**

**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](mailto: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 Zuccato<sup>\*1</sup>, Chiara Chiabrando<sup>1</sup>, Sara Castiglioni<sup>1,2</sup>, Davide Calamari<sup>2</sup>, Renzo Bagnati<sup>1</sup>, Silvia Schiarea<sup>1</sup> and Roberto Fanelli<sup>1</sup>

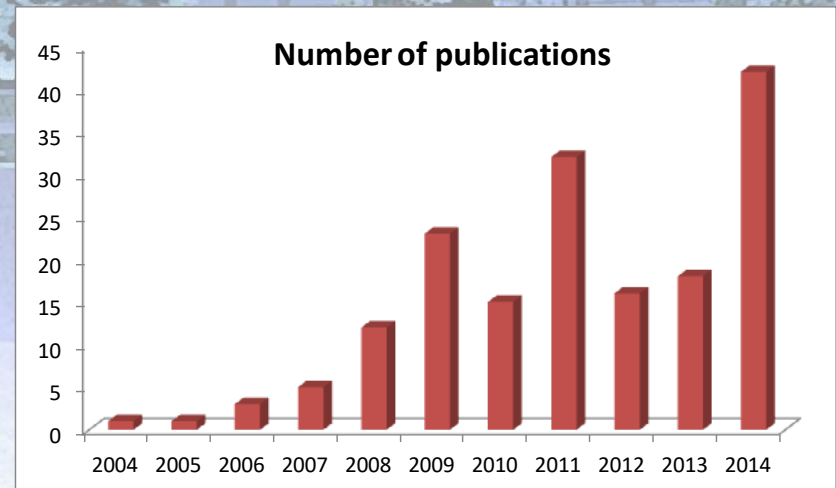
Open Access

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**  
*cotina e trans-3'-idrossicotina*
- ✓ 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

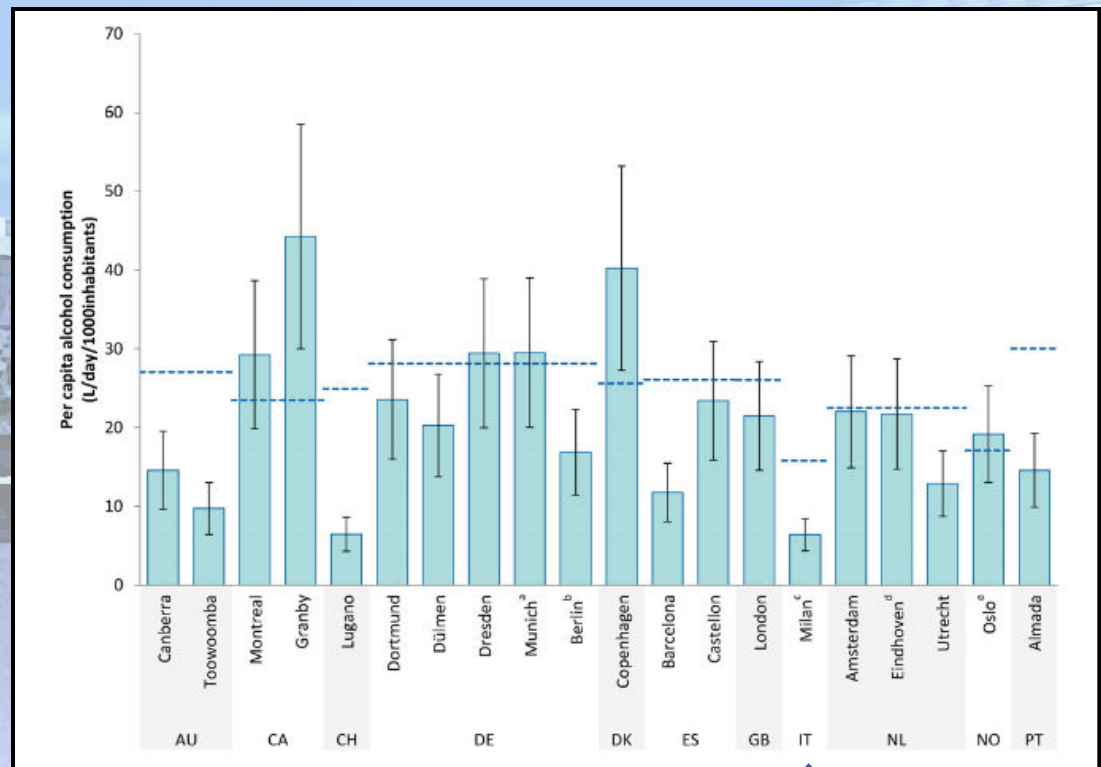
# Epidemiologia delle acque reflue

## Quali applicazioni?

### Alcool

Consumi L/giorno/1000 abitanti

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





- ✓ 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!