



Common borders. Common solutions.

Proiect cod eMS BSB27 (MONITOX)

Rețea de cooperare interdisciplinară în Bazinul Mării Negre pentru monitorizarea comună durabilă a migrației compușilor toxici în mediu, evaluarea îmbunătățită a stării ecologice și a impactului substanțelor dăunătoare asupra sănătății umane, și prevenirea expunerii populației

Contaminants of emerging concern in aquatic ecosystems

Conf. dr. Carmen Chițescu
Prof. dr. habil. Antoaneta Ene
Dr. Elena Enachi

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

Manager Proiect:
Prof.dr.habil. Antoaneta Ene

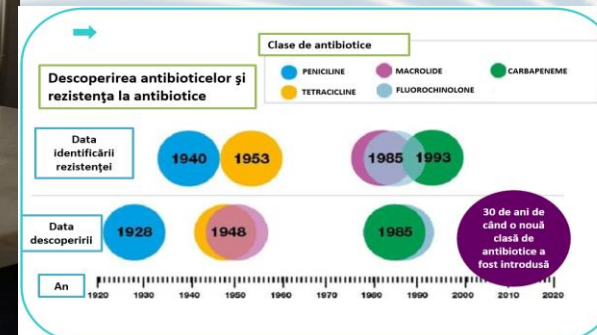


CONTAMINANȚI EMERGENȚI

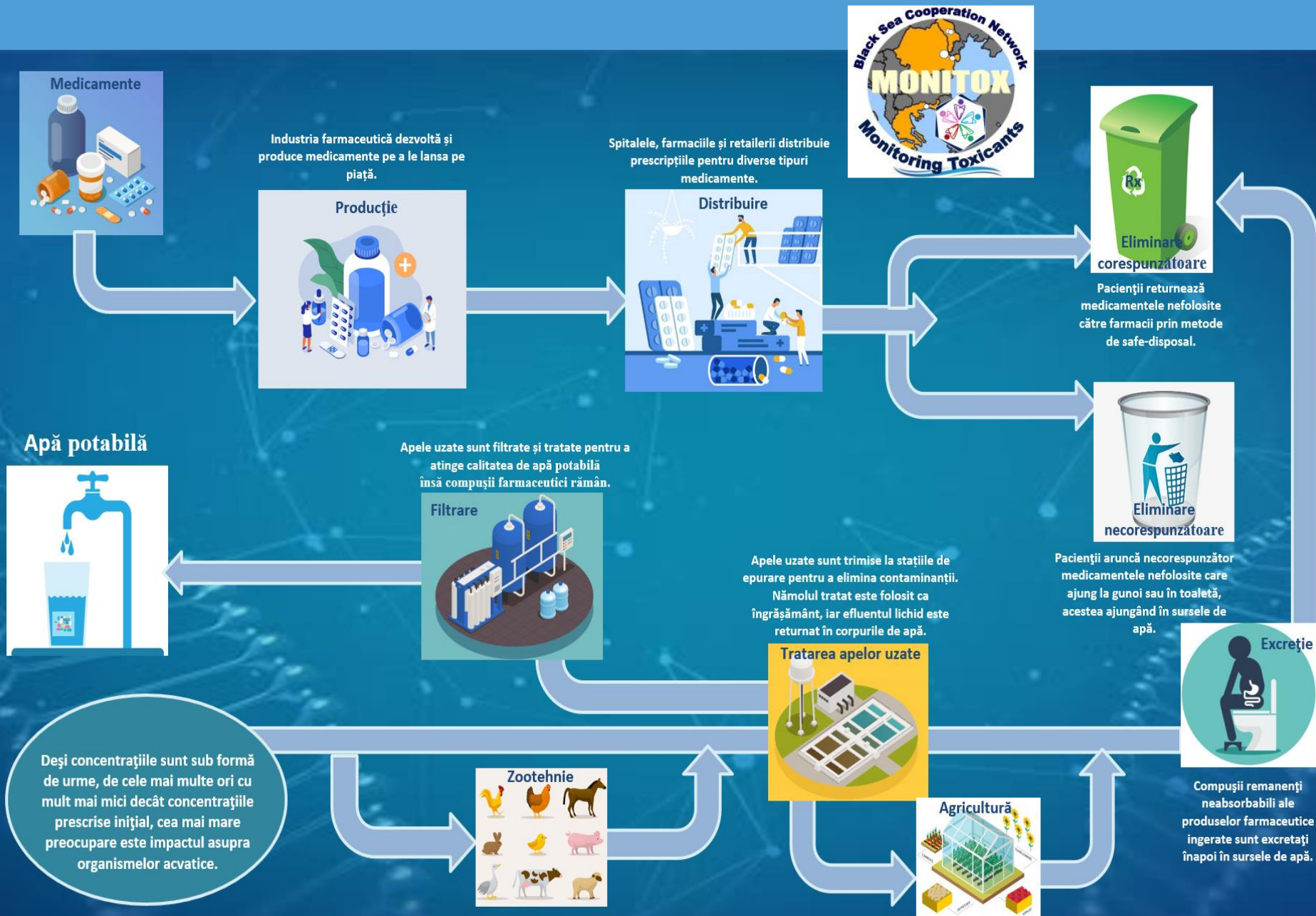


Produse farmaceutice

Produse de îngrijire personală



Căi de contaminare a mediului cu produse farmaceutice



Pesticide



Ftalați

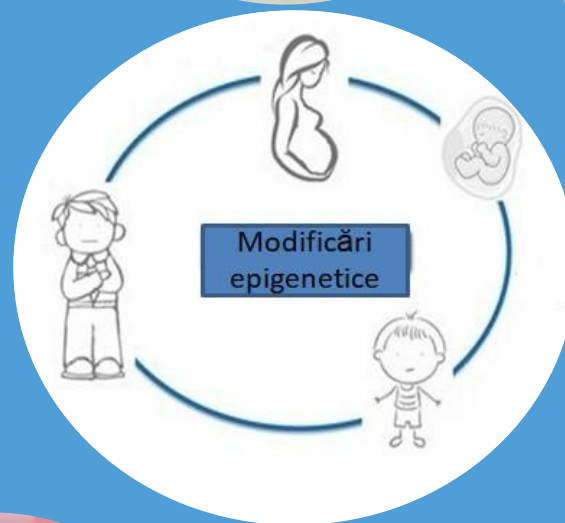
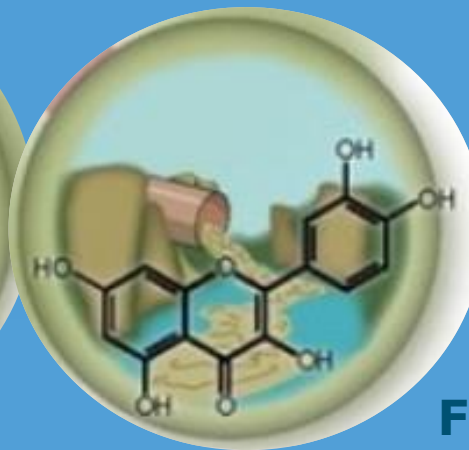


Dioxină

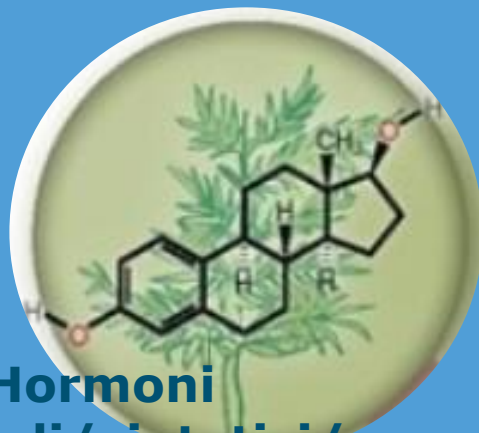


Parabeni

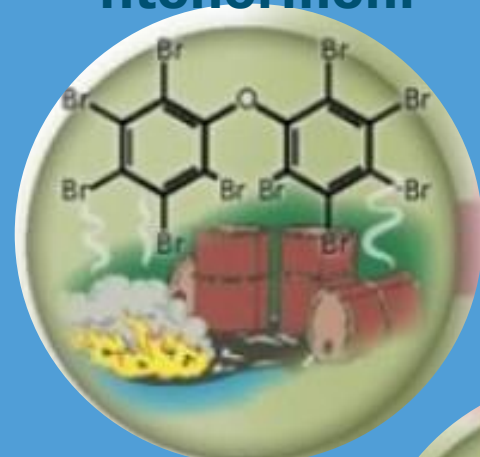
Fenoli



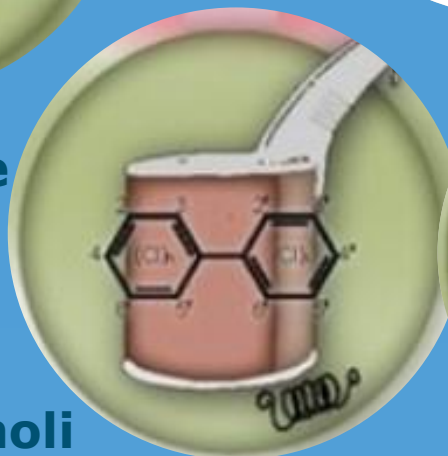
Hormoni naturali/sintetici/fitohormoni



Hidrocarburi poliaromate



Bisfenoli



Farmaceuticele si disruptorii endocrini sunt MOLECULE BIOACTIVE

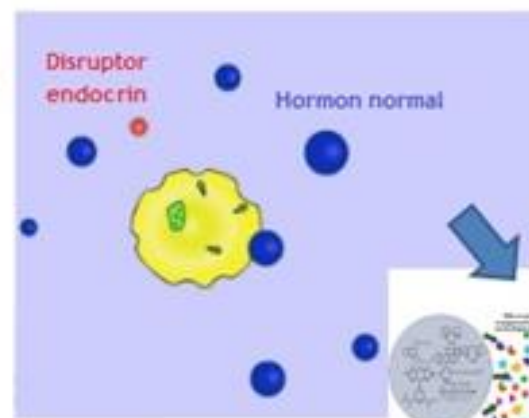
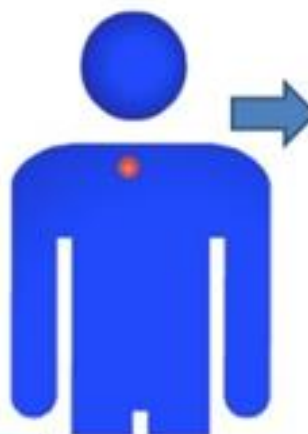


Disruptori endocrini

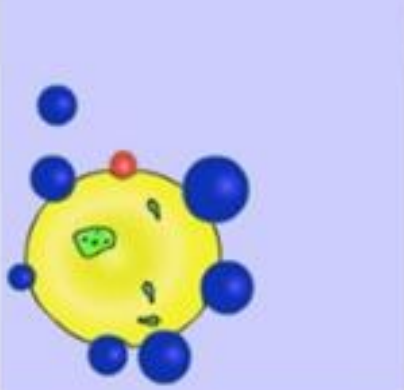
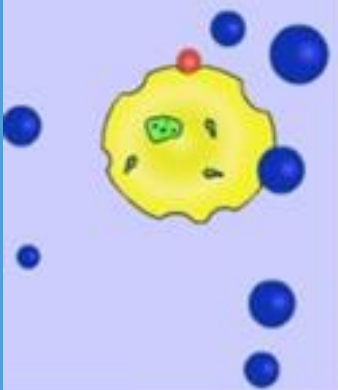
Un perturbator endocrin este o moleculă a unei substanțe chimice care poate interfera cu comunicarea hormonală între celule.

Disruptor endocrin

Molecula de disruptor endocrin pătrunde în organismul uman



Disruptorul endocrin se atașează de celula detectorului de hormoni.



Hormonii normali încearcă să se atașeze de celulă, dar perturbatorul endocrin ocupă deja un spațiu.



In ultimii ani exista o preocupare sustinuta pentru revizuirea legislatiei in vederea unui mai bune protectii a mediului



- ✓ Directive 2001/82/EC relating to veterinary medicinal products
- ✓ Directive 2001/83/EC relating to medicinal products for human use
- ✓ VICH- Guideline on environmental impact assessment (EIAS) for veterinary medicinal products - phase I, Bruxelles 2000
- ✓ VICH - Guideline on environmental impact assessment (EIAS) for veterinary medicinal products (vmpps) - phase II, Bruxelles 2005
- ✓ EMEA/CHMP - Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use, London, 2006.
- ✓ EMEA/CVMP 2008 – Reflection paper on the implementation of directive 2001/82/EC, as amended, in respect to the assessment of environmental risk of veterinary medicinal products
- ✓ EMEA/CHMP/SWP/4447/00 Guideline on the environmental risk assessment of 4 medicinal products for human use, 2018
- ✓ EU Chemicals Bureau, Technical Guidance Document on Risk Assessment, 2003

2000 60 EC WATER FRAMEWORK DIRECTIVE



↓

Directive 2013/39/EU amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy

3 compusi farmaceutici au fost introdusi in prima lista de observatie

↓

EU Watch List contaminants of emerging concern, according the Decision 2015/495/EU

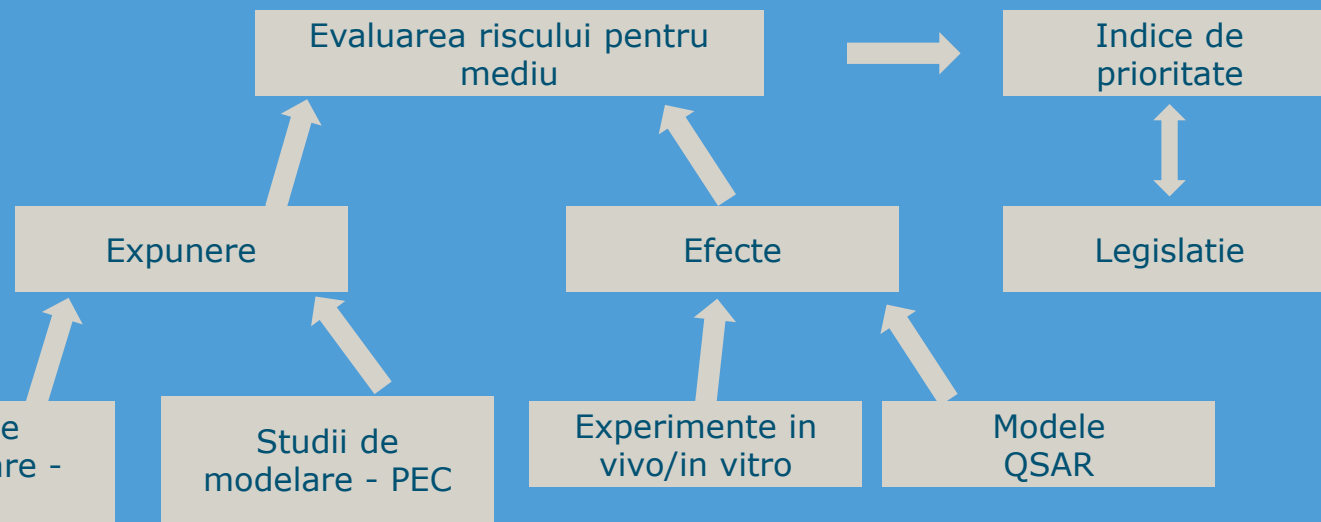
17 compusi farmaceutici au fost introdusi in a doua lista de observatie

↓

European Union Strategic Approach to Pharmaceuticals in the Environment 2019



Prioritizarea compusilor



NORMAN

Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances

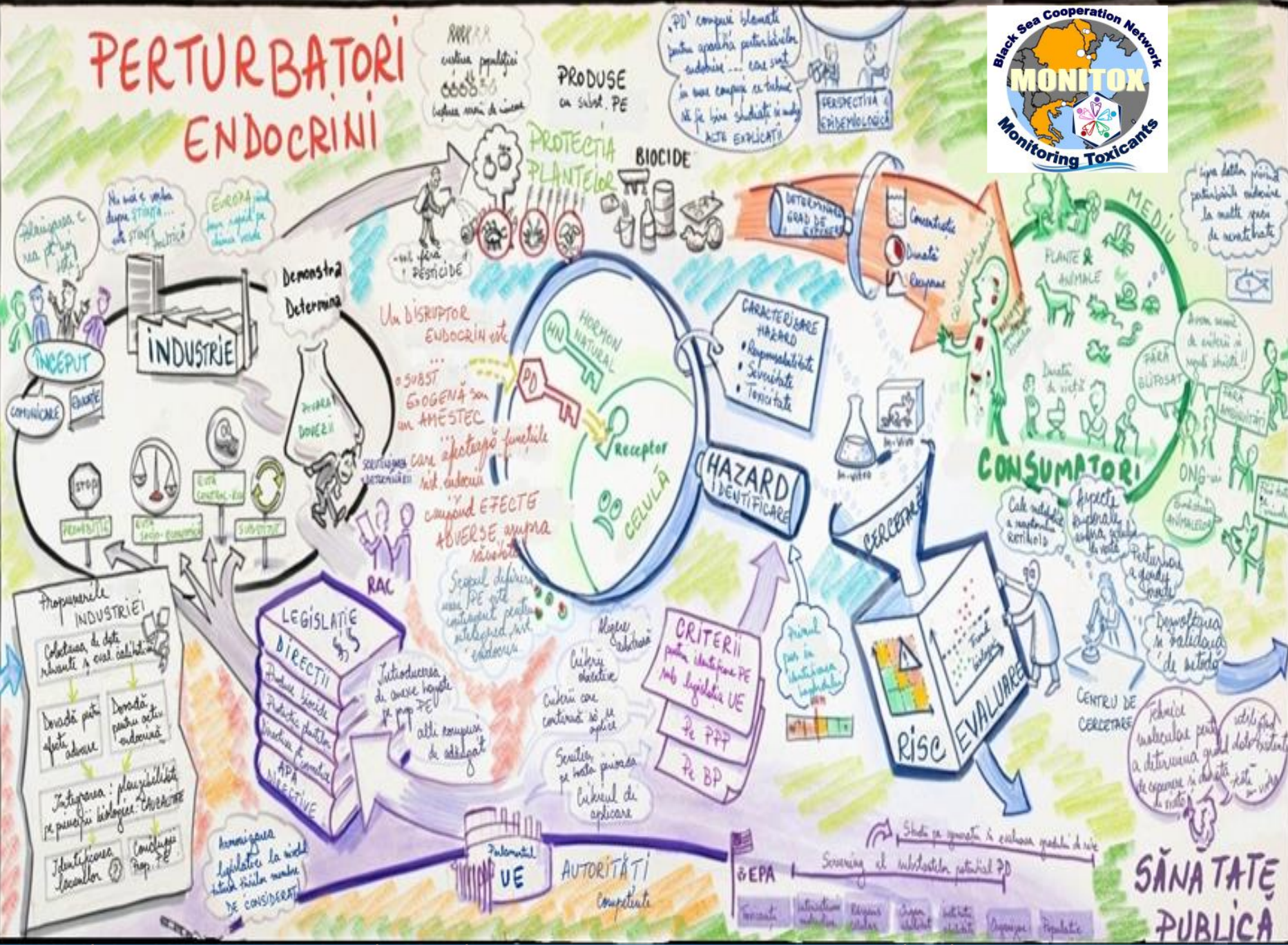
[Home](#) | [NORMAN Network](#) | [Working Groups](#) | [Membership](#) | [NORMAN Bulletin](#) | [Success Stories](#) | [Publications](#) | [Job opportunities](#) | [Contact](#) | [Gallery](#) | [Members' Area](#) | [NORMAN GA meetings](#)

Menu

- ✓ Implementarea schemelor de priorizare bazate pe compararea MEC/PEC cu PNEC
- ✓ O platformă pentru arhivarea datelor obtinute prin analiza prin spectrometrie de masă de înaltă rezoluție (LC-HRMS) pentru screeningul retrospectiv suspect al mii de poluanți ai mediului



PERTURBATORI ENDOCRINI



Studii preliminare a reziduurilor farmaceutice în râurile din România – Martie 2012



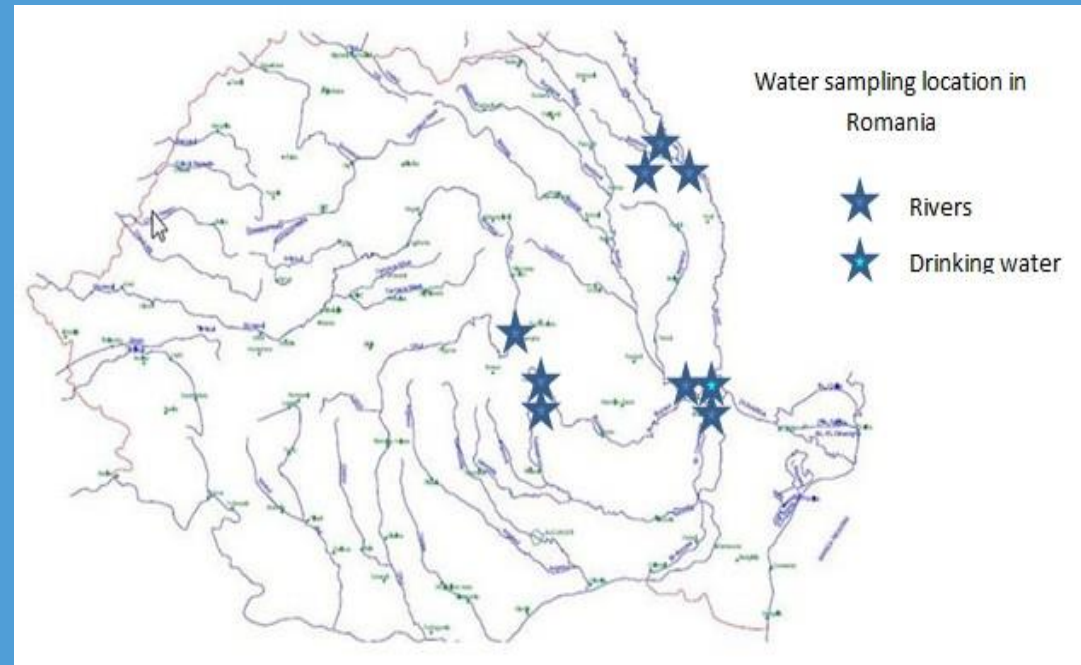
Toxicological & Environmental Chemistry, 2015
<http://dx.doi.org/10.1080/02772248.2015.1005092>



Preliminary survey of pharmaceutical residues in some important Romanian rivers

Carmen Lidia Chițescu* and Anca Ioana Nicolau

- Prahova river – aval oraș Sinaia
- Prahova river – aval oraș Bușteni
- Apă potabilă– Galați
- Timis– langa Brașov
- Dunăre – aval și amonte
oraș Galați
- Siret
- Prut
- Jijia
- Lac in vecinătatea orașului
Iași

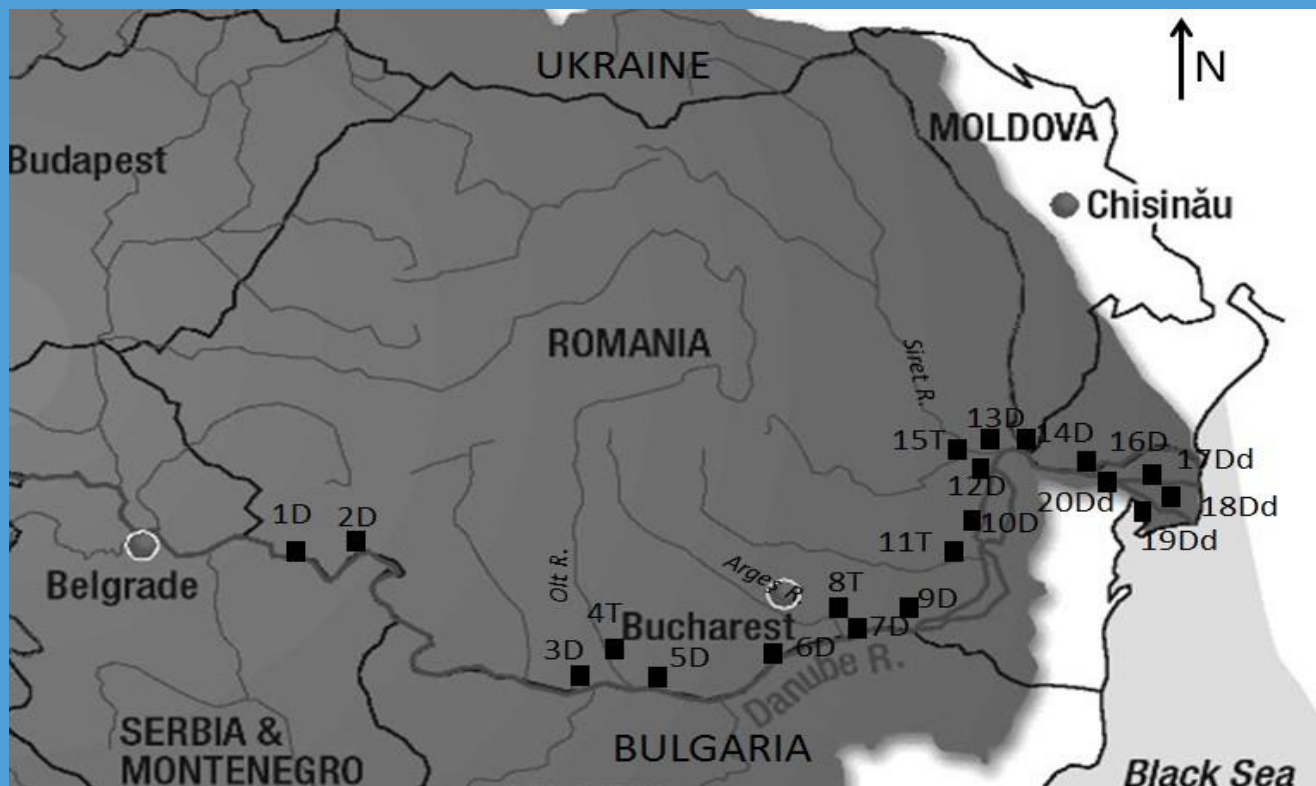


Rezultate incluse în baza de date a proiectului BSB27-MONITOX



	Prahova river – after Sinaia town	Prahova river – after Bușteni town	Timis river – before Brasov town	Danube river– after Galați town	Danube river– before Galați town	Drinking water – Galați town	Siret river – Galați country	Prut river Iași county	Jijia river Iași county	Lake near Huși town
Ciprofloxacin	nd*	nd	nd	nd	nd	nd	15	nd	nd	nd
Erytromicin	nd	nd	nd	nd	25	nd	nd	25	20	nd
Trimethoprim	>10	10	nd	nd	nd	nd	20	15	nd	nd
Sulfamethoxazole	>15	10	nd	20	20	nd	30	30	nd	nd
Carbamazepine	10	10	nd	20	15	10	20	20	25	nd
Diclofenac	20	<10	nd	<10	25	50	40	30	nd	15
Enilconazole	nd	nd	nd	<5	<5	nd	nd	<5	<5	nd
Thiabendazole	<5	nd	nd	<5	5	nd	<5	<5	<5	nd
Tebuconazole	nd	nd	nd	nd	5	5	nd	<5	<5	nd
Fluconazole	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	<10	<10	nd
Griseofulvin	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	5	nd	nd
Clotrimazole	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	10	nd	nd
Carbendazim	nd	nd	nd	10	10	nd	10	10	10	nd

Bazinul Dunării– Octombrie 2014



- 20 puncte de prelevare din Dunăre și afluenți: Olt, Argeș, Siret
- 67 compuși monitorizați: macrolides, benzimidazol, tranquilizante, macrolide, sulfonamide, quinolone, penicilline, tetraciline, NSAIDs, antiepileptice, lipid regulator, coccidiostatice, antifungice, biocides și fungicide

Rezultate anterioare



Contents lists available at ScienceDirect

Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv



High sensitive multiresidue analysis of pharmaceuticals and antifungals in surface water using U-HPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS. Application to the Danube river basin on the Romanian territory



Carmen Lidia Chitescu ^{a,*}, George Kaklamanos ^b, Anca Ioana Nicolau ^a, Alida Adriana Maria (Linda) Stolker ^b

- Sulfamehoxazol (in 18 probe) – max. 30 ng/L
- Carbamazepine (in 17 probe) - max. 40 ng/L
- Diclofenac (in 7 probe) – max 166 ng/L
- Tilozina (in 4 probe) – max. 40 ng/L
- Indometacin (in 2 probe) - max. 8 ng/L
- Ketoprofen (in 5 probe) - max. 22 ng/L
- Piroxicam (in 4 probe) - max. 32 ng/L
- Griseofulvin (in 5 probe) - max. 57 ng/L
- Trimetoprim (in 12 probe – max. 12 ng/L
- Clofibric acid (in 2 probe) – max. 4 ng/L
- Tiabendazol (in 6 probe) – max. 53 ng/L
- Enilconazol (in 8 probe) – max. 80 ng/L
- Carbendazim (in 5 probe) – max. 30 ng/L



**23 compuși -
identificați în probele
de apă**

**Cel puțin un compus a
fost detectat în fiecare
din probe**

Rezultate anterioare



5 puncte prelevare din Delta Dunării

- ✓ Sulfametoxazol
- ✓ Trimethoprim
- ✓ Carbamazepine
- ✓ Thiabendazol
- ✓ Ketoprofen
- ✓ Enilconazol
- ✓ Griseofulvin
- ✓ Flutriafol



Danube – Tulcea town

Danube Delta – Sulina arm, Gorgova village

Danube Delta – Gorgova Lake

Danube Delta – Sf. Gheorghe arm, Nufărul village

Danube Delta – Sulina arm at the separation of the Sf. Gheorghe arm

Transferul și implementarea metodei în UDJG

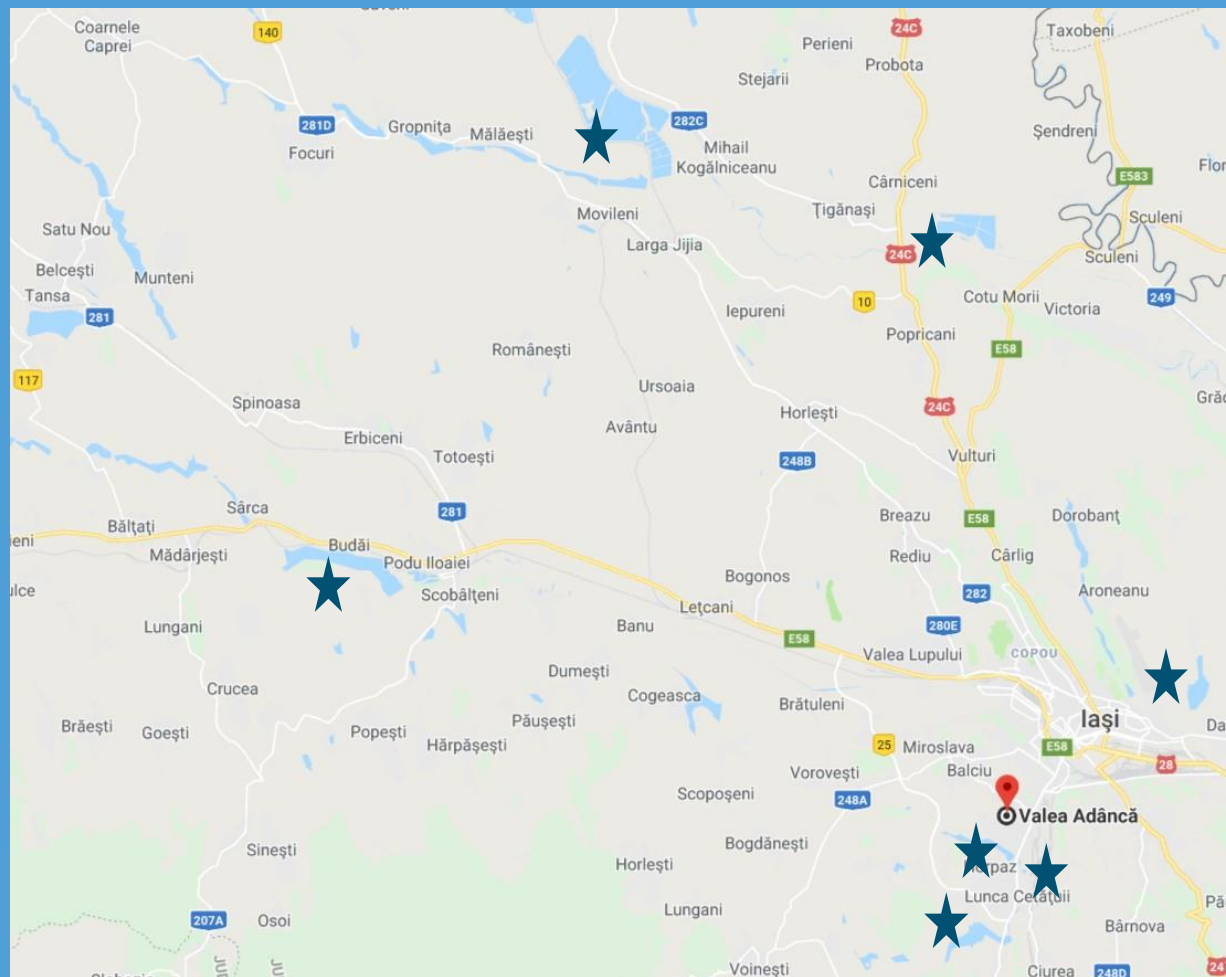
Compuși noi au fost adăugați metodei



- Antibiotice: ampicilina, amoxicilina, lincomicina
- Hormoni: progesteron
- Psihoactive: secobarbital, codeină, diazepam, ketamină
- Benzimidazoli: albendazol, flubendazol

Prelevare probe – Jud. Iași, 2016

8 probe din diferite
exploatări piscicole



Rezultate anterioare



Proba/ contaminant ng/L	Ac. Valea Adâncă	Ac. Movileni	Acva. Tiganci	Ac. Holceni	Stațiune cercetare Iași	Ac. Pisc.	Iaz Larga Jijia	Ac. Ezareni
sulfametoxazol	32	0	42	15		6	12	
sulfaquinoxalină	2	2,5		5	3	5		
sulfadiazină		3	6	2,5			<LQ	
trimetoprim	4	32	3	5		12	<LQ	8
carbamazepină		5	11	31		10	9	25
tiabendazol	12		8			6		2
griseofulvin	2	4	8		2	14		2
imazalil	40					32		
carbendazim	1	1,2	2,3	1		1,5	2	
procloraz		5						
diclofenac	32		15	26	7		25	18
naproxen		11						
cafeină	22	12	0,8			2		

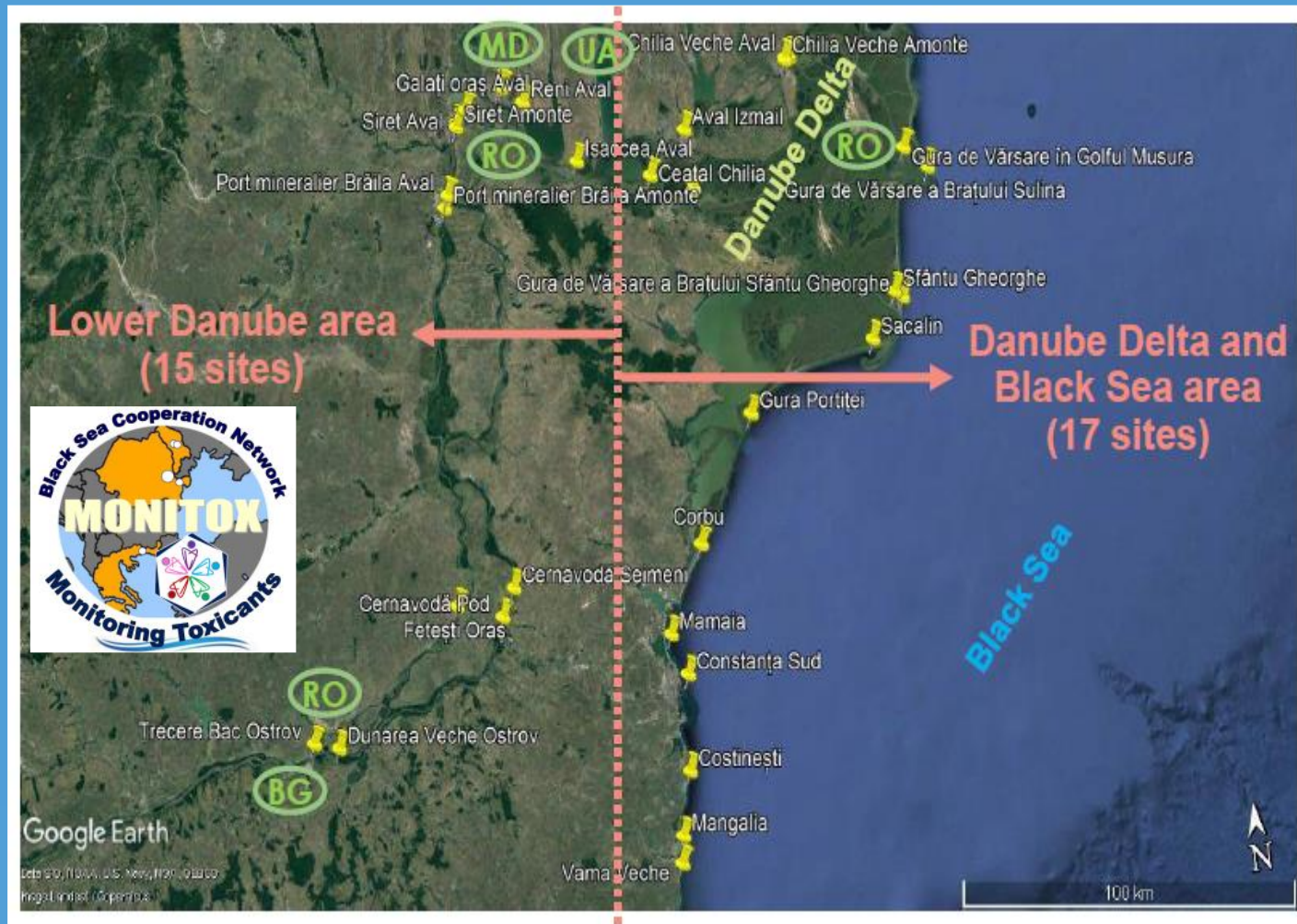
Sulfamethoxazoe, trimetoprim, carbamazepina, imazalil, diclofenac, cafeina, thiabendazol – 5-40 ng/L

Compușii țintă monitorizați în programul de monitorizare 2019-2020 din cadrul proiectului BSB27-MONITOX



Class	Compounds
Antibiotics	amoxicillin, ciprofloxacin, norfloxacin, flumequine, oxytetracycline, doxycycline, dicloxacillin, erythromycin, cefuroxime, clindamycin
Hormones	drospirenone, ethinyl estradiol
Lipid-lowering agents	clofibric acid, provastatin
NSAIDs	piroxicam, ketoprofen, indometacin, carprofen, diclofenac, meclofenamic acid, naproxen
Antiepileptic	Carbamazepine
Antifungal	ketoconazole, fluconazole, clotrimazole, miconazole, enilconazol

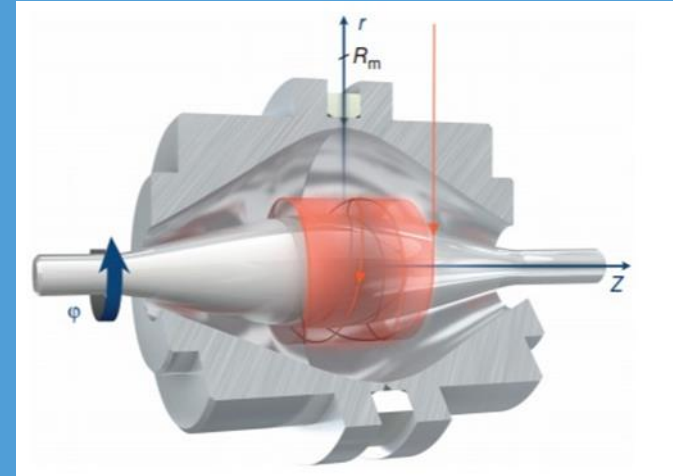
Punctele de prelevare a apei de suprafață în programul de monitorizare 2019-2020 din cadrul proiectului MONITOX (RO-BG, RO-MD,RO-UA)



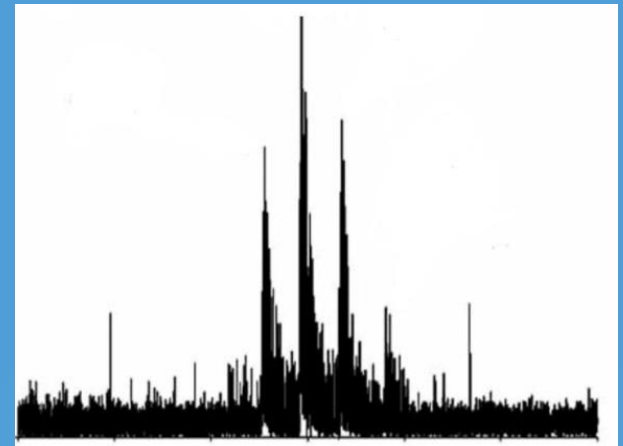
Analiza instrumentală, Proiect MONITOX



Abordarea analitică: vDIA (variable Data Independent Acquisition)

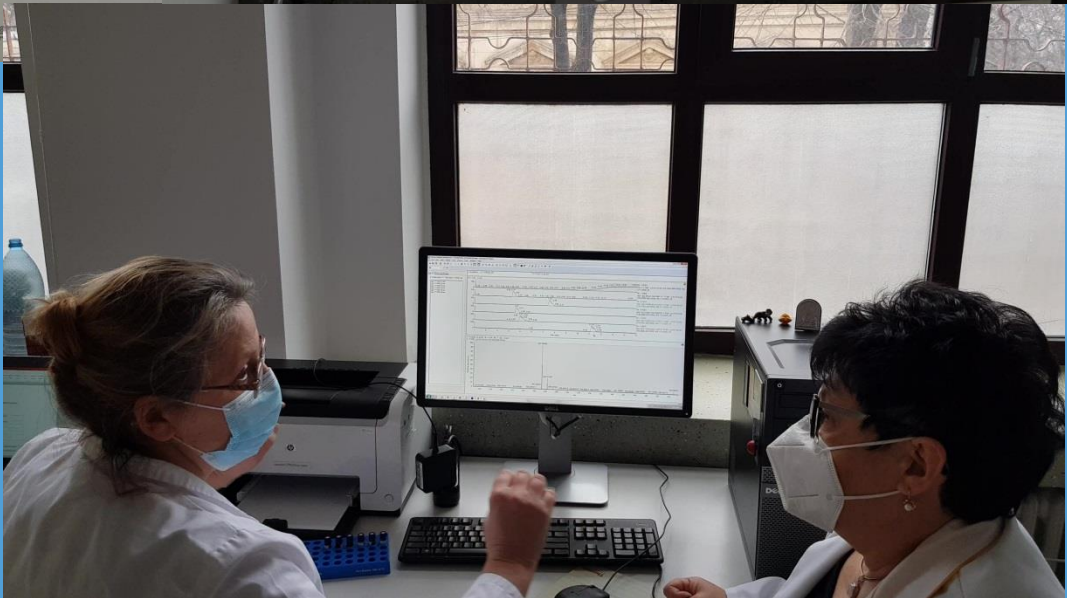
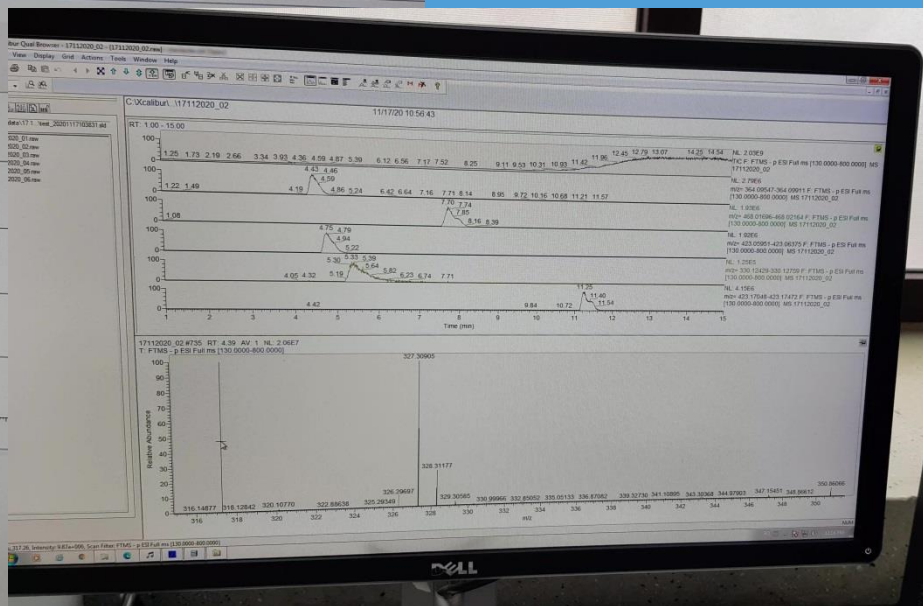
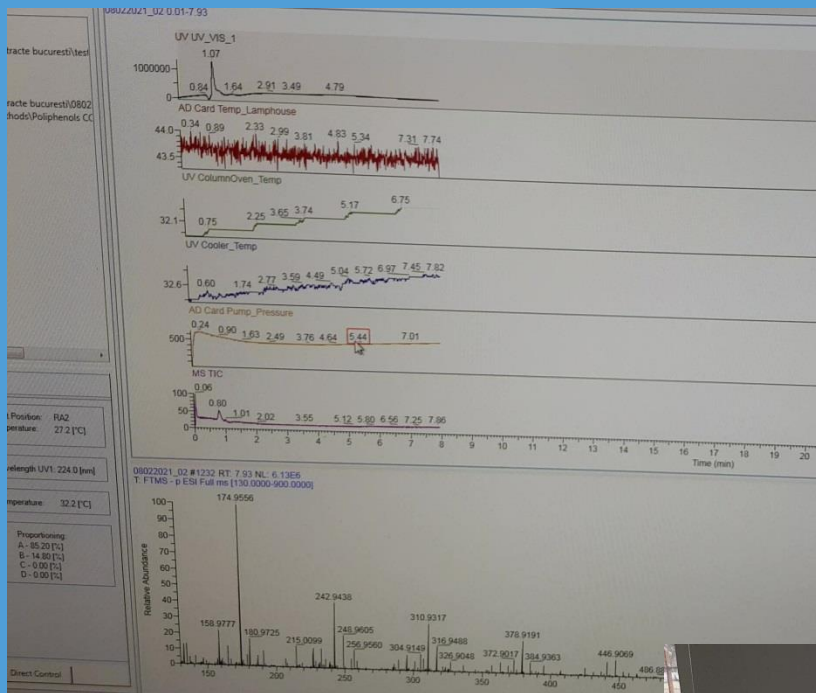


Q-Exacte Orbitrap High resolution mass spectrometer



Analiza instrumentală

Q-Exactive Orbitrap High resolution mass spectrometer



Prelucrarea probelor – extractie SPE

100 ml apa filtrata in prealabil

EDTA
pH =3 cu acid acetic

Strata X, 200 mg, 6cc,
reverse phase, SPE

Spalare cu:

- H₂O
- 30% MeOH

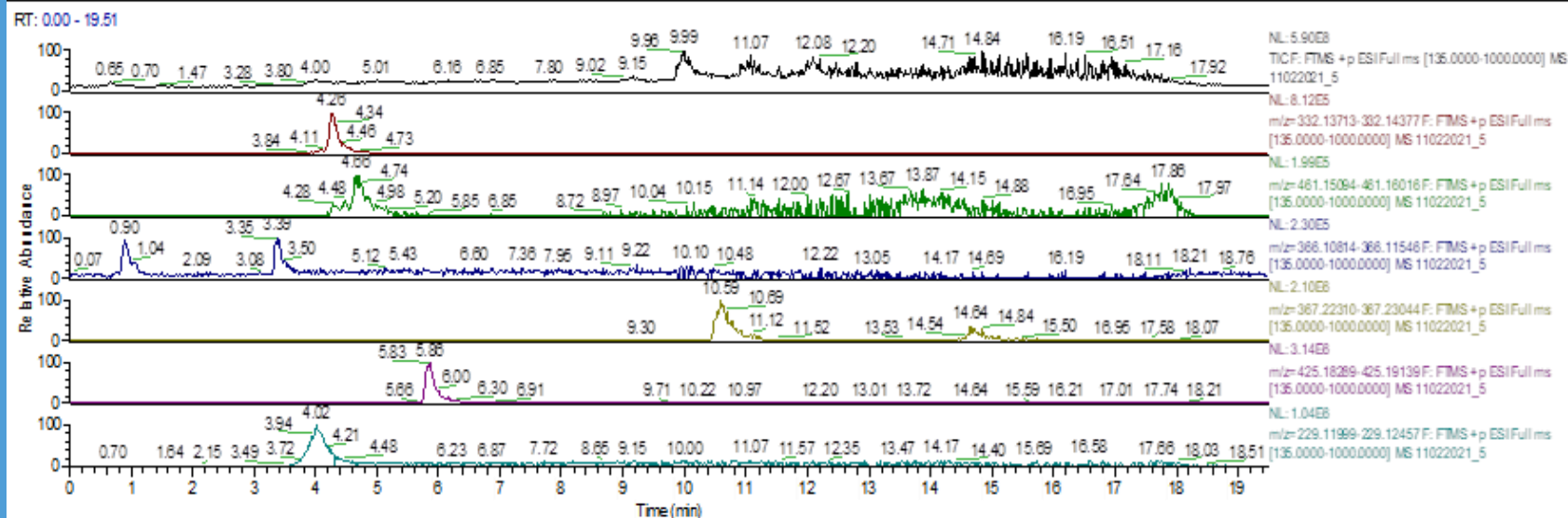
Elutie: - MeOH

Evaporare

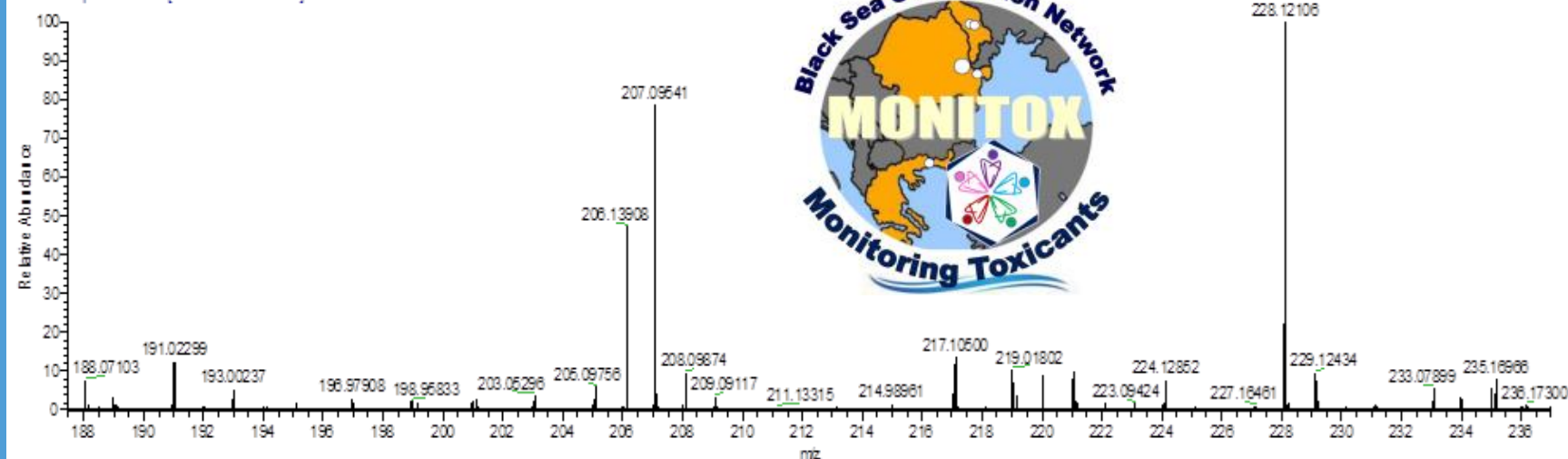
Resolvare in
MeOH:H₂O (10:90)

Injectare in UHPLC-MS





11022021_5 #1423 RT: 3.99 AV: 1 NL: 8.97E5
T: FTMS +p ESIFull.ms [135.0000-1000.0000]

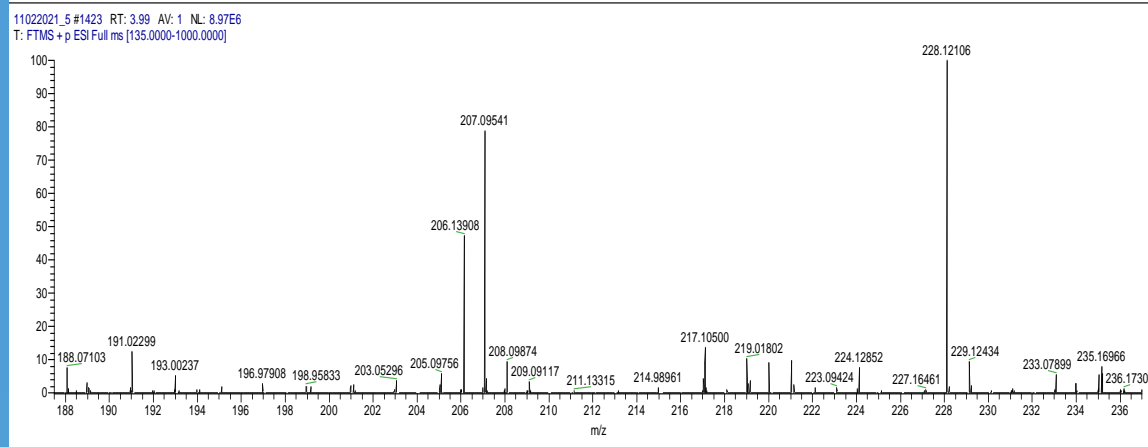
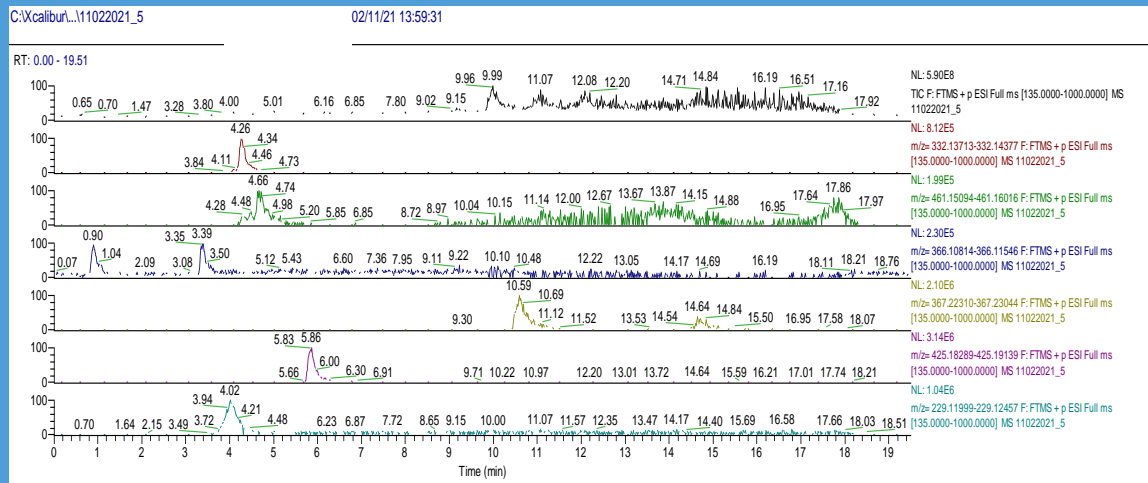


Cromatograma extrasa cu o precizie a masei ± 5 ppm pentru o proba de apa din Dunăre. De sus in Jos: TIC (total ions current); m/z 332.14 ciprofloxacina; m/z 461.15 oxitetraciclina; m/z 366.10 amoxicilina; m/z 425.18 drospirenona; m/z 229.12 bisfenol A.

Compuși farmaceutici și disruptori endocrini monitorizați



Compound	Class	Formula	Exact mass
Sulfamethoxazole	Sulfonamides	C10H11N3O3S	253.052113
Trimethoprim	Diaminopyrimidine	C14H18N4O3	290.137890
Ciprofloxacin	Quinolones	C17H18FN3O3	331.133219
Norfloxacin	Quinolones	C16H18FN3O3	319.133219
Flumequine	Fluoroquinolones	C14H12FNO3	261.080121
Oxytetracycline	Tetracycline	C22H24N2O9	460.148179
Doxycycline	Tetracyclines	C22H24N2O8	444.153265
amoxicillin	antibiotic	C16H19N3O5S	365.104542
cefuroxime	Penicillines	C16H16N4O8S	424.068885
Dicloxacilin	Penicillines	C19H17Cl2N3O5S	469.026597
clindamycine	lincosamides	C18H33ClN2O5S	424.179871
Carbamazepine	Antipileptic	C15H12N2O	236.094963
Clofibrac acid	Lipid regulator	C10H11ClO3	214.039672
provastatin	synthetic lipid-lowe	C23H36O7	424.246102
Erythromycine	Macrolide	C37H65NO12	715.450674
Piroxicam	NSAIDs	C15H13N3O4S	331.062677
Ketoprofen	NSAIDs	C16H14O3	254.094294
Indometacin	NSAIDs	C19H16ClNO4	357.076785
Carprofen	NSAIDs	C15H12ClNO2	273.055656
Diclofenac	NSAIDs	C14H11Cl2NO2	295.016684
Meclofenamic acid	NSAIDs	C14H11Cl2NO2	295.016684
Naproxen	NSAIDs	C14H14O3	230.094294
Enilconazole	Azole antifungal	C14H14Cl2N2O	296.048318
Ketoconazole	Azole antifungal	C26H28Cl2N4O4	530.148760
Fluconazole	Azole antifungal	C13H12F2N6O	306.104065
Clotrimazole	Azole antifungal	C22H17ClN2	344.108026
Miconazole	Azole antifungal	C18H14Cl4N2O	413.986023
drosiprenone	synthetic progestin	C24H30O3	366.219494
ethinyl estradiol	synthetic estrogen	C20H24O2	296.177629
bisfenol A	endocrine disruptor	C15H16O2	228.115029



Compuși farmaceutici și disruptori endocrini monitorizați



Compuși farmaceutici și disruptori endocrini monitorizați –

exemple date campanie 2019

Concluzii

L 76/40	RO	Jurnalul Oficial al Uniunii Europene	24.3.2015
DECIZIA DE PUNERE ÎN APLICARE (UE) 2015/495 A COMISIEI din 20 martie 2015 de stabilire a unei liste de supraveghere a substanțelor pentru monitorizare la nivelul UE în domeniul apei, în temeiul Directivei 2008/105/CE a Parlamentului European și a Consiliului			
7.6.2018	RO	Jurnalul Oficial al Uniunii Europene	L 141/9
DECIZIA DE PUNERE ÎN APLICARE (UE) 2018/840 A COMISIEI din 5 iunie 2018 de stabilire, în temeiul Directivei 2008/105/CE a Parlamentului European și a Consiliului, a unei liste de supraveghere a substanțelor pentru monitorizare în întreaga Uniune conform politicii în domeniul apei și de abrogare a Deciziei de punere în aplicare (UE) 2015/495 a Comisiei			
DECIZIA DE PUNERE ÎN APLICARE (UE) 2020/1161 A COMISIEI din 4 august 2020 de stabilire a unei liste de supraveghere a substanțelor pentru monitorizare în întreaga Uniune conform politicii în domeniul apei în temeiul Directivei 2008/105/CE a Parlamentului European și a Consiliului			

Decizii recente ale UE pentru monitorizarea substanțelor farmaceutice în apă



Lista de supraveghere a substanțelor pentru monitorizare în întreaga Uniune, prevăzută la articolul 8b din Directiva 2008/105/CE

Denumirea substanței/grupeii de substanțe	Număr CAS (*)	Număr UE (*)	Metoda analitică orientativă (*) (*)	Limita maximă acceptabilă de detecție prin metoda relevantă (ng/l)
17-alfa-etinilestradiol (EE2)	57-63-6	200-342-2	SPE de volum mare – LC/MS/MS	0,035
17-beta-estradiol (E2), estronă (E1)	50-28-2, 53-16-7	200-023-8	SPE – LC/MS/MS	0,4
Antibiotice macrolide (*)			SPE – LC/MS/MS	19
Metiocarb	2032-65-7	217-991-2	SPE – LC/MS/MS sau GC/MS	2
Neonicotinoide (*)			SPE – LC/MS/MS	8,3
Metaflumionă	139968-49-3	604-167-6	LLE – LC/MS/MS sau SPE – LC/MS/MS	65
Amoxicilină	26787-78-0	248-003-8	SPE – LC/MS/MS	78
Ciprofloxacina	85721-33-1	617-751-0	SPE – LC/MS/MS	89
Sulfametoxazol (*)	723-46-6	211-963-3	SPE-LC-MS-MS	100
Trimetoprim (*)	738-70-5	212-006-2	SPE-LC-MS-MS	100
Venlafaxină și O-desmetilvenlafaxină (*)	93413-69-5 93413-62-8	618-944-2 700-516-2	SPE-LC-MS-MS	6

- Depasiri ale limitelor maxime la ethinil-estradiol
- Pentru sulfametoxazol, trimetoprim, amoxicilina, ciprofloxacina, eritromicina valorile masurate sunt sub limitele impuse
- Cu exceptia bisfenolului se inregistreaza valori mai mici ale contaminantilor in Marea Neagra comparativ cu Dunarea

Concluzii

- Rezultatele generale sugerează un anumit grad de contaminare cu produse farmaceutice, antifungice și perturbatori endocrini în mediul acvatic pe teritoriul României
- Rezultatele justifică implementarea programelor de monitorizare UE în România
- Este necesară evaluarea riscurilor pentru ecosistemul acvatic (inclusiv sedimentele), inclusiv riscul potențial ecologic integrat (ERA) și uman (HRA)





Project funded by
EUROPEAN UNION



Common borders. Common solutions.

Facebook page

fb.me/Monitox.project.BSB27

Project code **BSB27-MONITOX**