



ECHIBIOTEB

Outils innovants d'Echantillonnage, d'analyses
CHImiques et BIOlogiques pour le suivi de
Traitements avancés des Eaux usées et des Boues

2011-2013 (3 ans)

ANR ECOTECH 2010

Réunion projet ECHIBIOTEB, 28 septembre 2011, Paris



Un consortium aux compétences

variées

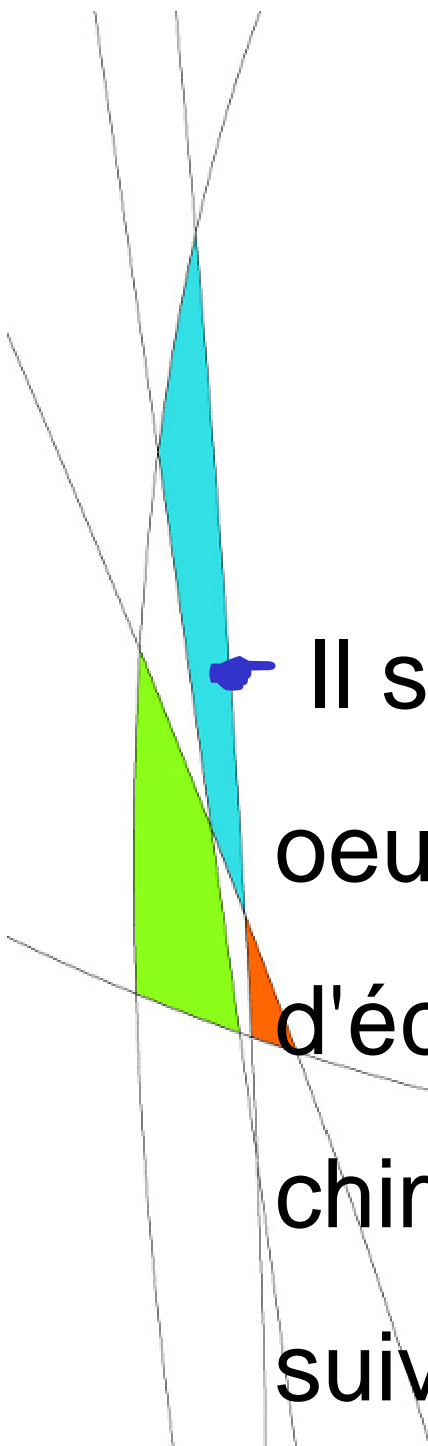

➔ Le **Cemagref**, unité de recherche
Milieux Aquatiques, Ecologie et
Pollutions (MAEP, Lyon)

➔ Le **CIRSEE**, Suez-Environnement

➔ Le laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (**LPTC**),
Institut des Sciences Moléculaires (**ISM**)

Objectif général



- 
- Il s'agit de développer et mettre en oeuvre des technologies innovantes d'échantillonnage et de mesures chimiques et biologiques pour le suivi de l'efficacité des procédés
- 

Objectifs

1/ ➡ améliorer la représentativité de l'échantillonnage et la sensibilité des analyses chimiques et biologiques : échantillonneurs intégratifs

Sciences, eaux & territoires

2/ ➡ évaluer la complémentarité d'outils d'analyse chimique et biologique, leurs domaines d'application, proposer des stratégies de déploiement et d'interprétation des données : tests in vitro (potentiel perturbateur endocrinien, "dioxin like" et génotoxique) ; tests in vivo (toxicité sur des organismes représentatifs des milieux récepteurs), analyses chromatographiques (quantification de molécules cibles)

3/ ➡ isoler et caractériser plus finement les fractions et les molécules bioactives, identifier des molécules non cibles et des produits de dégradation : démarche de type EDA (Effect Directed Analyses) couplée à des méthodologies de screening (GC-2D-MS(TOF), SPME/GC/HRMS(TOF) ou LC/HRMS(TOF))

4/ ➡ appréhender par des tests rapides in situ le caractère inhérent aux matières organiques dissoutes à moduler la qualité et la toxicité des eaux étudiées.

Les procédés de

= Une partie de ceux sélectionnés dans le projet ARMISTIQ,
après optimisation

traitement des eaux

➤ Eaux (tertiaire) : usées urbaines et des
boues

3 procédés intensifs compacts (grandes collectivités) : oxydation à l'ozone, aux rayons UV, adsorption sur charbon actif, osmose inverse

3 procédés extensifs autonomes (petites collectivités ou sortie de boues activées) : lagune, prairie humide avec infiltration, filtre planté de roseaux

➤ Boues :

1 compostage avec digestion anaérobie en amont (grandes collectivités)

1 rhizofiltration (collectivités rurales)





Par rapport à l'AMIS les molécules ciblées en plus:

Analyses chimiques



160 molécules ciblées

- 12 métaux, 7 AKP, BPA, tetrabromo-BPA, 52 antibiotiques, 10 anti-cancéreux, 10 anti-viraux, 10 bêtabloquants, 5 estrogènes, 17 pesticides, 1 phtalate, 7 PCBi, 16 HAP, 9 PBDE, HBCD, PBB153

- Dosées dans les eaux et/ou boues, dans les SPMD ou POCIS



CentraGref
Sciences, eaux & territoires

Analyses chimiques :

➤ dans des eaux usées ou traitées représentatives, dans des boues et suite à la démarche EDC

du screening pour

➤ pour l'identification de nouvelles molécules et de produits de dégradation

➤ pour proposer une liste de composés pertinents à suivre dans le futur.

① GC-2D-MS(TOF) (CIRSEE-SE)

Les tests in vitro composés toxins-like genotoxiques (biodétection) pour eaux et boues

Mécanismes ciblés	Essais in vitro	Mesure finale du test	Exemples de polluants environnementaux	Partenaire
Récepteurs des œstrogènes (ER)	Cellules MCF-7 (Pillon et al, 2005)	Activité luciférase	Stroïdes naturels (E1, E2, E3) et synthétiques (EE2), alkylphénols, bisphénol A, certains pesticides organochlorés...	UMR8079
Récepteurs des hormones thyroïdiennes (TR)	Cellules PC-DR-LUC (Jugan et al, 2007)	Activité luciférase	TBBPA, halophénols, PBDE, HAP	INERIS
Récepteurs des androgènes (AR) et des glucocorticoïdes (GR)	Cellules MDA-kb2 (Wilson et al, 2002, Kinani et al. 2010)	Activité luciférase	Androgènes : testostérone, trenbolone Anti-androgènes : pesticides, alkylphénols, bisphénol A glucocorticoïdes : pharmaceutiques de type corticostéroïdes (dexaméthasone, cortisone,...)	
Récepteur de la dioxine (AhR)	Cellules PLHC-1 (Louiz et al, 2008, Kinani et al. 2010)	Activité EROD	Dioxines et dioxin-like, HAPs, PCBs coplanaires...	
Génotoxicité	SOS Chromotest (Quillardet et al., 1982)	Induction du gène SfiA	Génotoxiques et pro-génotoxiques : HAP, HAP nitrés, amines aromatiques, nitrosamines, certains pesticides et solvants organochlorés, métaux lourds, anticancéreux	ISM-LPTC

La démarche EDA



- Pour faciliter l'identification des contaminants biodétectés par les tests in vitro dans les échantillons

Tests in vitro

de boues (ISM)

Fractionnement des échantillons

Isolement/concentration d'une fraction biologiquement active
Identification des molécules bioactives par techniques chromatographiques

Les tests in vivo prévus

✓ Sur 4 sites, (3 procédés avancés intensif des eaux et le procédé extensif de type lagune), campagnes sur 1 mois

Bio-test	Laboratoire/ex situ	Compartiment	Référence	Durée	Réponses étudiées	Partenaire
<i>Bactérie Vibrio fisheri (Test Microtox)</i>	laboratoire	Effluent / Eluat de boue	NF EN ISO 11348-3	1h	Toxicité aiguë (réduction de la bioluminescence)	ISM-LPTC
<i>Micro-algue Pseudokirchneriella subcapitata</i>	laboratoire	Effluent / Eluat de boue	NF EN ISO 8692	3j	Croissance de la population	INERIS
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	laboratoire	Effluent / Eluat de boue	NF ISO 20665	7j	Reproduction	INERIS
Avoine	laboratoire	Boue	ISO /DIS 11269-1	4j	Elongation racinaire	INERIS
Avoine / cresson	laboratoire	Boue	NF ISO 11269-2	18j	Emergence et croissance des parties aériennes	INERIS
Gammare <i>G.fossarum</i>	<i>Ex situ</i>	Effluent	Geffard et al. accepted Xuereb et al., 2009	30j	Survie Croissance Reproduction Taux d'alimentation	Cemagref
Insecte <i>Chironomus riparius</i>	<i>Ex situ</i>	Effluent	AFNOR T90-339-1	30j	Survie Croissance Emergence	Cemagref
Mollusque <i>Potamopyrgus antipodarum</i>	<i>Ex situ</i>	Effluent	Duft et al., 2007	30j	Survie Croissance Reproduction	Cemagref
Embryons et larves du Poisson <i>Oryzias latipes</i>	<i>Ex situ</i>	effluent	Cachot et al., 2007	20 à 30 j	Survie, croissance, taux d'éclosion, durée du développement, malformations, dommages à l'ADN	ISM-LPTC

Les échantillonneurs

➔ SPMD (Semi-Permeable membrane Device) pour les eaux hydrophobes

➔ POCIS (Polar Organic Chemical integrative Samplers) pour les hydrophiles

✓ Sur 4 sites, (3 procédés avancés intensif des eaux et le procédé extensif de type lagune)



L'influence de la matière organique dissoute (MOD) sur la toxicité et la biodisponibilité des eaux étudiées (Envolure)

- ➔ Tests rapides in situ en microplaque pour appréhender le caractère intrinsèque et la MOD à moduler la qualité et la toxicité des eaux étudiées (Envolure)
- ➔ Basé sur un concept d'inhibition compétitive de fluorescence (plus l'affinité entre polluant et MOD est forte, plus le signal de fluorescence

Un lien fort avec

Genmagref
Sciences eaux & territoires

ARMISTIQ

- ✓ Complète les tâches A et B (traitements avancés eaux) et D (traitement boues) du projet ARMISTIQ ➔ permettra d'affiner l'optimisation des procédés étudiés (critères plus fins de qualité des eaux et boues)
- ✓ Une tache (n°2 Echibioteb) prévue dans ECHIBIOTEB et pilotée par M

- **Tâche 1** (coord. [Cemagref, C Miège](#)) : Coordination du projet et harmonisation des méthodes
- **Tache 2** (coord. [Cemagref, M Coquery](#)) : Caractérisation chimique ciblée des eaux et boues avant et après traitement
- **Tâche 3** (coord. [CIRSEE Suez Environnement, A Bruchet](#)) : Méthodologies innovantes pour le screening chimique et l'identification de molécules nouvelles dans les eaux et boues avant et après traitement
- **Tâche 4** (coord. [INERIS, S Aït-Aïssa](#)) : Bioanalyse - Recherche de composés biologiquement actifs dans les eaux et boues avant et après traitement à l'aide de bioessais in vitro
- **Tâche 5** (coord. [ISM-LPTC, M-H. Devier](#)) : Amélioration de la détection des fractions toxiques par la méthode EDA (effect-directed analyses)
- **Tâche 6** (coord. [ISM-LPTC, H Budzinski](#)) : Application des échantillonneurs intégratifs pour la concentration et la quantification des micropolluants dans les eaux avant et après traitement
- **Tâche 7** (coord. [Cemagref, O Geffard](#)) : Evaluation de la toxicité des eaux et boues avant et après traitement à l'aide de bioessais in vitro
- **Tâche 8** (coord. [ENVOLURE, Y Dudal](#)) : Caractérisation in situ des interactions entre matière organique et micropolluants dans les eaux avant et après traitement
- **Tâche 9** (coord. [Cemagref, C Miège](#)) : Synthèse, exploitation concertée des résultats et valorisation

T8 Caractérisation in situ des interactions entre matière organique et micropolluants					
	Choix des molécules cibles pour adaptation du test	D21			
	Protocole de test	D22			
	Bilan sur les interactions mesurées		D23		
	Eléments d'interprétation des résultats de toxicité			D24	
T9 Synthèse, exploitation concertée des résultats et valorisation					
	Une liste (non exhaustive) de nouveaux composés indésirables (eaux et boues)				D25
	Guides de bonne exploitation des outils mis en œuvre pour caractériser les procédés				D26
	Comparaison de l'efficacité des procédés optimisés selon les outils innovants testés				D27
	Méthodologies de diagnostic des procédés. Stratégies de déploiement des outils et d'interprétation des données.				D28
	Colloque final public				D29



* T0 dépenses éligibles à partir du
4 juin 2010 jusqu'au 16 mars 2014

(1)

Sciences, eaux & territoires

* T0 "juridique /contractuel" = 17 mars 2011

* Accord de consortium comporte au minimum:

- répartition des tâches, moyens et fournitures
- partage droits propriété intellectuelle
- publication/diffusion
- valorisation

* Pour tout contact avec l'ANR Ecotech : utiliser
l'adresse ecotech@ (pas les adresses
personnelles)

ANR : Mémento rapide

(2)



* Revue à mi-parcours : Présentation à l'ANR du projet et des résultats

* Relevé de dépenses : à la fin du projet pour les EPST. Par contre il y a 1 demande d'estimation de dépense dans les rapports d'avancement (T12, T24 et T36).

IMPORTANT : Variation des postes de dépenses : souplesse de 30% à aide constante (informer l'unité support ADEME)