



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** - UMR 5255 CNRS), Université de Bordeaux 1
- ☛ Le groupe Santé Publique-Environnement, Université Paris Sud 11 (**UMR8079**)
- ☛ **L'INERIS**, Unités Ecotoxicologie in vitro et in vivo (ECOT) et Expertise et Essais en Ecotoxicologie (EXES)
- ☛ **ENVOLURE**



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 avancés de traitement des eaux usées urbaines et des boues

Objectifs scientifiques et techniques / technologies innovantes

- 1/ ➡ améliorer la représentativité de l'échantillonnage et la sensibilité des analyses chimiques et biologiques : échantillonneurs intégratifs
- 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 traitement des eaux usées urbaines et des boues

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

☛ Eaux (tertiaire) :

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)

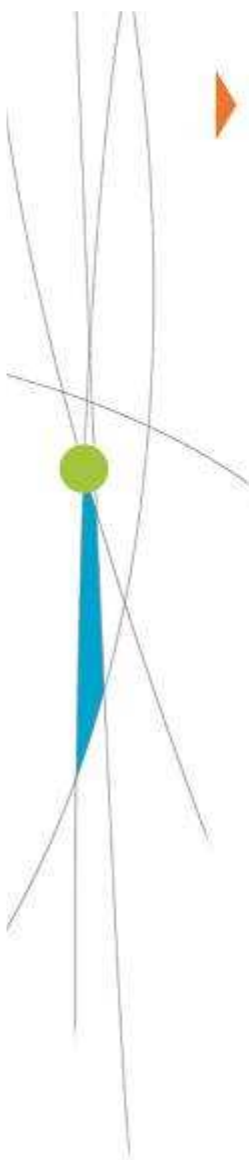
1 rhizofiltration (collectivités rurales)



Analyses chimiques : 160 molécules ciblées

- Par rapport à ARMISTIQ : des molécules cibles en plus
- 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
- par des techniques chromatographiques
- par **ISM-LPTC**, **Cemagref** et **CIRSEE-SE**

Analyses chimiques : du screening pour identifier de nouvelles molécules

- 
- ✦ dans des eaux usées ou traitées représentatives, dans des boues et suite à la démarche EDA
 - ✦ 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](#))
 - ② SPME/GC/HRMS(TOF) et LC/HRMS (TOF) ([ISM-LPTC](#))

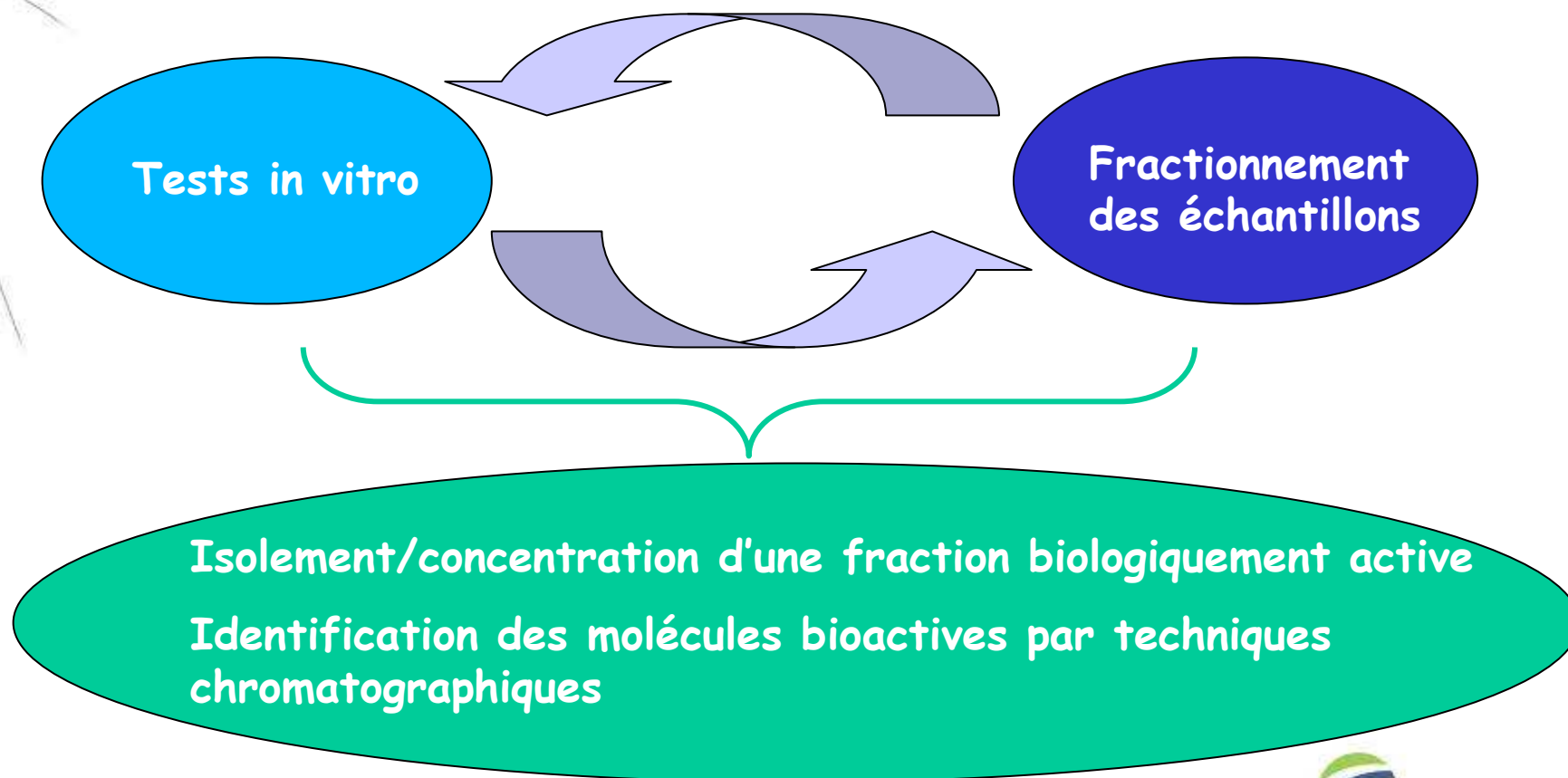
Les tests in vitro prévus (biodétection) pour eaux et boues

composés PE, dioxin-like et génotoxiques

Mécanismes ciblés	Essais in vitro (réf.)	Mesure finale du test	Exemples de polluants environnementaux détectés	Partenaire
Récepteur des œstrogènes (ER)	Cellules MELN (<i>Pillon et al, 2005</i>)	Activité luciférase	Stéroïdes naturels (E1, E2, E3) et synthétiques (EE2), alkylphénols, bisphénol A, certains pesticides organochlorés...	UMR8079
Récepteurs des hormones thyroïdiennes (TR)	Cellules PC-DR-LUC (<i>Jugan et al, 2007</i>)	Activité luciférase	TBBPA, halophénols, PBDE, HAP	
Récepteurs des androgènes (AR) et des glucocorticoïdes (GR)	Cellules MDA-kb2 (<i>Wilson et al, 2002, Kinani et al. 2010</i>)	Activité luciférase	Androgènes : testostérone, trenbolone Anti-androgènes : pesticides, alkylphénols, bisphénol A glucocorticoïdes : pharmaceutiques de type corticostéroïdes (dexaméthasone, cortisone,...)	INERIS
Récepteur de la dioxine (AhR)	Cellules PLHC-1 (<i>Louiz et al, 2008, Kinani et al. 2010</i>)	Activité EROD	Dioxines et dioxin-like, HAPs, PCBs coplanaires...	
Génotoxicité	SOS Chromotest (<i>Quillardet et al., 1982</i>)	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 (effect-directed analyses)

- Pour faciliter l'identification des contaminants biodétectés par les tests in vitro dans les échantillons d'eaux et de boues (ISM-LPTC)

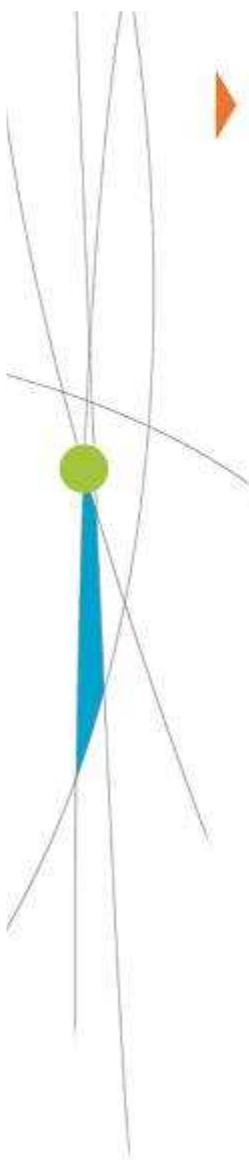


Les tests in vivo prévus (mesures de toxicité)

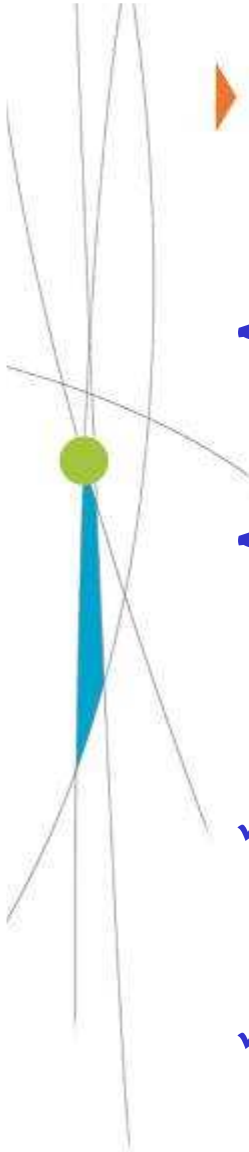
✓ Sur 4 sites, (3 procédés avancés intensif des eaux et le procédé extensif de type lagune), campagnes sur 1 mois

Bio-test	Laboratoire/ex situ	Compartiment	Référence	Durée	Réponses étudiées	Partenaire
Bactérie <i>Vibrio fischeri</i> (Test Microtox)	laboratoire	Effluent / Eluat de boue	NF EN ISO 11348-3	1h	Toxicité aiguë (réduction de la bioluminescence)	ISM-LPTC
Micro-algue <i>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 intégratifs pour les eaux (ISM-LPTC, Cemagref)

- 
- SPMD (Semi-Permeable membrane Device) pour les 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)
 - ✓ Exposition en amont et en aval des traitements étudiés jusqu'à 28 jours (2 à 4 durées d'exposition différentes, au moins 1 triplicat)
 - ✓ Couplés à i) des analyses chimiques des molécules ciblées, ii) des screening chimiques, iii) des biotests in vitro

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

- 
- ➡ Tests rapides in situ en microplaque pour appréhender le caractère inhérent aux MOD à moduler la qualité et la toxicité des eaux étudiées
 - ➡ Basé sur un concept d'inhibition compétitive de fluorescence (plus l'affinité entre polluant et MOD est forte, plus le signal de fluorescence de la sonde est élevé)
 - ✓ Permettra d'apporter des éléments d'interprétation des résultats de toxicité et d'échantillonnage par SPMD ou POCIS
 - ✓ Prévu sur les 4 sites d'étude de la toxicité, des SPMD et POCIS, tests en amont et aval des procédés



Un lien fort avec 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 tâche (n°2 Echibioteb) prévue dans ECHIBIOTEB et pilotée par M Coquery pour assurer ce lien fort avec ARMISTIQ
 - ✓ choix définitifs des sites et traitements optimisés pour la mise en œuvre des outils innovants d'ECHIBIOTEB, coordination des campagnes
- ✓ Un comité de suivi commun pour ARMISTIQ et ECHIBIOTEB

- **Tâche 1** (coord. [Cemagref, C Miège](#)) : Coordination du projet et harmonisation des méthodes
- **Tâche 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

Titre : ECHIBIOTEB Outils innovants d'échantillonnage, d'analyse chimique et biologique pour le suivi de traitements avancés d'eaux usées et de boues		<div><div></div> Accord de consortium / Rapport mi-parcours / Rapport final</div> <div><div></div> Rapport d'avancement semestriel</div> <div><div></div> Etat de dépenses</div> <div><div></div> Délivrable disponible</div> <div><div></div> Réunion lancement / séminaires</div>																																			



ANR : Mémento rapide (1)

- * T0 dépenses = dépenses éligibles à partir du 4 juin 2010 jusqu'au 16 mars 2014
- * 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)
- * Rapports d'avancement fortement conseillés TOUS les 6 mois (obligatoire seulement à 6, 18 et 36 mois) :
Il s'agit d'un suivi de projet (brefs rapports d'avancement ; sauf le rapport à 18 mois)
Important de compiler les embauches en CDD.
Il faut inclure le CR de la réunion de lancement dans le rapport semestriel à T6



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)
- * Pole de compétitivité : +12000 € de financement abondé au projet; versé en 1 seule fois (colloque fin de projet).
- * Publications : remercier soutien de l'ANR Ecotech
- * Présentations : logo "financé par l'ANR" à utiliser