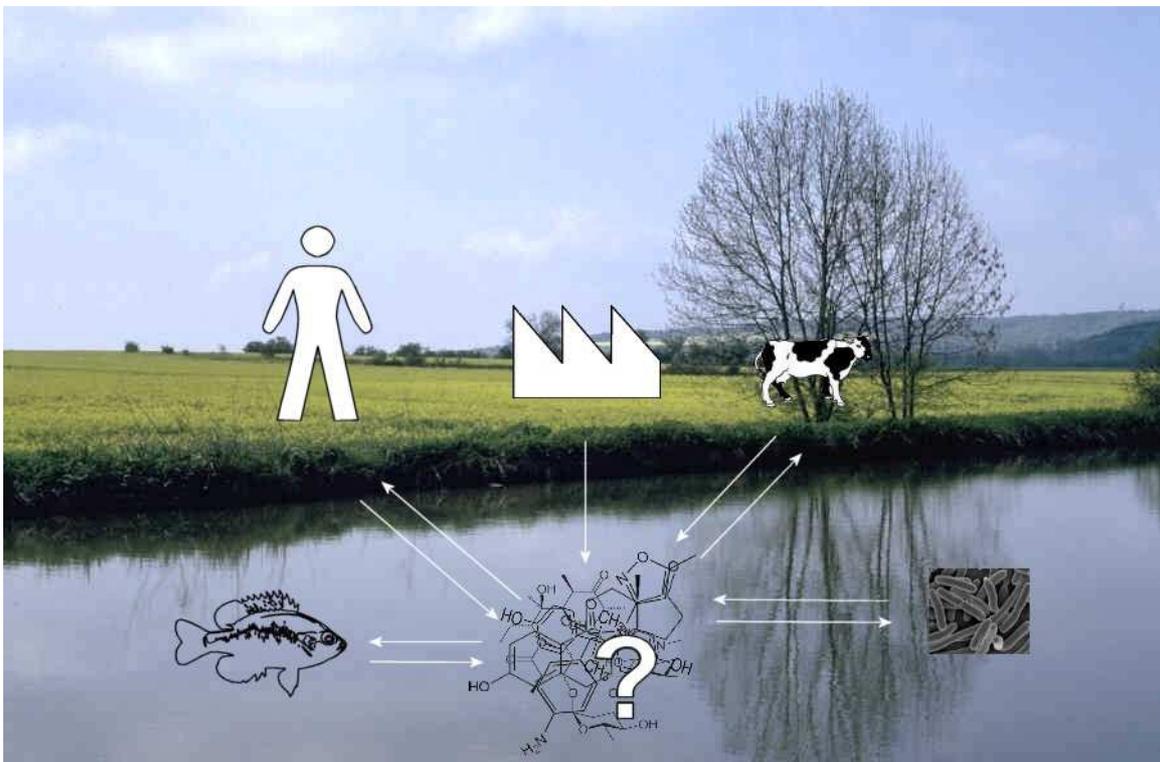


Biotechnologies et Eau

Détection des polluants émergents dans l'eau : état des lieux

Janvier 2009



Etude réalisée par Anne Feraudet (Sup'Biotech)
Sous la direction d'Emmanuel Trouvé (Véolia Eau) et
la coordination de Danielle Lando (Adebiotech)



Résumé

La problématique de l'eau est une préoccupation de tous. Actuellement se pose la question des effets de certaines substances sur la santé et l'environnement. Ces polluants, d'origine chimique ou biologique, sont appelés « polluants émergents » car ils n'ont généralement pas encore de statut réglementaire.

L'objectif de cette étude est d'identifier les procédés innovants d'analyse de l'eau pour les polluants émergents et de mettre en évidence les problématiques à résoudre. Ce travail a été rendu possible grâce à une étude bibliographique récente non exhaustive, une analyse des programmes français et européens et des entretiens avec des scientifiques experts.

L'analyse des polluants émergents dans l'eau est fondamentale pour la protection de la santé et des écosystèmes et pour permettre d'apprécier l'efficacité des traitements.

Des méthodes physico-chimiques et biotechnologiques d'analyse sont décrites dans ce rapport. Elles s'appliquent aux pesticides, aux molécules pharmaceutiques, aux toxines et à d'autres molécules comme par exemple les détergents, les plastifiants et les retardateurs de flamme. Deux types de méthodes sont distingués. Les méthodes directes mesurent la concentration ou les émissions naturelles d'une molécule. Les méthodes indirectes mesurent l'effet global d'une molécule ou d'un mélange sur un modèle biologique. Elles permettent de mesurer des effets à court et à long terme.

Une partie est consacrée à la dégradabilité des polluants. Elle met en évidence que les analyses doivent porter aussi bien sur les substances que sur leurs produits de dégradation.

Cette étude a montré que beaucoup de technologies basées sur les biotechnologies sont innovantes, cependant beaucoup d'entre elles sont encore au stade de développement et pas encore validées. Une des difficultés d'application des méthodes d'analyses concerne les matrices complexes et des mélanges de polluants qui peuvent représenter plus de 10 000 molécules dont certaines à l'état de traces.

Des initiatives françaises et européennes ont été mises en place pour tenter de résoudre ces difficultés en fédérant les différents laboratoires travaillant sur le sujet.

L'étude a permis d'identifier les aspects principaux de l'analyse des polluants émergents à développer:

- ✓ Technologies de détection fiables et reproductibles;
- ✓ Méthodes globales toxicologiques et écotoxicologiques prenant en compte les risques d'accumulation des polluants ;
- ✓ Gestion des risques des polluants et anticipation des risques potentiels des nouveaux polluants.

Abstract

The problem of water is the concern of all. Currently the question of the effects about health and the environment of certain substances arises. These pollutants, of chemical or biological origin, are called “emerging pollutants” because they do not have a lawful statute yet.

The objective of this study is to identify the innovating processes of analysis of water for the emerging pollutants and to highlight the problems to be solved. This work was made possible thanks to a recent bibliographical study nonexhaustive, an analysis of the French and European programs and discussions with expert scientists.

The analysis of the emerging pollutants in water is fundamental for the protection of health and the ecosystems and to make it possible to appreciate the effectiveness of the treatments.

Physicochemical and biotechnological methods of analysis are described in this report/ratio. They apply to the pesticides, the pharmaceutical molecules, toxins and other molecules such as for example the detergents, plasticizers and the retarders of flame. Two types of methods are distinguished. The direct methods measure the concentration or the natural emissions of a molecule. The indirect methods measure the total effect of a molecule or a mixture on a biological model. They can measure short and long-term effects.

A part is devoted to the degradability of the pollutants. It highlights that the analyses must carry as well on the substances and on their breakdown products.

This study showed that many technologies based on biotechnologies are innovating, however much of them still at the stage of development and are not validated yet. One of the difficulties of application of the methods of analyses relates to the complex matrices and of the mixtures of pollutants which can represent more than 10.000 molecules of which some at the state of traces. French and European initiatives were setting up to try to solve these difficulties by federating the various laboratories working on the subject.

The study permit to identify the principal aspects of the analysis of the emergent pollutants to develop:

- ✓ Reliable and reproducible technologies of detection;
- ✓ Toxicological and ecotoxicological total methods taking into account risks of accumulation of the pollutants;
- ✓ Risk management of the pollutants and anticipation of the potential risks of the new pollutants.

Sommaire

Résumé	2
Abstract	3
Sommaire	4
I. Introduction	5
II. Polluants émergents	7
III. L'analyse des polluants émergents	8
A. Méthodes validées	8
B. Méthodes en développement	11
C. Discussion	13
D. Dégradabilité des polluants émergents	14
E. Impacts sur les écosystèmes	14
IV. Conclusion	15
V. Remerciements	16
VI. Lexique	17
VII. Abréviations	18
VIII. Annexes	20
A. Listes des polluants émergents mentionnés lors de cette étude	20
B. Liste des molécules pharmaceutiques citées	24
C. Initiatives et programmes européens et français	26
IX. Bibliographie	31

I. Introduction

La présente étude réalisée suite à la réunion d'un groupe de travail intitulé «Eau et Biotechnologies» et après discussion avec Emmanuel Trouvé (Véolia Eau) est centrée sur les polluants émergents dans l'eau.

La réalisation de ce travail a consisté à rechercher des informations à travers la littérature, des entretiens avec des experts et l'analyse de programmes français et européens.

Une étude préliminaire a été réalisée concernant l'analyse et le traitement des polluants émergents dans l'eau (Anne Feraudet, Lauriane Herzog, novembre 2008). Cette première étude a montré que les travaux de la littérature concernant les traitements sont peu nombreux et proviennent de résultats de laboratoires publics et non d'opérateurs en général. L'efficacité des méthodes de traitements est fonction du milieu à traiter et des polluants à éliminer. Enfin, afin de pouvoir évaluer l'efficacité des traitements, il faut disposer au préalable de méthodes analytiques performantes pour mesurer l'élimination de ces polluants.

L'étude présentée ici, non exhaustive, porte sur les méthodes utilisées pour détecter les polluants émergents dans l'eau. Un de ses points principaux concerne les technologies innovantes basées sur les biotechnologies.

Liste des experts consultés lors de l'étude :

Bernard Cécile, Muséum National d'Histoire Naturelle, Unité Ecosystèmes et interactions toxiques (USM 505/EA 4105), Paris, www.mnhn.fr

Bernet Nicolas, INRA, Laboratoire de Biotechnologies de l'Environnement, Narbonne, www.montpellier.inra.fr/narbonne

Besse-Hoggan Pascale, UMR CNRS 6504 Synthèse et Etudes de Systèmes à Intérêt Biologique, Université Blaise Pascal, Aubière, seesib.univ-bpclermont.fr

Corman Bruno, CEA, Saclay, www.cea-technologies.com

Delort Anne-Marie, Université Blaise Pascal, Aubière, seesib.univ-bpclermont.fr

Joulian Catherine, BRGM, équipe de Dominique Morin, Orléans, www.brgm.fr

Kemi Seriki, Ingénieur R&D Eaux Usées & Boues, Véolia Eau, Maison Laffitte, www.veoliaeau.com

Lemkine Grégory, Watchfrog, Paris, www.watchfrog.fr

Madalinski Geoffrey, CEA DSV Laboratoire d'Etude du Métabolisme des Médicaments, Saclay, www.dsv.cea.fr, www.centre-saclay.cea.fr

Mousty Christine, UMR CNRS 6002 Laboratoire des Matériaux Inorganiques, Université Blaise Pascal, Aubière, www.univ-bpclermont.fr/LABOS/lmi

Ouazanni Jamal, ICSN, Gif-sur Yvette, www.icsn.cnrs.gif

Patureau Dominique, INRA Laboratoire de Biotechnologies de l'environnement, Narbonne, www.montpellier.inra.fr/narbonne

Roig Benoit, Coordinateur projet Knappe, Ecole des mines, Alès, www.ema.fr

Trouvé Emmanuel, Directeur R&D Eaux Usées & Boues, Véolia Eau, Maison Laffitte, www.veoliaeau.com

II. Polluants émergents

Les polluants émergents sont de nature chimique ou biologique. Ces substances peuvent être d'origine industrielle, agricole, domestique ou naturelle, elles peuvent aussi être le résultat de traitements de dépollution.

Parmi les polluants chimiques, on trouve par exemple les substances pharmaceutiques et cosmétiques, les pesticides et les plastifiants. Certains polluants biologiques comme par exemple le prion, l'ADN des bactéries résistantes aux antibiotiques, les virus, les toxines font partie de cette catégorie.

La terminologie des polluants « émergents » est issue des travaux du National Research Council dès 1990. Ces travaux ont conduit à définir comme « polluants émergents » des substances n'ayant pas de statut réglementaire et susceptibles d'avoir des effets sur la santé et sur les écosystèmes. Elles peuvent entraîner par exemple des effets neurotoxiques, cancérigènes, mutagènes et des perturbations hormonales. Pour autant, il n'en existe pas de classification normalisée internationalement reconnue.

Le nombre de polluant augmentant de façon exponentielle, il est nécessaire de disposer de techniques performantes pour les analyser et préciser leurs risques potentiels sur la santé et l'environnement. Ces polluants peuvent exister à l'état de trace dans l'eau et dans des mélanges complexes ce qui complique l'analyse.

Cette étude est basée sur une liste de molécules déjà suivies dans des études en cours (ScorePP, AFSSET) ainsi que sur une liste établie par le CEMAGREF qui comprend les « substances prioritaires » (33 substances prioritaires de l'annexe X de la DCE (Directive 2000/60/CE) et les substances de la Liste I de la Directive 76/464/CE) et les substances émergentes telles que mentionnée précédemment (voir les listes en Annexe). A cela s'ajoute la liste des molécules du programme européen NORMAN disponible sur le site du programme¹. Cette liste n'est pas exhaustive et elle est en constant renouvellement suivant l'état des connaissances.

¹ <http://www.norman-network.com>

Les antibiotiques et leurs conséquences :

Les antibiotiques sont susceptibles d'induire des résistances bactériennes qui peuvent diffuser aux autres espèces bactériennes via les plasmides. Lors des conclusions du projet NORMAN (voir IV, A, 6) il a été mentionné la nécessité d'étudier l'impact de ces transferts de résistances au delà de la quantification seule des antibiotiques.

Impact des polluants sur l'écologie microbienne :

Certains laboratoires travaillent sur l'impact direct des polluants sur l'écologie microbienne (Anne-Marie Delort et Catherine Joulian). Il s'agit par exemple d'évaluer la modification du métabolisme de cyanobactéries produisant des toxines sous l'impact de pesticides. L'approche utilisée dans ce cas est la génomique mais aussi la métabolomique. On peut regarder aussi dans les sols ou autres milieux la modification des populations microbiennes (biodiversité) sous l'impact de polluants divers ou encore le transfert de gènes dans ces populations.

III. L'analyse des polluants émergents

L'analyse des polluants émergents peut se faire de manière directe ou indirecte.

Les méthodes directes mesurent la concentration des substances concernées ou leurs émissions naturelles (radioactivité, fluorescence naturelle par exemple). Ces méthodes sont principalement physico-chimiques et les techniques principales utilisées sont la chromatographie en phase liquide ou gazeuse, la résonance magnétique nucléaire et la spectrométrie de masse. Ces méthodes sont automatisées et permettent de mesurer un grand nombre de substances chimiques connues et d'échantillons. Actuellement, il est possible de mesurer jusqu'à 3 000 molécules différentes. Elles représentent la grande majorité des techniques d'analyse utilisées à ce jour. D'autres méthodes biologiques permettent aussi de détecter spécifiquement une substance (immuno-chimie), cependant ces techniques ne sont pas encore validées et souvent au stade du développement.

Les méthodes indirectes mesurent un ou des effets d'une ou plusieurs substances sur un modèle biologique. Celui-ci peut être un animal ou une cellule. Ces méthodes sont dites globales car elles permettent d'évaluer des effets sans connaître exactement la nature des substances concernées. Elles sont utilisées pour détecter certains types de substances *via* leurs effets (perturbateurs endocriniens) et pour les études toxicologiques et écotoxicologiques (mesure des effets à court et long terme sur les organismes et les écosystèmes). Ce dernier aspect sera détaillé dans le paragraphe III, E.

Parmi les techniques directes et indirectes les biocapteurs sont en plein développement. Selon Christine Mousty (références du laboratoire dans la bibliographie), qui développe des technologies de biocapteur, différentes applications ont été développées comme le dosage du nitrate et des phénols. Certaines applications sont envisagées pour mesurer la pollution de l'eau en temps réel. Les difficultés rencontrées reposent sur le fait que l'utilisation des biocapteurs dans l'eau est une analyse multi-composante avec la possibilité d'interaction entre les différents composés. Cela complique l'interprétation. Dans la littérature, cette technologie est aussi utilisée pour certains polluants émergents : les pesticides et les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

A. Méthodes validées

Les méthodes validées ont tout d'abord été référencées à partir de l'International Standardization Organization (ISO, septembre 2008). Le tableau 1 rassemble une liste de polluants pour lesquels il existe une méthode de détection physico-chimique. Le tableau 2 présente les modèles biologiques validés. Les organismes modèles sont de nature diverse : bactéries, algues, poissons, crustacés.

Tableau 1 : Liste des polluants émergents analysés à ce jour par des techniques directes physico-chimiques certifiées ISO (les substances dont les techniques d'analyse sont en développement sont soulignées en pointillés)

Catégories	Substance(s)	Matrice
Toxines algales (sécrétée par les micro-algues)	Microcystine	Non précisé
Sous produits de désinfection	Bromate (Issu de la réaction $\text{Br}^- + \text{O}_3$, ozone utilisé comme agent de désinfection)	Eau (prétraitement requis)
	Acide trichloroacétique Acides haloacétiques (Issus de la réaction du Cl avec les composés organiques)	Non précisé
Plastifiants	Phtalate	Eau
	Bisphénol A	Eau
Détergents	Nonyl phénols	Non précisé
	Ethoxylate d'alkylphénol	Eau
Alcane perfluorés	<u>Sulfonate de perfluorooctane (PFOS)</u> <u>Octanoate perfluoré (PFOA)</u>	Eau
Composées d'antifouling (antisalissures)	Composés organostanniques	Eau
Retardateurs de flamme	Ethers diphényles polybromés (PBDE)	Sédiments
		Boues d'épuration
Pesticides	<u>Glyphosate</u>	Eau
	<u>AMPA (métabolite du glyphosate)</u>	Eau

Tableau 2: Liste des modèles globaux normés ISO utilisés pour l'analyse de l'eau (les modèles d'analyse en développement sont soulignés en pointillés)

Système vivants	Paramètre(s) observé(s)	Matrice, remarques
<i>Daphnia magna</i> Straus	Toxicité aiguë (mobilité)	<ul style="list-style-type: none"> • Effluents industriels et urbains, épurés ou non, s'il y a lieu après décantation, filtration ou centrifugation • Eaux de surface et eaux souterraines
<i>Brachydanio rerio</i> (poisson d'eau douce)	Toxicité aiguë létale de substances	Eau (substances simples, stables, non volatiles)
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (poisson d'eau douce truite arc-en-ciel)	Toxicité à long terme de substances (taux de croissance)	Non précisé
<u><i>Caenorhabditis elegans</i> (nématode)</u>	Toxicité : croissance, fertilité et reproduction	Echantillons de sédiments et de sol
<i>Vibrio fischeri</i> (bactérie marine, bioluminescence)	Luminescence	<ul style="list-style-type: none"> • Eaux usées, extraits aqueux et lixiviats, eaux douces (eaux de surface ou souterraines), eau de mer ou eaux saumâtres, eaux interstitielles • Éluas de sédiments (eau douce, eau saumâtre et eau de mer)
<i>Danio rerio</i> (poisson-zèbre, œufs)	Toxicité aiguë vis-à-vis des œufs sur 48h	Eaux résiduaires, eaux résiduaires municipales traitées et effluents industriels
<i>Pseudomonas putida</i>	Croissance	Eau de surface, eau souterraine et eaux usées Non applicable aux échantillons de forte coloration, contenant des matières non dissoutes ou volatiles ou des substances réagissant avec le milieu nutritif ou qui subissent des changements pendant l'essai (précipitation, dégradation biochimique ou photochimique)
<i>Lemna minor</i> (lentilles d'eau)	Croissance	Eaux, eaux résiduaires urbaines après traitement et effluents industriels
<u><i>Ceriodaphnia dubia</i> (crustacé)</u>	Toxicité chronique (inhibition de la reproduction sur env. 7 jours)	<ul style="list-style-type: none"> • Eaux douces • Effluents industriels ou aux eaux usées, le cas échéant, après décantation, filtration ou centrifugation • Extraits aqueux
<u><i>Brachionus calyciflorus</i> (rotifère)</u>	Toxicité chronique (inhibition de la croissance sur 48h)	<ul style="list-style-type: none"> • Eaux douces • Effluents industriels ou aux eaux usées, le cas échéant, après décantation, filtration ou centrifugation • Extraits aqueux
Algues vertes unicellulaires	l'inhibition de la croissance	Eau ou eaux résiduaires (utilisable avec des substances aisément solubles dans l'eau)
Bactéries anaérobies	Inhibition production de gaz	Non précisé
Micro-organismes de boues activées	Croissance, consommation d'oxygène, nitrification	Eaux, eaux résiduaires, eaux usées d'origine domestique et de synthèse, boues provenant d'eaux résiduaires industrielles, mélangées ou non avec des eaux résiduaires d'origine domestique

Ces méthodes biologiques ne sont pas spécifiques d'un ou plusieurs polluants émergents, elles mesurent la toxicité de l'échantillon testé ou l'activité globale d'une population sans déterminer la ou les substances induisant les changements observés.

B. Méthodes en développement

Les techniques présentées ici sont à l'étude dans des laboratoires publics ou en cours de développement dans des entreprises privées car elles nécessitent des validations à grande échelle.

- ✓ Des poissons pour contrôler la qualité de l'eau potable: (Bulletin Electroniques Allemagne du 3/09/2008)

La qualité de l'eau potable produite par l'usine de Friedrichshagen à Berlin est contrôlée grâce à treize poissons argentés de quelques centimètres de long de la famille des cyprinidés : des ables de Heckel (*Leucaspis delineatus*). Ceux-ci réagissent à des modifications de la qualité de l'eau par une accélération ou un ralentissement de leurs mouvements, suivis par des dizaines de capteurs infrarouges dont les données sont transmises à un ordinateur puis analysées sous forme de courbes.

- ✓ Un procédé innovant pour détecter et transmettre en temps réel des pollutions de l'eau : (Bulletin Electroniques Allemagne du 31/07/2008)

Ce procédé est développé par des chercheurs de la chaire Heinz-Nixdorf d'électronique médicale de l'Université technique de Munich (TUM).

Une petite pompe permet de prélever de l'eau à intervalles réguliers (quelques minutes) et de la conduire vers une puce équipée de microorganismes, comme des algues. Le métabolisme des algues est suivi par des capteurs bioélectroniques. Les changements métaboliques sont observables en fonction de la concentration des substances polluantes dans l'eau. Ainsi, les modifications de la qualité de l'eau sont enregistrées puis transmises sans fil par téléphone via une connexion Bluetooth à un serveur central. Lorsque certains seuils sont dépassés, une alarme se déclenche. La recherche d'algues appropriées s'effectue en collaboration avec la station de limnologie de la TUM, située à Iffeldorf.

Dans le cadre de leur projet de recherche actuel, les scientifiques utilisent les capteurs en premier lieu à des fins de suivi des eaux. Ce procédé de suivi en ligne de paramètres métaboliques et morphologiques des microorganismes permet toutefois d'autres types d'analyse. Le spectre des applications s'étend de la surveillance des masses d'eau aux tests individuels de sensibilité à des produits chimiques, en passant par la toxicologie générale.

- ✓ Des cellules pour détecter la pollution de l'air et de l'eau : (Bulletin Electroniques Allemagne du 17/04/2008)

Des chercheurs de Siemens Corporate Technology (Munich) travaillent au développement de capteurs à cellules eucaryotes qui pourraient bientôt permettre de mettre au point des systèmes d'alerte précoces pour la détection de la pollution de l'air ou de l'eau. Leurs travaux, menés en collaboration avec l'entreprise de biotechnologies Bionas (Rostock), se focalisent actuellement sur le développement de cultures de cellules fixées à des puces en silicium.

✓ Des têtards pour détecter diverses substances (Watchfrog², France)

La société française Watchfrog a mis au point un système de détection de substances in vivo. Ce système utilise des larves de têtards qui sont mis en contact avec l'eau à analyser. Ces têtards sont des modèles adaptés spécifiquement à chaque situation à analyser. Les substances sont susceptibles d'activer un promoteur régulant l'expression d'une molécule de fluorescence. Il est ainsi possible de détecter quel(s) organe(s) ou système(s) répondent au contact des substances présentes dans l'eau.

Cette méthode permet donc de détecter un effet dû à la présence de substances, cependant il n'est pas nécessaire obligatoirement d'avoir une idée précise de la substance concernée.

✓ Utilisation du poisson zèbre pour détecter plusieurs effets (Eawag³, Suisse)

L'Institut Eawag a mis au point un système de détection de plusieurs effets dû, entre autres, aux perturbateurs endocriniens sur le poisson. La technique s'appelle le test MolDart et utilise le poisson zèbre.

Les œufs de poisson sont mis en contact avec de l'eau polluée. Après extraction, les ARNm sont analysés par PCR en temps réel pour analyser la variabilité de l'expression génétique dépendante de la toxicité de l'eau. La société Eawag a développé quatre « modules » : « activité œstrogène », « immunotoxicité », « métallotoxicité » et « toxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques » comme par exemple les dioxines.

Ce système de détection peut être étendu à volonté. Cependant cette technique repose sur la connaissance des gènes impliqués dans la réponse à certains polluants et nécessite un travail de recherche fondamentale en amont.

✓ Détection de polluants par *Escherichia coli* :

La société Eawag a aussi développé un système de détection directe de polluant. Ce modèle a été développé pour l'arsenic.

La bactérie *E. coli* possède un système de défense contre l'arsenic. En insérant un gène marqueur (celui de la Green Fluorescent Protein en l'occurrence) après le promoteur des gènes de résistance, la bactérie devient fluorescente en contact avec l'arsenic. Une autre version de cette méthode sur bande de papier a été mise au point pour permettre de réaliser le test plus rapidement et sans la nécessité d'avoir un laboratoire proche. Cette version utilise la β -galactosidase comme marqueur enzymatique. Cependant la qualité et la conservation des cellules sur une bande de papier n'est pas garantie.

Ce test est intéressant par son principe et pourrait être adapté à la détection d'autres polluants. Cependant cela implique qu'un organisme connu possède des gènes identifiés réagissant au polluant concerné. Cela nécessite une recherche fondamentale en amont de la même manière que la technique précédente.

² <http://www.watchfrog.fr>

³ <http://www.eawag.ch>

✓ Détection des composés œstrogéniques par méthode immunologique :

L'équipe de Benoit Roig (2008) a mis au point un système de détection de composés oestrogéniques par l'intermédiaire du récepteur à œstrogènes qui se dimérise au contact de l'hormone. Cette méthode pourrait permettre une détection directe des composés oestrogéniques à des concentrations de l'ordre de 5 nM. Actuellement, cette méthode est au stade de la recherche, une validation sera nécessaire pour pouvoir l'utiliser en routine.

✓ Détection de toxines par méthode biochimique :

Cécile Bernard a développé une méthode biochimique d'identification et de dosage de cyanotoxines. Cette technique est basée sur un test d'inhibition de la phosphatase 2A et permet d'identifier la nature de la toxine.

La présence de ce type de toxine augmente en particulier dans le sud de la France, lié aux changements climatiques (prolifération de cyanobactéries). De part la toxicité de ces toxines, il est très important de la détecter pour pouvoir l'éliminer.

C. Discussion

Nous avons identifié quelques technologies d'analyse des polluants émergents basées sur la biotechnologie. Cependant très peu sont appliquées et validées à ce jour. Cela est dû, entre autres, au fait d'une réglementation insuffisante concernant ces polluants. Il existe aussi de nombreuses difficultés de l'analyse elle-même. Elles ont été soulignées par nombre d'experts contactés et plus particulièrement par Dominique Patureau, Christine Mousty et Bruno Corman. Ces difficultés peuvent se résumer en quatre points :

- ✓ Difficultés de définir les polluants eux-mêmes et leur importance ;
- ✓ Besoin de standardiser les méthodes d'échantillonnage y compris leur conservation ;
- ✓ Difficultés de l'analyse de multi-composants et possibilité d'interactions entre eux ;
- ✓ Difficultés liées à la matrice : si beaucoup de techniques sont disponibles dans l'eau, très peu peuvent être utilisées dans les boues de station d'épuration ou dans les sédiments.

Il semble nécessaire d'axer les efforts de recherche sur ces quatre points afin de développer des méthodes d'analyse pour tous ces polluants émergents. Ces efforts devraient concerner toutes les disciplines scientifiques pour contribuer à résoudre ces problèmes.

Le projet français AMPERES porté par le Cemagref et Suez Environnement a mis en évidence ces difficultés analytiques (Document « Résumé – Projet Amperes », Cemagref). Ce projet a aussi pour but de valider des méthodes d'analyses dans les matrices complexes (eaux résiduaires, boues, matières en suspension) pour l'analyse de substances prioritaires et émergentes et des méthodes « multirésidus ». Le projet européen NORMAN (2005-2008) (VI, A, 6) avait pour but de fédérer des équipes européennes afin de développer des méthodes d'analyse et de toxicité. De nombreuses autres initiatives sont en cours pour répondre à ces objectifs.

Deux enjeux majeurs n'ont pas encore été abordés dans l'étude :

- ✓ Le nombre de nouveaux polluants d'origine chimique ou biologique non encore identifiés est en pleine croissance ce qui nécessite un effort important de développement de méthodes pour les caractériser et déterminer leurs impacts toxicologiques et écotoxicologiques ;
- ✓ La dégradabilité de ces nouveaux polluants (nanoparticules, Patrick Boisseau).

D. Dégradabilité des polluants émergents

L'étude du potentiel de dégradation d'une molécule permet de définir sa dégradabilité.

Certains polluants émergents peuvent être dégradés en des molécules encore plus toxiques que la molécule mère. Ces molécules peuvent être des métabolites, issus de la transformation par des animaux et l'Homme suite à une ingestion. Elles peuvent être aussi des sous-produits de dégradation, issus d'actions environnementales. Ces actions de dégradations se divisent en trois types : la biodégradation (réalisée par des bactéries ou des champignons par exemple), la photodégradation et la dégradation physico-chimique.

L'industrie pharmaceutique applique déjà en recherche ce genre d'étude. Le CEA travaille aussi sur cette thématique (Bruno Corman). Pour Pascale Besse-Hoggan, qui travaille plus particulièrement sur la biodégradabilité en station d'épuration, il est important de faire des études à partir de bactéries pures mais aussi à partir de bactéries isolées de sites pollués ou de stations d'épuration afin de bien identifier les métabolites.

Certaines substances non dégradables peuvent présenter des effets toxiques à long terme en s'accumulant dans l'environnement ou les organismes. D'où la nécessité de développer des tests performant pour évaluer leur potentiel toxique.

E. Impacts sur les écosystèmes

Les impacts des polluants émergents sur les organismes et sur les écosystèmes sont étudiés à travers la toxicologie et l'écotoxicologie disciplines essentielle qui doivent être d'avantage développées particulièrement en France. L'écotoxicologie permet aussi de prendre en compte les effets cumulatifs des polluants émergents dans l'eau.

Selon Benoit Roig, pour les résidus pharmaceutiques et leurs métabolites, la toxicologie et l'écotoxicologie sont les solutions privilégiées pour l'étude des mélanges complexes. De plus elles prennent en compte le risque de synergie de toxicité de plusieurs polluants.

Actuellement en France, il existe plusieurs laboratoires d'écotoxicologie dont celui du Cémagref⁴. Il existe aussi différents projets français sur cette thématique :

- ✓ ENIMED : Projet porté par le Cemagref (Laboratoire d'Ecotoxicologie), « Recherche de médicaments dans les stations d'épuration d'agglomération urbaine et analyse de leurs effets biologiques potentiels sur la base d'une batterie de bioessais » ;
- ✓ ARP Reach (Atelier Réflexion Prospective): Projet porté par l'INERIS. Dans cet atelier il y a deux thématiques intéressantes dans le cadre de notre sujet: « Quels besoins de recherche en toxicologie ? » et « Quels besoins de recherche en écotoxicologie ? » ;
- ✓ ANTIOPE : Projet porté par l'INERIS sur la thématique de la toxicité prédictive.

Cependant il apparait que ces actions doivent être développées et qu'un meilleur effort de fédération au niveau français et européen doit être réalisé.

⁴ <http://www.lyon.cemagref.fr/bea/tox/index.shtml>

IV. Conclusion

Ce rapport avait pour objectif d'identifier les technologies d'analyses disponibles et en développement pour les polluants émergents.

Cette étude a permis de mettre en évidence les difficultés et l'absence de résultats concernant l'identification, la détection et la détermination du potentiel toxique et écotoxique des polluants dans des environnements variés (matrices complexes, localisation géographique) et des mélanges variables. Le caractère dégradable des polluants est à prendre en compte et c'est d'ores et déjà une réalité pour les produits de la réglementation REACH.

Il est évident que le développement de techniques performantes d'analyse permettra d'optimiser l'efficacité des traitements pour obtenir une eau de qualité. Dans ce cadre, il paraît important de prendre en compte l'environnement c'est-à-dire le climat, la pluviométrie, la densité de population, la concentration d'industries, les cultures et élevages pour adapter les analyses aux besoins.

De manière générale, les polluants émergents ne sont pas pris en compte suffisamment par manque de technologies disponibles. Tout au long de ce rapport, nous avons mis en évidence de nombreux points qui nécessitent encore des efforts de recherche:

- ✓ Etudes toxicologiques et écotoxicologiques;
- ✓ Nouveaux développements analytiques, en particulier des méthodes biotechnologiques fiables et reproductibles;
- ✓ Stratégies de contrôle des substances à risque;
- ✓ Suivi des impacts à long terme, actualisation régulière des analyses et gestion du risque.

En conclusion de cette étude il ressort qu'un effort important de recherche fondamentale et appliquée doit être réalisé pour répondre aux difficultés que nous avons identifiées.

Pour réaliser ces objectifs il faut fédérer les acteurs publics et privés, favoriser l'innovation dans la recherche académique et intégrer d'une manière plus efficace les différentes disciplines concernées par ces objectifs.

V. Remerciements

Je tiens à remercier M Trouvé qui a dirigé cette étude ainsi que tous les experts scientifiques qui ont accepté de me consacrer de leur temps pour répondre à mes questions.

Je remercie également Lauriane Herzog pour son travail sur l'étude préliminaire ainsi que Mme Lando pour la coordination de l'étude et pour son aide, son soutien et sa disponibilité.

Enfin je témoigne notre reconnaissance à M Ougen pour la relecture du document et pour ses conseils avisés.

VI. Lexique

Biocapteur : un capteur dont la reconnaissance de la substance à détecter est effectuée par une espèce biologique (cellule, enzyme, anticorps). Le signal obtenu après transduction est, de manière classique, optique ou électrique.

Biodégradabilité : capacité d'une molécule à être dégradée biologiquement c'est-à-dire par l'action d'organismes biologiques.

Boues activées : Le procédé dit « à boues activées » utilise l'épuration biologique dans le traitement des eaux usées.

Dégradabilité : potentiel d'une molécule à être dégradée.

Directive cadre sur l'eau : directive européenne établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.

Écotoxicologie: étude du comportement et les effets de ces toxiques d'agents d'origine anthropique sur les écosystèmes, ou bien d'agents d'origine naturelle dont l'homme modifie la répartition dans les différents compartiments de la biosphère. Il est de plus en plus demandé aux écotoxicologues de prévoir les effets de pollutions, en nature, intensité et durée.

Hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP) : composés chimiques constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène dont la structure des molécules comprend au moins deux cycles aromatiques condensés.

Métabolomique: analyse qualitative et quantitative de l'ensemble ou d'un ensemble de métabolites présents dans un biofluide ou un milieu biologique à un moment donné.

National Research Council : organisation gouvernementale constituant le principal organisme de recherche et de développement du Canada.

Perturbateurs endocriniens: hormones sexuelles et molécules chimiques mimant les hormones naturelles ayant un impact sur l'équilibre hormonal d'espèces vivantes animales (voire végétales dans le cas des phytohormones). Elles sont souvent susceptibles d'avoir des effets indésirables sur la santé. Une liste de 320 perturbateurs endocriniens rentre dans ce cadre (phtalates, parabène, bisphénol A ...).

Photodégradation: dégradation d'une molécule sous l'action de la lumière, notamment du spectre solaire. Cette dégradation peut être directe si la molécule adsorbe dans la zone des longueurs d'onde d'intérêt soit induite. Dans ce dernier cas ce sont d'autres composé présents dans le milieu qui adsorbent la lumière, créent ensuite des radicaux libres qui à leur tour attaquent et dégradent le polluant d'intérêt. Dans l'environnement les principales espèces inductrices sont le Fer, les nitrates et la matière organique naturelle (Acides humiques et fulviques).

Polluants émergents: substances chimiques ou biologiques n'ayant pas de statut réglementaire, pouvant exister à l'état de trace dans l'eau et susceptibles d'avoir des effets sur la santé humaine et sur les écosystèmes.

Polluants prioritaires: 33 substances chimiques potentiellement dangereuses présentes dans la Directive Cadre sur l'Eau (Directive 2000/60/CE).

VII. Abréviations

AFSSET : Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'environnement et du Travail

AMPERES: Analyse de Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les Rejets et les Eaux Superficielles

ANR: Agence Nationale de la Recherche

AQUAREF: laboratoire national de référence de l'eau et des milieux aquatiques

ARP: Atelier de Réflexion Prospective

AWARE: A Water Assessment to Respect the Environment

BRGM: Bureau de recherches géologiques et minières

CEA: Commissariat d'Énergie Atomique

CEMAGREF: Centre National du Machinisme Agricole, du Génie Rural, des Eaux et Forêts

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

DCE : Directive Cadre sur l'Eau

DEMA: Développement de Méthodes d'Analyse Multirésidus pour quelques Substances Dangereuses à Surveiller dans le Milieu Aquatique

DETEC: Département de l'Environnement, des Transports, de l'Énergie et de la Communication

EFPIA: Fédération Européenne de l'Industrie Pharmaceutique

ENIMED: Effets Non Intentionnels des Médicaments

ERAPharm: Environmental Risk Assessment of Pharmaceuticals

ESPRIT: Evaluation des Substances Prioritaires dans les Rejets Inhérents au Temps de pluie

HPA : Hydrocarbures Polycycliques Aromatiques

ICSN: Institut de Chimie des Substances Naturelles

IFREMER: Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer

INERIS: Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

INSERM: Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

IPSN: Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire

KNAPPE: Knowledge and Need Assessment on Pharmaceutical Products

LEEM: Les Entreprises du Médicament (en France)

LIFE: L'Instrument Financier pour l'Environnement

LNE: Laboratoire national de métrologie et d'essais

NTIC: Nouvelles Technologies de l'Information et de la Communication

PCR : Polymerase Chain Reaction

PRECODD: Programme de Recherche sur les Ecotechnologies et le Développement Durable

REACH: Registration, Evaluation, Authorisation of Chemicals

SCOREPP: Source Control Options for Reducing Emissions of Priority Pollutants

TUM: Technische Universität München, Université Technique de Munich

UMR: Unité Mixte de Recherche

WFD: Water Framework Directive

VIII. Annexes

A. Listes des polluants émergents mentionnés lors de cette étude

Substances pharmaceutiques	
- anxiolytiques et tranquillisants	<i>diazépam</i>
- analgésiques et anti-inflammatoires	<i>phenazone</i>
	<i>diclofenac</i>
	<i>ibuprofène</i>
- antibiotiques	<i>sulfamethoxazole</i>
	<i>roxithromycine</i>
- hypolipémiants (régulateurs lipidique)	<i>bézafibrate</i>
	<i>acide clofibrac</i>
	<i>acide fenofibrac</i>
- antiépileptiques	<i>carbamazépine</i>
- agents de contraste iodés	<i>amidotrizoic acide</i>
	<i>iomeprol</i>
	<i>iopamidol</i>
	<i>iopromide</i>
	<i>iohexol</i>
	<i>acide ioxithalamic</i>
- muscs polycycliques	<i>tonalide</i>
	<i>galaxolide</i>
Perturbateurs endocriniens	
- hormones naturelles humaines ou végétales	<i>estrone</i>
	<i>estradiol</i>
	<i>progestérone</i>
	<i>testostérone</i>
	<i>phyto-estrogène</i>
	<i>génistéine</i>
	<i>zéaralénone</i>
	<i>béta-sitostérol</i>
- hormones synthétique	<i>éthinylestadiol</i>
- pesticides, fongicides, insecticides et herbicides	<i>atrazine</i>
	<i>acetochlore</i>
	<i>metolachlore</i>
	<i>DDT</i>
	<i>simazine</i>
	<i>desethylatrazine</i>
	<i>isoproturon</i>
	<i>diuron</i>
- composés organiques persistants	<i>polychlorobiphényles (PCB)</i>
- composants de détergents industriels	<i>alkyl phénols</i>
	<i>alkyl phénols éthoxylés</i>
	<i>nonylphénols</i>
- matériaux plastiques et organo-étain	<i>bisphénol A</i>
	<i>phtalates</i>
	<i>tributyl étain</i>
	<i>t-butylhydroxyanisole</i>
- hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	<i>pyrène</i>
	<i>benzo[a]pyrène</i>
- métaux lourds	<i>plomb</i>
	<i>mercure</i>
	<i>cadmium</i>
- dioxines et furannes	<i>dibenzo-p-dioxines polychlorées (PCDD)</i>
	<i>dibenzofurannes polychlorés (PCDF)</i>

Figure 1 : Liste de polluants émergents fournie par M. Trouvé

Liste I de familles et de groupes de substances

La liste I comprend certaines substances individuelles qui font partie des familles et des groupes de substances suivants, à choisir principalement sur la base de leur toxicité, de leur persistance et de leur bioaccumulation, à l'exception de celles qui sont biologiquement inoffensives ou qui se transforment rapidement en substances biologiquement inoffensives:

1. Composés organohalogénés et substances qui peuvent donner naissance à de tels composés dans le milieu aquatique.
2. Composés organophosphoriques.
3. Composés organostanniques.
4. Substances dont il est prouvé qu'elles possèdent un pouvoir cancérigène dans le milieu aquatique ou par l'intermédiaire de celui-ci ⁽¹⁾.
5. Mercure et composés du mercure.
6. Cadmium et composés du cadmium.
7. Huiles minérales persistantes et hydrocarbures d'origine pétrolière persistants.

Et, en ce qui concerne l'application des articles 3, 7, 8 et 12:

8. Matières synthétiques persistantes qui peuvent flotter, rester en suspension ou couler et qui peuvent gêner toute utilisation des eaux.

Figure 2: Liste des substances de la Liste I de la Directive 76/464/CE

«ANNEXE X

LISTE DES SUBSTANCES PRIORITAIRES DANS LE DOMAINE DE L'EAU

Numéro	Numéro CAS ⁽¹⁾	Numéro UE ⁽²⁾	Nom de la substance prioritaire ⁽³⁾	Identifiée en tant que substance dangereuse prioritaire
(1)	15972-60-8	240-110-8	Alachlore	
(2)	120-12-7	204-371-1	Anthracène	X
(3)	1912-24-9	217-617-8	Atrazine	
(4)	71-43-2	200-753-7	Benzène	
(5)	sans objet	sans objet	Diphényléther bromé ⁽⁴⁾	X ⁽⁵⁾
	32534-81-9	sans objet	Pentabromodiphényléther (numéros de congénères 28, 47, 99, 100, 153 et 154)	
(6)	7440-43-9	231-152-8	Cadmium et ses composés	X
(7)	85535-84-8	287-476-5	Chloroalcane, C ₁₀₋₁₃ ⁽⁴⁾	X
(8)	470-90-6	207-432-0	Chlorfenvinphos	
(9)	2921-88-2	220-864-4	Chlorpyrifos Éthylchlorpyrifos	
(10)	107-06-2	203-458-1	1,2-Dichloroéthane	
(11)	75-09-2	200-838-9	Dichlorométhane	
(12)	117-81-7	204-211-0	Di(2-éthylhexyl)phthalate (DEHP)	
(13)	330-54-1	206-354-4	Diuron	
(14)	115-29-7	204-079-4	Endosulfan	X
(15)	206-44-0	205-912-4	Fluoranthène ⁽⁶⁾	
(16)	118-74-1	204-273-9	Hexachlorobenzène	X
(17)	87-68-3	201-765-5	Hexachlorobutadiène	X
(18)	608-73-1	210-158-9	Hexachlorocyclohexane	X
(19)	34123-59-6	251-835-4	Isoproturon	
(20)	7439-92-1	231-100-4	Plomb et ses composés	
(21)	7439-97-6	231-106-7	Mercure et ses composés	X
(22)	91-20-3	202-049-5	Naphthalène	
(23)	7440-02-0	231-111-14	Nickel et ses composés	
(24)	25154-52-3	246-672-0	Nonylphénol	X
	104-40-5	203-199-4	(4-nonylphénol)	X
(25)	1806-26-4	217-302-5	Octylphénol	
	140-66-9	sans objet	(4-(1,1',3,3'-tétraméthylbutyl)-phénol)	
(26)	608-93-5	210-172-5	Pentachlorobenzène	X
(27)	87-86-5	231-152-8	Pentachlorophénol	

Numéro	Numéro CAS ⁽¹⁾	Numéro UE ⁽²⁾	Nom de la substance prioritaire ⁽³⁾	Identifiée en tant que substance dangereuse prioritaire
(28)	sans objet	sans objet	Hydrocarbures aromatiques polycycliques	X
	50-32-8	200-028-5	(Benzo(a)pyrène)	X
	205-99-2	205-911-9	(Benzo(b)fluoranthène)	X
	191-24-2	205-883-8	(benzo(g,h,i)perylène)	X
	207-08-9	205-916-6	(Benzo(k)fluoranthène)	X
	193-39-5	205-893-2	(Indeno(1,2,3-cd)pyrène)	X
(29)	122-34-9	204-535-2	Simazine	
(30)	sans objet	sans objet	Composés du tributylétain	X
	36643-28-4	sans objet	(Tributylétin-cation)	X
(31)	12002-48-1	234-413-4	Trichlorobenzène	
(32)	67-66-3	200-663-8	Trichlorométhane (Chloroforme)	
(33)	1582-09-8	216-428-8	Trifluraline	

⁽¹⁾ CAS: Chemical Abstracts Service.

⁽²⁾ Numéro UE: Inventaire européen des produits chimiques commercialisés (EINECS) ou Liste européenne des substances chimiques notifiées (ELINCS).

⁽³⁾ Lorsqu'un groupe de substances est retenu, un représentant typique de ce groupe est mentionné à titre de paramètre indicatif (entre parenthèses et sans numéro). Pour ces groupes de substances, le paramètre indicatif doit être défini en recourant à la méthode analytique.

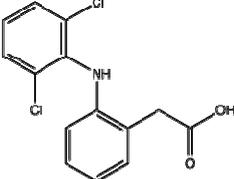
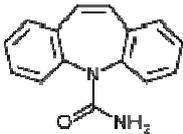
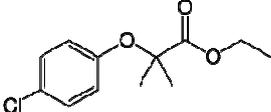
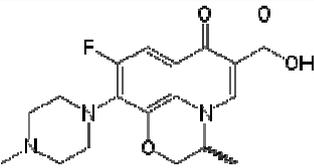
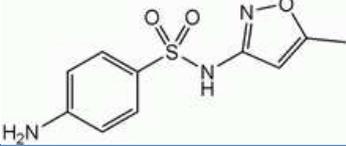
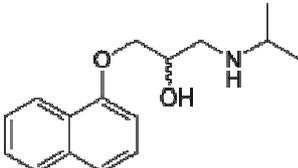
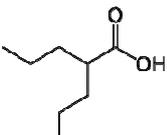
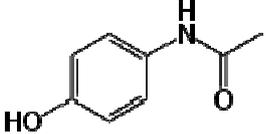
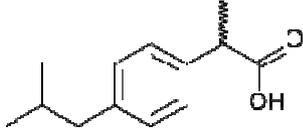
⁽⁴⁾ Ces groupes de substances englobent généralement un très grand nombre de composés. Pour le moment, il n'est pas possible de fournir des paramètres indicatifs appropriés.

⁽⁵⁾ Uniquement pentabromobiphényléther (numéro CAS 32534-81-9).

⁽⁶⁾ Le fluoranthène figure sur la liste en tant qu'indicateur d'autres hydrocarbures aromatiques polycycliques plus dangereux.»

Figure 3 : Liste des 33 substances prioritaires de la DCE (annexe X)

B. Liste des molécules pharmaceutiques citées

Nom ou molécule active	Classe thérapeutique	Structure chimique	Applications principales
Diclofénac	Anti-inflammatoire non stéroïdien		Inflammation : arthrose, tendinite, rhumatismes
Carbamazépine	Antiépileptique (famille carboxamides)		Epilepsie, certains troubles psychiatriques
Acide clofibrique	Hypolipidémiant		Hyperlipidémie
Ofloxacine	Antibiotique (famille fluoroquinolones)		Infection
Sulfaméthoxazole	Antibiotique (famille sulfamide)		Infection
Propranolol	Bêta-bloquant		Hypertension, infarctus du myocarde, arythmie, hyperthyroïdie, migraine
Acide valproïque	Antiépileptique		Epilepsie
Paracétamol	Analgésique périphérique, antipyrétique		Fièvre et douleurs d'intensité faible à modérée
Ibuprofène	Anti-inflammatoire non stéroïdien		Fièvre, maux de tête, états grippaux, douleurs dentaires, courbatures, règles douloureuses

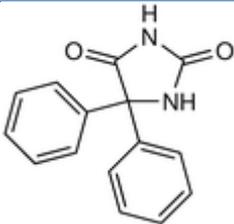
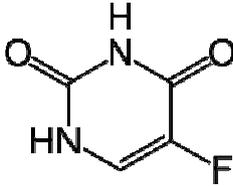
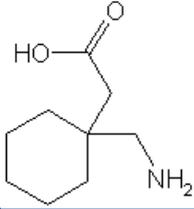
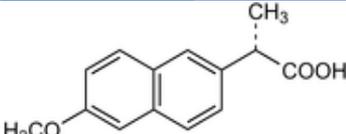
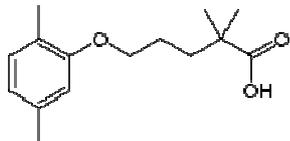
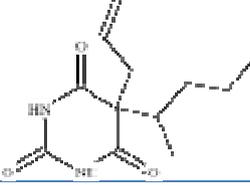
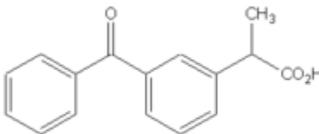
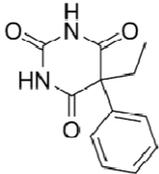
Nom ou molécule active	Classe thérapeutique	Structure chimique	Applications principales
Phénytoïne	Anticonvulsivant		Epilepsie
5-fluorouracile	Antimétabolite (analogue pyrimidine)		Cancer
Gabapentine	Anticonvulsivant		Epilepsie
Naproxène	Anti-inflammatoire non stéroïdien		Polyarthrite rhumatoïde, arthrose, sciatique
Gemfibrozil	Hypolipédiant		Hyperlipidémie
Sécobarbital	Hypnogène, sédatif		Insomnie
Kétoprofène	Anti-inflammatoire non stéroïdien		Inflammation, rhumatismes, arthrose
Phénobarbital	Hypnogène		Epilepsie, convulsions

Tableau 3 : Liste des molécules pharmaceutiques citées dans l'étude

C. Initiatives et programmes européens et français

Cette partie référence de manière non exhaustive les programmes européens et français concernant l'analyse et le traitement des polluants émergents.

1. Initiatives et programmes européens

a. *MBR-NetWork -Projet Octobre 2005-2008*⁵

La Commission Européenne a décidé de promouvoir le développement de la technologie Bioréacteur Membranaire (MBR), procédé prometteur de traitement des eaux résiduaires urbaines, en finançant quatre projets dédiés à la recherche, au développement, à la formation et au transfert technologique sur ce procédé.

Le procédé est actuellement utilisé par les industriels des traitements des eaux mais il nécessite des améliorations afin entre autre de mieux traiter les polluants émergents et les polluants prioritaires.

Les quatre projets du groupe "MBR-Network" sont les suivants:

1. AMEDEUS "Accelerate Membrane Development for Urban Sewage Purification" 01/10/2005 - 30/09/2008;
2. EUROMBRA "Membrane bioreactor technology (MBR) with an EU perspective for advanced municipal wastewater treatment strategies for the 21st century" 01/10/2005 - 30/09/2008;
3. MBR-TRAIN "Process optimisation and fouling control in membrane bioreactors for wastewater and drinking water treatment" 01/01/2006 - 31/12/2009;
4. PURATREAT "New Energy Efficient approach to the operation of Membrane Bioreactors for Decentralised Wastewater Treatment" 01/01/2006 - 31/12/2008.

Les quatre projets sont soutenus par trois instruments financiers différents mis en place par la Commission Européenne dans le cadre du sixième programme cadre. Ils sont réalisés en parallèle depuis octobre 2005 jusqu'à décembre 2009.

Une cinquantaine de sociétés et institutions européennes et internationales ont joint leurs efforts pour coordonner leurs actions au sein du groupe "MBR-Network". Ils représentent à ce jour, et à l'échelle mondiale, la plus grande initiative de recherche coordonnée et dédiée à la technologie BRM. D'importantes innovations sont attendues, ainsi que des améliorations de procédés, une capitalisation du savoir-faire et la création d'un réseau de compétence européen dans ce domaine. Ces actions conduiront à promouvoir la technologie, ainsi qu'à la rendre plus compétitive et à favoriser son utilisation, aussi bien pour les eaux résiduaires urbaines que pour les effluents industriels.

⁵ <http://www.mbr-network.eu/>

b. Analyse de Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les Rejets et les Eaux Superficielles (AMPERES)⁶

AMPERES est un nouveau projet de recherches pour lutter contre les micropolluants. Ce projet est coordonné par le Cemagref avec comme partenaires Suez Environnement et l'Université de Bordeaux. AMPERES consiste en l'identification et la caractérisation de micropolluants dans les eaux usées. Le projet AMPERES est issu du programme ANR PRECODD 2005 (Ecotechnologies et Développement Durable). Le programme PRECODD couvre les technologies de l'environnement centrées sur la réduction à la source, le traitement et la mesure des émissions polluantes d'origines industrielles et urbaines. PRECODD est un programme de recherche technologique en partenariat public/privé qui vise à favoriser un partenariat entre les principales parties prenantes (organismes de recherche, grandes entreprises, PME, pouvoirs publics) dans le secteur des écotechnologies.

c. Environmental Risk Assessment of Pharmaceuticals (Erapharm)⁷

Le programme européen ERAPharm (2004-2007), financé par la Commission Européenne, visait à améliorer les connaissances existantes et à compléter les procédures pour l'évaluation du risque environnemental des polluants prioritaires à usage humain et vétérinaire. Sur la base du cadre réglementaire européen et des résultats issus des précédents projets, ERAPharm cherchait à compléter l'étude des voies d'exposition des écosystèmes terrestres et aquatiques et le devenir des produits dans l'eau et les sédiments à l'aide d'étude à l'échelle du laboratoire et du terrain.

d. Knowledge and Need Assessment on Pharmaceutical Products in Environmental Waters (KNAPPE)⁸

Le projet KNAPPE, d'une durée de 18 mois de février 2007 à septembre 2008, coordonné par Benoît Roig, a eu pour objectif d'identifier, à partir des connaissances actuellement disponibles et des avancées scientifiques en cours, les actions prioritaires à mener dans le domaine scientifique (R&D), réglementaire et social pour limiter l'occurrence et l'impact des produits pharmaceutiques dans l'eau. Ce projet financé par l'Union Européenne a été fortement soutenu par la Fédération Européenne de l'Industrie Pharmaceutique (EFPIA) et le LEEM. Le projet a réuni neuf partenaires européens entre autre la Grande Bretagne, l'Allemagne, l'Espagne et la France.

Benoit Roig indique que sur 4 000 molécules pharmaceutiques seules 400 ont été étudiés. En effet le coût des analyses est élevé et pour les industriels cela ne représente pas de risque important.

e. L'Instrument Financier pour l'Environnement (LIFE)⁹

Lancé par la Commission Européenne en 1992, LIFE est une des pièces maîtresses de la politique environnementale de l'Union Européenne. LIFE contribue année après année à la mise en œuvre, au développement et au renforcement de la politique et de la législation environnementales communautaires, ainsi qu'à l'intégration des préoccupations environnementales dans les autres politiques européennes. Dans le cadre de LIFE, le projet AWARE vise à montrer comment

⁶ http://www.cemagref.fr/presse/CommP/Communique_Presse_Cemagref_Suez_web.pdf

⁷ <http://www.erapharm.org/>

⁸ <http://www.knappe-eu.org/>

⁹ <http://www.ecologie.gouv.fr/-Programme-LIFE-.html>

l'optimisation des techniques d'application des produits phytosanitaires en viticulture peut permettre de limiter la pollution des eaux de surfaces et souterraines, à travers :

- ✓ Une meilleure connaissance des pratiques et du matériel d'application ;
- ✓ Des propositions d'amélioration de l'application des produits : un traitement raisonné des cultures (utilisation des Technologies de l'Information et de la Communication embarquées (NTIC) notamment) ;
- ✓ La sensibilisation et la formation des agriculteurs sur la pollution de l'eau par les produits phytosanitaires ;
- ✓ Le transfert vers d'autres pays de l'Union Européenne.

f. NORMAN (Network of Reference Laboratories and Related Organisations for Monitoring Emerging Environmental Pollutants)¹⁰

Le projet NORMAN a été lancé en 2005 et avait pour but de créer un réseau de laboratoires de référence, centres de recherches et organismes associés pour la surveillance des substances environnementales émergentes dans l'air, dans l'eau et dans les sols. Le projet, coordonné par l'INERIS, réunit dix-sept partenaires de dix Etats Membres et est financé par la Communauté Européenne. NORMAN développe également un cadre européen commun pour la validation des méthodes de surveillance (présence) et de bio-surveillance (effets) des polluants émergents dans différentes matrices. Aujourd'hui le projet touche à sa fin. Un nouveau programme sera lancé de 2009 à 2010 pour créer un réseau permanent financé par les partenaires.

Les conclusions du projet ont été données en octobre 2008. Il est important de retenir que :

- ✓ Trois bases de données ont été créées contenant pour la première, une liste des experts, organisation et projets traitant des substances émergentes. La seconde traite de données géo-référencées contenant des informations d'écotoxicologie provenant de bio-essais et biomarqueurs. Et la dernière, d'information de spectrométrie de masse sur des substances connues et inconnues ;
- ✓ Une newsletter, la NORMAN Newsletter, a été créée. Elle contient des revues et publications concernant les polluants émergents ;
- ✓ Quatre workshops ont eu lieu concernant les polluants émergents et les outils permettant de les analyser ;
- ✓ Les membres du projet ont commencé une procédure de validation de méthodes de suivi des polluants émergents dans différentes matrices. Ces méthodes ont été classées selon leur stade d'avancement : recherche, évaluation et routine. Le but est d'harmoniser les méthodes ;
- ✓ Le problème de l'échantillonnage et des méthodes de préparations des échantillons (filtration, concentration) a été soulevé. Plusieurs laboratoires développent des méthodes d'automatisation et de récupération d'échantillon sur différentes durées (24h, 1 semaine et jusqu'à 2 semaines). Notamment la technique de « passive sampling » (Branislav Vrana, 2008) qui présente un intérêt certain et qui demande à être validé. Cependant elle n'est pas encore adaptée aux composés hydrophiles. Il

¹⁰ <http://www.norman-network.net/public/workshops/workshops>

est nécessaire de réaliser une harmonisation pour ces techniques et de valider celles qui sont pertinentes.

- ✓ Les nanoparticules ont été mentionnées. Elles font l'objet de détection dans les milieux et de toxicité.

g. SCOREPP (Source Control Options for Reducing Emissions of Priority Pollutants)¹¹

L'objectif principal du projet de SCOREPP est de développer des stratégies complètes et adéquates de contrôle des sources que les autorités, les villes et l'industrie chimique peuvent utiliser pour réduire les émissions de polluants prioritaires dans les secteurs urbains. SCOREPP se concentre sur les 33 polluants prioritaires identifiés dans la Directive Cadre de l'Eau (WFD). Cependant, cette liste pourrait être étendue pour inclure des polluants émergents.

2. Initiatives et programmes français

a. RHODANOS, DEMA et ESPRIT¹²

Dans le cadre d'Axelera (Pôle de compétitivité mondial chimie environnement à Lyon), le Cemagref intervient dans le programme RHODANOS (Traitement de l'eau et procédés) avec les projets ESPRIT (évaluation des substances prioritaires dans les rejets (urbains) inhérents au temps de pluie) et DEMA (développement de méthodes d'analyse multirésidus pour quelques substances dangereuses à surveiller dans le milieu aquatique). Les deux projets renvoient au projet AMPERES, co-labellisé ANR et Axelera. Il s'agit de mettre au point des outils d'échantillonnage et de protocoles d'analyse pour des substances prioritaires et émergentes. La mise en place de tels outils permettra de mener des diagnostics réalistes sur l'efficacité des ouvrages de traitement existants et de définir les traitements complémentaires à mettre en place.

b. ARP Reach¹³

Ce projet est financé par l'ANR et piloté par l'INERIS. Sur cinq ateliers, deux concernent la toxicologie (biomarqueurs) et l'écotoxicologie des produits Reach.

c. Programme ENIMED¹⁴

Ce programme est piloté par le laboratoire d'écotoxicologie du Cemagref en partenariat avec l'INERIS, l'INSERM et l'IPSN de Cadarache.

La thématique de ce programme est centrée sur la recherche de médicaments dans les stations d'épuration d'agglomérations urbaines et l'analyse de leurs effets biologiques potentiels.

d. Réseau Water4health¹⁵

Le réseau Water4health sera lancé les 2 et 3 décembre 2008 à l'occasion de Pollutec. Ce réseau est une initiative française à visée internationale. Ce réseau s'inscrit dans une démarche de

¹¹ <http://www.scorepp.eu>

¹² <http://envirhonalp.obs.ujf-grenoble.fr>

¹³ <http://www.agence-nationale-recherche.fr/ARPREach>

¹⁴ <http://www.agropolis.fr>

¹⁵ <http://www.water4health.eu>

collaboration internationale entre les acteurs opérationnels (entreprises, collectivités locales et scientifiques) afin de diagnostiquer les limites qui s'imposent au mode actuel de gestion de l'eau et de faire émerger un nouveau modèle plus efficace.

e. AQUAREF¹⁶

AQUAREF est le laboratoire national de référence de l'eau et des milieux aquatiques. Il a été mis en place en juin 2007 par différents acteurs : l'INERIS, le LNE, le CEMAGREF, le BRGM et l'IFREMER. Il a pour objectif, en accord avec les directives européennes concernant l'eau, de mettre en place une surveillance fiable des milieux aquatiques. Parmi ses missions il doit :

- ✓ Appuyer la mise en œuvre des politiques publiques, notamment la directive cadre sur l'eau ;
- ✓ Développer et optimiser des méthodes analytiques ;
- ✓ Améliorer la qualité des données du système d'information sur l'eau ;
- ✓ Réaliser une veille scientifique et alerter sur les polluants qui ne font pas encore l'objet de réglementations.

¹⁶ <http://www.ecologie.gouv.fr/Le-laboratoire-national-de.html>

IX. Bibliographie

- Andreozzi R., Marotta R., Paxéus N.** Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* **50** (2003) pp. 1319-30
- Budzinski H., Togola A.** Présence de résidus de médicaments dans les différents compartiments du milieu aquatique. *Environnement Risques et Santé* **5** (4) (2006) pp. 248-253
- Chen H., Mousty C., Cosnier S., Almeida M.G., Moura J.J.G.** Highly sensitive nitrite biosensor based on the electrical wiring on nitrite reductase by [ZnCr-AQS] LDH. *Electrochem Comm* **9** (2007) pp. 2240-2245
- Cosnier S., Mousty C., Cui X., Yang X., Dong S.** Specific determination of arsenate (V) by Acid Phosphatase-Polyphenol Oxidase Biosensor. *Anal Chem* **78** (2006) pp. 4985-4989
- Feraudet A., Herzog L.** Etude "Eau et biotechnologie, état des lieux des traitements et analyses des polluants émergents dans l'eau" (étude préliminaire, document non publié) (2008)
- Geraud E., Prevot V., Forano C., Mousty C.** Spongy gel-like Layered Double Hydroxide – alkaline phosphatase nanohybrid as a biosensing material. *Chem Comm* **13** (2008) pp. 1554-1556
- González S., Müller J., Petrovic M., Barceló D., Knepper T. P.** Biodegradation studies of selected priority acidic pesticides and diclofenac in different bioreactors. *Environmental Pollution* **144** (3) (2006) pp. 926-932
- Gugger M., Lenoir S., Berger C., Ledreux A., Druart J.-C., Humbert J.-F., Guette C., Bernard C.** First report in a river in France of the benthic cyanobacterium *Phormidium favosum* producing anatoxin-a associated with dog neurotoxicosis. *Toxicon* **45** (7) (2005) pp.919-928
- Mezhoud K., Praseuth D., Puiseux-Dao S., François J.-C., Bernard C., Ebery M.** Global quantitative analysis of protein expression and phosphorylation status in the liver of the medaka fish (*Oryzias latipes*) exposed to microcystin-LR. *Aquatic Toxicology* **86** (2008) pp.166–175
- Mohammadi H., Amine A., Cosnier S., Mousty C.** Mercury –Enzyme inhibition assays with an amperometric sucrose biosensor based on a trienzymatic-clay matrix. *Anal Chim Acta* **53** (2005) pp. 143-149
- Mousty C., Kaftan O., Prevot V., Forano C.** Alkaline phosphatase biosensors based on Layered Double Hydroxides matrices: role of LDH composition. *Sensors Actuators B* **133** (2008) pp. 442-448
- Mousty C., Vieille L., Cosnier S.** Laccase immobilization in redox active layered double hydroxides: a reagentless amperometric biosensor. *Biosens Bioelect* **22** (2007) pp. 1733-1738.
- Shan D., Cosnier S., Mousty C.** Layered double hydroxides: an attractive material for electrochemical biosensor design. *Anal Chem* **75** (2003) pp. 3872-3879
- Shan D., Mousty C., Cosnier S.** Subnanomolar cyanide detection at PPO-anionic clay biosensors. *Anal Chem* **76** (2004) pp. 178-183
- Yéprémian C., Gugger M. F., Briand E., Catherine A., Berger C., Quiblier C., Bernard C.** Microcystin ecotypes in a perennial *Planktothrix agardhii* bloom. *Water Res* **41** (2007) pp.4446 – 4456

Yu J. T., Bouwer E. J., Coelhan M. Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. *Agricultural Water Management* **86** (1-2) (2006) pp. 72-8