

oekotoxzentrum
centre ecotox



Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie
Centre Suisse d'écotoxicologie appliquée
Eawag-EPFL

Evaluation de la qualité de l'eau par les tests biologiques d'écotoxicité

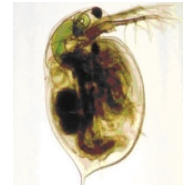
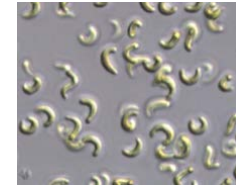
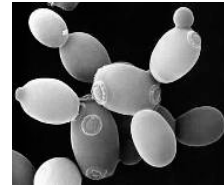
Cornelia Kienle

Journée d'info Eawag, 03.09.2015



Vue globale

- Introduction sur les bioessais
- Utilisation des bioessais pour apprécier l'élimination des micropolluants dans des STEPs
- Utilisation des bioessais pour apprécier la qualité des eaux superficielles polluées par des eaux usées





Bioessais, pourquoi sont-ils importants ?

- Informations sur les **effets toxiques sur les organismes biologiques**
- **Complémentaires des analyses chimiques** parce que celles-ci ne donnent que des informations limitées sur les effets écotoxicologiques
- Pour l'évaluation de **mélanges de substances** comme on les rencontre, par exemple, dans les eaux usées et les eaux superficielles
- Pour **contrôler le succès des mesures d'un point de vue écotoxicologique**

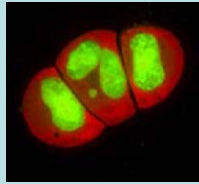


Types de bioessais

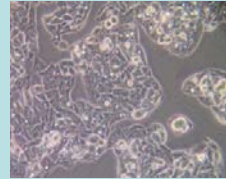
Bioessais *in vitro*



<http://cache.eb.com>

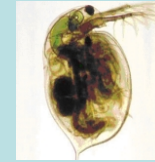
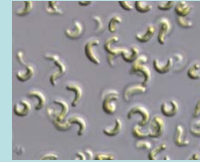


www.toxikologie.uni-wuerzburg.de



- Détection de l'effet combiné de toutes les substances de l'échantillon agissant de façon similaire sur les organismes aquatiques
- Difficile d'estimer l'impact possible de ces effets spécifiques sur les organismes

Bioessais *in vivo*

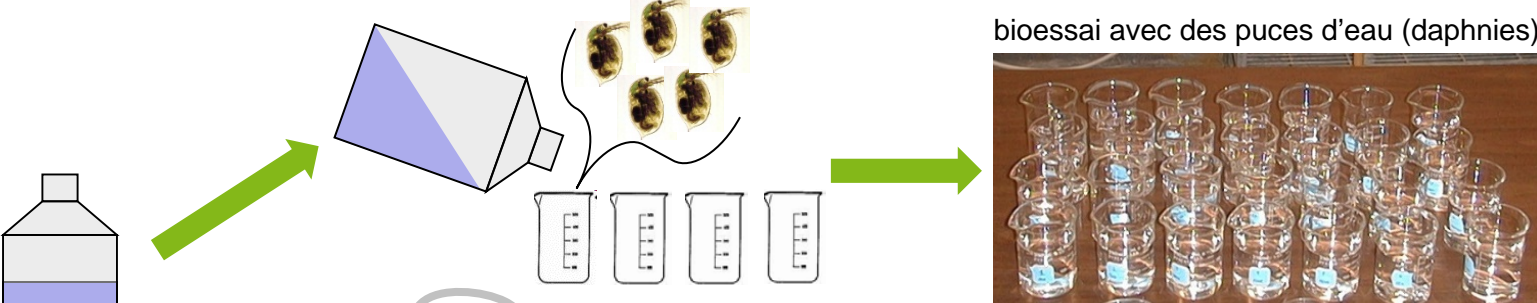


- Intègrent l'effet de toutes les substances de l'échantillon
- Conclusions sur les effets biologiques/écologiques possibles
- Informations limitées sur les groupes de substances responsables des effets.



Qu'est-ce qu'un bioessai et comment est-il effectué ?

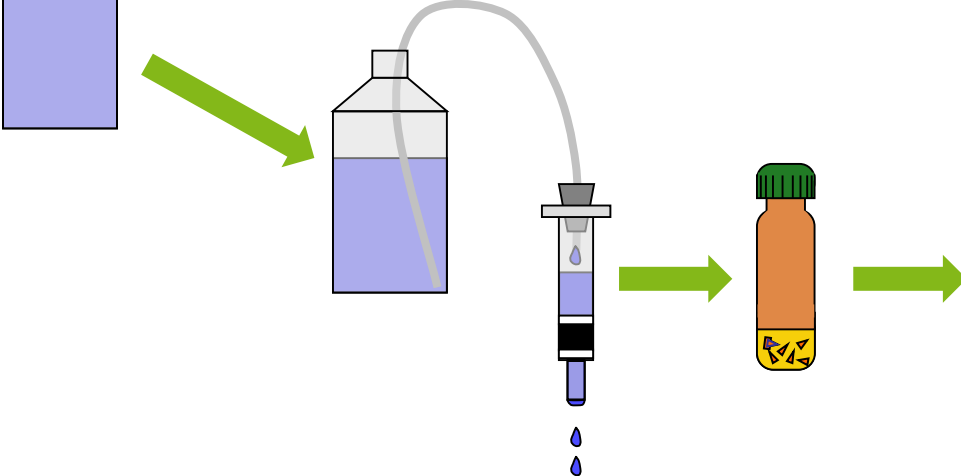
Bioessai = Déroulement standardisé d'une expérience biologique avec un protocole et une interprétation bien définis.



bioessai avec des puces d'eau (daphnies)

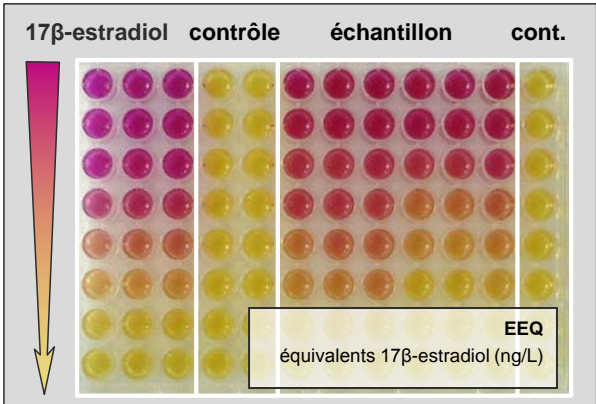


p.ex. d'après la directive OCDE 202



Enrichissement sur phase solide

YES (yeast estrogen screen)





Quels bioessais se qualifient
pour l'appréciation de
l'élimination des
micropolluants dans les
stations de traitement des
eaux usées ?



Projet « Stratégie Micropoll » de l'OFEV : Sous-projet Bases techniques

- **Question** : Comment les micropolluants peuvent-ils être éliminés des eaux usées municipales ?
- **Objectif** : Evaluation des techniques d'élimination des micropolluants
- **Études pilotes** :

STEP de Wüeri à Regensdorf



Abegglen et al. 2009, Eawag

STEP de Vidy à Lausanne



Margot et al. 2011, Ville de Lausanne



Questions concernant les bioessais

- Quels bioessais peuvent donner des informations sur l'efficacité de l'élimination dans l'épuration des eaux ?
- Quelle est l'efficacité de l'ozonation - filtration sur sable ainsi que d'un traitement au charbon actif en poudre (PAC) - UF pour l'élimination des micropolluants et de leur effets biologiques dans les effluents ?
- Y a-t-il formation de sous-produits de l'oxydation qui peuvent porter atteinte aux organismes aquatiques ?



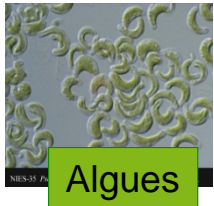
Comment les bioessais ont-ils été choisis ?

- Selon les critères suivants :
 - Suffisamment sensibles et robustes pour appréhender les effets des micropolluants
 - Mesure des effets spécifiques de plusieurs mécanismes d'action particuliers et à plusieurs niveaux trophiques
 - Evaluation d'échantillons concentrés et non concentrés
 - Avec l'assistance d'un comité d'experts
- **Sélection de 16 bioessais *in vitro* et de 9 bioessais *in vivo***



Quelles analyses ont été faites ?

Producteurs primaires

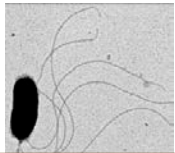


Algues



Lenticules

Décomposeurs



Bactéries

Consommateurs primaires



Puce d'eau



Oligochètes



Escargots

Détritivores

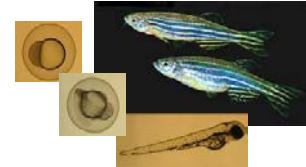


Collecteurs



Gammare

Consommateurs secondaires



Truite arc en ciel



Mécanismes d'action particuliers

- Génotoxicité et mutagénicité
- effets œstrogènes et autres effets hormonaux
- effets herbicides etc.



Quels ont été les résultats des bioessais *in vitro* à la STEP de Vidy ?

Résultats des bioessais spécifiques

↓ diminution des effets, ~ aucun changement significatif, ↑ augmentation des effets, var. résultats variables

Bioessai	Classe de substances / effet	Traitement biologique	Ozonation	Ozonation + Filtre à sable (3.+4. MK)	Charbon actif en poudre - UF
Yeast Estrogen Screen ER-CALUX®	Estrogènes / effets hormonaux (équivalents 17β-estradiol)	↓	↓	↓	↓
		↓	↓	var.	↓
AR-CALUX®	Androgènes / effets hormonaux (équivalents dihydrotestostérone)	↓	↓	↓	↓
GR-CALUX®	Glucocorticoïdes / effets hormonaux (équivalents dexaméthasone)	~	↓	↓	↓
PR-CALUX®	Progestérones / effets hormonaux (équivalents Org 2058)	↑	↓	↓	↓
PPARg1-CALUX®	Substances actives par la prolifération des peroxysomes / entre autres effet sur le métabolisme des graisse (équivalents rosiglitazone)	↓	↓	var.	↓
H295R	Production d'estradiol / effets hormonaux		↓	↓	↓
	Production de testostérone / effets hormonaux		~	~	~
Altores vertes	Herbicides / Inhibition de la photosynthèse (équivalents diuron)	var.	↓	↓	↓
	Toutes les substances / inhibition de la croissance (équivalents de la toxicité de base)	↓	↓	↓	↓



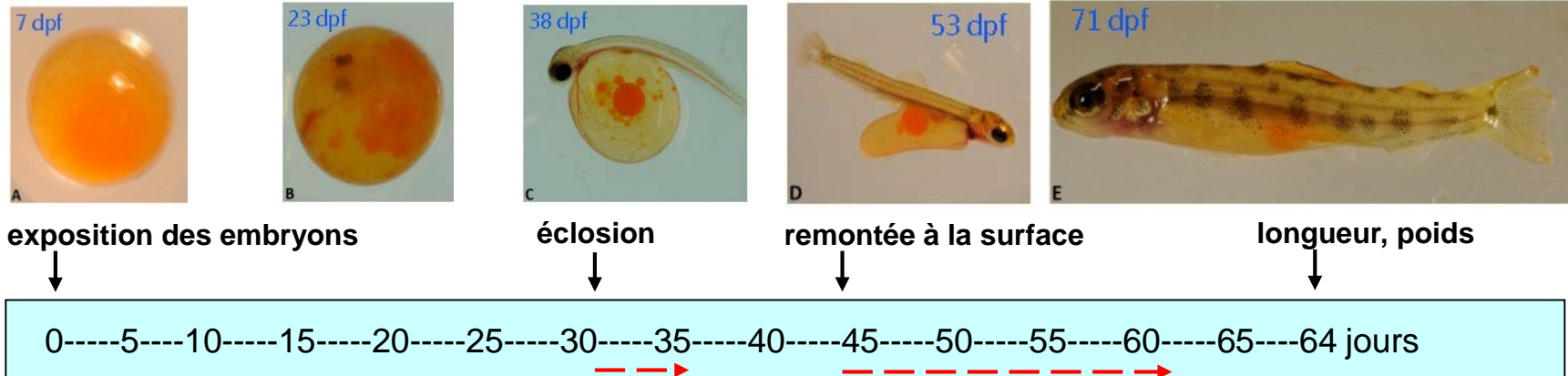
Quels ont été les résultats des bioessais *in vivo* avec les poissons ?

Fish Early Life Stage Toxicity Test (FELST, OECD 210)



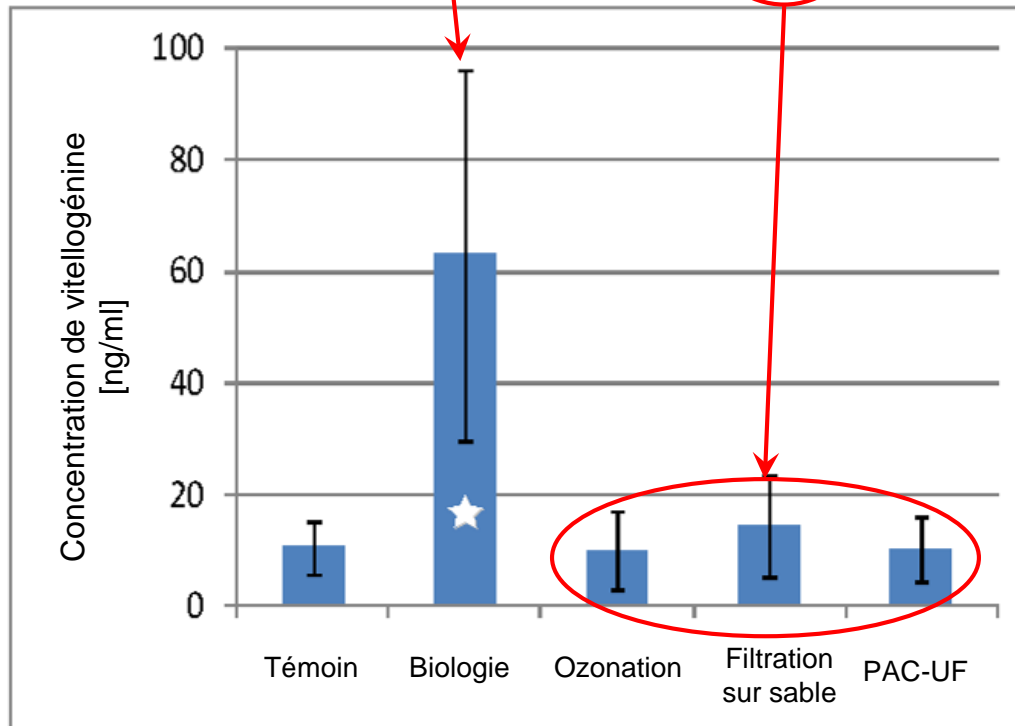
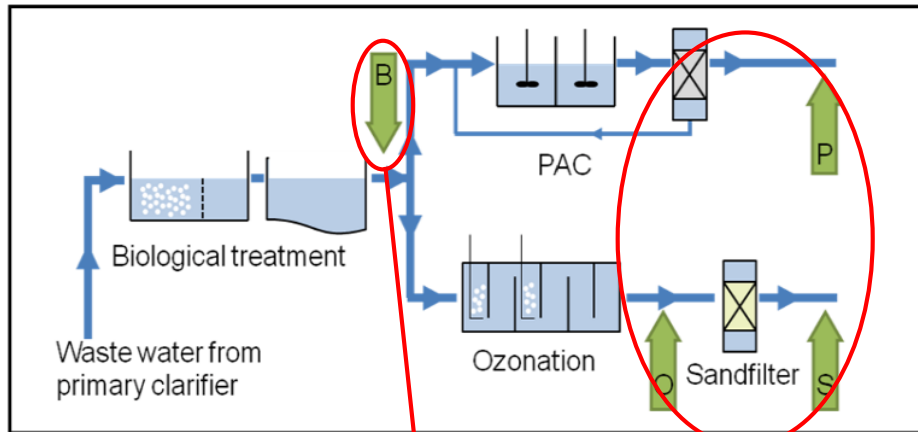
By US Fish and Wildlife Service

- **Organisme** : Truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*)
- **Principe** : Observation du développement des embryons et des larves des poissons pendant 64 jours
- **Paramètres/stades considérés** :





Quels ont été les résultats des bioessais *in vivo* avec les poissons ?





Quels ont été les résultats des bioessais *in vivo* avec les poissons ?

↓ diminution des effets, ~ aucun changement significatif, ↑ augmentation des effets

Bioessai (organisme testé)	Paramètres mesurés	Traitement biologique	Ozonation	Ozonation + Filtre à sable	Charbon actif en poudre - UF
Fish early life stage toxicity test avec truite arc-en-ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Survie totale		↓	↓	↓
	Survie des embryons		~	~	↓
	Survie des larves et des juvéniles		↓	↓	↓
	Taux d'éclosion		~	~	↓
	Remontée à la surface		↓	↓	↓
	Poids frais des larves à la fin du test		↓	↓	↓
	Longueur des larves à la fin du test		~	~	↓
	Concentration de vitellogénine		↓	↓	↓



Bilan des études actuelles sur l'évaluation des eaux usées

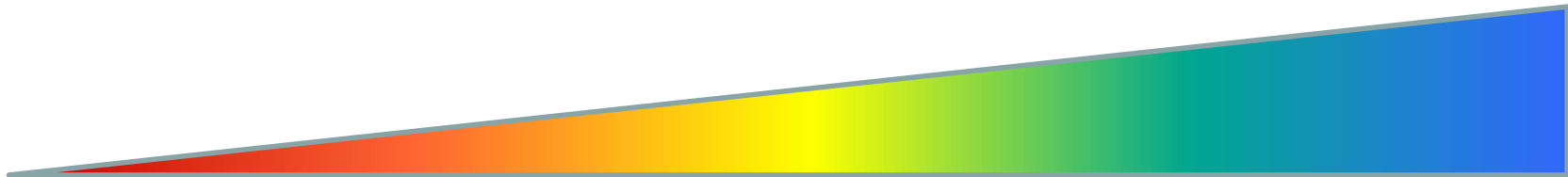
- L'utilisation d'essais biologiques s'est avérée pertinente et utile pour évaluer la performance des procédés de traitement avancé des eaux usées.
- Application possible à l'appréciation du rendement, pour cela:
 - Les bioessais *in vitro* qui montrent des effets spécifiques sont plus appropriés que la plupart des bioessais *in vivo* disponibles.
 - Nécessité de standardiser les bioessais *in vitro* appropriés.
 - Certains bioessais *in vivo* tels que le test de «*fish early life stage toxicity*» avec la truite arc-en-ciel sont bien adaptés eux aussi.
- Une grande variété d'effets écotoxicologiques étaient éliminés à plus de 80%.
- Un traitement biologiquement actif (par exemple un filtre à sable) est recommandé après l'ozonation pour réduire le risque dû aux sous-produits de l'oxydation biodégradables.



Comment peut-on utiliser les bioessais pour apprécier la qualité des milieux aquatiques potentiellement pollués par les eaux usées ?



Comment apprécie-t-on la qualité des eaux superficielles ?



Mauvais état

État moyen


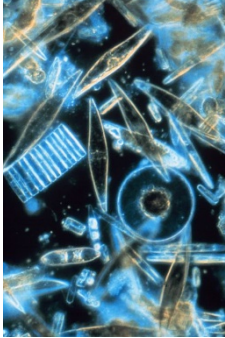



Très bon état



Le système modulaire gradué Suisse

Objectif : Méthodes standardisées d'appréciation de la qualité des cours d'eau pour aider les cantons à la prise de décision

Modules :

Ecomorphologie	Biologie			Chimie / Ecotoxicologie
	Diatomées	Invertébrés	Poissons	
				

Partenaires :

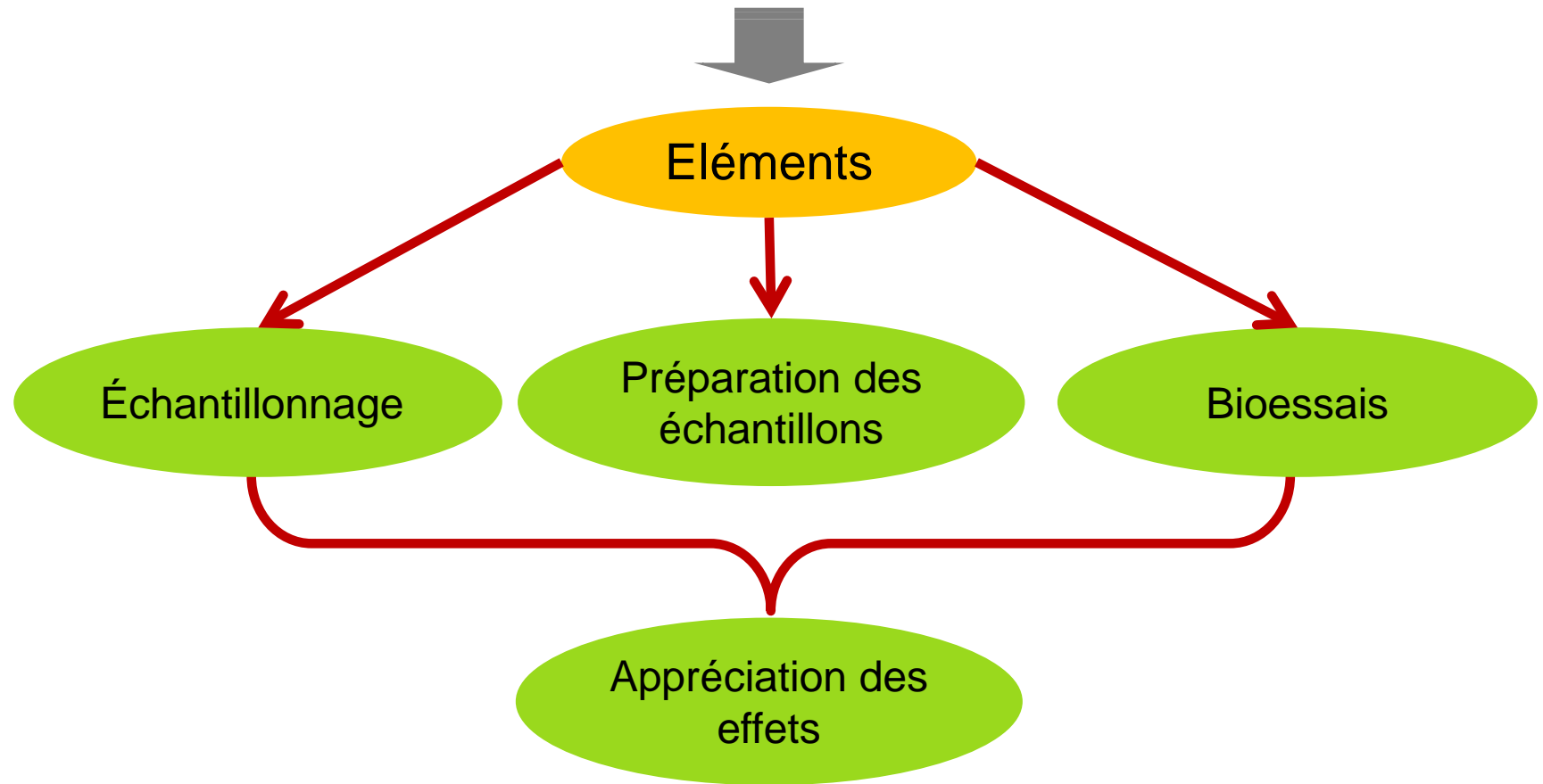


Offices cantonaux de l'environnement



Objectif

Élaboration d'une stratégie grossière pour apprécier la qualité des milieux aquatiques à l'aide d'essais biologiques.





Quels bioessais se prêtent à une évaluation grossière ?

Critères de sélection des bioessais :

- adaptés à l'étude des matrices environnementales (eaux usées et eaux superficielles)
- sensibles
- robustes
- largement validés et, si possible, standardisés
- bon marché, pratiques et faciles à interpréter
- utilisables par les laboratoires cantonaux de la protection des eaux et les laboratoires privés

Pour l'évaluation grossière, les bioessais suivants ont été choisis :

- **Test œstrogènes sur levure** (Yeast Estrogen Screen, YES) pour mesurer les perturbateurs endocriniens de type œstrogène
- **Test algues combiné** pour mesurer des herbicides inhibiteurs du photosystème II

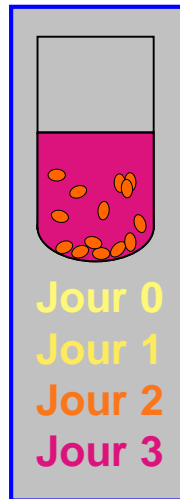


Comment détecter les œstrogènes avec un bioessai ?

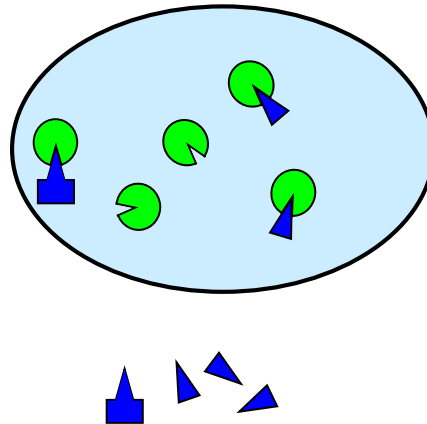
Test œstrogènes sur levure (Yeast Estrogen Screen (YES)) (d'après Routledge und Sumpter 1996, ETC)



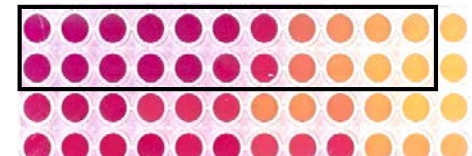
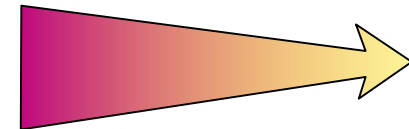
- **Organisme** : Cellules de levure (*Saccharomyces cerevisiae*)
- **Principe** :



Levures transgéniques dans un milieu de culture jaune



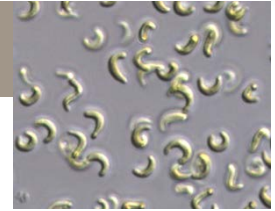
17 β -estradiol



EEQ:
équivalents 17 β -estradiol

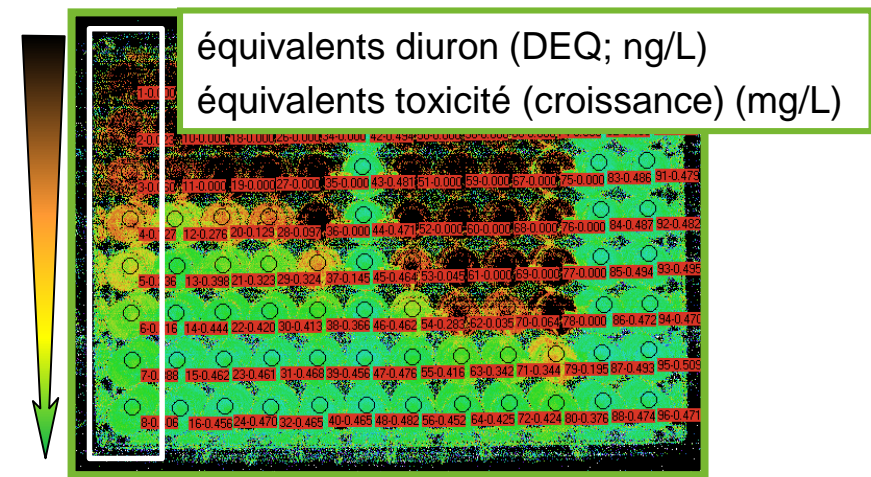
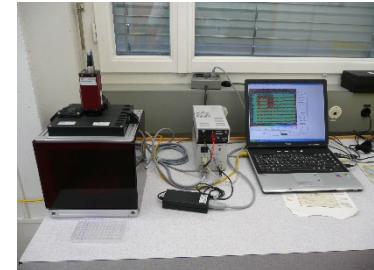


Comment détecter les effets herbicides?



Test algues combiné (Quayle et al, 2008, Eawag)

- **Organisme** : algues vertes unicellulaires dulçaquicoles (p.ex. *Pseudokirchneriella subcapitata*)
- **Principe** :
Détection des effets sur
 - 1) l'activité de la photosynthèse et/ou
 - 2) la croissance des algues
- **Durée** : 24 h
- **Observations** : Inhibition de la photosynthèse et de la croissance (%)
- **Paramètres de toxicité** : EC_x, équivalents diuron (DEQ), équivalents toxicité (TEQ)



Diuron



Quelle est la stratégie choisie pour l'évaluation des eaux ?

Stratégie d'évaluation grossière des milieux aquatiques recevant des effluents

Quelle est la part d'eaux usées dans le cours d'eau?



Plus de 10 %



Quel est le degré de contamination de l'effluent?



Evaluation grossière au moyen de bioessais



Quel est le degré de contamination du cours d'eau?



Dilution



Evaluation écotoxicologique de la pollution





Quelle est la stratégie choisie pour l'évaluation des eaux ?

Stratégie d'évaluation grossière des milieux aquatiques recevant des effluents

Avantages :

- Mesures dans l'effluent plus fiables en raison des concentrations élevées
- Prélèvement d'échantillons moyennés sur plusieurs jours simple à organiser

Inconvénients :

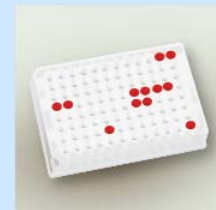
- Charge préliminaire et contamination de sources non ponctuelles non prises en compte

Quelle est la part d'eaux usées dans le cours d'eau?



Plus de 10 %

Quel est le degré de contamination de l'effluent?



Evaluation grossière au moyen de bioessais

Quel est le degré de contamination du cours d'eau?



Dilution

Evaluation écotoxicologique de la pollution





Appréciation de la qualité des eaux par les bioessais choisis

Evaluation des risques environnementaux

$$\text{Quotient de risque (RQ)} = \frac{\text{TEQ}}{\text{CQE}} =$$

<1 critère de qualité respecté

>1 critère de qualité dépassé

avec:

TEQ = Concentration d'équivalent toxicité

CQE = Critère de qualité environnementale

Critères de qualité environnementale relatives à la pollution chronique pour l'appréciation:

- des effets de type œstrogène: CQE pour le 17 β -estradiol = 0.4 ng/L
- des effets inhibiteurs de la photosystème II: CQE pour le diuron = 20 ng/L



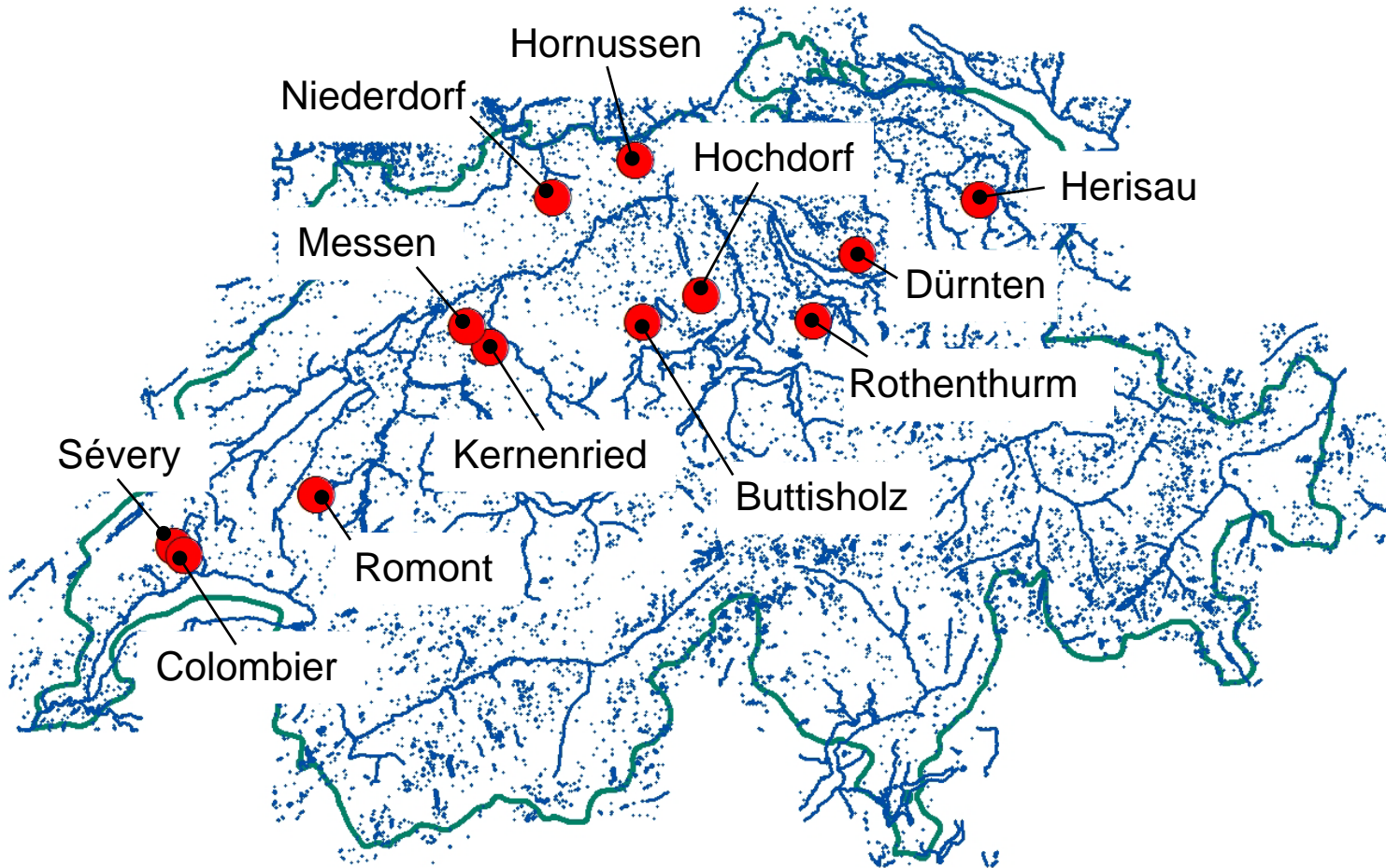
Classification de la qualité de l'eau d'après le SMG

Proposition de classification en 5 classes

Appréciation de l'état		Condition/description		Respect d'objectif
	Très bon	TEQ au moins 10 fois inférieure au critère de qualité environnementale (CQE) pour 17 β -estradiol/diuron	RQ < 0.1	CQE respecté
	Bon	TEQ de une à dix fois inférieure au CQE pour 17 β -estradiol/diuron	0.1 \leq RQ < 1	
	Moyen	TEQ inférieure au double du CQE pour 17 β -estradiol/diuron	1 \leq RQ < 2.5	CQE non respecté (seuil dépassé)
	Mediocre	TEQ inférieure à 10 fois le CQE pour 17 β -estradiol/diuron	2.5 \leq RQ < 10	
	Mauvais	TEQ supérieure ou égale à 10 fois le CQE pour 17 β -estradiol/diuron	RQ \geq 10	

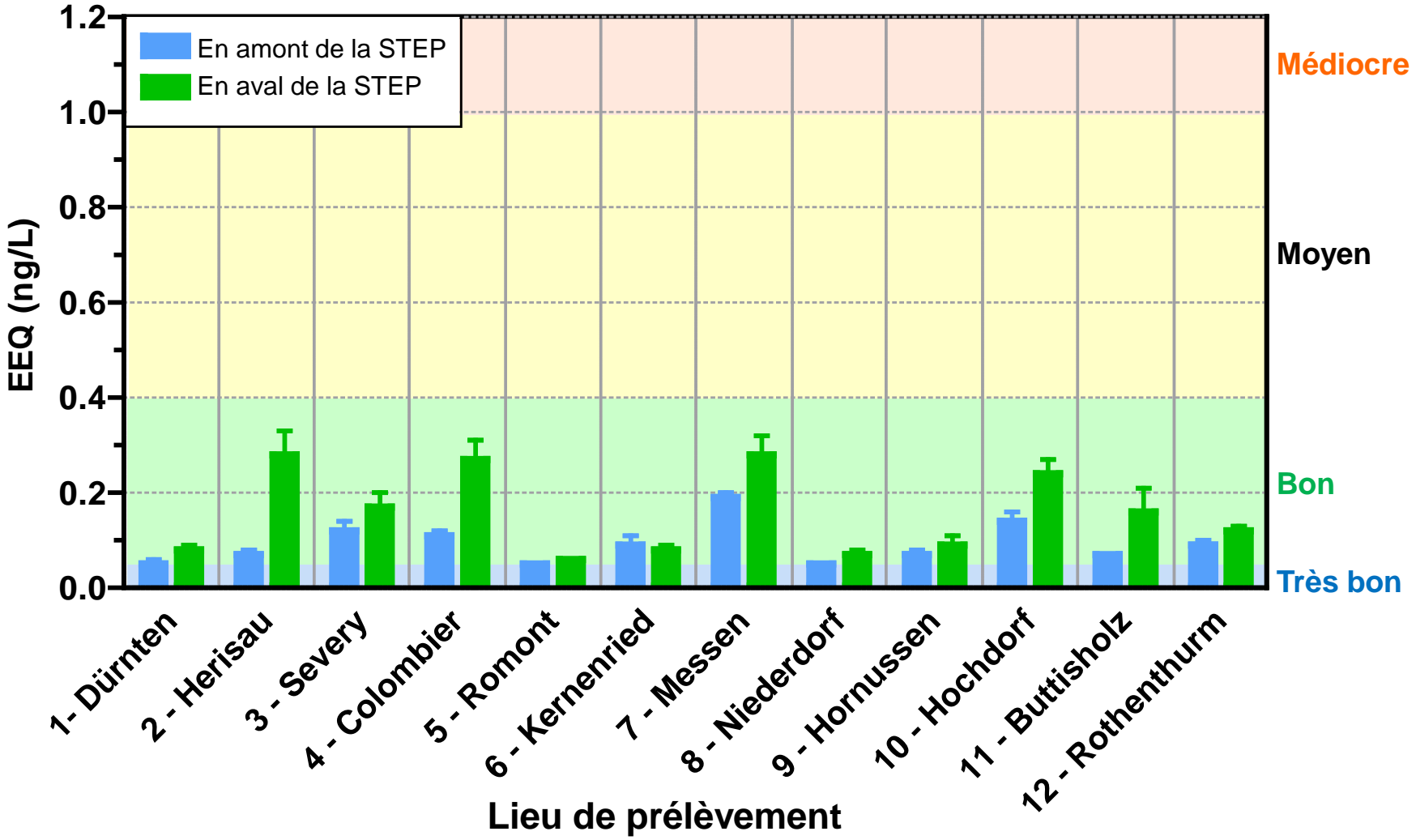


Etude de cas : activités œstrogènes et effets inhibiteurs du photosystème II dans des effluents et rivières suisses (Projet EcoImpact)





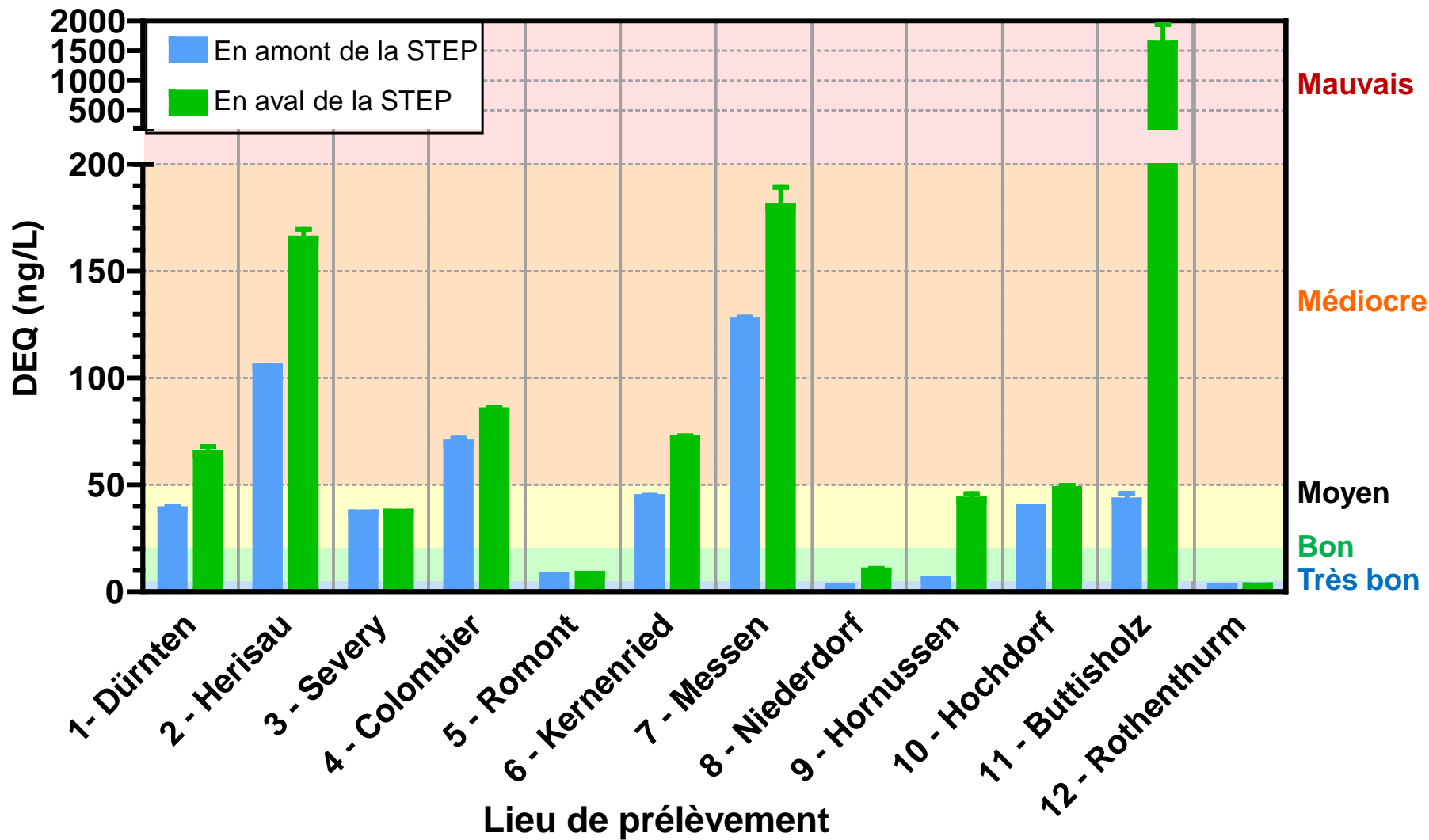
YES – Evaluation avec le système provisoire en 5 classes



EEQ = équivalent 17β-estradiol



Test algues – Evaluation avec le système provisoire en 5 classes



DEQ = équivalent diuron



MESSAGES À RETENIR

- Les micropolluants ont des effets négatifs sur les organismes aquatiques.
- Les bioessais sont appropriés pour mesurer ces effets et leur réduction.
- Les effets sur les organismes aquatiques peuvent être éliminés avec des traitements avancés d'épuration des eaux.

→ Amélioration de la protection
des écosystèmes aquatiques



Plusieurs informations sur bioessais

18 | FACHARTIKEL

AQUA & GAS N° 7/8 | 2015

ÖKOTOXIKOLOGISCHE BIOTESTS

ANWENDUNG VON BIOTESTS ZUR EVALUATION DER WIRKUNG UND ELIMINATION VON MIKROVERUNREINIGUNGEN

Toxizitätstests auf der Basis von Zellkulturen oder Organismen eignen sich, um die Reinigungsleistung einer Kläranlage in Bezug auf Mikroverunreinigungen zu überprüfen. Damit lassen sich im Routineeinsatz nicht nur Einzelstoffe, sondern auch Gemische ökotoxikologisch beurteilen, wie im Rahmen des Projektes «Strategie Micropoll» des Bundesamtes für Umwelt gezeigt werden konnte.

Cornelia Kienle, Oekotoxzentrum Eawag-EPFL
Robert Kase, Oekotoxzentrum Eawag-EPFL
Michael Schärer, Bundesamt für Umwelt (BAFU), Abteilung Wasser, Sektion Gewässerschutz
Inge Werner, Oekotoxzentrum Eawag-EPFL*

Kienle C, Kase R, Schärer M, Werner I, 2015. *Ökotoxikologische Biotests - Anwendung von Biotests zur Evaluation der Wirkung und Elimination von Mikroverunreinigungen.* Aqua & Gas 7/8:18-26.

Kienle C, Vermeirssen E, Kunz PY, Werner I, 2015. *Grobbeurteilung der Wasserqualität von abwasserbelasteten Gewässern anhand von ökotoxikologischen Biotests. Studie im Auftrag des BAFU.* Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie, Eawag-EPFL, Dübendorf.

→ Traduction française en cours.

oekotoxzentrum
centre ecotox

Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie
Centre Suisse d'écotoxicologie appliquée
Eawag-EPFL

Grobbeurteilung der Wasserqualität von abwasserbelasteten Gewässern anhand von ökotoxikologischen Biotests

Studie im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU)

2015



Remerciements

Merci beaucoup :

- au OFEV, à l'UE (FP7 projet Demeau) et au Centre Ecotox pour le soutien financier,
- au groupe d'accompagnement, se composant des représentants du OFEV, des services spécialisés cantonaux, des laboratoires privés, et à tous les autres experts pour leur soutien scientifique,
- à mes collègues du Centre Ecotox, de l'école polytechnique d'Aix-la-Chapelle, de l'EPFL et de l'Eawag, et aussi aux operateurs des STEPs pour leur soutien pratique et scientifique.

Contact : cornelia.kienle@oekotoxzentrum.ch