

FASCICULE

# Biosurveillance

Surveiller la qualité des eaux franciliennes  
en mesurant leurs effets sur le vivant



**innewater**  
l'innovation au service de l'eau

# Exprimer le potentiel opérationnel

Quelle satisfaction d'ouvrir par ces quelques lignes cette série de fascicules. Un format imaginé et construit pour favoriser le partage des avancées scientifiques avec les acteurs opérationnels du monde de l'assainissement, et ainsi contribuer à faire évoluer nos installations industrielles, leur exploitation et leur maintenance.

L'innovation se doit d'être à la hauteur des défis que nous devons relever aujourd'hui. Filières épuratoires performantes mais complexes, cadre réglementaire exigeant, nécessaire limitation des coûts d'exploitation et de maintenance, légitime ambition de réduire l'empreinte environnementale, contraintes hydrauliques fortes avec des conditions météorologiques de plus en plus contrastées et des événements atypiques de plus en plus fréquents; tel est dorénavant le paysage offert aux exploitants des systèmes d'assainissement. L'acquisition de connaissances nouvelles sur le fonctionnement des installations industrielles et de leurs impacts environnementaux, mais également le développement d'outils numériques ou météorologiques au service de leur exploitation deviennent dès lors essentiels.

Cette série de fascicules se veut ainsi être un atout de plus pour connecter les sphères scientifiques et opérationnelles. Chercheurs et experts techniques prennent conjointement la plume pour vous partager les avancées scientifiques sur une thématique de recherche embrassée par la programmation scientifique, avec la volonté d'en exprimer tout le potentiel opérationnel. Complémentaire aux publications scientifiques et résolument tourné vers l'applicatif, ce format doit contribuer à faire que de l'innovation devienne une réalité industrielle. C'est l'ambition de la démarche **inneauvation\***, portée par le Syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne (SIAAP) et ses partenaires scientifiques.

Nous vous souhaitons une bonne lecture, et espérons que vous trouverez en ce fascicule une source d'inspiration pour faire évoluer vos outils et pratiques industrielles, pour un assainissement toujours plus performant.

**Vincent Rocher**, Directeur délégué à l'innovation, la stratégie et l'environnement au SIAAP

**Sabrina Guérin-Rechdaoui**, Directrice Innovation au SIAAP



*Des fascicules imaginés et construits pour favoriser le partage des avancées scientifiques avec les acteurs opérationnels du monde de l'assainissement*

\* **inneauvation** associe le SIAAP et des organismes de recherche pour promouvoir une innovation publique à vocation industrielle dans le domaine de l'assainissement.

# Les auteurs

## Coordination éditoriale



Le Syndicat Interdépartemental pour l'Assainissement de l'Agglomération Parisienne (SIAAP) est le service public industriel qui traite chaque jour les eaux usées de plus de 9 millions de Franciliens, ainsi que les eaux pluviales et industrielles. Le SIAAP, avec ses 1800 agents, traite 7J/7, 24H/24, près de 2,5 millions de m<sup>3</sup> d'eau, transportés par 472 km d'émissaires et traités par ses 6 usines d'épuration. Sa Direction Innovation porte la démarche **in~~ne~~auvation** aux côtés de partenaires scientifiques pour une innovation publique à vocation industrielle pour l'assainissement.



**Anthony Marconi** est ingénieur dédié à la valorisation opérationnelle à la Direction Innovation du SIAAP.



**Sabrina Guérin** est Directrice Innovation du SIAAP.



**Vincent Rocher** est dirigeant du SIAAP en charge des questions d'innovation, de stratégie et d'environnement.



L'Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (INRAE), est un acteur majeur de la recherche et de l'innovation. Il rassemble une communauté de 12000 personnes, avec 272 unités de recherche, de service et d'expérimentation implantées dans 18 centres sur toute la France. Au sein de l'unité de recherche RiverLy, le laboratoire d'écotoxicologie basé à Lyon développe ses activités sur le transfert et l'impact de la contamination chimique chez les organismes et les populations aquatiques d'eau douce.



**Vivien Lecomte** est ingénieur d'étude au sein du laboratoire d'écotoxicologie d'INRAE Lyon-Grenoble-Auvergne-Rhône-Alpes.



**Olivier Geffard** est chercheur au laboratoire d'écotoxicologie d'INRAE Lyon-Grenoble-Auvergne-Rhône-Alpes.

## Contributeurs

Guillaume Jubeaux, Caroline Arcanjo et Julie Muller, **Biomae**  
Dorothee Muñoz Gestin, Erwan Michelin  
et Cindie Gesbert, **Tame-Water (acquis par Inovalys, GIP)**  
Jérôme Couteau, Géraldine Loppion  
et Géraldine Maillet, **Toxem**  
Grégory Lemkine, Barbara Robin-Duchesne  
et David Du Pasquier, **Watchfrog**

## Secrétariat éditorial

**Pauline Rey-Brahmi**, Direction Innovation du SIAAP

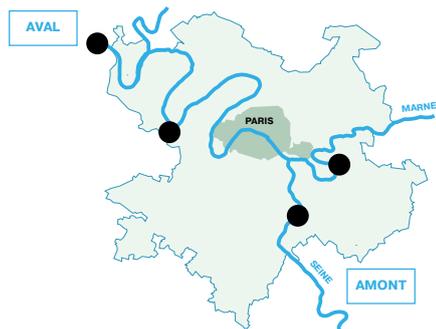
# L'essentiel

Dans le cadre de sa démarche **innovation**, le SIAAP déploie des outils de biosurveillance pour apporter un éclairage nouveau sur la qualité des eaux urbaines au regard de la pollution chimique. Appliquée au moyen de bioessais, la biosurveillance permet d'investiguer la pollution de l'eau d'une manière novatrice et complémentaire à la chimie analytique, en se basant non pas sur une recherche classique de substances, mais sur la mesure d'effets chez des modèles vivants employés comme de véritables sondes.

## Bâtir un dispositif de biosurveillance adapté au contexte local

### Quatre sites

répartis le long de la Seine et de la Marne, encadrant le système d'assainissement du SIAAP.



12 campagnes de mesures entre 2018 et 2023

### Une batterie de bioessais

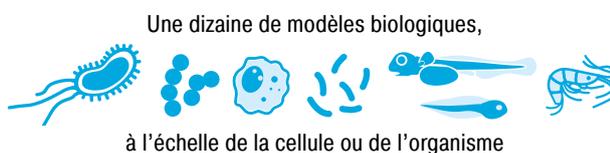
classés en deux grandes familles :

#### TOXICITÉ GÉNÉRALE Mesure de l'activité métabolique

Synthèse cellulaire, Prolifération, Alimentation, Mortalité, etc.

#### TOXICITÉ SPÉCIFIQUE Évaluation des dysfonctionnements physiopathologiques

Perturbation endocrinienne, Génotoxicité, Neurotoxicité, etc.



## Établir un état zéro de l'écotoxicité des rivières franciliennes

### Quels sont les effets détectés ?

Des effets sur un ou plusieurs bioessais de toxicité générale, atteignant parfois le seuil de forte toxicité



Parfois, des atteintes génotoxiques notables mais réversibles



Parfois, des effets de perturbation endocrinienne, sans jamais atteindre le seuil de forte toxicité



### Comment la toxicité des eaux varie-t-elle dans le temps ?

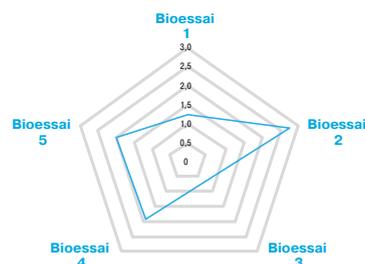
	Date 1	Date 2	Date 3	Date 4
BIOESSAI 1	Green	Yellow	Green	Yellow
BIOESSAI 2	Green	Yellow	Green	Yellow
BIOESSAI 3	Green	Green	Green	Red

- La toxicité est très variable dans le temps.
- Pas de tendance saisonnière, mais certaines campagnes se démarquent.

### Y a-t-il un gradient des effets de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne ?

Calcul d'un indice **IBR** (réponse biologique intégrée) pour synthétiser les résultats de la batterie de bioessais.

- L'intensité globale des effets augmente peu de l'amont à l'aval.
- Mais l'impact de l'agglomération est visible avec certains bioessais.



## Qualifier un procédé d'épuration

- Mise en évidence de l'absence d'effets toxiques d'une méthode de désinfection des eaux usées par acide performique.
- Mesure de l'efficacité de procédés de traitement des micropolluants par adsorption sur charbon actif.



## Et maintenant ?

**Bioessais** appliqués en routine sur les rivières pour mesurer les évolutions sur le temps long.

**Mise à l'essai** de stations de biosurveillance en ligne dans les usines d'épuration et sur la Seine, pour mesurer la qualité de l'eau en temps réel et identifier les pics de contamination.





# Sommaire

## Partie 1

### La biosurveillance, pour apporter un éclairage nouveau sur la qualité de la Seine **9**

- 1.1** L'observatoire MeSeine, pour surveiller la qualité de la Seine et de ses affluents 10
- 1.2** Le défi de la pollution chimique 12
- 1.3** Un dispositif de biosurveillance adapté au contexte local 14

## Partie 2

### Quels sont les bioessais réactifs dans les rivières franciliennes ? **23**

- 2.1** La fréquence de détection : indicateur de la pertinence des bioessais pour le contexte francilien 24
- 2.2** Une batterie de bioessais en constante évolution 27

## Partie 3

### Comment la toxicité des rivières franciliennes varie-t-elle dans le temps ? **29**

- 3.1** La heatmap pour appréhender la variabilité des effets 30
- 3.2** Une grande variabilité temporelle de la toxicité des eaux 33

## Partie 4

### Y a-t-il un gradient d'effets de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne ? **37**

- 4.1** L'IBR comme outil de synthèse des résultats des bioessais 38
- 4.2** Une augmentation limitée de l'intensité globale de la toxicité de l'amont à l'aval 42
- 4.3** Certains effets plus forts en aval 44
- 4.4** Un « état zéro » précieux pour suivre et comprendre les évolutions futures 45

## Partie 5

### Appliquer les bioessais en usine d'épuration **47**

- 5.1** Évaluer l'impact environnemental d'une méthode de désinfection des eaux usées 48
- 5.2** Mesurer les performances de procédés de traitement des micropolluants 51
- 5.3** Les bioessais comme outil de pilotage de l'usine d'épuration ? 54

Références bibliographiques 55



# en bref

## Partie 1

### La biosurveillance,

**pour apporter  
un éclairage  
nouveau  
sur la qualité  
de la Seine**

Depuis 1990, le SIAAP surveille la qualité de la Seine francilienne et de ses affluents via son observatoire MeSeine. Ce dernier s'appuie sur la mesure en continu de paramètres physico-chimiques, sur des prélèvements d'eau hebdomadaires faisant l'objet d'analyses chimiques et bactériologiques, et sur un suivi du biote. MeSeine est en évolution perpétuelle grâce à la programmation scientifique innovante, qui permet l'émergence de solutions métrologiques opérationnelles nouvelles. La biosurveillance s'intègre à cette démarche. Appliquée au moyen de bioessais, elle permet ainsi d'investiguer la pollution de l'eau d'une manière novatrice et complémentaire à la chimie analytique, en se basant non pas sur une recherche classique de substances, mais sur la mesure d'effets chez des modèles vivants employés comme de véritables sondes. Le SIAAP est pionnier dans le déploiement des bioessais, utilisés dès le début des années 2010 au niveau du réseau d'assainissement, des usines d'épuration et des eaux de surface.

Un travail préalable a permis de bâtir un dispositif de biosurveillance visant à mesurer l'impact du système d'assainissement sur la qualité des eaux de surface franciliennes. Ce dispositif s'appuie sur quatre sites d'études répartis le long de la Seine et de la Marne, et sur une vingtaine de bioessais mis en œuvre lors de 12 campagnes réparties entre 2018 et 2023. La batterie déployée utilise une dizaine de modèles biologiques aux sensibilités diverses, allant de la cellule (bactéries, levures et champignons) aux organismes supérieurs (larve d'amphibiens, larves de poissons et crustacés). Elle comprend des bioessais de toxicité générale basés sur la mesure de l'activité métabolique qui évaluent les conséquences d'atteintes aux fonctions essentielles à la vie des organismes telles que l'alimentation et la multiplication cellulaire. Elle comprend également des bioessais de toxicité spécifique basés sur l'évaluation de dysfonctionnements physiopathologiques tels que la perturbation endocrinienne, la génotoxicité et la neurotoxicité.

# 1.1

## L'observatoire MeSeine, pour surveiller la qualité de la Seine et de ses affluents

### La Seine, un fleuve sous forte pression urbaine en Île-de-France

La Seine prend sa source en Côte d'Or, sur le plateau de Langres, et se jette près de 800 kilomètres plus loin dans la Manche, entre Le Havre et Honfleur. Entre les deux, elle traverse l'agglomération parisienne, où elle est renforcée par deux affluents principaux : la Marne en amont et l'Oise en aval.

Le bassin de la Seine est très marqué par l'Homme, de par la population qui y vit (18,8 millions d'habitants en 2019), la place de l'agriculture (60 % du bassin est occupé par des terres agricoles) et l'importance du tissu industriel (plus d'un quart du secteur industriel français est concentré sur le bassin) (Agence de l'eau Seine-Normandie 2019). Cette pression anthropique est particulièrement forte en Île-de-France, avec une population estimée à plus de 12,4 millions d'habitants en 2023 et une densité supérieure à 1 000 habitants/km<sup>2</sup>.

De surcroît, cette pression est accentuée par le fait que la Seine présente au niveau de Paris des débits bien inférieurs aux autres grands fleuves et rivières de France, avec un débit d'étiage moyen d'environ 100 m<sup>3</sup>/s contre 1 000 et 1 500 m<sup>3</sup>/s pour le Rhône et le Rhin.

12,4 millions  
d'habitants  
en Île-de-France

### L'observatoire de la ville, mémoire de la qualité des effluents

En complément de MeSeine, le SIAAP a mis en place, en 2020, un observatoire de la ville pour suivre sur le temps long la composition chimique et microbiologique des effluents d'assainissement, véritables miroirs des activités anthropiques, des habitudes de consommation et de l'état de santé de la population. Parallèlement aux analyses mensuelles réalisées sur les effluents et les boues d'épuration, l'observatoire de la ville assure un stockage pérenne d'échantillons et la mise à disposition des chroniques de données en libre accès. L'objectif est d'une part, d'accompagner les acteurs opérationnels en charge des questions environnementales et d'autre part, de constituer une veille technique et scientifique.

## Un suivi de la qualité des rivières mis en œuvre par le SIAAP depuis 1990

Cette situation particulière de la Seine en agglomération parisienne a conduit le SIAAP à assurer depuis 1990 un suivi de la qualité du fleuve et de ses affluents, au travers de son observatoire MeSeine. MeSeine est un réseau de mesures étendu sur une quinzaine de sites et plus de 130 km de rivières. Il repose sur trois piliers : (i) la mesure en continu de paramètres physico-chimiques (oxygène dissous, carbone, azote, phosphore et chlorophylle), (ii) des prélèvements *in situ* hebdomadaires sur lesquels sont réalisées des analyses chimiques (substances ciblées par la directive européenne cadre sur l'eau - DCE) et bactériologiques, et (iii) un suivi du biote *via* des recensements piscicoles, des inventaires faunistiques et le dosage de micropolluants dans les chairs de poissons.

À quoi sert cette surveillance pérenne à large spectre ? D'abord, à caractériser l'empreinte laissée par le système d'assainissement de l'agglomération parisienne

sur les eaux de surface franciliennes. Ensuite, à réaliser un diagnostic de l'état chimique et écologique de la Seine et de ses affluents sous le prisme de la DCE. Enfin, cette surveillance permet d'acquérir des données sur le temps long, condition nécessaire pour documenter l'évolution de la qualité des masses d'eau et pour mesurer l'efficacité des actions de remédiation telles que la modernisation d'une usine de traitement des eaux usées ou du réseau de stockage et de transport.

Plus de  
**130 km**  
de rivières suivis

## Une amélioration de la qualité de l'eau au cours des dernières décennies

Sous l'effet conjugué de l'amélioration de la collecte des eaux usées et de la modernisation des procédés de traitement, jamais, dans un référentiel de plus de cinquante ans, la Seine n'a été aussi propre à la traversée de l'agglomération parisienne, et ce malgré une urbanisation croissante et une démographie en hausse. Cette amélioration de la qualité de l'eau concerne différents paramètres physico-chimiques tels que le taux d'oxygène (en hausse) et la concentration en matières azotées et phosphorées responsables du phénomène d'eutrophisation (en baisse). Elle concerne également les paramètres microbiologiques, avec une baisse de la contamination par les bactéries d'origine fécale.

L'augmentation du nombre d'espèces de poissons dans la Seine constatée chaque année depuis la fin du siècle dernier (14 espèces en 1990 contre 36 espèces en 2023) est l'un des meilleurs témoins de cette qualité de l'eau retrouvée (Bilan MeSeine 2023). Outre le gardon, le chevesne et la perche, vivent dans la Seine plusieurs espèces considérées comme sensibles aux effets diffus de la pollution de l'eau telles que le goujon et l'ablette.

Cet ouvrage, publié par le SIAAP et ses partenaires scientifiques en 2024, met en lumière l'évolution de la qualité de la Seine en lien avec les progrès de l'assainissement francilien depuis 1875, mais aussi les nouveaux enjeux auxquels est soumis le fleuve dans un contexte de changement climatique.



# 1.2

## Le défi de la pollution chimique

### Micropolluants : des enjeux multiples pour le SIAAP

MeSeine est un observatoire en évolution perpétuelle, inscrit au sein de la démarche **in**ne**au**vation portée par le SIAAP. Cette dernière, née de la volonté de proposer une innovation publique à vocation industrielle, est une programmation scientifique co-construite entre les chercheurs et les acteurs opérationnels. Elle s'articule notamment autour de partenariats académiques et de deux programmes de recherche appliqués, Mocopée et MeSeine Innovation, qui s'intéressent respectivement à l'usine d'épuration et à la rivière. Cette démarche permet l'émergence de solutions innovantes, qui sont ensuite expérimentées, et le cas échéant, pérennisées sur le terrain.

Cette culture de l'innovation permet au SIAAP de relever les nouveaux défis environnementaux et sociétaux. La pollution chimique est l'un de ces défis. En effet, l'essor de l'industrie de la chimie, dont la production a été multipliée par 50 depuis le milieu du XX<sup>e</sup> siècle (European Environment Agency 2018) et la transformation concomitante des activités humaines ont radicalement changé le profil des polluants qui aboutissent dans l'atmosphère, les sols et les eaux. Résidus de médicaments, produits phytopharmaceutiques, plastifiants, tensioactifs... Autant de substances que l'on retrouve dans toutes les eaux du globe, et donc forcément dans la Seine. Ainsi, en 2023, du PFOS (substance de la famille des PFAS, souvent désignés sous le terme de « polluants éternels ») et du benzo(a)pyrène (un hydrocarbure aromatique polycyclique ou HAP) ont été détectés dans toutes les masses d'eau surveillées par le SIAAP, rendant ces dernières non conformes au regard des critères de la DCE, à l'instar de nombreux autres fleuves traversant les grandes agglomérations européennes (Bilan MeSeine 2023). Si les eaux usées sont une voie de transfert importante des substances chimiques vers les eaux de surface, le ruissellement pluvial urbain est également un vecteur de micropolluants significatif à l'échelle d'une agglomération. Ce dernier peut aussi engendrer des surverses *via* des déversoirs d'orage qui contribuent à dégrader la qualité des milieux aquatiques.

### Les ménages, première source de micropolluants dans les eaux usées urbaines

Des travaux récents ont apporté des données concrètes montrant que les usages domestiques sont la source majoritaire de la plupart des micropolluants organiques retrouvés à l'entrée des usines d'épuration. À Paris, les analyses révèlent par exemple que plus de 97 % du flux d'alkylphénols (molécules employées dans un large panel d'applications industrielles) et de phtalates (plastifiants), est apporté par les effluents domestiques (Moilleron *et al.* 2019). Sur d'autres territoires, plusieurs études ont permis d'estimer que les sources domestiques représentent environ 80 % du flux de résidus de médicaments entrant en usines (Lecomte *et al.* 2023).

Les enjeux de cette pollution sont avant tout environnementaux, comme en témoignent plusieurs études récentes révélant la contribution des substances chimiques à la dégradation des milieux aquatiques et à l'érosion de la biodiversité (Synteu et INRAE 2020 ; Office français de la biodiversité 2024). En effet, une partie de ces substances peuvent avoir des effets toxiques sur les organismes vivants à des concentrations infimes, de l'ordre du microgramme ou du nanogramme par litre : on parle de micropolluants.

Les enjeux sont également sanitaires et économiques, car les eaux affectées par cette pollution sont aussi des ressources pour des usages et activités comme la pêche, la baignade (qui devient de nouveau une réalité dans l'agglomération parisienne), l'irrigation ou l'eau potable, et peuvent donc constituer une voie d'exposition humaine aux substances chimiques. Pour le SIAAP, l'enjeu est double vis-à-vis de sa mission de service public. D'une part, caractériser l'empreinte du système d'assainissement sur le milieu naturel au regard de cette pollution chimique et d'autre part, disposer de procédés de traitement performants pour un assainissement durable en phase avec les évolutions réglementaires actuelles et futures.

### Les limites de la chimie analytique

La chimie analytique a considérablement progressé au cours des dernières décennies, avec le développement de méthodes permettant de détecter dans l'environnement un large panel de molécules à l'état de traces ( $\mu\text{g/L}$ ) voire d'ultra-traces ( $\text{ng/L}$ ). Néanmoins, les approches d'évaluation du risque basées sur des analyses chimiques dont les résultats sont comparés à des valeurs seuils environnementales, se heurtent à plusieurs difficultés.

Tout d'abord, pour des raisons techniques et économiques, il est impossible de suivre tous les micropolluants présents dans les eaux. En 2024, la surveillance de l'observatoire MeSeine cible dans la

colonne d'eau 76 substances en accord avec la DCE ou les réglementations nationales. Une dizaine de substances additionnelles sont suivies dans le biote. Un chiffre qui qu'il en soit très inférieur aux 110 000 substances recensées sur le marché européen, auxquelles il faut ajouter leurs produits de dégradation (métabolites). De plus, les substances de la DCE ne représentent pas la diversité des usages des molécules présentes dans les eaux urbaines. Elles ne comprennent aucune substance pharmaceutique, alors même que le flux de micropolluants urbains est largement dominé par les résidus de médicaments (Staub *et al.* 2022).

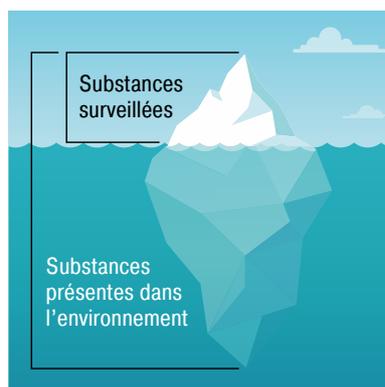
D'autre part, ces approches considèrent chaque substance individuellement et ne permettent pas d'évaluer le potentiel toxique de mélanges de contaminants. Or, des études ont montré que des effets toxiques de mélanges, dit « effets cocktail », se manifestent parfois pour des concentrations inférieures aux valeurs seuils environnementales de chacun des composés (Tosadori *et al.* 2024).

### Le SIAAP, pionnier dans le déploiement des outils de biosurveillance

« Regarder autrement l'eau et les sous-produits de l'assainissement dans les réseaux, les usines et les rivières ». Telle est l'une des lignes directrices de la programmation scientifique **inneau**vation, dans laquelle s'inscrit parfaitement la biosurveillance. À l'opposé de la chimie analytique, cette approche de la qualité des milieux se base, non pas sur une recherche classique de substances, mais sur la mesure d'effets chez des modèles biologiques vivants (organismes ou cellules) employés comme de véritables sondes.

La biosurveillance appliquée au moyen de méthodes dites « basées sur les effets » ou bioessais, permet d'investiguer les pollutions modernes de l'eau d'une manière novatrice et complémentaire aux méthodes analytiques historiques. En effet, les bioessais présentent l'avantage d'intégrer l'activité de l'ensemble des substances présentes en mélange dans les diverses matrices environnementales (eau de surface, sédiments, effluents, etc.) ainsi que les produits de dégradation de ces substances. Ils permettent, même à des concentrations très faibles, d'évaluer la toxicité potentielle des micropolluants sur les organismes et leurs fonctions biologiques. Les bioessais sont également complémentaires des approches écologiques basées sur la composition et la structure des communautés aquatiques, qui reflètent les effets environnementaux globaux mais qui ne permettent pas d'alerter sur un changement brusque de la composition chimique des milieux.

Pour autant et malgré le grand nombre de bioessais disponibles, leur utilisation pour la surveillance des milieux aquatiques et des rejets reste encore limitée. En effet, plusieurs éléments rendent cette approche nouvelle encore difficile à appréhender pour les non-



Les analyses chimiques ne permettent de suivre qu'une partie des substances présentes dans un échantillon (partie émergée de l'iceberg), tandis que les bioessais intègrent l'activité de l'ensemble des substances en mélange.

spécialistes et freinent leur intégration dans la réglementation : déficit de normalisation, manque d'harmonisation des référentiels d'interprétation des résultats, besoin de recherche et développement pour proposer des panels de bioessais adaptés aux besoins des gestionnaires, etc.

Sans attendre la réglementation, le SIAAP expérimente les bioessais depuis le début des années 2010 dans différents contextes d'utilisation. En aval d'une usine d'épuration pour évaluer l'impact environnemental d'un procédé de désinfection des eaux usées, en son sein pour mesurer l'efficacité de procédés de traitement des micropolluants (voir partie V.), dans le réseau d'assainissement pour évaluer le potentiel toxique des eaux urbaines, et bien sûr dans les eaux de surface pour mieux appréhender la contamination chimique de la Seine et de ses affluents. Ce déploiement unique au niveau national permet au syndicat de s'approprier les méthodes disponibles tout en les contextualisant à la lumière des connaissances historiques sur le système d'assainissement et les eaux de surface franciliennes.

### Une dynamique nationale pour un essor de l'utilisation des bioessais

Avec ces expérimentations à grande échelle, le SIAAP accompagne une dynamique nationale portée par l'Office français de la biodiversité (OFB), le Ministère de la Transition écologique, de la Biodiversité, de la Forêt, de la Mer et de la Pêche et les entreprises du secteur, visant à favoriser la dissémination des outils biologiques au sein des acteurs chargés de la surveillance. Mise en place d'un groupe de travail pour inventorier et évaluer les bioessais disponibles (Manier *et al.* 2023), lancement d'appels à projets pour favoriser les expérimentations de terrain, création de l'association « France Eau Biosurveillance », etc. Autant de démarches qui tendent à lever les freins existants pour une application plus large des bioessais et pour leur intégration dans la surveillance réglementaire.

# 1.3

## Un dispositif de biosurveillance adapté au contexte local

### Quatre sites suivis pendant cinq ans

Le SIAAP a conduit un travail préalable pour construire un protocole de biosurveillance adapté aux enjeux de suivi, au travers notamment de campagnes de mesures « tests » menées dans le courant de l'année 2017. L'enjeu était de bâtir un dispositif permettant de mesurer l'impact du système d'assainissement sur le périmètre couvert par le syndicat au regard de ce nouveau prisme qu'est la biosurveillance, tout en tenant compte des contraintes technico-économiques.

Ce travail a permis de définir quatre sites d'étude répartis le long de la Seine et de la Marne en amont et en aval de Paris (FIGURE 1). Déjà instrumentés dans le cadre de l'observatoire MeSeine pour la mesure des paramètres chimiques et microbiologiques, ces points encadrent tous les rejets urbains du SIAAP (usines et déversoirs d'orage). Les sites de **Champigny-sur-Marne** et de **Choisy-le-Roi** dans le Val-de-Marne (94) sont les deux points amont, respectivement sur la Marne et la Seine, non influencés par le système d'assainissement du SIAAP. Le site de **Bougival** dans les Yvelines (78) est situé à l'aval de Paris et des deux principaux déversoirs d'orage (Clichy et La Briche) qui assurent l'évacuation des eaux unitaires excédentaires (mélange d'eaux usées et d'eau pluviale) vers la Seine lors d'événements pluvieux importants. Enfin, le site de **Triel-sur-Seine** (78) est situé en aval de l'agglomération parisienne et de la confluence avec l'Oise. Il est notamment susceptible d'être impacté par le rejet de Seine aval, plus grande usine d'Europe, qui traite la pollution de l'équivalent de 6 millions d'habitants.

Douze campagnes de mesures ont été effectuées entre 2018 et 2023 en ciblant différentes périodes de l'année afin d'obtenir une représentativité entre périodes pluvieuses et sèches. Le débit de la Seine au niveau de Paris varie ainsi, selon les campagnes, de 100 à 600 m<sup>3</sup>/s.

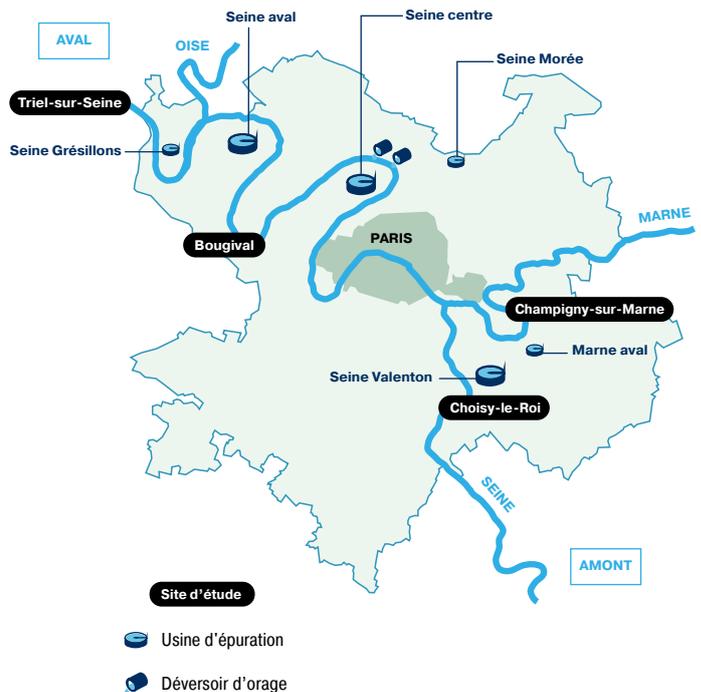
### Biosurveillance active et bioessais

#### *in situ* : de quoi parle-t-on ?

La biosurveillance active repose sur l'engagement sur site d'organismes provenant d'une population de référence (naturelle ou issue d'élevage). Elle permet la conduite de bioessais *in situ*. En comparaison des bioessais pratiqués en laboratoire, cette approche *in situ* permet d'une part, de limiter les artefacts liés au prélèvement et à la manipulation des échantillons et d'autre part, de disposer d'une valeur intégrée sur la période d'exposition, tenant compte des fluctuations des apports en contaminants et des caractéristiques physico-chimiques du milieu. En comparaison de la biosurveillance passive basée sur l'utilisation d'organismes autochtones, la biosurveillance active permet de contrôler différents facteurs de confusion abiotiques (temps d'exposition et nourriture) et biotiques (taille, sexe, historique d'exposition, etc.). Cette approche présente néanmoins des contraintes de déploiement (quantité d'eau, température, teneur en oxygène, etc.) ainsi que des limites biologiques et techniques liées à l'engagement (modifications des caractéristiques physico-chimiques de l'eau à l'intérieur du système, accumulation de particules, etc.) qui peuvent induire des artefacts dans les effets observés et qu'il est important de prendre en compte. Dans le cadre du suivi mis en œuvre par le SIAAP, BIOMAE, essaimage du laboratoire d'écotoxicologie d'INRAE Lyon, a déployé des bioessais *in situ* basés sur l'engagement de gammares (petits crustacés) dans le milieu.

FIGURE 1

Cartographie des sites de la Seine et de la Marne faisant l'objet d'une biosurveillance par le SIAAP



## Une vingtaine de bioessais mis en œuvre par quatre laboratoires experts

Pour mettre en œuvre une batterie de bioessais complémentaires en termes d'effets mesurés, de niveaux biologiques et d'organismes, le SIAAP a mobilisé quatre laboratoires experts, membres du réseau « France eau biosurveillance ». Le laboratoire Watchfrog, spécialiste des perturbateurs endocriniens, met en œuvre des tests thyroïdiens, androgéniques et œstrogéniques sur des larves de poissons et d'amphibiens transgéniques. Le laboratoire Tame-Water propose une gamme de bioessais cellulaires normés et « propriétaires » pour une évaluation globale de la qualité de l'eau. Le laboratoire TOXEM est quant à lui spécialisé dans la détermination de profils toxicologiques (génétoxicité, perturbation endocrinienne, cytotoxicité, embryotoxicité, etc.) de molécules chimiques. Enfin, BIOMAE propose des bioessais intégrateurs basés sur l'engagement de petits crustacés d'eau douce dans le milieu récepteur (voir encadré de la page précédente). Tous sont historiquement des émanations de la recherche académique française.

Tout au long du suivi mené entre 2018 et 2023, ces quatre laboratoires ont mis en œuvre une vingtaine de bioessais. En l'absence de cadre réglementaire sur la biosurveillance, les bioessais normalisés ou bénéficiant d'une large reconnaissance scientifique ont été privilégiés. Il s'agissait également de sélectionner des tests adaptés pour des analyses en routine d'échantillons

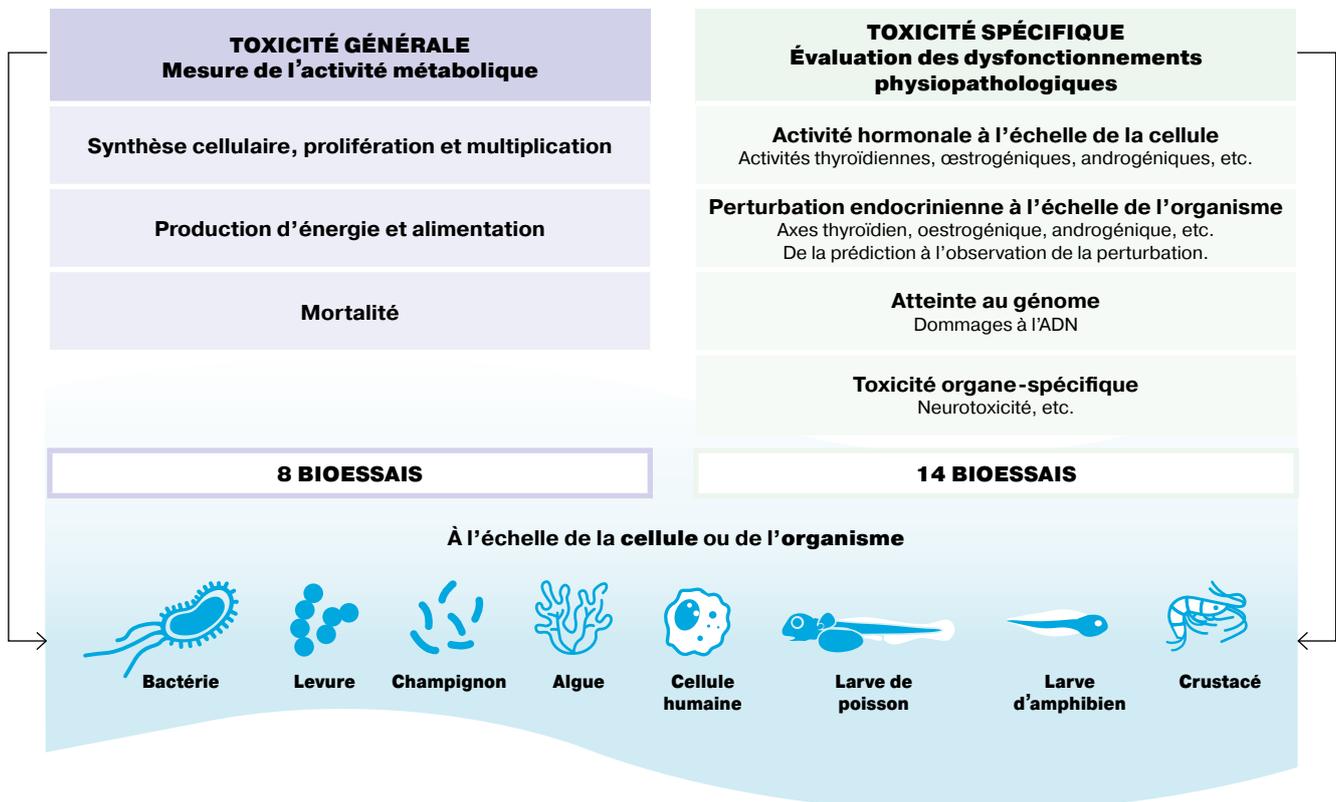
environnementaux : robustes, informatifs, rapides et à coût maîtrisé. La batterie déployée s'appuie sur une dizaine de modèles biologiques. Elle comprend des bioessais *in vivo* (sur organismes entiers) appliqués, soit en laboratoire sur les échantillons d'eau prélevés, soit directement *in situ* dans une approche dite de biosurveillance active (voir encadré). Elle comprend également des bioessais *in vitro*, reposant sur la mesure d'interactions entre les contaminants et des molécules biologiques.

## Une dizaine de modèles biologiques

Pour s'affranchir des distinctions souvent délicates de classification des bioessais sur la base de leur exposition ou de leur cible et pour s'appropriier les outils de biosurveillance à disposition, le SIAAP a développé une classification interne des bioessais, s'appuyant sur les diverses formes de toxicité. La **FIGURE 2** illustre cette classification, avec d'un côté, les mesures d'effets liés aux perturbations d'activités métaboliques au sens large du terme, et de l'autre, les mesures d'effets liés à des dysfonctionnements physiopathologiques de voies fonctionnelles plus spécifiques. Les deux catégories de mesures s'appliquent depuis des cellules isolées jusqu'aux organismes supérieurs.

**FIGURE 2**

Classification des bioessais déployés sur la Seine et la Marne, établie par le SIAAP



## Les bioessais de toxicité générale, basés sur la mesure de l'activité métabolique

Les bioessais basés sur la mesure de l'activité métabolique évaluent les conséquences d'atteintes aux fonctions essentielles à la vie des organismes, telles que la production d'énergie (dont l'alimentation), la multiplication cellulaire et la reproduction. Ces effets sont liés à une toxicité dite générale et vont jusqu'à la létalité, conséquence ultime des perturbations métaboliques.

Dans le cadre de la biosurveillance des eaux de surface franciliennes, huit bioessais de toxicité générale ont été déployés, combinant des tests en laboratoire sur différentes classes de micro-organismes (levure, bactérie et champignon) ainsi que des tests *in situ* sur le gammare (TABLEAU 1). Cette diversité des modèles est essentielle pour intégrer la diversité biologique et donc la variabilité des sensibilités. En effet, la toxicité n'est pas un phénomène unifié : ses mécanismes sont dépendants de l'espèce considérée et de la présence

de certaines cibles ou voies métaboliques. Dans cet esprit, les bactéries et les levures du panel de bioessais sont représentées par des souches naturelles, dites « sauvages », mais aussi par des souches de laboratoire ayant naturellement muté et qui présentent une sensibilité accrue aux toxiques présents dans l'environnement. Des effets mesurés sur les souches mutées attestent la présence de substances impactant les organismes vivants avec un très bon niveau de sensibilité. En contraste, les souches sauvages permettent de remettre en contexte la présence et l'impact des contaminants en mesurant leurs effets sur des organismes capables de se défendre et de s'adapter grâce à la présence de divers mécanismes cellulaires (par exemple une membrane externe particulièrement résistante ou la présence de pompes moléculaires qui permettent d'expulser les substances nuisibles). L'association de ces deux éléments d'information permet de pondérer l'interprétation du signal mesuré.

**TABLEAU 1**

Liste des bioessais de toxicité générale (mesure de l'activité métabolique) et caractéristiques associées

Nom du bioessai et modèle biologique	Effet(s)	Paramètre mesuré	Durée d'exposition	Norme / Référence
<b>Bactérie sauvage</b> ( <i>E. coli</i> AG100A)	Mortalité / Prolifération	Abondance cellulaire (densité optique)	<b>24 h</b> (en laboratoire)	Maira-Litrán <i>et al.</i> (2000) Caetano <i>et al.</i> (2011)
<b>Bactérie mutée sensible</b> ( <i>E. coli</i> NR698)				
<b>Levure sauvage</b> ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> WT)	Mortalité / Prolifération	Abondance cellulaire (densité optique)	<b>24 h</b> (en laboratoire)	Dolezalova et Rumlova (2014)
<b>Levure mutée sensible</b> ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> AD1-9)				
<b>Champignon</b> ( <i>Septoria tritici</i> )	Mortalité / Prolifération	Abondance cellulaire (densité optique)	<b>72 h</b> (en laboratoire)	Zwiers et De Waard (2000)
<b>Gammare : alimentation</b>	Inhibition	Consommation de feuilles d'aulne	<b>7 j</b> ( <i>in situ</i> )	Afnor XP T90-722-3
<b>Gammare : fécondité</b>	Inhibition	Nombre et stade des embryons	<b>14 à 28 j</b> ( <i>in situ</i> )	Afnor XP T90-722-2
<b>Gammare : cycle de mue</b>	Retard	Stade de mue	<b>14 à 28 j</b> ( <i>in situ</i> )	Afnor XP T90-722-2

### PHOTO 1

#### Illustrations des bioessais de toxicité générale sur les micro-organismes

En haut, mise en contact des champignons et des eaux à tester sur une boîte de pétri ; au centre, colonies de champignons à l'issue de la durée d'exposition ; en bas, lecteur-incubateur de plaques mesurant la densité optique

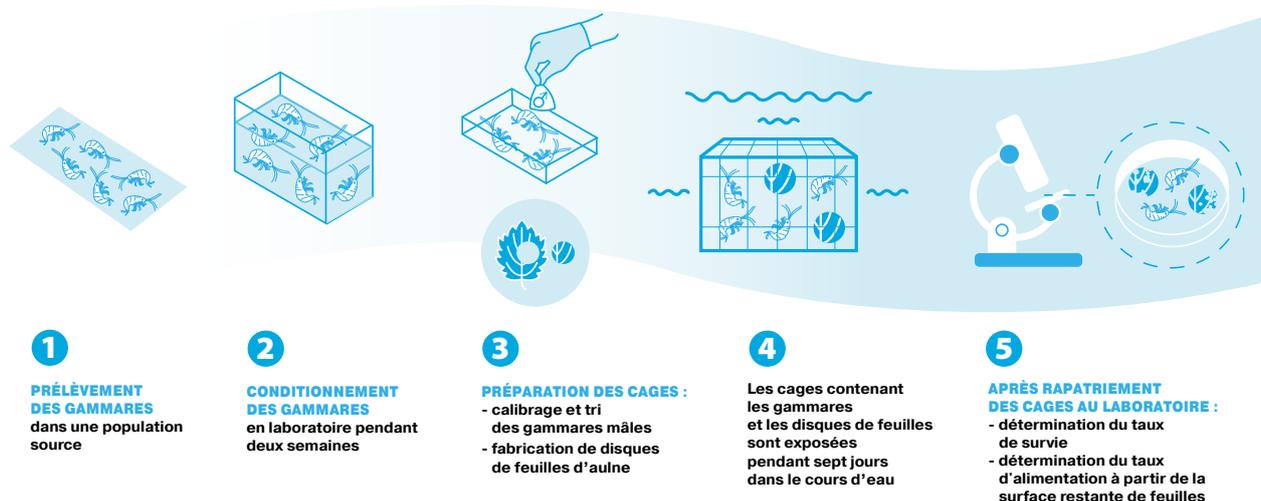
Les bioessais sur les micro-organismes sont tous réalisés selon le même principe. Les organismes sont mis en contact avec les eaux à tester, adjointes de quelques éléments nutritifs pour assurer les conditions de contrôle. L'exposition des bactéries et des levures se fait sur des plaques pendant une durée de 24 h, tandis que les champignons poussent sur une gélose nutritive pendant 72 h (PHOTO 1). Les mesures de densité optique réalisées tout au long de l'exposition permettent de déterminer la cinétique de la prolifération cellulaire en présence de l'échantillon d'eau analysé et de la comparer à celle des conditions témoins (sans contaminant). Cette comparaison peut mettre en lumière une diminution de la multiplication cellulaire révélatrice d'un effet toxique des contaminants présents dans l'eau, ou au contraire une prolifération cellulaire accrue liée à un excès de nutriments.

Les bioessais sur le gammare permettent quant à eux de mettre en évidence des effets sur l'alimentation, la fécondité et le cycle de mue de ce crustacé considéré comme une espèce clé de nos écosystèmes européens (Geffard *et al.* 2020). Le principe de ces tests est très différent de celui des bioessais sur micro-organismes. Les gammares, issus d'une population source et préalablement conditionnés en laboratoire, sont disposés dans des cages puis exposés *in situ* pendant 7 à 28 jours selon le bioessai considéré et les conditions du milieu (TABLEAU 1). Pour le bioessai d'alimentation, la quantité de nourriture est calibrée en plaçant des disques de feuilles d'aulne dont la surface est mesurée avant et après exposition des gammares (mâles) (FIGURE 3). Ces mesures, dont les résultats sont comparés à un référentiel, permettent d'établir si les contaminants présents dans le milieu induisent une inhibition de l'activité alimentaire du gammare, laquelle constitue une réponse à un stress toxique. On



FIGURE 3

Principe du bioessai *in situ* d'alimentation du gammare



Crédit : d'après BIOMAE

## Les bioessais de toxicité spécifique, basés sur l'évaluation des dysfonctionnements physiopathologiques

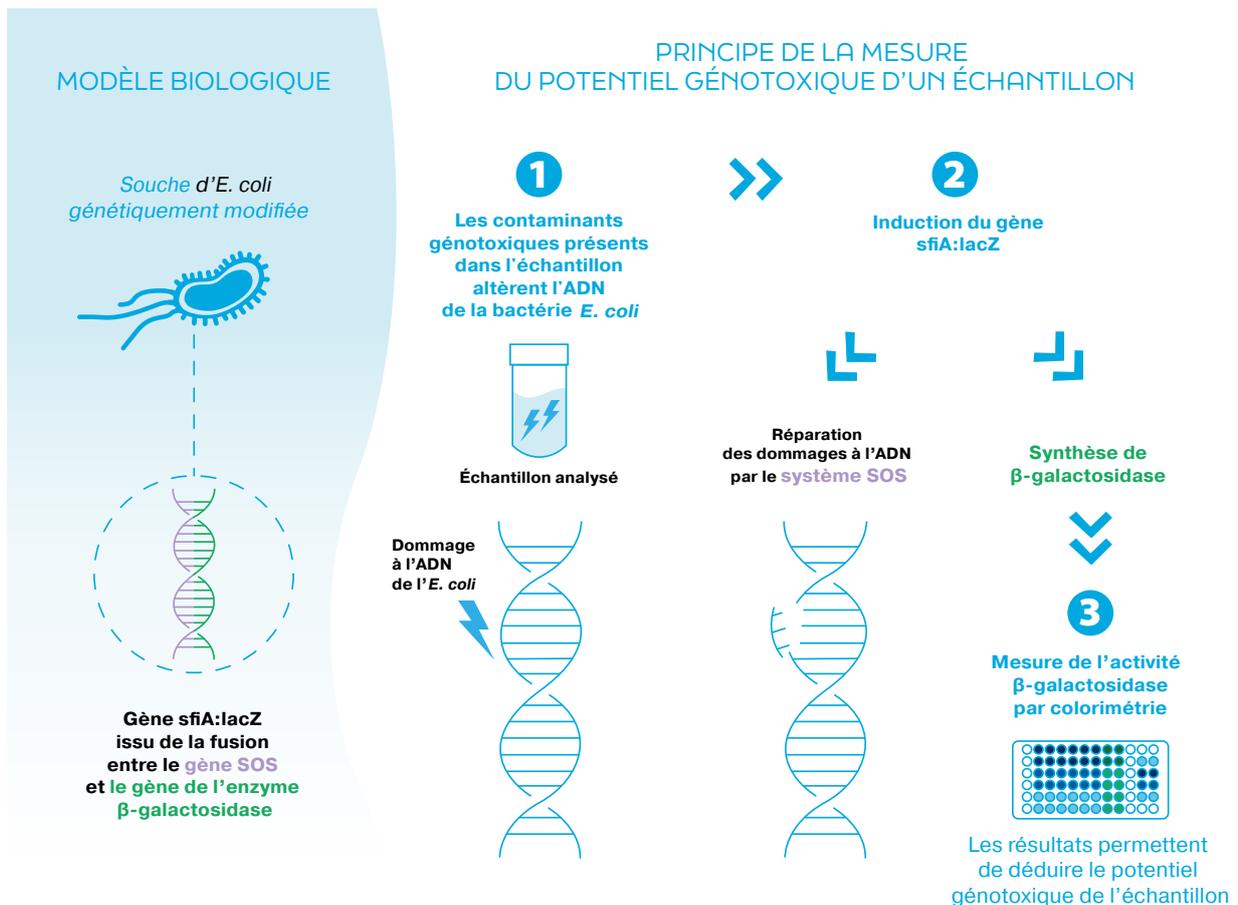
Au-delà des effets sur l'activité métabolique, des toxicités moins nocives sur le court terme mais ciblant des fonctions plus spécifiques peuvent être responsables de dysfonctionnements physiopathologiques tout aussi problématiques par leurs effets délétères à plus long terme sur les divers niveaux organisationnels (organes, organismes et populations). Dans cette optique, les bioessais déployés sur la Seine et la Marne franciliennes permettent d'investiguer la problématique de la perturbation endocrinienne, enjeu historique de santé environnementale et humaine, ainsi que les effets génotoxiques (atteintes au génome) et neurotoxiques (atteintes du système nerveux) (TABLEAU 2).

Ces effets ont tout d'abord été étudiés au travers de bioessais *in vitro* dont le support de test est constitué de modèles cellulaires spécifiques, typiquement logés dans des plaques multi-puits. Les bioessais *in vitro* permettent de détecter des contaminants à partir de leur mode d'action sur des voies fonctionnelles.

Ils représentent en cela un complément voire une alternative à l'analyse chimique ciblée pour certaines familles de molécules comme les hormones qui produisent des effets à des teneurs très faibles difficilement détectables en chimie classique. Les tests YES/Anti-YES, YAS/Anti-YAS et MELN permettent ainsi de détecter des contaminants capables d'« imiter » les hormones naturelles en interagissant avec les récepteurs cellulaires humains aux œstrogènes (hormones « femelles ») et androgènes (hormones « mâles »). Le SOS Chromotest permet quant à lui de détecter des substances à mode d'action génotoxique sur une souche bactérienne d'*E. coli* génétiquement modifiée (FIGURE 4). Ce bioessai est basé sur une mesure indirecte de l'activité du système de réparation SOS, qui est activé lors de l'apparition de dommages primaires de l'ADN. Il est appliqué avec et sans extrait de foie de rat (dit « S9 »), permettant d'évaluer les effets génotoxiques avec et sans métabolisation (transformation) des substances.

FIGURE 4

Le SOS Chromotest est un test colorimétrique qui exploite le système SOS de réparation de l'ADN activé chez *E. coli* en cas d'exposition à des composés génotoxiques



**TABLEAU 2**

Liste des bioessais de toxicité spécifique (évaluation des dysfonctionnements physiopathologiques) et caractéristiques associées

Nom du bioessai et modèle biologique	In vivo / in vitro	Effet(s)	Paramètre mesuré	Durée d'exposition	Norme / Référence
Neurotoxicité sur gammare	In vivo	Neurotoxicité	Activité enzymatique de l'acétylcholine-estérase (AChE)	7 j (in situ)	Afnor XP T90-722-1
Perturbation endocrinienne sur gammare	In vivo	Perturbation endocrinienne	Désynchronisation entre le cycle de mue et la croissance ovocytaire	14 à 28 j (in situ)	Afnor XP T90-722-2
Test XETA sur larve de Xénope ( <i>Xenopus laevis</i> ) non stimulée / stimulée	In vivo	Perturbation de l'axe thyroïdien : effets pro et anti hormonaux	Fluorescence d'une protéine produite par un gène rapporteur	48 h (en laboratoire)	TG OCDE n° 248
Test REACTIV sur larve de Médaka ( <i>Oryzias latipes</i> ) non stimulée / stimulée	In vivo	Perturbation de l'axe œstrogénique : effets pro et anti hormonaux	Fluorescence d'une protéine produite par un gène rapporteur	24 h (en laboratoire)	TG OCDE n° 252
MELN cellule humaine agonisme / antagonisme	In vitro	Activation/ inhibition du récepteur humain des œstrogènes	Luminescence	24 h (en laboratoire)	ISO 19040-3:2018
YES / Anti-YES sur levure génétiquement modifiée	In vitro	Activation/ inhibition du récepteur humain des œstrogènes	Réaction colorée	48 h (en laboratoire)	ISO 19040-1:2018
YAS / Anti-YAS sur levure génétiquement modifiée	In vitro	Activation/ inhibition du récepteur humain des androgènes	Réaction colorée	48 h (en laboratoire)	Westlund et Yargeau (2017)
SOS Chromotest sur bactérie <i>E. coli</i> avec activation métabolique S9 / sans S9	In vitro	Induction du système de réparation (SOS) des altérations à l'ADN	Activité enzymatique de la $\beta$ -galactosidase (réaction colorée)	3 h (en laboratoire)	Quillardet et Hofnung (1985)

Les dysfonctionnements physiopathologiques ont également été investigués *via* des bioessais *in vivo*, permettant d'évaluer des effets toxiques spécifiques sur des organismes vivants. Le test REACTIV sur larves de Médaka (poisson vivant principalement dans les eaux douces) mesure les perturbations de l'axe œstrogénique, phénomène connu pour être à l'origine de réversions sexuelles chez les poissons (Horie *et al.* 2020). Le test XETA permet quant à lui d'évaluer les perturbations thyroïdiennes sur des larves de Xénope, un amphibien. Ces deux bioessais reposent sur l'utilisation d'organismes transgéniques dont la fluorescence augmente (effet « pro-endocrinien ») ou diminue (effet « anti-endocrinien ») lorsqu'ils sont en contact avec des molécules modifiant le fonctionnement des axes hormonaux (FIGURE 5). Pour permettre la détection de l'ensemble des perturbations possibles, les échantillons sont testés avec ou sans co-traitement avec une hormone de référence (testostérone pour le test REACTIV et hormone thyroïdienne T3 pour le test XETA) : on parle respectivement de modes « stimulé »

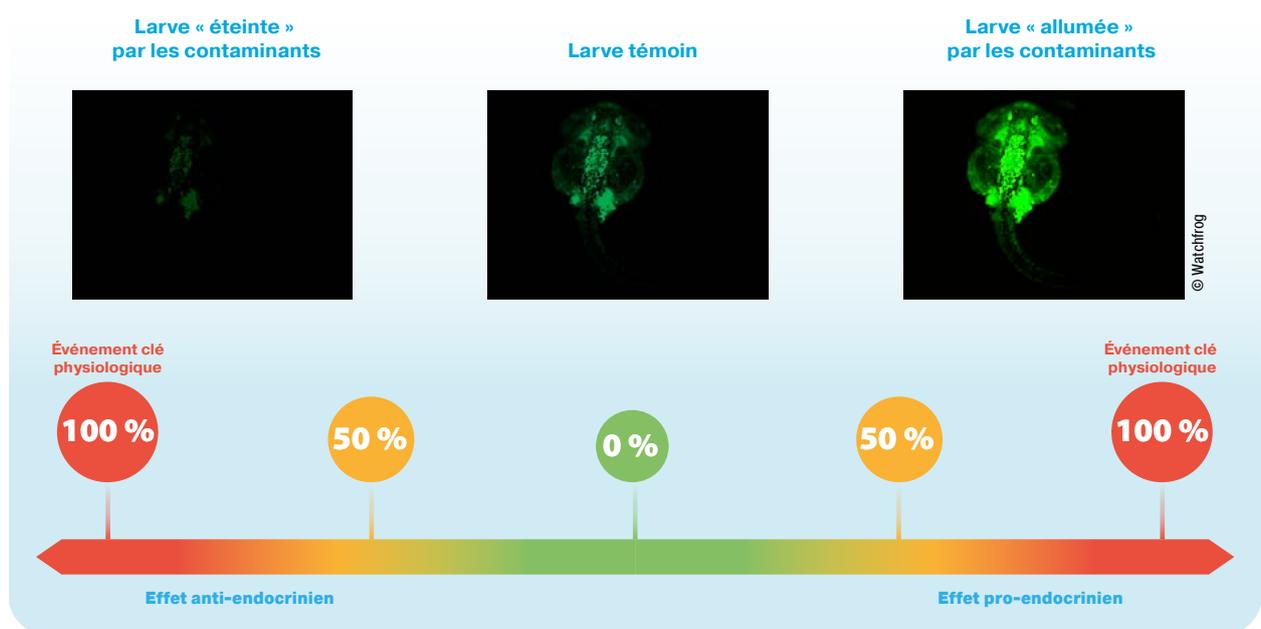
et « non stimulé ». La perturbation endocrinienne est également évaluée au travers d'un bioessai *in situ* sur des gammarés femelles, qui mesure la désynchronisation entre le cycle de mue et la croissance ovocytaire.

Enfin, un autre bioessai utilisant le gammare permet de révéler les effets neurotoxiques *via* la mesure de l'activité de l'acétylcholine-estérase (AChE), une enzyme clé pour le fonctionnement du système nerveux qui est notamment ciblée par les insecticides carbamates et organophosphorés mais aussi par d'autres pesticides.

**FIGURE 5**

**Lecture des résultats des bioessais *in vivo* de mesure des effets perturbateurs endocriniens sur des larves de poisson et d'amphibien**

L'intensité de la fluorescence (observée à des longueurs d'ondes spécifiques) est proportionnelle à l'effet perturbateur de l'échantillon d'eau.







# en bref

## Partie 2

### Quels sont les bioessais réactifs dans les rivières franciliennes ?

Parmi les 22 bioessais déployés entre 2018 et 2023, seuls cinq ont une fréquence de détection d'effet (FD) proche ou égale à 0 %, et n'apparaissent donc pas pertinents dans le cadre d'une biosurveillance pérenne des eaux de surface franciliennes. À l'inverse, huit bioessais de toxicité générale et neuf bioessais de toxicité spécifique sont sensibles aux contaminants présents dans la Seine et la Marne, avec une FD supérieure ou égale à 10 %. Les bioessais de toxicité générale portant sur les souches de bactéries et de levures « sensibles » répondent logiquement davantage que ceux portant sur les souches « sauvages », les premières étant plus vulnérables aux micropolluants. Le bioessai d'inhibition de l'alimentation du gammare apparaît quant à lui plus réactif que les deux autres mesures réalisées sur cette même espèce modèle (cycle de mue et fécondité). Un résultat là encore attendu puisque le premier est un indicateur de la présence de contaminants chimiques, alors que les deux autres renseignent sur les potentiels effets toxiques de ces contaminants. Par ailleurs, le test YES présente une FD de 0 % alors qu'il vise, tout comme le test MELN agonisme (FD = 40 %), à détecter des substances à mode d'action pro-œstrogène. On observe également des différences de réactivité entre le SOS Chromotest « avec activation métabolique » et « sans activation métabolique » et entre les bioessais de perturbation endocrinienne sur larves « stimulées » et « non stimulées ». Ces observations montrent la complémentarité des réponses apportées par ces différents tests et soutiennent le choix du SIAAP d'avoir déployé un large panel de bioessais.

Cette batterie de bioessais est amenée à évoluer au fil des résultats de la biosurveillance du SIAAP, des avancées scientifiques et des offres des laboratoires. Depuis cette étude, le panel des modèles a été enrichi avec la micro-algue *Raphidocelis subcapitata*. Des stations de biosurveillance en ligne ont par ailleurs été mises en place dans le hall d'essai du SIAAP et au niveau du site de Bougival, pour un suivi en temps réel de la contamination des eaux.

## 2.1

# La fréquence de détection : indicateur de la pertinence des bioessais pour le contexte francilien

Quatre sites, douze campagnes d'échantillonnage, vingt-deux bioessais... La biosurveillance des eaux de surface franciliennes mise en œuvre entre 2018 et 2023 a généré près de 900 résultats d'analyses. À l'exception des tests YES/Anti-YES et YAS/Anti-YAS introduits en cours d'étude, l'ensemble des bioessais de laboratoire ont été appliqués sur les 48 échantillons d'eau prélevés dans la Seine et dans la Marne. Les bioessais *in situ* ont quant à eux été déployés sur huit à neuf campagnes (sur douze), les conditions hydrologiques requises pour l'encagement des gammars n'étant pas remplies lors de certaines périodes estivales.

4 sites

12 campagnes  
d'échantillonnage

22 bioessais

### Cinq bioessais qui ne répondent (presque) jamais

L'ensemble des données produites contribue à la mise en évidence d'outils biologiques adaptés au suivi des rivières franciliennes. Dans cette optique, nous avons calculé, pour chacun des bioessais, la fréquence de détection d'effet (FD) (FIGURE 6) qui est le rapport entre le nombre de réponses positives (c.-à-d. le nombre de résultats ayant mis en évidence un effet) et le nombre total de mesures. L'analyse de ces FD permet d'identifier les bioessais peu ou pas réactifs au contexte de la Seine et de la Marne franciliennes. C'est le cas de quatre bioessais *in vitro* (SOS Chromotest sans activation métabolique « S9 »), MELN antagonisme, YES et YAS ainsi que du bioessai *in situ* de perturbation endocrinienne du gammare. Ces cinq tests qui ont une FD proche ou égale à 0 % n'apparaissent donc pas pertinents dans le cadre d'une biosurveillance pérenne des eaux de surface franciliennes. En effet, une alerte qui ne se déclenche presque jamais est peu utile d'un point de vue opérationnel. Rappelons ici qu'il ne s'agit aucunement d'une prise de position sur la qualité du bioessai, mais simplement de son adéquation avec les enjeux du suivi mené par le SIAAP dans le contexte de la Seine francilienne et de la Marne à la confluence. De nombreux facteurs peuvent expliquer des FD nulles ou négligeables, depuis la compatibilité d'un test développé dans un contexte pharmaceutique avec une application environnementale, le mécanisme biologique précis ciblé par le test, jusqu'au type de pression de pollution prépondérante.

Plus globalement, l'analyse des FD fait apparaître que les bioessais de toxicité générale (FD comprise entre 10 et 79 %) sont plus sensibles que les bioessais de toxicité spécifique (FD comprise entre 0 et 46 %). Cette observation est cohérente avec le fait que les premiers sont des mesures globales, sensibles à une large gamme de contaminants, alors que les seconds ciblent des contaminants à mode d'action spécifique.

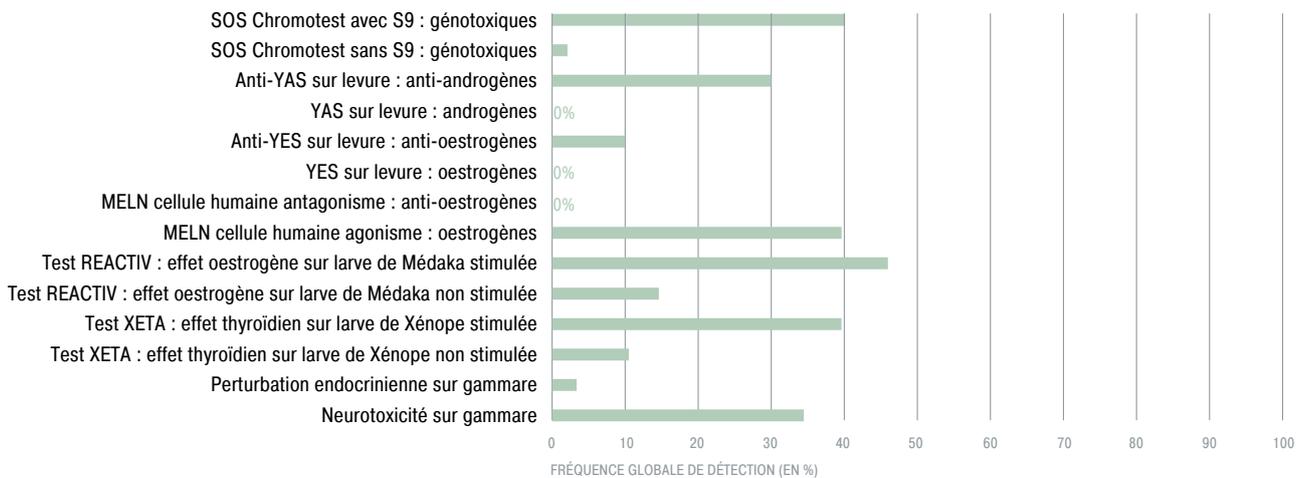


**PHOTO 2**  
Station MeSeine d'Andresy (78)

### BIOESSAIS DE TOXICITÉ GÉNÉRALE Mesure de l'activité métabolique



### BIOESSAIS DE TOXICITÉ SPÉCIFIQUE Évaluation des dysfonctionnements physiopathologiques



**FIGURE 6**  
Fréquence de détection des effets relevée pour chacun des bioessais appliqués sur les quatre sites d'étude

## Une majorité de bioessais sensibles aux contaminants présents dans la Seine et la Marne

Dix-sept des 22 bioessais appliqués sur les sites de la Seine et de la Marne ont une FD supérieure ou égale à 10 %. Cet ensemble de bioessais sensibles aux contaminants des eaux de surface franciliennes comprend huit tests de toxicité générale sur bactéries, levures, champignons et gammare. Concernant les levures et les bactéries, les bioessais sur les souches dites « sensibles » répondent logiquement davantage que ceux portant sur des souches « sauvages », les premières ayant développé une modification génétique qui les rendent plus vulnérables à certaines substances comme les antibiotiques ou les détergents (Ruiz *et al.* 2005). Ceci est particulièrement vrai pour les levures, pour lesquelles la FD est nettement plus élevée chez la souche sensible (FD = 77 %) que chez la souche sauvage (FD = 15 %), mettant en lumière l'importance de la pompe d'efflux cellulaire dont est dépourvue la première. Le bioessai d'inhibition de l'alimentation du gammare (FD = 66 %) apparaît quant à lui plus discriminant que les deux autres mesures réalisées sur cette même espèce modèle (cycle de mue, FD = 10 % et fécondité, FD = 26 %). Toutefois, le premier révèle la présence de contaminants chimiques tandis que les deux autres permettent de qualifier la toxicité de ces contaminants.

Le panel de bioessais sensibles comprend également neuf bioessais de toxicité spécifique portant sur les perturbations endocriniennes, la neurotoxicité et la génotoxicité. Cette dernière est évaluée *via* le SOS Chromotest « avec activation métabolique S9 » (FD = 40 %) qui permet de détecter des dommages primaires sur l'ADN d'une souche d'*E. coli*. Comme ce même test appliqué sans S9 présente une FD très faible (2 %), nous pouvons en déduire que les substances présentes dans les échantillons d'eau de la Seine et de la Marne ont un mode d'action génotoxique uniquement lorsqu'elles sont métabolisées (c.-à-d. transformées par les organismes). Ce phénomène est bien connu par exemple pour le benzo(a)pyrène, un polluant courant dans les masses d'eau fortement impactées par les activités humaines.

Par ailleurs, des effets neurotoxiques ont été détectés dans un tiers des échantillons au travers du bioessai dédié sur le gammare, mettant en évidence la présence de composés anti-cholinestérasiques qui sont principalement des insecticides. Concernant les perturbations endocriniennes, les FD des bioessais *in vitro* Anti-YES (10 %), Anti-YAS (30 %) et MELN agonisme (40 %) révèlent la présence ponctuelle de substances interagissant avec les récepteurs cellulaires humains aux œstrogènes et aux androgènes. Il est intéressant de noter que le test YES présente une FD de 0 % alors qu'il vise, tout comme le test MELN agonisme (FD = 40 %), à détecter des substances à mode d'action pro-œstrogène. Le test YES est performant à des fins de screening haut débit en recherche pharmaceutique et potentiellement en qualification de rejets, mais sa sensibilité le limite vraisemblablement dans certaines applications environnementales. Cette observation soutient le choix du SIAAP d'avoir testé un large panel de bioessais dans le cadre de cette étude. Enfin, les bioessais *in vivo* utilisant les larves de Médaka et de Xénope révèlent des effets perturbateurs des axes œstrogéniques et thyroïdiens, avec une FD nettement plus élevée lorsque les larves sont en état « stimulé » (FD de 46 % et de 40 % respectivement). La stimulation hormonale révèle donc certains mécanismes d'actions de micropolluants qui génèrent des perturbations endocriniennes impossibles à détecter en l'absence d'hormones, tels que les phénomènes anti-hormonaux qui peuvent induire une perturbation sur l'ensemble de la voie hormonale.

## 2.2

### Une batterie de bioessais en constante évolution

Cette étude, menée sur cinq ans, fait suite à des premières campagnes « tests » réalisées en 2017. Elle a permis de mettre en avant un ensemble de bioessais réactifs, complémentaires et adaptés au suivi en routine des eaux de surface franciliennes. Le cas de la perturbation endocrinienne illustre bien cette complémentarité, fruit d'un compromis entre représentativité environnementale et facilité de déploiement à large échelle, avec d'un côté, des tests cellulaires rapides et peu coûteux, et de l'autre, des tests sur larves vivantes plus coûteux mais représentatifs d'un organisme entier et donc de l'intégralité de ses fonctions biologiques.

#### De nouveaux modèles biologiques

Cette batterie de bioessais sensibles aux contaminants des eaux de surface franciliennes est amenée à évoluer au fil des résultats de la biosurveillance du SIAAP, des avancées scientifiques et des offres techniques des laboratoires prestataires. Ainsi, depuis cette étude, le panel des modèles biologiques utilisés pour les tests de toxicité générale a été élargi avec la micro-algue *Raphidocelis subcapitata*. Cette dernière vient en remplacement de l'algue *Chlamydomonas reinhardtii* qui, en dépit d'un intérêt et une représentativité biologique notables, n'avait pas été retenue suite aux campagnes de 2017 en raison d'un problème de cristallisation du milieu de culture en présence d'eau de Seine.

#### Des outils de mesure en temps réel

Pour aller plus loin, de nouveaux outils sont testés par le SIAAP pour un suivi en temps réel de la qualité de l'eau. L'objectif est de disposer d'outils d'alerte et d'aide à la décision permettant d'identifier les pics de pollution qui passeraient au travers de la biosurveillance classique.

La station ToxMate™, co-développée par le laboratoire d'écotoxicologie d'INRAE Lyon et la société Viewpoint, permet de détecter la présence de micropolluants via l'analyse du comportement locomoteur d'organismes aquatiques (PHOTO 3). La mesure des mouvements des organismes est effectuée de façon individuelle et en temps réel grâce à un biocapteur composé d'un système de vidéo-tracking connecté. Le ToxMate™

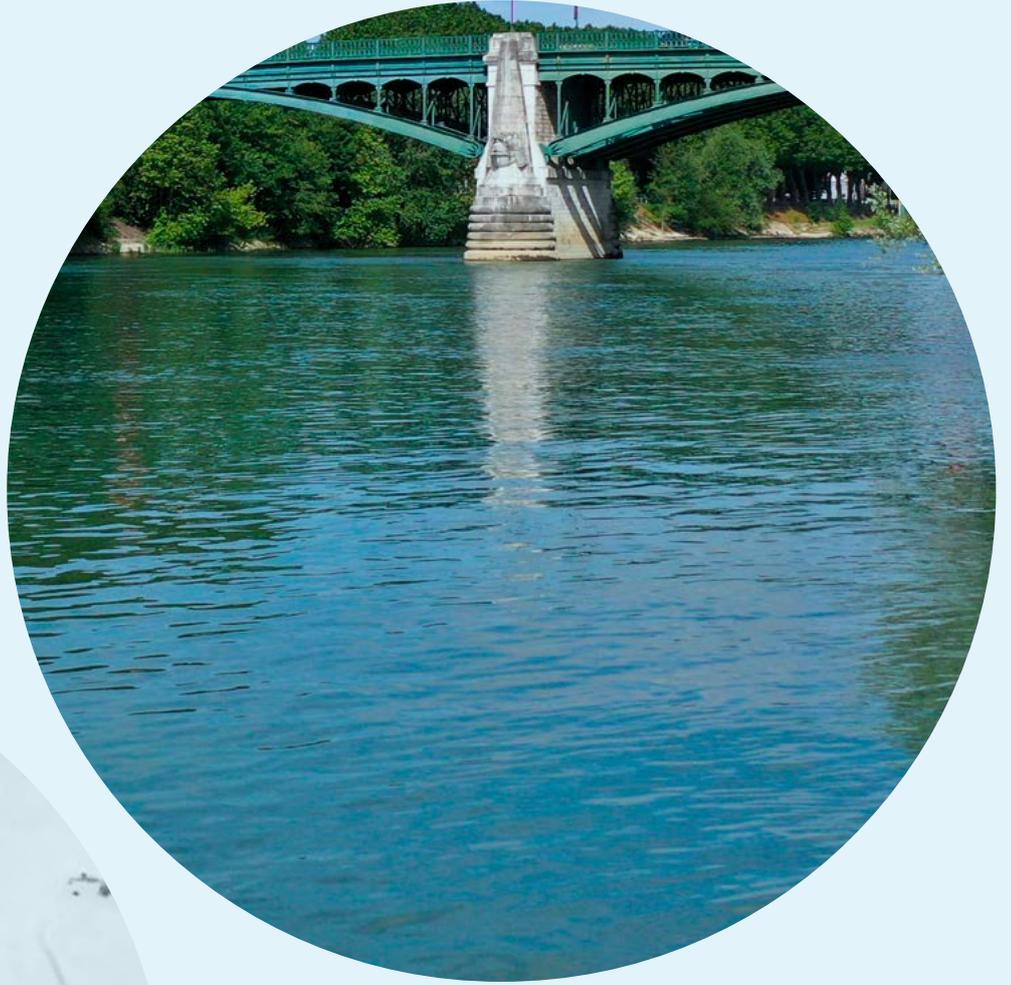


PHOTO 3

La station ToxMate™, au niveau de Bougival, permet de surveiller la qualité de l'eau en temps réel en détectant les comportements de fuite de petits organismes aquatiques.

utilise trois espèces d'invertébrés très différentes : *Gammarus fossarum* (arthropode), la sangsue *Erpobdella testacea* (annélide) et le gastéropode *Radix auricularia* (mollusque). La détection d'un comportement de fuite des organismes, synonyme de pic de pollution ou de présence d'un contaminant spécifique, permet d'alerter les gestionnaires et si nécessaire d'effectuer un prélèvement d'eau en vue d'une analyse chimique. La Frogbox, développée par la société Watchfrog, permet quant à elle de détecter des effets perturbateurs endocriniens (voir partie 5.2).

Ces dispositifs sont déployés dans le hall d'essais de la Direction Innovation du SIAAP et sur le terrain, au niveau du site de Bougival. Le retour d'expérience de ces essais permettra de mieux appréhender les intérêts et limites de ces outils, en vue d'une possible pérennisation dans l'observatoire MeSeine. Il est pour cela primordial de pouvoir établir un état de référence via une période de qualification initiale, ainsi qu'un cadre d'interprétation des réponses observées tout au long du suivi en contexte. Un pas de plus vers un changement de paradigme de la surveillance de la contamination chimique.



# en bref

## Partie 3

### Comment la toxicité des rivières franciliennes varie-t-elle dans le temps ?

Les échelles d'interprétation des bioessais peuvent être utilisées pour créer des heatmaps qui traduisent visuellement les résultats de biosurveillance. Ce mode de représentation a été mis à profit pour appréhender la variabilité temporelle de l'écotoxicité des eaux de surface franciliennes au cours des 12 campagnes de mesures menées par le SIAAP entre 2018 et 2023.

Un premier enseignement est que les résultats des bioessais de toxicité générale ne sont pas corrélés à ceux des bioessais de toxicité spécifique, démontrant la complémentarité de ces deux familles de tests. Les heatmaps montrent également une grande variabilité temporelle de la toxicité, et ce quel que soit le bioessai. Chacun des quatre sites étudiés présente, de manière intermittente, une toxicité forte sur un ou plusieurs bioessais de toxicité générale, traduisant une pression toxique marquée. Les tests de croissance des micro-organismes mettent également en évidence des observations ponctuelles de prolifération, similaires en cela aux phénomènes d'eutrophisation. Concernant la toxicité spécifique, seul le SOS Chromotest « vire parfois au rouge », reflétant des activités élevées en substances génotoxiques. Des effets pro-thyroïdiens, anti-œstrogènes et, plus rarement, pro-œstrogènes sont mis en évidence chez les larves de poissons et d'amphibiens pour les eaux des quatre sites, sans toutefois jamais atteindre le seuil de forte toxicité. La présence de l'intégralité de la chaîne de communication hormonale dans ces modèles explique quelques différences observées avec les cellules humaines MELN qui témoignent uniquement des activations de leur récepteur nucléaire.

Si aucune tendance saisonnière n'a pu être mise en évidence, certaines campagnes se démarquent par un niveau de toxicité des eaux élevé (exemple : avril 2018) ou faible (exemple : mars 2019) sur les quatre sites instrumentés. Les variations de débit de la Seine et de la Marne ne permettent pas d'expliquer ces différences, ce qui suggère que celles-ci sont liées aux sources de contaminants tant au sein de l'agglomération parisienne qu'en amont. Devant la multiplicité des facteurs influençant la contamination des eaux, seules des données sur le long terme permettront d'identifier d'éventuelles tendances de l'écotoxicité des rivières franciliennes et de comprendre la variabilité des sources de contaminants.

# 3.1

## La heatmap pour appréhender la variabilité des effets

Ces dernières années, les laboratoires de biosurveillance ont réalisé un effort important pour rendre facilement compréhensibles leurs résultats d'analyses. Ainsi, chacun des bioessais mis en œuvre sur les eaux de surface franciliennes dispose de ses propres seuils d'interprétation, déterminés à partir des caractéristiques des modèles et d'analyses statistiques. Ces seuils permettent d'objectiver le niveau de toxicité de l'échantillon analysé.

### Une représentation basée sur les échelles d'interprétation des laboratoires

Ces échelles d'interprétation peuvent être utilisées pour réaliser une heatmap qui traduit les résultats de biosurveillance de manière visuelle. Ce mode de représentation a été mis à profit pour appréhender la variabilité temporelle de l'écotoxicité des eaux de surface franciliennes. Ainsi, une heatmap a été établie pour chacun des quatre sites surveillés par le SIAAP (FIGURE 7) à partir des résultats des bioessais déployés sur un minimum de sept campagnes et dont la fréquence de détection d'effets est supérieure ou égale à 10 % (voir partie 2). Le code couleur appliqué, tant pour les bioessais de toxicité générale que pour ceux de toxicité spécifique, s'étend du vert (pas de toxicité / pas d'effet) au rouge (toxicité forte / effet fort), avec en plus pour les tests de toxicité générale utilisant des micro-organismes en culture (bactéries, levures et champignons) la couleur violette qui traduit un effet de prolifération (multiplication cellulaire plus importante que pour le contrôle, un phénomène potentiellement tout autant déstabilisant pour les écosystèmes que la toxicité).

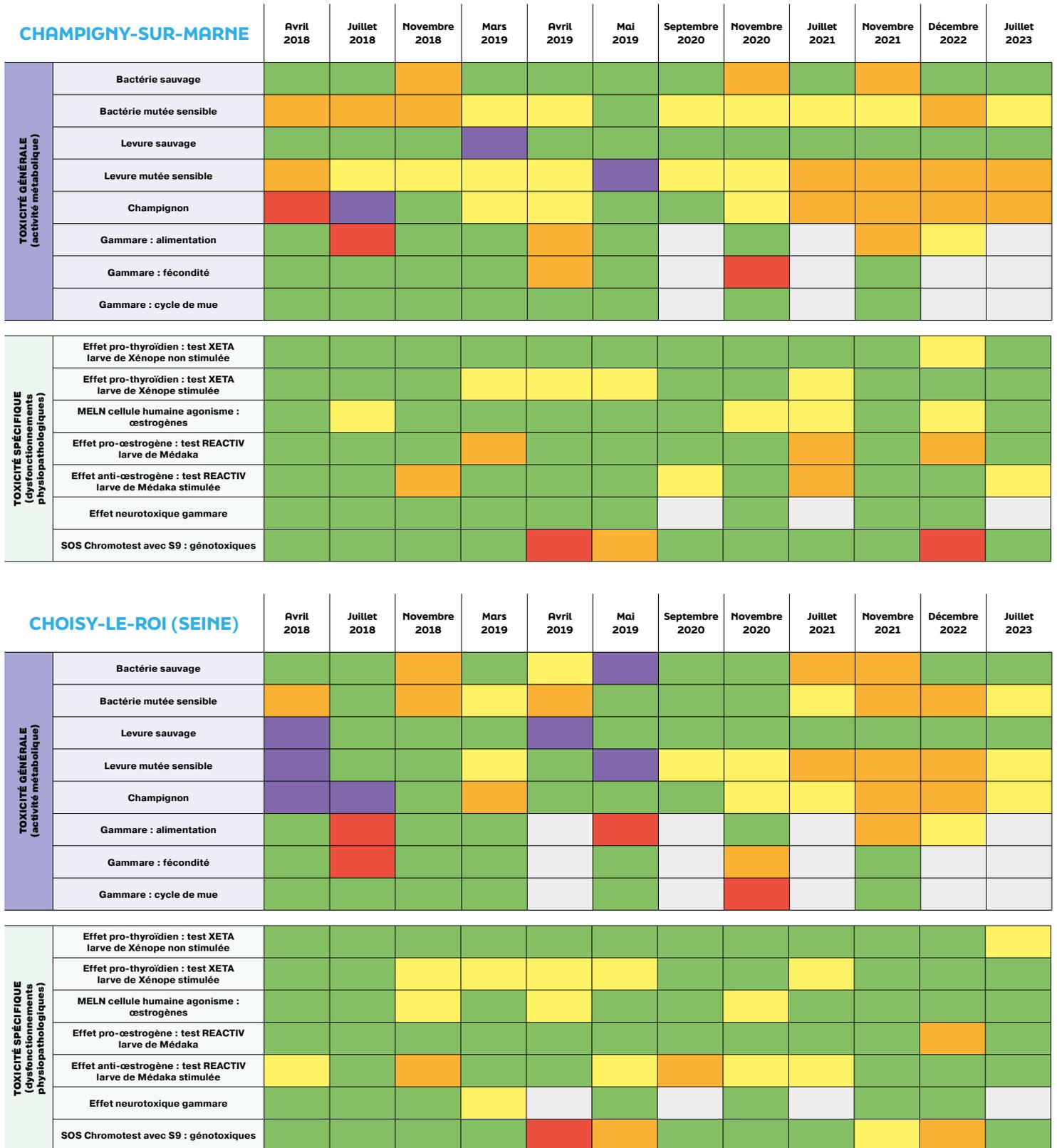
### Pas de corrélation entre toxicités générale et spécifique

Ces quatre heatmaps constituent des photographies de la toxicité des eaux de la Seine et de la Marne pour les 12 campagnes d'échantillonnage menées par le SIAAP entre 2018 et 2023. Au-delà de la variabilité temporelle sur laquelle nous reviendrons par la suite, un premier enseignement de ces photographies est que les résultats des bioessais de toxicité générale (mesure de l'activité métabolique) ne sont pas corrélés à ceux des bioessais de toxicité spécifique (évaluation des dysfonctionnements physiopathologiques). La campagne de novembre 2021 sur le site de Bougival (Seine) illustre bien cette observation, avec des effets moyens ou forts pour cinq des huit bioessais de toxicité générale qui contrastent avec les effets nuls observés pour six des sept tests de toxicité spécifique. Cette absence de corrélation est également observée de manière opposée sur la campagne de novembre 2020 avec des effets spécifiques relativement importants qui contrastent avec des effets quasi-nuls sur les bioessais de toxicité générale.

Ce résultat démontre la complémentarité des informations apportées par ces deux familles de bioessais et l'intérêt de les associer dans le cadre d'une biosurveillance des eaux de surface.

**FIGURE 7**

Heatmaps illustrant les résultats de la biosurveillance des quatre sites sur les 12 campagnes d'échantillonnage  
 Bioessais de toxicité générale (mesure de l'activité métabolique) et bioessais de toxicité spécifique (évaluation des dysfonctionnements physiopathologiques)



**BIOESSAIS DE TOXICITÉ GÉNÉRALE**

- Pas de toxicité
- Toxicité moyenne
- Prolifération
- Toxicité faible
- Toxicité forte

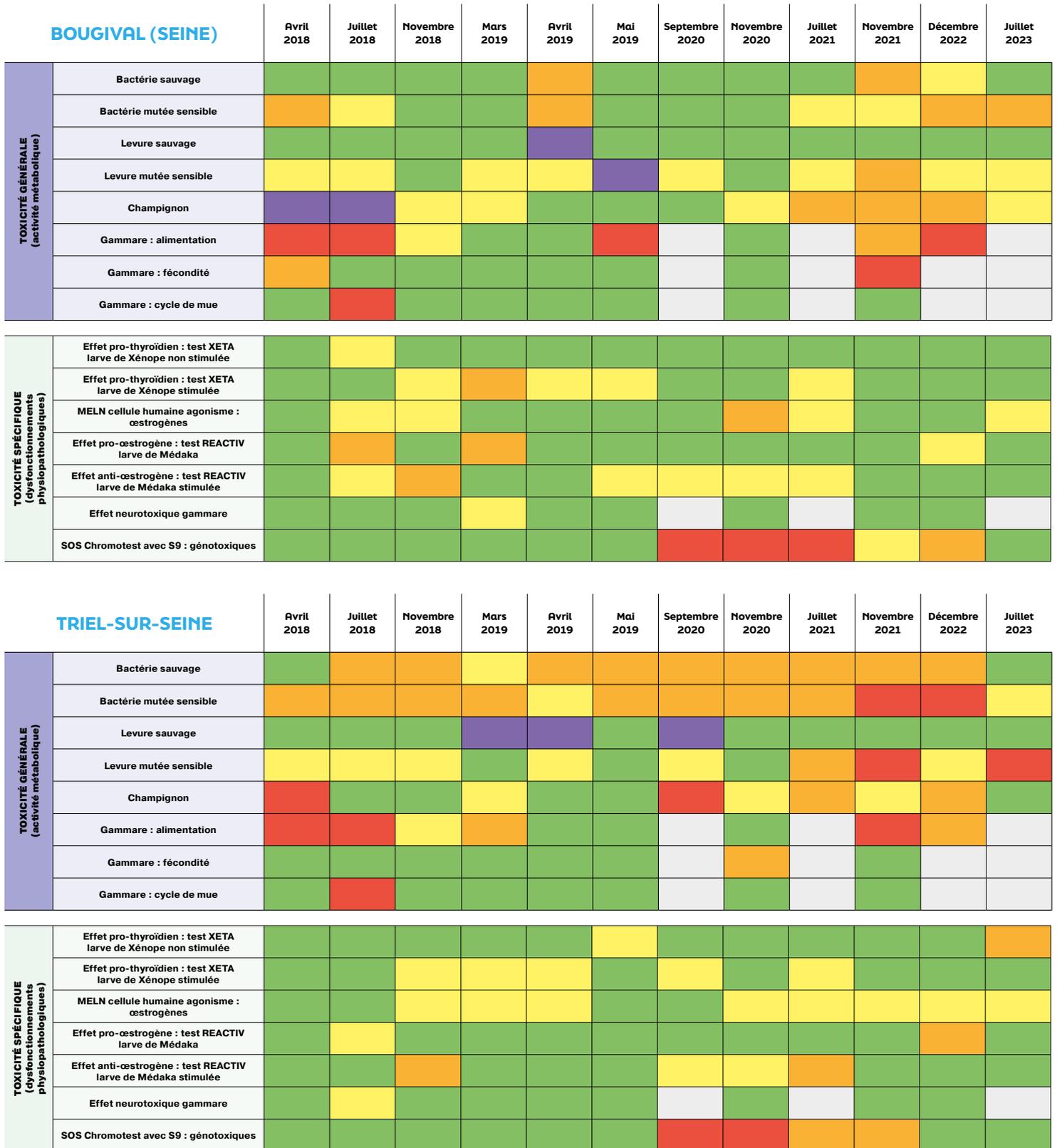
**BIOESSAIS DE TOXICITÉ SPÉCIFIQUE**

- Pas d'effet
- Effet moyen
- Bioessai non réalisé
- Effet faible
- Effet fort

**FIGURE 7 (suite)**

Heatmaps illustrant les résultats de la biosurveillance des quatre sites sur les 12 campagnes d'échantillonnage

Bioessais de toxicité générale (mesure de l'activité métabolique) et bioessais de toxicité spécifique (évaluation des dysfonctionnements physiopathologiques)



**BIOESSAIS DE TOXICITÉ GÉNÉRALE**

- Pas de toxicité
- Toxicité moyenne
- Prolifération
- Toxicité faible
- Toxicité forte

**BIOESSAIS DE TOXICITÉ SPÉCIFIQUE**

- Pas d'effet
- Effet moyen
- Effet faible
- Effet fort
- Bioessai non réalisé

## 3.2

# Une grande variabilité temporelle de la toxicité des eaux

### Des niveaux de toxicité très variables dans le temps

Les heatmaps des quatre sites investigués révèlent une très grande variabilité temporelle du niveau de toxicité des eaux, et ce quel que soit le bioessai. Par exemple, les eaux de la Seine au niveau du site de Bougival inhibent fortement l'alimentation du gammare en mai 2019, alors qu'aucun effet n'est mis en évidence durant le mois précédent. De même, au niveau du site de Choisy-le-Roi (Seine), les résultats du SOS Chromotest passent du vert (absence d'effet génotoxique) au rouge (effet fort) entre mars et avril 2019, tandis que dans le même temps on passe de l'orange (toxicité moyenne) au vert (pas de toxicité) pour le bioessai sur champignon. Ces résultats tracent des contaminations variables dans le temps, mais aussi des sources variables.

Il est intéressant de noter également que chacun des sites étudiés présente, de manière intermittente, une toxicité forte sur un ou plusieurs bioessais de toxicité générale, traduisant une pression toxique marquée sur la Seine et la Marne franciliennes. Nous observons par exemple sur certaines campagnes un fort impact des eaux sur l'alimentation, la fécondité ou le cycle de mue du gammare, trois bioessais qui répondent à un large éventail de contaminants toxiques (Geffard *et al.* 2020). Une forte toxicité est également mise en évidence de manière ponctuelle chez plusieurs souches de micro-organismes. Si cette diminution de la multiplication cellulaire est un marqueur non spécifique répondant à de nombreux polluants, on notera néanmoins que le champignon *Septoria tritici* est particulièrement sensible aux fongicides (Tabib Ghaffary *et al.* 2012), tandis que la souche de levure mutée (*Saccharomyces cerevisiae* AD1-9) présente une hypersensibilité à un grand nombre de médicaments comme des antibiotiques, des antiseptiques et des anticancéreux (Rogers *et al.* 2001). À l'opposé, chacun des sites d'échantillonnage est sujet au moins une fois à une prolifération des micro-organismes modèles, reflet de la présence de nutriments ou d'autres substances favorisant la multiplication cellulaire par rapport au contrôle.

Concernant la toxicité spécifique, le SOS Chromotest est le seul bioessai pour lequel on peut ponctuellement observer une réponse maximale (effet fort sur une à trois campagnes selon les sites), traduisant la présence de molécules génotoxiques dans les eaux de surface franciliennes. Les bioessais *in vitro* de perturbation endocrinienne révèlent quant à eux la présence intermittente de substances capables d'induire des effets pro-œstrogènes (test MELN), anti-œstrogènes (test Anti-YES) et anti-androgènes (test Anti-YAS) dans les échantillons d'eaux testés. Des effets anti-œstrogènes (blocage des récepteurs cellulaires des œstrogènes) et, plus rarement, pro-œstrogènes (activation des récepteurs des œstrogènes) sont également mis en évidence chez les larves de Médaka sur les quatre sites de prélèvement. Toutefois, le seuil « rouge », correspondant à une baisse ou à une hausse de 100 % de l'activité œstrogénique et décrit dans la littérature comme pouvant altérer la reproduction des poissons (Seki *et al.* 2002) n'est jamais atteint. De même, les eaux analysées induisent parfois des effets pro-thyroïdiens chez les larves de Xénope (effets observés lors de cinq à six campagnes sur chacun des sites), mais sans jamais atteindre le seuil de forte toxicité. Ce seuil correspond à une activité équivalente à 3,25 µg/L de l'hormone thyroïdienne T3, qui est la concentration naturelle dans le plasma des têtards lors de leur métamorphose. Il représente à ce titre une référence physiologique dans les lignes directrices de l'OCDE, un dépassement pouvant causer une accélération de la métamorphose voire une mortalité des Xénopes (Shi *et al.* 1998). Ces résultats de bioessais de perturbation endocrinienne peuvent être rapprochés des observations de Du Pasquier *et al.* (2015) sur les eaux usées traitées de l'usine Seine aval, qui ne mettent en évidence que deux résultats au niveau du seuil « rouge » (forte toxicité) sur plusieurs centaines de mesures.



**PHOTO 4**  
Analyse non ciblée  
par spectrométrie de masse  
à haute résolution (HRMS)

### **Coupler les bioessais avec des analyses chimiques non ciblées**

L'analyse non ciblée par spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) est une technique de chimie analytique avancée qui est de plus en plus utilisée pour la détection et le suivi des micropolluants. Dans le cadre du programme MeSeine Innovation, le laboratoire eau, environnement et systèmes urbains (Leesu) de l'université Paris-Est Créteil et de l'École des Ponts ParisTech ainsi que l'Université de technologie de Compiègne portent une action visant à combiner l'HRMS avec des bioessais. L'objectif est double. D'une part, établir un lien entre la présence de contaminants, connus ou inconnus, et un effet biologique observé. D'autre part, créer un modèle permettant de prédire la toxicité des échantillons d'eau à partir des données de l'analyse non ciblée.

## Pas de tendance saisonnière mais certaines campagnes se démarquent

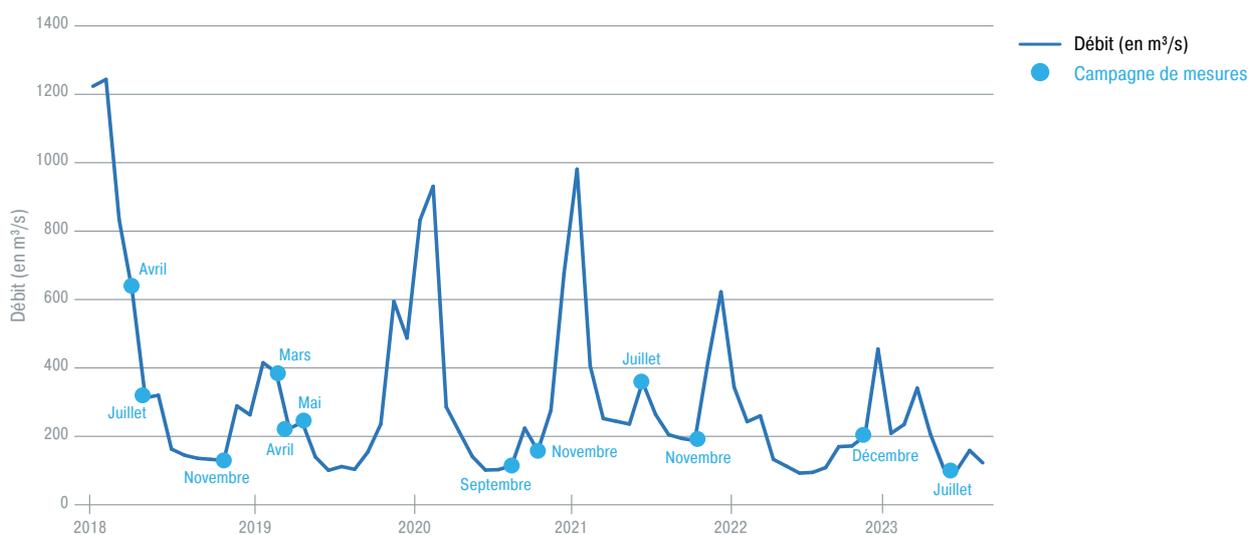
Les données acquises au cours de ces cinq années de biosurveillance ne font pas apparaître de tendance saisonnière de l'écotoxicité des eaux de surface franciliennes. Néanmoins, certaines campagnes se démarquent par un niveau de toxicité générale élevé sur les quatre sites instrumentés. Ainsi, les campagnes d'avril 2018, novembre 2021 et décembre 2022 comptent chacune entre deux et quatre détections de toxicité moyenne (orange) ou forte (rouge) sur chacun des sites d'étude. À l'opposé, la campagne de mars 2019 se distingue par une écotoxicité particulièrement faible sur les quatre stations d'échantillonnage.

Les valeurs de débit de la Seine (FIGURE 8) et de la Marne aux dates de prélèvement ne permettent pas d'expliquer ces différences de toxicité entre les campagnes. Pour illustrer ce point, nous notons que les campagnes d'avril 2018 et de novembre 2021, toutes deux caractérisées par leur toxicité notable, sont associées pour la première à un débit de la Seine très élevé (622 m<sup>3</sup>/s) et pour la seconde à un débit nettement inférieur à la moyenne des campagnes (186 m<sup>3</sup>/s). Les fluctuations du niveau de toxicité entre les campagnes sont donc probablement à mettre en lien avec des variations des apports et des sources de contaminants au sein de l'agglomération parisienne mais aussi en amont de Paris. Rappelons en effet que la Seine et la Marne parcourent plusieurs centaines de kilomètres avant d'atteindre la capitale, pendant lesquelles elles sont impactées par diverses activités anthropiques.

La variabilité temporelle des apports en contaminants est liée tout d'abord à la pluviométrie. Les travaux scientifiques montrent en effet que les apports de micropolluants provenant des zones urbanisées, de l'agri-

culture et des infrastructures de transport augmentent significativement lors des précipitations (Wittmer *et al.* 2014) en raison (i) du lessivage de l'air (dépôt de polluants atmosphériques), (ii) du ruissellement sur les zones agricoles (entraînement de produits phytopharmaceutiques, médicaments vétérinaires, etc.) et sur les surfaces urbaines (entraînement d'éléments traces métalliques, HAP, biocides, etc.) et (iii) des rejets des déversoirs d'orage (mélange d'eaux usées non traitées et d'eaux pluviales). Outre cette dynamique liée aux épisodes de pluie, le degré de contamination par certaines substances varie énormément selon les périodes de l'année en raison de la saisonnalité de leur utilisation. Par exemple, certains produits phytopharmaceutiques sont épandus uniquement au printemps, tandis que certains antibiotiques sont majoritairement utilisés durant la période hivernale. De même, certaines activités industrielles varient selon les jours de la semaine et les saisons, ce qui peut impacter les rejets de contaminants dans les rivières.

Devant la multiplicité et la complexité des facteurs influençant la contamination des eaux de surface, seules des données sur le temps long permettront de mettre en évidence une éventuelle tendance (saisonnière ou autre) de l'écotoxicité des rivières franciliennes et d'appréhender la variabilité des sources de contaminants. Cette acquisition de données sur le long terme est d'ailleurs la vocation de l'observatoire MeSeine, dans lequel la biosurveillance a été pérennisée au-delà de cette étude.



**FIGURE 8**  
Débit moyen de la Seine au niveau de la station Paris Austerlitz entre janvier 2018 et septembre 2023 et campagnes d'échantillonnage du SIAAP

Source : HydroPortail



# en bref

## Partie 4

### Y a-t-il un gradient d'effets de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne ?

L'IBR (réponse biologique intégrée) est un indice permettant de synthétiser les résultats d'une batterie de bioessais. Il combine (i) une valeur mathématique intégrative qui exprime l'intensité globale des effets et (ii) un résultat graphique qui traduit les réponses de chaque bioessai. Son caractère intégratif et sa simplicité de calcul en font un outil opérationnel de choix pour les gestionnaires chargés de la surveillance des milieux. Ainsi, l'IBR a été appliqué pour comparer la qualité des eaux au niveau des sites suivis par le SIAAP, en distinguant d'une part, les bioessais de toxicité générale, et d'autre part, les bioessais de toxicité spécifique.

L'IBR de toxicité générale permet d'appréhender l'impact de l'agglomération parisienne sur la qualité des eaux de surface franciliennes. En amont de Paris, les valeurs d'IBR à Choisy-le-Roi (0,89) et Champigny-sur-Marne (0,73) suggèrent que la Seine subit une pression toxique plus forte que la Marne. L'intensité globale de la toxicité ne connaît pas d'augmentation au niveau de Bougival (IBR = 0,83), premier site soumis à l'effet du système d'assainissement. La pression toxique est en revanche un peu plus forte au niveau de Triel-sur-Seine (IBR = 1,09), dernier point du territoire d'influence du SIAAP, tout en restant dans le même ordre de grandeur que les trois autres sites instrumentés. Cette relative faible différence peut être mise en regard du contexte particulier de la Seine francilienne qui est déjà contaminée en amont de Paris et située au cœur d'un grand bassin hydrographique. L'impact de l'agglomération parisienne est en revanche bien visible avec le bioessai d'inhibition alimentaire des gammarens encagés et avec les tests de croissance bactérienne, dont l'intensité des réponses augmente en aval. L'ensemble de ces résultats constitue un « état zéro » robuste qui permettra d'évaluer les effets de l'évolution des activités humaines sur le bassin francilien et de mesurer l'efficacité d'actions de remédiations telles que la modernisation d'une usine ou la rénovation du réseau.

# 4.1

## L'IBR comme outil de synthèse des résultats des bioessais

L'application d'un unique bioessai n'est pas suffisante pour livrer une appréciation globale de la qualité des eaux de surface. Pour une bonne représentativité des résultats, il est nécessaire de combiner plusieurs bioessais utilisant des modèles biologiques variés et ciblant différents types d'effets. Cependant, l'exploration des vastes jeux de données issus de l'application d'une batterie de bioessais peut représenter un frein pour l'application opérationnelle de ces outils. Pour un gestionnaire, il peut en effet s'avérer complexe d'appréhender la diversité des réponses spécifiques de chacun des bioessais, associée, dans le cas des eaux de surface franciliennes, à une grande variabilité temporelle (voir partie 3).

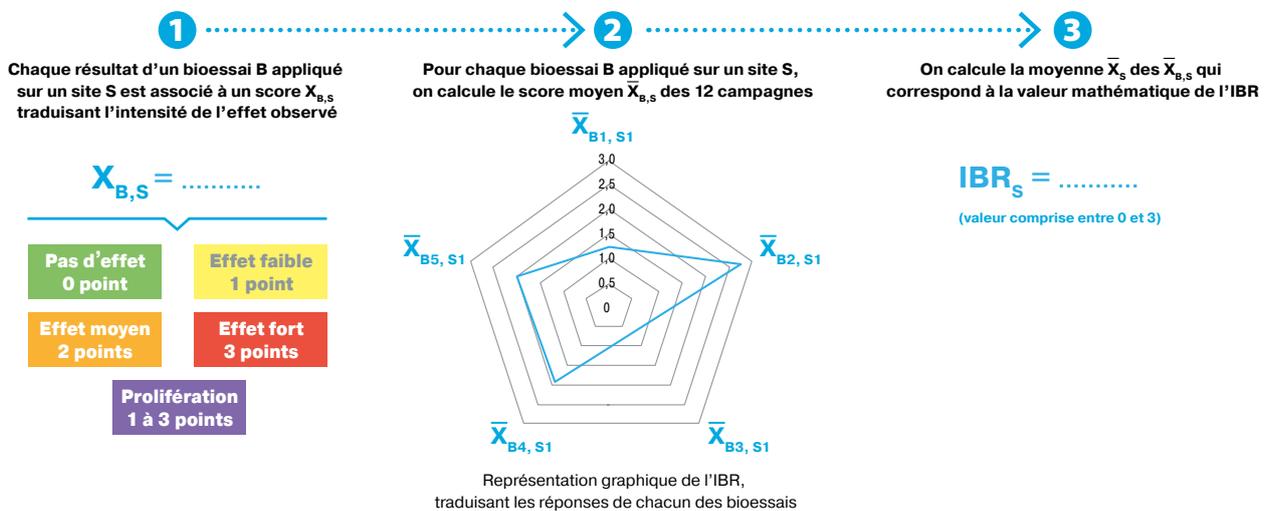
Pour ceci, les scientifiques ont développé plusieurs indices permettant de synthétiser les résultats de bioessais ou les réponses de biomarqueurs. L'IBR (Réponse Biologique Intégrée) décrit par Beliaeff et Burgeot (2002) puis adapté par différents auteurs (Sanchez *et al.* 2013; Catteau *et al.* 2023) fait partie de ces indices. Il combine (i) une valeur mathématique intégrative, qui traduit l'intensité globale des effets et (ii) un résultat graphique permettant de représenter les réponses de chaque bioessai (ou biomarqueur). Cette double représentation et le fait qu'il puisse être calculé sans logiciel spécifique font de l'IBR un outil à l'intérêt indéniable pour l'interprétation de l'état de contamination d'un site, pour la prise de décision et pour la communication des résultats de biosurveillance au grand public (Sanchez *et al.* 2013).

### Application sur les données de biosurveillance du SIAAP

De par ces atouts, nous avons choisi d'appliquer une démarche de type IBR pour comparer la qualité des eaux au niveau des quatre sites de prélèvements de la Seine et de la Marne. Seuls les tests déployés sur un minimum de sept campagnes d'échantillonnage et dont la fréquence de détection d'effet est supérieure ou égale à 10 % (voir partie 2) ont été considérés, en distinguant d'une part, les bioessais de toxicité générale basés sur la mesure de l'activité métabolique et d'autre part, les bioessais de toxicité spécifique basés sur l'évaluation des dysfonctionnements physiopathologiques. Chacun des sites d'étude a donc été caractérisé par un IBR de toxicité générale et par un IBR de toxicité spécifique.

L'IBR a été appliqué de manière simplifiée en s'appuyant sur les référentiels d'interprétation fournis par les laboratoires prestataires (FIGURE 9). Dans un premier temps, chaque résultat d'analyse a été associé à un score de 0 à 3 points, traduisant l'intensité de l'effet observé. Dans un second temps, nous avons calculé le score moyen de chacun des bioessais sur les douze campagnes d'échantillonnage du SIAAP. Ces scores moyens ont été utilisés pour la représentation graphique de l'IBR. Enfin, la valeur mathématique de l'IBR a été déterminée en calculant la moyenne des scores moyens des différents bioessais.

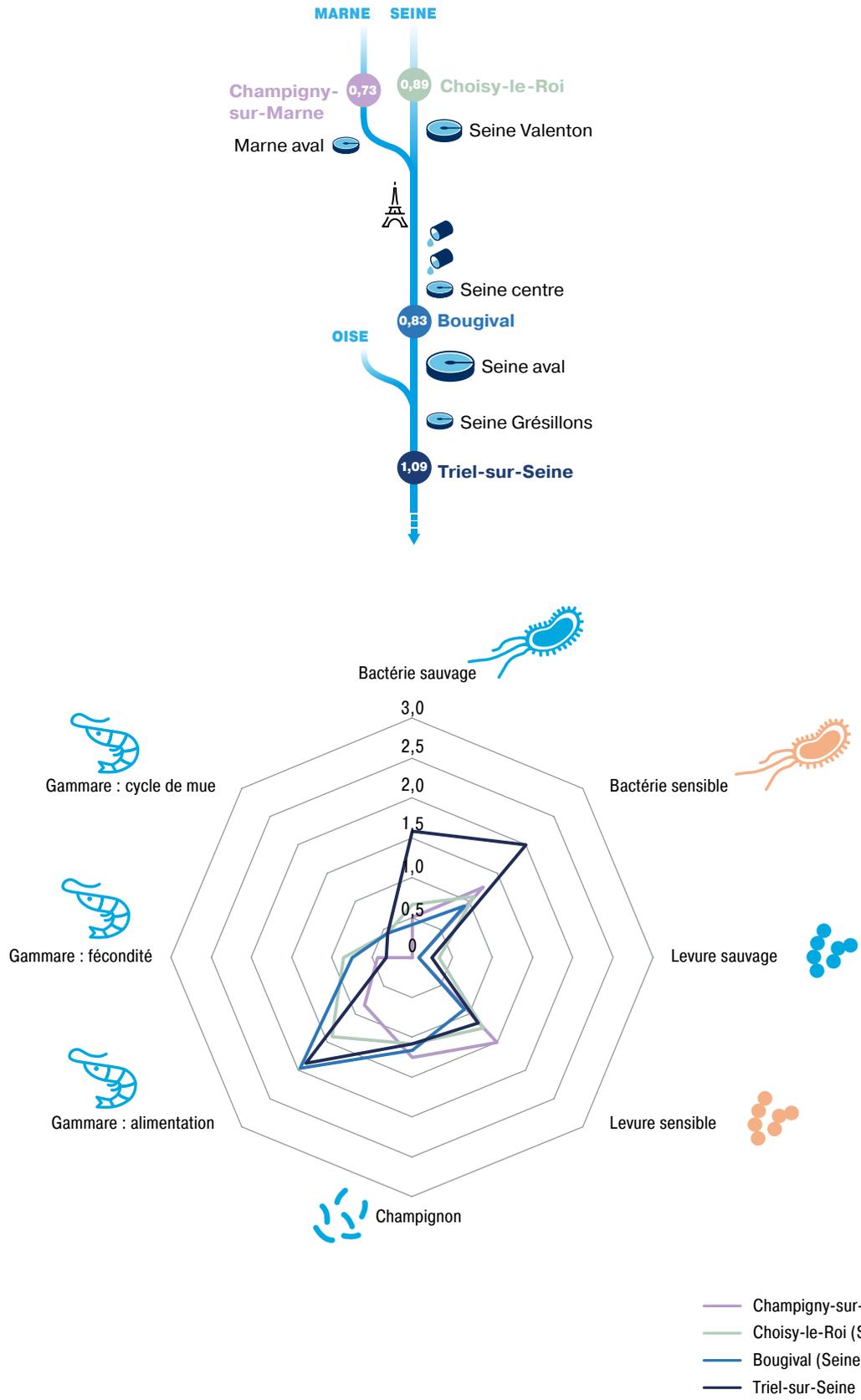
Par exemple, si sur un site, aucun effet n'a été observé sur les 12 campagnes avec l'ensemble des bioessais, alors la valeur de l'IBR est de 0 (valeur minimale). À l'inverse, si un effet fort a été observé avec chacun des bioessais sur chacune des 12 campagnes, alors la valeur de l'IBR est de 3 (valeur maximale).



**FIGURE 9**  
Méthode de calcul de l'IBR appliquée sur les données de biosurveillance du SIAAP

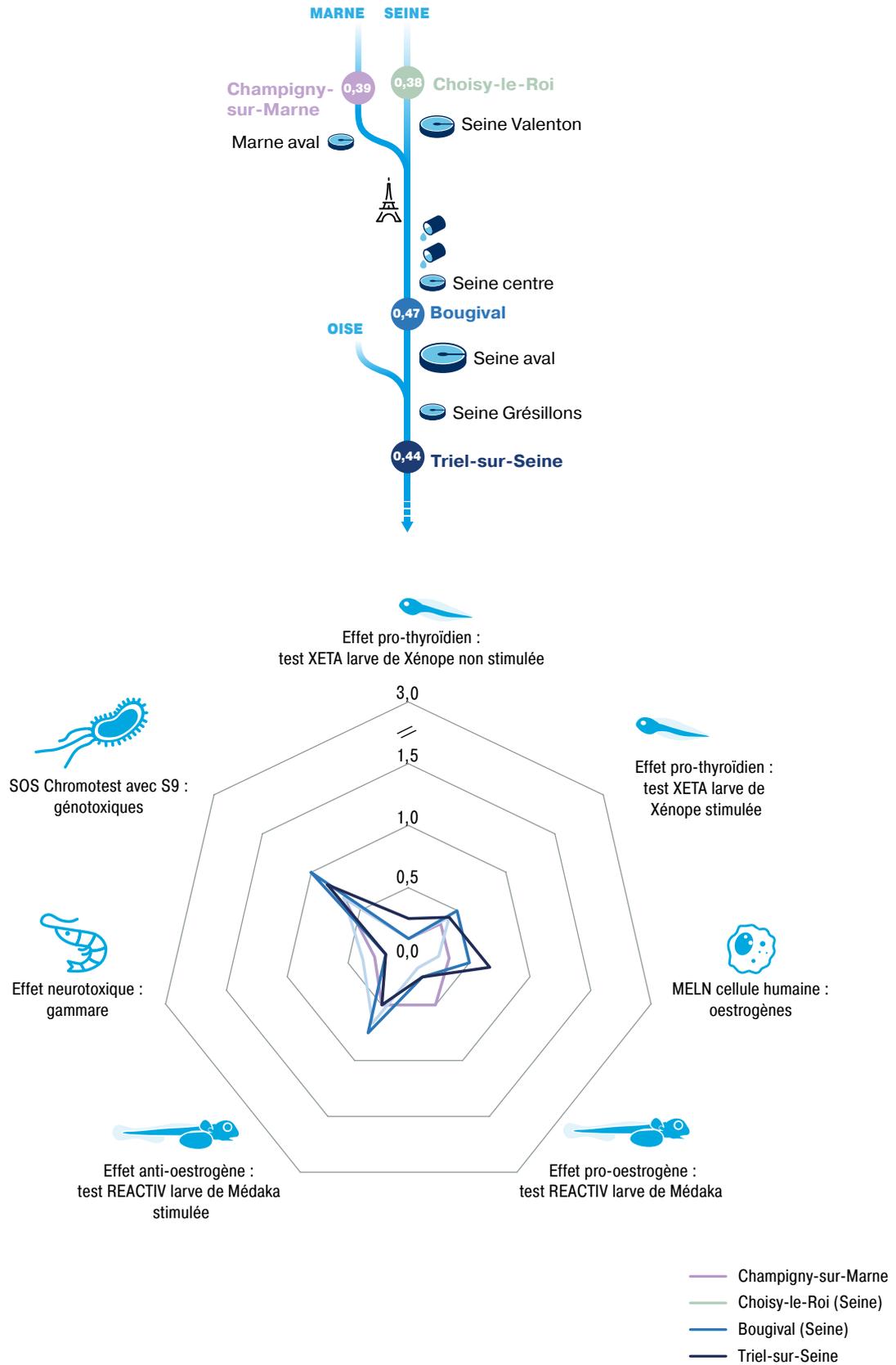
La **FIGURE 10** et la **FIGURE 11** présentent les IBR de toxicités générale et spécifique obtenus. Il ressort tout d'abord que le profil de toxicité spécifique est similaire entre les quatre sites surveillés par le SIAAP, tant dans l'intensité globale des effets (valeurs comprises entre 0,38 et 0,47) que dans les réponses spécifiques des différents bioessais. Ainsi, aucun site ne se démarque par cet IBR.

En revanche, l'IBR de toxicité générale révèle des différences entre les sites en termes de valeur d'intensité globale et en termes de profil graphique des réponses des différents bioessais. C'est donc sur cet IBR que nous nous sommes appuyés pour comparer les sites et répondre à la question de l'impact de l'agglomération parisienne sur la qualité des eaux de surface franciliennes.



**FIGURE 10**

**IBR de toxicité générale** (mesure de l'activité métabolique) des quatre sites étudiés : valeurs d'intensité globale d'effet (en haut) et diagramme radar représentant les réponses aux différents bioessais (en bas)



**FIGURE 11**

**IBR de toxicité spécifique** (évaluation des dysfonctionnements physiopathologiques) des quatre sites étudiés : valeurs d'intensité globale d'effet (en haut) et diagramme radar représentant les réponses aux différents bioessais (en bas)

## 4.2

# Une augmentation limitée de l'intensité globale de la toxicité de l'amont à l'aval

Il peut être intéressant de parcourir les eaux de surface franciliennes d'amont en aval de l'agglomération parisienne pour appréhender la variabilité spatiale de leur écotoxicité. En amont de Paris, les valeurs de l'IBR de toxicité générale au niveau de Choisy-le-Roi (IBR = 0,89) et de Champigny-sur-Marne (IBR = 0,73) suggèrent que la Seine subit une pression toxique plus forte que la Marne (FIGURE 10), même si elles restent proches. Cette différence est le résultat d'effets plus intenses à Choisy-le-Roi pour les bioessais *in situ* portant sur l'alimentation et la fécondité du gammare, deux tests qui répondent à un large panel de micropolluants organiques et métalliques (Geffard *et al.* 2020). De plus, la station de Choisy-le-Roi se distingue par des effets de prolifération des levures, des bactéries et des champignons plus récurrents, tandis que la station de Champigny-sur-Marne présente davantage d'effets de toxicité sur ces mêmes micro-

organismes (FIGURE 7). Rappelons que l'effet de prolifération est le reflet de la présence de nutriments ou d'autres substances favorisant la multiplication cellulaire.

Ces différences dans le profil de la toxicité des eaux de Choisy-le-Roi et de Champigny-sur-Marne peuvent être mises en lien avec les pressions anthropiques que subissent les deux rivières pendant les centaines de kilomètres qu'elles parcourent avant d'atteindre Paris. La Marne, en amont de Champigny, est caractérisée par des pressions essentiellement d'origine agricole, avec une densité de population dans l'ensemble modérée et relativement peu d'apports industriels même en considérant les abords de la région parisienne. La Seine subit quant à elle en amont de Paris une pression anthropique plus globale, résultat d'une démographie élevée ainsi que d'activités industrielles et agricoles intenses.

### Le nitrate et l'ammonium, marqueurs de la pollution

La concentration en nitrate est couramment utilisée comme marqueur de la pression agricole et peut donc être prise comme indicateur de la pollution globale au niveau de Champigny-sur-Marne. De fait, au niveau de ce site situé en amont de Paris, l'intensité des réponses de certains bioessais semble suivre les mêmes tendances que les concentrations en nitrate, ainsi que l'illustre la FIGURE 12 avec le test REACTIV (Guérin-Rechdaoui *et al.* 2023). Des relations similaires ont été observées au niveau du site de Bougival avec la concentration en ammonium, marqueur de la pression urbaine.

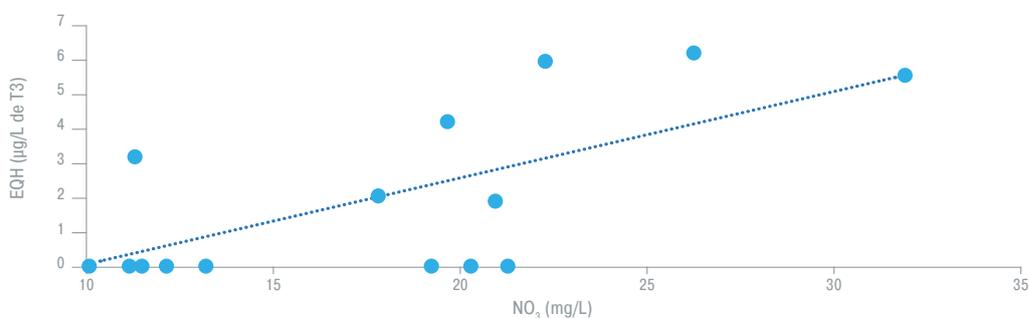


FIGURE 12

Relation entre la concentration en nitrate et les effets pro-thyroïdiens (test REACTIV – larve stimulée) exprimés en équivalents hormonaux (EQH) au niveau du site de Champigny-sur-Marne.

Le coefficient R selon le test de Pearson est de 0,7 (p = 0,006)-T3 = tri-iodothyronine totale.

## Un niveau de toxicité similaire entre l'amont et l'aval proche de Paris

En poursuivant la descente du cours de la Seine au-delà de la confluence avec la Marne, nous atteignons Bougival, premier site d'étude soumis à l'effet du système d'assainissement du SIAAP. Bougival se situe en effet en aval des usines d'épuration de Marne aval (300 000 EH), de Seine Valenton (3,6 millions EH) et de Seine centre (900 000 EH), première usine après Paris. Ce site est également en aval des deux plus grands déversoirs d'orage du SIAAP, Clichy (PHOTO 5) et la Briche, qui assurent l'évacuation des eaux unitaires excédentaires lors d'événements pluvieux importants.

Au niveau de ce site de Bougival dont les eaux proviennent pour un tiers environ de la Marne, la valeur de l'IBR de toxicité générale (0,83) se situe entre les valeurs des sites de Champigny-sur-Marne (0,73) et de Choisy-le-Roi (0,89) (FIGURE 10). Les rejets issus de l'agglomération parisienne n'entraînent donc pas d'augmentation de la toxicité générale des eaux dans les conditions étudiées (campagnes réalisées par temps sec).

## Une pression toxique un peu plus forte en aval de l'agglomération

Une descente de la Seine sur quelques dizaines de kilomètres supplémentaires nous emmène à Triel-sur-Seine, dernier point de prélèvement du territoire du SIAAP. En plus d'être à l'aval de Seine aval, plus grande usine d'Europe (6 millions EH) et de l'usine Seine Grésillons, ce site intègre les apports de la confluence avec l'Oise à Conflans-Sainte-Honorine.

Les IBR de toxicité générale révèlent une augmentation de la pression toxique entre Bougival (valeur IBR = 0,83) et Triel-sur-Seine (valeur IBR = 1,09). Ce dernier point d'étude présente par ailleurs la valeur IBR la plus élevée des quatre sites instrumentés, tout en restant dans le même ordre de grandeur. Contrairement à ce que l'on pourrait penser, l'impact de l'agglomération francilienne sur la qualité écotoxicologique de la Seine reste donc somme toute limité. Ce constat peut être mis en regard du contexte particulier de la Seine francilienne qui est déjà contaminée en amont de Paris et située au cœur d'un grand bassin hydrographique. De fait, des différences de toxicité plus marquées peuvent être observées dans d'autres contextes tels que des petits cours d'eau plus en tête de bassin-versant.

## Mieux comprendre l'impact des rejets urbains par temps de pluie

Dans le cadre d'une action du programme OPUR (observatoire d'hydrologie urbaine en Île-de-France) menée en partenariat avec le SIAAP, le laboratoire Leesu a évalué le potentiel toxique de différents types d'eaux urbaines transitant par le système d'assainissement de l'agglomération parisienne (Moilleron *et al.* 2020). Les résultats de cette étude montrent notamment que les déversoirs d'orage apportent un afflux de toxicité au milieu récepteur en termes de toxicité générale, de génotoxicité et de perturbation endocrinienne. D'autres recherches sont en cours sur des échantillons reconstitués en laboratoire pour isoler la contribution de ces déversements à la toxicité de la Seine et pour évaluer leurs effets sur la composition des communautés microbiennes et la présence de gènes de résistance, fournissant ainsi une dimension supplémentaire à l'impact environnemental des rejets urbains par temps de pluie (RUTP).



PHOTO 5  
Le déversoir d'orage de l'usine de Clichy

## 4.3

### Certains effets plus forts en aval

Si d'une manière globale, la toxicité augmente relativement peu de l'amont à l'aval du territoire du SIAAP, l'impact de l'agglomération parisienne est en revanche bien visible avec certains bioessais. Ainsi, comme on le voit sur le graphique radar de l'IBR de toxicité générale (FIGURE 10), l'inhibition alimentaire observée chez des gammars encagés dans le milieu pendant 7 jours est nettement plus forte à Bougival et à Triel que dans les deux sites situés en amont de Paris. Dans le détail, le site de Bougival présente un fort niveau de toxicité lors de quatre des huit campagnes d'encagement (avril 2018, juillet 2018, mai 2019 et décembre 2022) contre seulement deux à Choisy-le-Roi (juillet 2018 et mai 2019) et une à Champigny-sur-Marne (juillet 2018) (FIGURE 7). Cette observation met en évidence des apports de contaminants toxiques pour le gammare au sein de l'agglomération parisienne.

Les résultats des bioessais de toxicité générale portant sur les gammars, les champignons et les levures sont relativement similaires entre le site de Bougival et le site de Triel-sur-Seine, en aval du territoire du SIAAP (FIGURE 10). En revanche, les deux bioessais utilisant des modèles bactériens révèlent des effets beaucoup plus importants à Triel-sur-Seine, qui expliquent la hausse de la valeur de l'IBR entre les deux sites. Cette augmentation de la toxicité des eaux est visible tant pour la souche bactérienne sauvage que pour la souche mutée ayant

#### Des campagnes de mesures exploratoires sur l'Oise

En parallèle du dispositif de biosurveillance mis en œuvre sur la Seine et la Marne, quatre campagnes ont été menées sur la rivière Oise entre 2020 et 2021 au niveau de Conflans-Sainte-Honorine, juste en amont de la confluence avec la Seine. Les résultats de ces mesures permettent de calculer un indice IBR, certes moins robuste que celui des quatre autres sites instrumentés mais néanmoins informatif. Ainsi, la valeur de l'IBR de toxicité générale au niveau de Conflans s'élève à 0,73, ce qui suggère que le niveau de toxicité global de l'Oise est du même ordre de grandeur que sur le site de Bougival.

une sensibilité accrue aux toxiques. Concernant cette dernière, les résultats détaillés montrent que la toxicité des échantillons prélevés au niveau de Triel-sur-Seine est moyenne ou forte lors de 10 des 12 campagnes d'échantillonnage alors que ce n'est le cas que pour quatre campagnes au niveau du site de Bougival (FIGURE 7).

L'Oise, qui vient renforcer le débit de la Seine à hauteur de plus de 100 m<sup>3</sup>/s en moyenne (source : Hydroportail, station de Pont-Sainte-Maxence), ne semble pas être à l'origine de cette augmentation de la toxicité bactérienne observée au niveau de Triel-sur-Seine. En effet, les résultats de quatre campagnes exploratoires menées par le SIAAP à Conflans-Sainte-Honorine (*voir encadré*) montrent un niveau de toxicité bactérienne similaire à celui observé à Bougival. Cette possibilité écartée, nous pouvons avancer que la hausse de la toxicité bactérienne observée au niveau de Triel-sur-Seine est au moins en partie liée aux rejets de l'usine Seine aval (environ 20 m<sup>3</sup>/s en moyenne) et, dans une moindre mesure, de l'usine Seine Grésillons (environ 3 m<sup>3</sup>/s en moyenne). Cette hypothèse est soutenue par les résultats d'analyses complémentaires menées par le laboratoire Leesu (Moilleron *et al.* 2020), qui révèlent que l'effluent de l'usine Seine aval, relativement peu toxique vis-à-vis des algues, des levures et des cellules humaines, présente en revanche un fort potentiel toxique vis-à-vis des bactéries.

#### PHOTO 6

La Seine au niveau de Bougival



## 4.4

# Un « état zéro » précieux pour suivre et comprendre les évolutions futures

Le retour d'expérience du SIAAP met en lumière les potentialités des bioessais pour la surveillance des eaux de surface et l'évaluation de l'impact d'un système d'assainissement. Compte tenu du très grand nombre de molécules présentes dans ces eaux, de la nécessaire prise en compte de l'effet des mélanges et du besoin d'indicateurs intégratifs, la biosurveillance apparaît comme une approche essentielle pour compléter la stratégie de surveillance classique basée sur l'analyse chimique. Cette démonstration est précieuse pour construire la future place des bioessais dans la réglementation et la surveillance des masses d'eau.

Les résultats présentés dans ce fascicule constituent un « état zéro » robuste, qui permettra d'évaluer l'évolution des activités humaines et leurs effets sur le bassin francilien, mais aussi de mesurer l'efficacité d'actions de remédiations telles que l'interdiction d'une substance, la modernisation d'une usine d'épuration ou la mise aux normes des industriels et artisans du territoire (effluents non domestiques). Les bioessais de laboratoire utilisant les souches bactériennes et le bioessai *in situ* portant sur l'alimentation du gammare sont les tests les plus discriminants vis-à-vis des quatre sites étudiés et seront donc particulièrement éclairants pour évaluer l'impact d'évolutions futures. Il en est de même pour le bioessai *in vitro* Anti-YAS, qui, bien que n'ayant été appliqué que sur cinq campagnes de prélèvements, a conduit à une détection de substances anti-androgènes plus importante à Bougival que sur les trois autres sites.

Enfin, l'analyse des données acquises par le SIAAP montre que l'IBR est un outil de synthèse précieux permettant de comparer des sites ou des périodes sur la base d'un large panel de réponses physiologiques. L'introduction de nouveaux bioessais dans le panel déployé par le SIAAP (voir partie 2) amènera probablement à revoir le mode de calcul de cet indice.

### Opérationnaliser le suivi par bioessais : un marché public dédié

La conception d'un marché public dédié à la biosurveillance inscrit pleinement cette approche dans le cadre de l'autosurveillance historique réalisée par le SIAAP visant à qualifier et maîtriser l'impact de son système d'assainissement. Si la biosurveillance en elle-même ne fait pas l'objet d'obligations réglementaires, sa pérennisation enrichit l'expertise des équipes en charge du suivi de la qualité du milieu naturel, qui l'intègrent dans leur quotidien au même titre que le suivi physico-chimique des polluants d'origine anthropique ou non. Au travers de campagnes systématiques sur la Seine et la Marne, le recours aux bioessais passe de fait d'un statut d'études par des bureaux ou cabinets à un statut de commandes directes et régulières sur catalogue. Cette différence est significative, car elle implique une appropriation notable des mesures réalisées - sans s'affranchir pour autant de l'expertise des développeurs de méthodes - mais aussi un véritable changement de régime de fonctionnement à de multiples niveaux : administratif, organisationnel, logistique. En un mot, opérationnel.



**PHOTO 7**  
Station MeSeine de Bougival



# en bref

## Partie 5

### Appliquer les bioessais en usine d'épuration

Le retour d'expérience du SIAAP montre que les bioessais peuvent être très utiles en amont de la transformation d'une usine d'épuration. Ces outils biologiques ont tout d'abord été employés pour démontrer l'innocuité environnementale d'une méthode de désinfection des eaux usées par acide performique (PFA). Une batterie de bioessais *in vivo* incluant des tests de toxicité générale et de perturbation endocrinienne (PE) a été appliquée d'une part, sur des échantillons reconstitués en laboratoire, et d'autre part, sur des échantillons prélevés dans la Seine en amont et en aval du rejet de l'usine Seine Valenton lors de périodes avec et sans désinfection. Les résultats de ces mesures, qui révèlent l'absence d'effets toxiques du PFA sur les eaux de la Seine, ont permis au SIAAP de s'engager dans le déploiement industriel de cette technologie dans la perspective des Jeux Olympiques et Paralympiques de Paris 2024 et de l'ouverture de sites de baignade en héritage.

Les bioessais ont par ailleurs été utilisés dans le cadre de deux expérimentations visant à mesurer l'efficacité de procédés de traitement des micropolluants par adsorption sur charbon actif. Ces essais apportent des enseignements précieux pour la mise en œuvre de la nouvelle Directive européenne Eaux Résiduaires Urbaines (DERU) publiée fin 2024, qui impose notamment l'implémentation progressive de traitements quaternaires dans les stations de plus de 150 000 équivalent habitants (EH). Les résultats des mesures effectuées au niveau de l'usine Seine centre confirment que les potentiels PE subissent un abattement progressif au fil des étapes de traitement conventionnel et que le traitement quaternaire basé sur l'utilisation de charbon actif permet d'éliminer presque intégralement les potentiels perturbateurs résiduels. Il apparaît toutefois une toxicité générale résiduelle ciblant principalement les bactéries qui semble résistante aux différents traitements y compris le charbon actif. Les résultats de l'expérimentation menée dans l'usine Seine aval illustrent quoi qu'il en soit de la même manière les potentialités d'une station de biosurveillance en ligne (ici, la FrogBox) pour décrire les variations temporelles des effets PE et ainsi alerter sur un dysfonctionnement de traitement. À moyen terme, les outils de mesure en ligne pourraient s'avérer un complément idéal aux sondes déjà en place dans les usines, pour piloter les procédés de traitement et avertir l'exploitant en cas de pic de pollution.

## 5.1

# Évaluer l'impact environnemental d'une méthode de désinfection des eaux usées

L'amélioration de la qualité de la Seine, résultat notamment de 50 ans d'actions menées par le SIAAP, a donné de nouvelles perspectives d'utilisations du fleuve, non seulement comme un corridor fluvial d'intérêt pour le transport, mais également comme un lieu de rencontre des populations autour d'activités récréatives. La candidature de Paris aux Jeux Olympiques et Paralympiques (JOP) de 2024 a accéléré cette volonté de reconquête de la Seine et a fait office de catalyseur pour continuer à investir pour une eau de qualité sanitaire adaptée à des usages jusqu'alors perdus. Ainsi, piquer une tête dans la Seine ou dans la Marne pour échapper à la chaleur de la ville, un scénario qui relevait hier de la fiction, devient aujourd'hui une réalité. Après le succès des JOP, des sites de baignade sont envisagés en héritage. Le début d'une nouvelle relation de la population francilienne avec ses rivières, et plus globalement, à l'eau, ce bien si précieux à l'heure du changement climatique.

Avec l'annonce de la candidature de Paris aux JOP, le SIAAP s'est mis en ordre de marche pour la baignade. Des études aux plans prévisionnels, le syndicat a joué un rôle majeur à la fois de coordonnateur, de conseiller et de financeur. Acteur central du « plan baignade » initié en 2016 par plus d'une vingtaine de partenaires régionaux, le SIAAP a financé le tiers de l'enveloppe budgétaire qui y a été affectée.

**PHOTO 8**  
Baignade dans les fleuves franciliens



## Désinfecter les eaux usées avant leur rejet dans le fleuve

Entre 1999 et 2013, la contamination de la Seine par les bactéries d'origine fécale a diminué d'un facteur 10 en aval de l'agglomération parisienne (Rocher et Guérin-Rechdaoui, 2024). Mais pour que l'objectif baignade soit atteint, il est nécessaire de garantir un apport encore plus faible en micro-organismes, afin d'assurer une qualité à tout instant en adéquation avec les enjeux.

La désinfection des rejets des usines d'épuration situées en amont des zones de baignade est un des leviers actionnés par le SIAAP pour parvenir à une qualité microbiologique conforme aux normes sanitaires. Parmi les solutions de désinfection ayant émergé au cours des dernières décennies, le recours à l'acide performique (PFA) est apparu comme particulièrement adapté au contexte du SIAAP. Pour démontrer son efficacité à l'usine amont Seine Valenton et identifier ses conditions de mise en œuvre, la désinfection au PFA a été expérimentée pendant plus de trois ans par une quinzaine de chercheurs dans le cadre du programme Mocopée (Rocher et Azimi 2023). Ces essais menés à la fois en laboratoire et à l'échelle industrielle, sur le site de l'usine Seine Valenton (2,6 millions d'équivalents habitants) (FIGURE 13), ont été parfaitement concluants. Le niveau d'oxydation très élevé du PFA garantit des concentrations faibles en bactéries fécales dans les eaux désinfectées.

3 ans  
d'expérimentation

### Un panel de bioessais mis en œuvre pour confirmer l'absence d'effets toxiques de l'acide performique

Au-delà de l'efficacité de la désinfection, il était essentiel de s'assurer de l'innocuité environnementale du PFA vis-à-vis de l'écosystème Seine. Pour ce faire, une batterie de bioessais *in vivo* (tests sur organismes entiers) a été mise en œuvre en complément des analyses chimiques. Cette batterie comprend une partie des bioessais déployés pour la biosurveillance des eaux de surface franciliennes (voir partie 1.3). Elle comporte, d'une part, des bioessais de toxicité générale sur des bactéries, des levures et des champignons, et d'autre part, des tests permettant de mesurer les effets de perturbation endocrinienne (activités œstrogénique, androgénique et thyroïdienne) sur des larves de Xénope (amphibien) et de Médaka (poisson).

Ces bioessais ont tout d'abord été appliqués sur des échantillons reconstitués en laboratoire, représentatifs du milieu naturel en aval immédiat du rejet de l'usine Seine Valenton dans des conditions défavorables

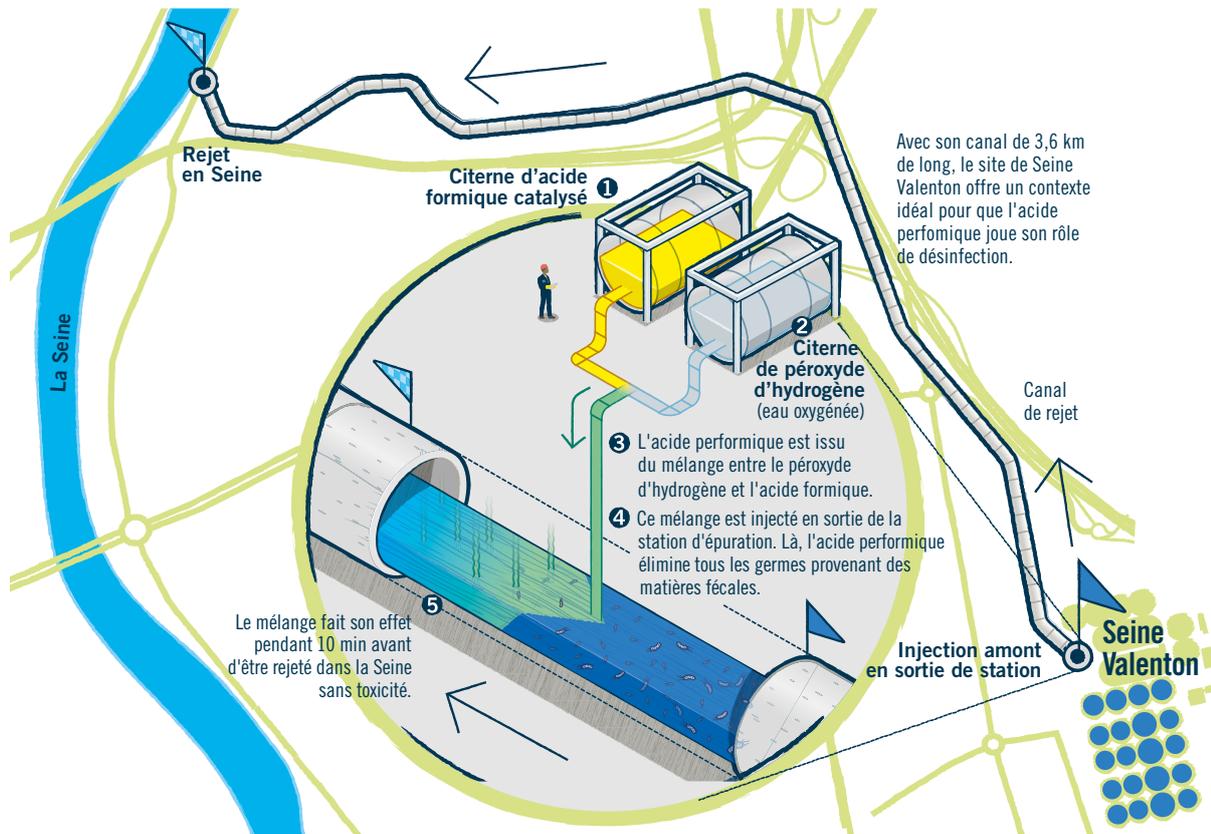


FIGURE 13

La désinfection des eaux usées avec de l'acide performique, expérimentée et mise en œuvre à l'usine Seine Valenton

Crédit : SIAAP, Le fil de l'eau, octobre 2022

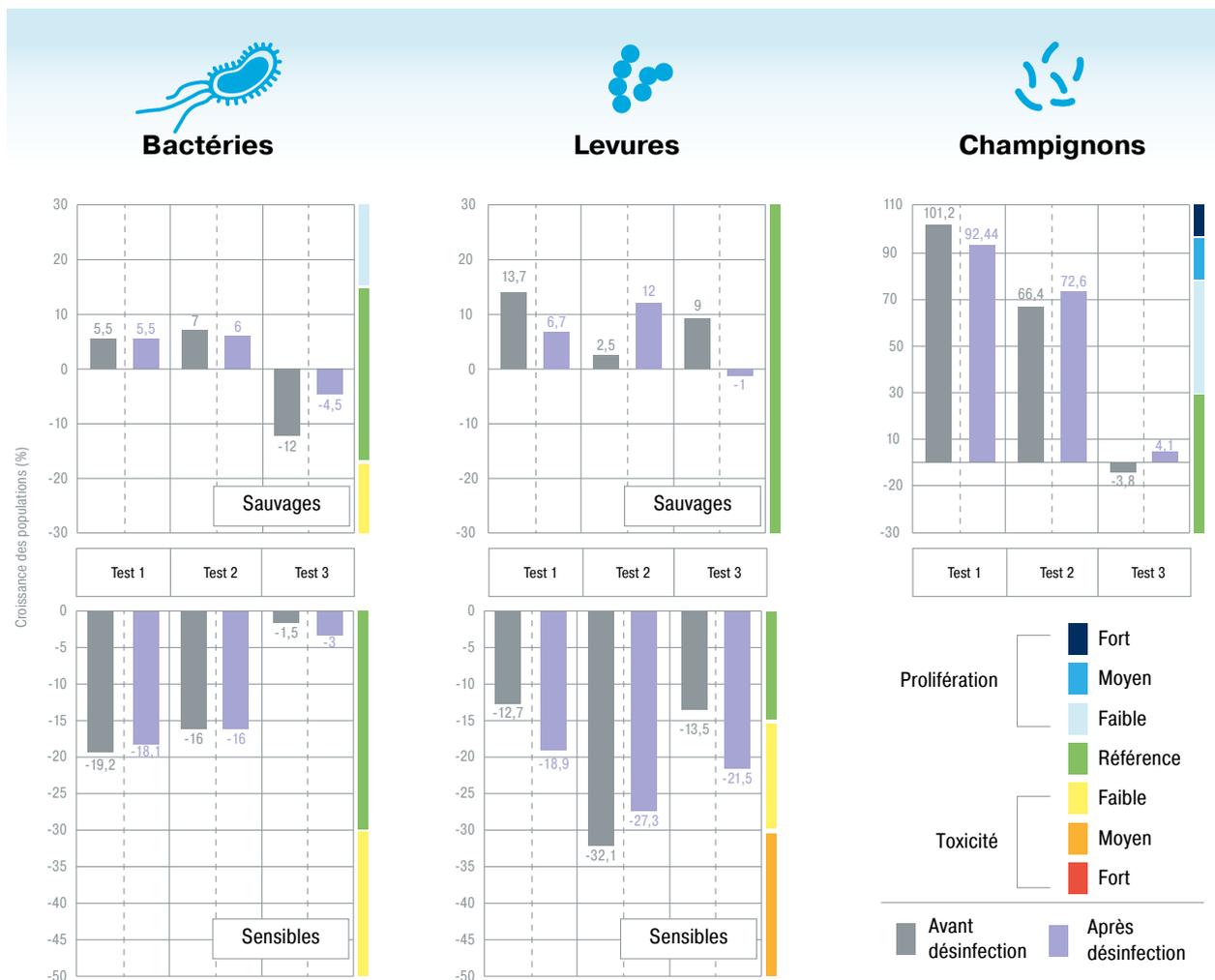
(c.-à-d. faible débit de la Seine et fort débit de rejet). Deux types d'échantillons ont été produits et analysés lors de trois campagnes de mesure : (i) des eaux de la Seine mélangées à des eaux du rejet et (ii) des eaux de la Seine mélangées à des eaux du rejet désinfectées. Des tests ont également été menés dans des conditions réelles sur des échantillons prélevés dans la Seine en amont et en aval du rejet de l'usine, lors de périodes « sans désinfection » et de périodes « avec désinfection » (10 semaines d'essai). Les résultats de ces mesures révèlent l'absence d'effets toxiques du PFA en termes de perturbation endocrinienne et de toxicité générale des eaux de la Seine, tant pour les échantillons reconstitués en laboratoire que pour les essais en conditions réelles. La **FIGURE 14** illustre cette conclusion, avec des niveaux de toxicité similaires « avant » et « après »

désinfection au PFA vis-à-vis des différentes souches de micro-organismes (essais en laboratoire).

La validation scientifique de l'efficacité et de l'innocuité environnementale de cette méthode de désinfection a permis au SIAAP de s'engager dans la voie du déploiement industriel de cette technologie. Ainsi, une unité de désinfection au PFA a été installée sur l'usine Seine Valenton et mise en service durant l'été 2023 afin d'être opérationnelle pour les JOP de 2024, pendant lesquels les performances et les atouts de cette approche ont pu être démontrés.



Les résultats des essais de désinfection à l'acide performique ont été valorisés au sein d'un ouvrage collectif rédigé par le SIAAP et ses partenaires scientifiques



**FIGURE 14**

Les résultats des essais menés en laboratoire sur des eaux de la Seine mélangées à des eaux usées traitées (« avant désinfection ») et à des eaux usées traitées désinfectées au PFA (« après désinfection ») ne montrent aucun effet toxique de la désinfection vis-à-vis des souches de bactéries, de levures et de champignons.

N.B. : les tests 1, 2 et 3 correspondent à trois campagnes d'échantillonnage - Source : Rocher et Azimi, 2023

## 5.2

# Mesurer les performances de procédés de traitement des micropolluants

Les usines d'épuration actuelles n'ont historiquement pas été conçues pour éliminer les micropolluants. Ainsi, bien qu'une partie des molécules soient retenues dans les boues ou dégradées lors du traitement biologique, d'autres sont réfractaires aux traitements en place et se retrouvent dans les eaux rejetées vers les milieux aquatiques.

Il n'y a actuellement pas de normes pour l'assainissement collectif en France et dans l'Union Européenne concernant les concentrations en micropolluants dans les effluents et leur taux d'abattement, mais cela va changer dans les prochaines années. En effet, avec la Directive européenne Eaux Résiduaires Urbaines (DERU) révisée en 2024, les États membres devront veiller, d'ici 2045, à l'application d'un traitement quaternaire permettant d'éliminer un large éventail de micropolluants dans les stations d'au moins 150 000 EH, avec des cibles intermédiaires pour les réduire d'ici là (Directive UE 2024/3019 du 27 novembre 2024). Il en est de même pour les stations d'au moins 10 000 EH dont les effluents sont rejetés dans des zones identifiées comme sensibles. Les collectivités vont donc progressi-

vement se mettre en ordre de marche pour implémenter ces traitements avancés parmi lesquels figurent l'ozonation et l'adsorption sur charbon actif. Se pose alors la question des indicateurs à utiliser pour mesurer l'efficacité et contrôler le bon fonctionnement de ces nouveaux traitements.

### PHOTO 9

L'usine Seine aval : les usines d'épuration des grosses agglomérations vont progressivement s'équiper pour traiter les micropolluants



### Le SIAAP engagé dans la réduction à la source des micropolluants urbains

Au-delà du traitement en usine d'épuration, d'autres leviers peuvent être actionnés localement pour réduire les rejets de micropolluants. Le SIAAP et les autres acteurs du territoire francilien se sont engagés depuis plusieurs années dans une démarche de maîtrise et de réduction des apports de polluants dans les réseaux d'assainissement, notamment dans le cadre du « diagnostic amont » requis par la note ministérielle RSDE-STEU (Ministère de la Transition Écologique, 2022). Les actions menées portent sur la maîtrise du système d'assainissement et des rejets « non domestiques » (industries et artisans), la gestion à la source des eaux pluviales, la sensibilisation et la valorisation des bonnes pratiques.

## Des expérimentations dans les usines du SIAAP

Dans les effluents des usines d'épuration, plusieurs milliers de molécules sont présentes à des concentrations détectables (Staub *et al.* 2022). Les approches analytiques basées sur la chimie sont donc, de ce fait, complexes à mettre en œuvre et limitées à une partie plus ou moins importante des contaminants. Grâce à leur capacité à fournir un résultat intégrant l'action de toutes les molécules présentes en mélange, les bioessais peuvent remplir une fonction d'indicateur complémentaire de performance des procédés de traitement des micropolluants. Deux expérimentations majeures ont été menées dans les usines du SIAAP pour mesurer l'efficacité de procédés d'adsorption sur charbon actif et explorer les potentialités des bioessais en complément de la chimie.

La première expérimentation a porté sur une unité mobile de traitement d'une capacité de 50 à 100 m<sup>3</sup>/h, qui a été installée sur l'usine Seine aval en sortie du traitement biologique (biofiltration) entre avril et octobre 2013. Au cours de cette étude, des mesures de la perturbation endocrinienne ont été effectuées en entrée et en sortie de l'unité de traitement, à l'aide des outils développés par la société Watchfrog (Du Pasquier *et al.* 2015). Ces outils utilisent des larves de poissons et d'amphibiens dont la fluorescence augmente ou diminue lorsque des molécules présentes dans l'échantillon affectent le fonctionnement d'un axe endocrinien.

En complément des analyses ponctuelles en laboratoire, un instrument appelé FrogBox a été utilisé pour exposer en continu les larves et quantifier à intervalles réguliers leur émission de fluorescence (PHOTO 10).

La seconde expérimentation a porté sur un pilote de traitement, installé en 2015 en sortie de la biofiltration de l'usine Seine centre. Deux types de charbon actif ont été testés : du charbon actif en poudre (particules de taille inférieure à 100 µm) et du charbon actif micro-grains (particules de taille médiane égale à 423,5 µm). Une batterie de bioessais de la société Tame-Water a été appliquée sur des échantillons prélevés aux différentes étapes de traitement de l'usine ainsi qu'en entrée et en sortie du pilote. Cette batterie comprend des bioessais *in vivo* de toxicité générale sur algues, bactéries, champignons et cellules humaines, ainsi que des bioessais *in vitro* permettant de détecter les substances à modes d'action génotoxique et perturbateur endocrinien.



### PHOTO 10 Illustrations du fonctionnement de la FrogBox

Les larves (cf. photo en haut) nagent dans un dispositif où l'eau à analyser circule en continu (cf. photo en bas). Un équipement optique embarqué mesure leur fluorescence à intervalles réguliers, laquelle traduit l'activité endocrinienne des substances présentes dans l'eau.



## Les apports des bioessais mis en lumière

Les résultats de ces expérimentations mettent en avant les apports des bioessais vis-à-vis de l'implémentation de traitements avancés des micropolluants. Les résultats des mesures effectuées à l'usine Seine centre montrent que les activités de perturbations endocriniennes subissent un abattement progressif au fil des étapes de traitement de l'usine. Ils montrent également que le procédé de traitement par charbon actif testé permet de finir l'épuration en supprimant, au niveau du seuil de détection des bioessais, les activités de perturbation résiduelles (notamment œstrogéniques). L'autre élément important mis en lumière est l'existence d'une toxicité générale ciblant principalement les bactéries, qui s'avère résistante aux différentes étapes de traitement, y compris au traitement quaternaire d'affinage par charbon actif.

Les résultats de l'expérimentation menée sur l'usine Seine aval démontrent également la pertinence de l'outil de mesure en ligne FrogBox pour la caractérisation de

l'efficacité du traitement des micropolluants. L'analyse du potentiel effet de perturbation endocrinienne de l'eau d'entrée et de sortie du pilote met en évidence son efficacité pour éliminer les molécules responsables des effets thyroïdiens (FIGURE 15) et œstrogéniques. De manière plus fine, ces résultats permettent de mesurer l'effet du taux de charbon actif en poudre en renouvellement dans l'ouvrage de traitement. L'absence d'abattement des effets de perturbation endocrinienne durant la semaine 40, pendant laquelle le pilote a été volontairement mis en mode dégradé, témoigne également de la capacité de la Frogbox à révéler un dysfonctionnement de traitement. Enfin, cette étude révèle l'existence de variations dynamiques du potentiel de perturbation endocrinienne au cours des jours, des semaines et des mois, qui démontre la pertinence des approches basées sur un suivi en temps réel.

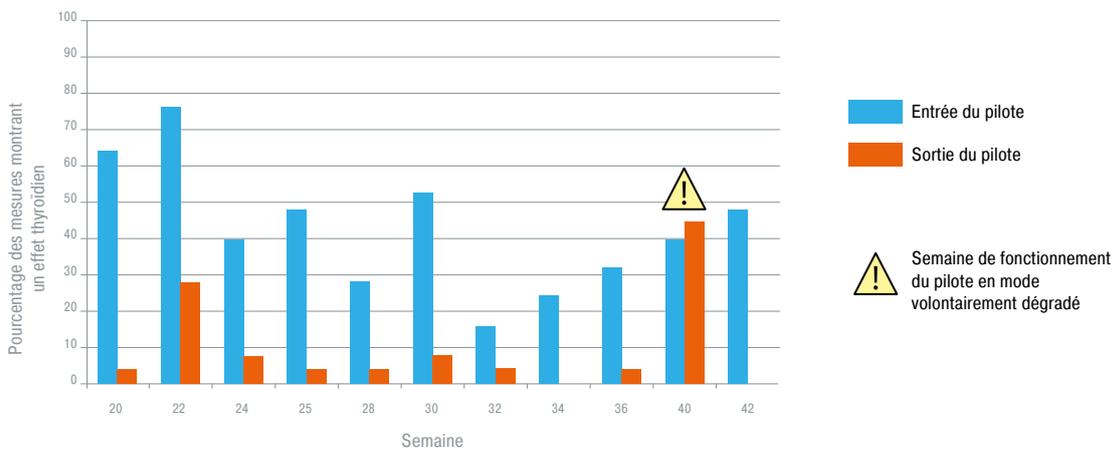


FIGURE 15

Mise en évidence de l'efficacité du traitement par charbon actif sur la perturbation thyroïdienne par l'outil FrogBox.

Pour chaque semaine, le pourcentage des cas pour lesquels les mesures d'induction de fluorescence montrent un effet thyroïdien est indiqué pour l'entrée et la sortie du pilote.

Source : d'après Du Pasquier *et al*, 2015

## 5.3

### Les bioessais, comme outil de pilotage de l'usine d'épuration ?

Ces retours d'expériences montrent que les bioessais peuvent être très utiles en amont de la modernisation d'une usine d'épuration, pour évaluer l'impact environnemental d'une nouvelle technologie (ici, une méthode de désinfection des eaux usées) et identifier quel type de traitement quaternaire est le plus efficace vis-à-vis des micropolluants présents dans les eaux usées. Les bioessais peuvent également être intégrés dans les critères d'évaluation de la performance d'une usine ou d'un système d'assainissement.

Au-delà, les expériences menées par le SIAAP laissent entrevoir le cadre d'utilisation des stations de biosurveillance en ligne. Ces outils, qui permettent de qualifier en temps réel la contamination des effluents, peuvent être exploités pour estimer l'apport de contaminants au milieu récepteur. À moyen terme, ils pourraient également s'avérer un complément idéal

aux sondes déjà en place dans les usines, pour piloter les procédés de traitement ou pour alerter l'exploitant en cas de pic de pollution. Les résultats des tests préliminaires menés sur les effluents de l'usine Seine centre sont un premier pas dans cette voie. Une station ToxMate™, qui permet la détection de contaminants via l'analyse du comportement locomoteur d'organismes aquatiques (voir partie 2.2), a été installée en parallèle d'une sonde UV254. Cette dernière, dont la mesure reflète la teneur en matière organique dissoute, est couramment utilisée par les exploitants pour évaluer l'efficacité du traitement. Les premiers résultats de cette expérimentation montrent que le signal ToxMate™ est complémentaire de celui de l'UV254, en permettant la détection précoce ou spécifique de certains pics de contaminants (FIGURE 16).

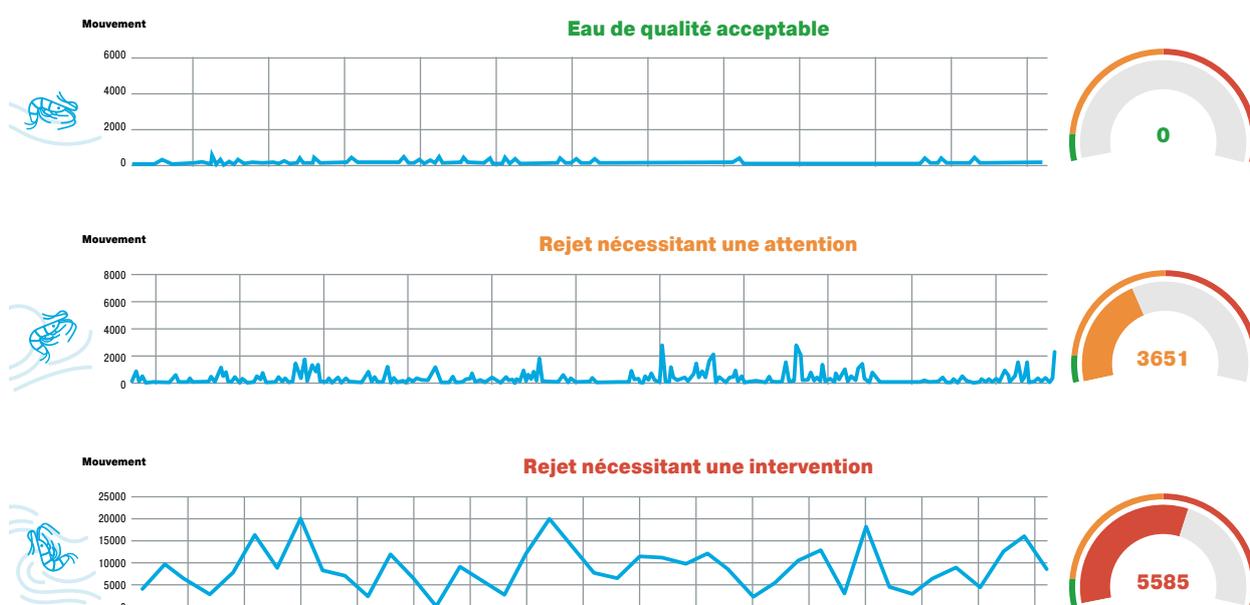


FIGURE 16

Illustration de résultats obtenus avec la station ToxMate™

Une augmentation des mouvements des organismes traduit la présence de contaminants dans l'effluent (comportement d'évitement ou d'agitation).

# Références bibliographiques

Agence de l'eau Seine-Normandie 2019. Les enjeux de l'eau sur le bassin Seine-Normandie. Résultats de la consultation du public et des assemblées sur les questions importantes du bassin en vue de l'élaboration du Schéma Directeur d'Aménagement et de Gestion des Eaux et du programme de mesures 2022-2027. *Restitution du 10 octobre 2019 au Comité de bassin.*

Bilan MeSeine 2023. MeSeine - Suivi de la qualité de la Seine en agglomération parisienne - Bilan de l'année 2023. 84. <https://www.siaap.fr/metiers/qualite-de-leau-et-milieu-naturel/>

Caetano T., Krawczyk J. M., Mösker E., Süßmuth R. D., Mendo S. 2011. Lichenicidin biosynthesis in *Escherichia coli*: licFGEHI immunity genes are not essential for lantibiotic production or self-protection. *Applied and Environmental Microbiology*. 77(14):5023-6. doi: 10.1128/AEM.00270-11

Catteau A., Le Guernic A., Palos Ladeiro M., Dedourge-Geffard O., Bonnard M., Bonnard I., Delahaut L., Bado-Nilles A., Porcher J.-M., Lopes C., Geffard O., Geffard A. 2023. Integrative Biomarker Response - Threshold (IBR-T): refinement of IBRv2 to consider the reference and threshold values of biomarkers. *Journal of Environmental Management*. 341 : 118049. doi : 10.1016/j.jenvman.2023.118049

Directive (UE) 2024/3019 du Parlement européen et du Conseil du 27 novembre 2024 relative au traitement des eaux résiduaires urbaines (refonte). JO L, 2024/3019, 12.12.2024, ELI: <http://data.europa.eu/eli/dir/2024/3019/oj>

Coulaud, R. 2012. Modélisation et changements d'échelles pour l'évaluation écotoxicologique : application à deux macro-invertébrés aquatiques, *Gammarus fossarum* (crustacé amphipode) et *Potamopyrgus antipodarum* (mollusque gastéropode). *phdthesis, Université Claude Bernard - Lyon I*. <https://theses.hal.science/tel-01127488>

Dolezalova, J. et Rumlova L. 2014. A new biological test of water toxicity—yeast *Saccharomyces cerevisiae* conductometric test. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 38.3 : 977-981. doi : 10.1016/j.etap.2014.10.009

Du Pasquier D., Lemkine G., Meynerol K., Sauvignet P., Borsato J., Goncalves A., Rocher V. 2015. Intérêt de la mesure biologique dans le suivi des performances de traitement des polluants « émergents » en eaux résiduaires municipales. *Techniques Sciences Méthodes*. 10 : 33-42. doi : 10.1051/tsm/201510033

European Environment Agency 2018. Chemicals for a sustainable future. *Report of the EEA Scientific Committee Seminar, Copenhagen, 17 May 2017*. <https://www.eea.europa.eu/about-us/governance/scientific-committee/reports/chemicals-for-a-sustainable-future>

Geffard O., Chaumot A., Noury P., Delorme N. 2020. Guide des gestionnaires : méthodologie d'évaluation de la qualité des masses d'eau à l'aide du gammare encagé (*Gammarus fossarum*). *DIADeM*. <https://www.interregdiadem.eu/media-files/35546/guide-gammare.pdf>

Guérin-Rechdaoui S., Du Pasquier D., Marconi A., Michelin E., Robin B., Lemkine G., Azimi S., Rocher V. 2023. Biosurveillance des eaux de surface en agglomération parisienne – Résultats 2017-2019 en Seine, Marne et Oise. 6. <https://inneauvation.fr/bibliotheque/detail/biosurveillance-des-eaux-de-surface-en-agglomeration-parisienne-resultats-2017-2019-en-seine-marne-et-oise>

Horie Y., Kanazawa N., Takahashi C., Tatarazako N., Iguchi T. 2020. Bisphenol A induces a shift in sex differentiation gene expression with testis-ova or sex reversal in Japanese Medaka (*Oryzias Latipes*). *Journal of applied toxicology*. JAT 40.6 : 804-814. doi : 10.1002/jat.3945

Lecomte V., Artigas J., Bonnineau C., Brelot E., Dagot C., Hocquet D., Labanowski J., Miege C., Mondamert L., Martin-Laurent F., Pesce S. 2023. Contamination des milieux aquatiques par les résidus de médicaments : exposition, risques écotoxicologiques, antibiorésistance et leviers d'actions. *Environnement, Risques & Santé*. 22.5 : 359-375. doi : 10.1684/ers.2023.1754

Maira-Litrán T., Allison D. G., Gilbert P. 2000. An evaluation of the potential of the multiple antibiotic resistance operon (mar) and the multidrug efflux pump acrAB to moderate resistance towards ciprofloxacin in *Escherichia coli* biofilms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 45(6):789-95. doi: 10.1093/jac/45.6.789

Manier N., Aït-Aïssa S., Pandard P. 2023. Inventaire et évaluation des méthodes biologiques issues de l'écotoxicologie pour la surveillance des milieux aquatiques en vue de leur utilisation dans le cadre de la DCE. *Compte rendu des activités du groupe de travail national sur les bioessais animé par l'OFB et Aquaref*. [https://www.aquaref.fr/system/files/Aquaref\\_2021\\_FG1.3c1\\_Inventaire\\_evaluation\\_bioessais\\_DCE\\_VF.pdf](https://www.aquaref.fr/system/files/Aquaref_2021_FG1.3c1_Inventaire_evaluation_bioessais_DCE_VF.pdf)

Ministère de la Transition Écologique et Solidaire & Ministère de la Cohésion des Territoires et des Relations avec les Collectivités Territoriales 2022. Note technique du 24 mars 2022 abrogeant la circulaire du 12 août 2016 relative à la recherche de micropolluants dans les eaux brutes et dans les eaux usées traitées de stations de traitement des eaux usées et à leur réduction.

Moilleron R., Bergé A., Deshayes S., Rocher V., Eudes V., Bressy A. 2019. Importance des émissions d'origine domestique dans les réseaux d'assainissement urbains : cas des alkylphénols, phtalates et parabènes dans l'agglomération parisienne. *Techniques Sciences Méthodes. Génie urbain, génie rural* 5 : 75. doi : 10.1051/tsm/201905075

Moilleron R., Morin C., Paulic L., Marconi A., Rocher V., Mailler R., Bressy A., Garrigue-Antar L. 2020. Caractérisation du potentiel toxique des eaux urbaines par bioessais – Cas de l'agglomération parisienne. *Techniques Sciences Méthodes – Génie urbain, génie rural* 12 : 175-194. doi : 10.36904/tsm/201912175

Office français de la biodiversité 2024. Impacts des micropolluants sur la biodiversité aquatique. *Le portail technique de l'OFB*. <https://professionnels.ofb.fr/fr/node/649>

Rocher V. et Azimi S. (dir.) 2023. Efficacité de la désinfection chimique par acide performique : désinfection des rejets d'usines d'épuration. SIAAP. *inneauvation*. <https://inneauvation.fr/vidoeautheque/detail/efficacite-de-la-desinfection-chimique-par-acide-performique-desinfection-des-rejets-dusine-depurationnbsp>

Rocher V. et Guérin-Rechdaoui S. (dir.) 2024. La Seine et les progrès de l'assainissement francilien - Analyse d'une trajectoire de 1875 à 2050. Paris, *Editions Johanet*. 167.

Rogers B., Decottignies A., Kolaczowski M., Carvajal E., Balzi E., Goffeau A. 2001. The pleiotropic drug ABC transporters from *Saccharomyces Cerevisiae*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 3.2 : 207-214. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11321575/>

Ruiz N., Falcone B., Kahne D., Silhavy T. J. 2005. Chemical conditionality: a genetic strategy to probe organelle assembly. *Cell* 121.2 : 307-317. doi : 10.1016/j.cell.2005.02.014

Sanchez W., Burgeot T., Porcher J.-M. 2013. A novel "Integrated Biomarker Response" calculation based on reference deviation concept. *Environmental Science and Pollution Research* 20.5 : 2721-2725. doi : 10.1007/s11356-012-1359-1

Seki M., Yokota H., Matsubara H., Tsuruda Y., Maeda M., Tadokoro H., Kobayashi K. 2002. Effect of ethinylestradiol on the reproduction and induction of vitellogenin and testis-ova in Medaka (*Oryzias Latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21.8 : 1692-1698.

Shi Y.-B., Sachs L. M., Jones P., Li Q., Ishizuya-Oka A. 1998. Thyroid hormone regulation of *Xenopus Laevis* metamorphosis: functions of thyroid hormone receptors and roles of extracellular matrix remodeling. *Wound Repair and Regeneration*. 6.4 : 314-322. doi : 10.1046/j.1524-475X.1998.60407

Staub P.-F., Capdeville M.-J., Pomiès M. 2022. Conduire un diagnostic « micropolluants » sur un territoire urbain - Retour d'expérience méthodologique du dispositif national « lutte contre les micropolluants des eaux urbaines ». *Comprendre pour Agir*. <https://professionnels.ofb.fr/fr/doc-comprendre-agir/conduire-diagnostic-micropolluants-territoire-urbain-retour-dexperience>

Synteau et INRAE 2020. Les conséquences des micropolluants rejetés dans les eaux usées. [https://www.synteau.com/wp-content/uploads/2020/11/MICROPOLLUANTS\\_INRAE\\_SYNTEAU.pdf](https://www.synteau.com/wp-content/uploads/2020/11/MICROPOLLUANTS_INRAE_SYNTEAU.pdf)

Tabib Ghaffary S. M., Faris J. D., Friesen T. L., Visser R. G. F., van der Lee T. A. J., Robert O., Kema G. H. J. 2012. New broad-spectrum resistance to *Septoria Tritici* blotch derived from synthetic hexaploid wheat. *Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik*. 124.1 : 125-142. doi : 10.1007/s00122-011-1692-7

Tosadori A., Di Guardo A., Finizio A. 2024. Spatial distributions and temporal trends (2009–2020) of chemical mixtures in streams and rivers across Lombardy region (Italy). *Science of The Total Environment*. 919 : 170839. doi : 10.1016/j.scitotenv.2024.170839

Wittmer I., Stamm C., Singer H., Junghans M. 2014. Micropolluants : stratégie d'évaluation pour les micropolluants de sources non ponctuelles. *Eawag, Dübendorf. Étude réalisée sur mandat de l'OFEV*. [https://waterquality.ch/wp-content/uploads/2020/11/2014\\_wittmer\\_strategie\\_d\\_evaluation\\_micro\\_non\\_ponctuelles.pdf](https://waterquality.ch/wp-content/uploads/2020/11/2014_wittmer_strategie_d_evaluation_micro_non_ponctuelles.pdf)

Zwiers L. H. et De Waard M. A. 2000. Characterization of the ABC transporter genes MgAtr1 and MgAtr2 from the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genet Biol*. 30(2):115-25. doi: 10.1006/fgbi.2000.1209



Photos : © SIAAP, Franck Beloncle pour le SIAAP, Tame-Water, Watchfrog  
Conception graphique et mise en page : stratéact

Copyright Éditions Johanet, 2025.

Il est interdit de reproduire intégralement ou partiellement le présent ouvrage (Loi du 11 mars 1957)  
sans l'autorisation de l'éditeur ou du centre Français d'exploitation du droit de copie.

Éditions Johanet  
60 rue du Dessous des Berges  
75013 Paris

ISBN : 979-10-91089-531



[inneauvation.fr](http://inneauvation.fr)