SIPIBEL
Site Pilote de Bellecombe

Effluents hospitaliers et stations d'épuration urbaines : caractérisation, risques et traitabilité

Rapport 2011-2015

RÉSULTATS DE QUATRE ANNÉES DE SUIVI, D'ÉTUDES ET DE RECHERCHES, SUR LE SITE PILOTE DE BELLECOMBE

OCTOBRE 2016

graie

CONTACTS

Vivien Lecomte, animateur de SIPIBEL et projets en appui : vivien.lecomte@graie.org
Elodie Brelot, directrice du GRAIE : elodie.brelot@graie.org
Luc Patois, directeur du Syndicat des Eaux des Rocailles et de Bellecombe : lpatois@s-rb.fr

GRAIE - Groupe de Recherche Rhône-Alpes sur les Infrastructures et l'Eau
Campus LyonTech La Doua
66, Boulevard Niels Bohr – CS 52132
69603 Villeurbanne Cedex
Tél. : 04 72 43 83 68 - Fax : 04 72 43 92 77
Email : sipibel@graie.org - www.graie.org

Syndicat des Eaux des Rocailles et de Bellecombe
Maison Cécile Bocquet
160 Grande Rue
74930 REIGNIER-ESERY
Tél. : 04 50 95 71 63 - Fax : 04 72 43 48 84
Email : lpatois@s-rb.fr

Sites internet : www.sipibel.org et www.irmise.org

RÉDACTEURS DU DOCUMENT

Ce document a été co-rédigé par les équipes de recherche de SIPIBEL (ISA, Université de Limoges, ENTPE, INSA Lyon, Université Paris Sud, Institut de Chimie de Poitiers, INRA de Thonon et Vet'agro sup), Suez, la CIPEL, Claire Tillon (consultante), le Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe et le Graie (18 rédacteurs mobilisés).

Il présente une synthèse des résultats de quatre années de suivi, d'études et de recherches, menés sur le site pilote grâce à la mobilisation des acteurs du territoire, des scientifiques, d'un industriel et des partenaires institutionnels.

SOMMAIRE

I. Introduction : historique, objectifs et structuration du site pilote de bellecombe 5

1-Contexte et objectifs _____ 7

2- Un site d'expérimentation exceptionnel _____ 8

3- Un dispositif d'observation et de recherches _____ 11

4-Gouvernance et partenaires _____ 14

5-Valorisation des résultats et ouvertures de SIPIBEL _____ 18

II. L'observatoire SIPIBEL-IRMISE : synthèse des résultats de quatre années de suivi.....21

1-Le dispositif de suivi mis en place _____ 23

2-Caractérisation des dangers et des effets biologiques des effluents hospitaliers et urbains_____ 38

3-Traitabilité et impacts des effluents hospitaliers et urbains sur le milieu_____ 52

III. Premiers résultats des études et recherches en appui sur le site pilote 73

Le programme de recherche du site pilote de Bellecombe _____ 75

AXE 1 – Connaissance et modélisation des flux polluants hospitaliers et urbains _____ 76

AXE 2 – Procédés de traitement _____ 83

AXE 3 - Risques écotoxicologiques et écologiques _____ 93

AXE 4 - Sociologie et changement des pratiques _____ 110

IV. Étude des conséquences du mélange des effluents hospitaliers et urbains au sein d'une station unique 115

1–L'arrêté préfectoral de 2009 et l'obligation de traiter séparément les effluents hospitaliers __ 117

2–Démarche mise en place pour répondre à la question de l'arrêté _____ 117

3–Conclusions sur la pertinence du mélange des effluents hospitaliers et urbains au sein d'une station unique _____ 127

V. Conclusions et perspectives.....131

1-Conclusions _____ 133

2-Quel Observatoire pour les prochaines années ? _____ 135

3-Quelles perspectives en termes d'études et recherches ? _____ 138

Annexes 141

Annexe 1 – Synthèse de la conférence « Eau et Santé » organisée par le GRAIE et l'ASTEE _____ 144

Annexe 2 – Protocole de nettoyage du matériel utilisé pour les campagnes de prélèvement de l'Observatoire _____ 145

Annexe 3 – Protocole des blancs de prélèvement _____ 147

Annexe 4 – Publications et communications sur SIPIBEL _____ 148

Annexe 5 – Références bibliographiques du rapport _____ 158

Table des matières _____ 164

Liste des figures_____ 168

Liste des tableaux _____ 172

I. INTRODUCTION : HISTORIQUE, OBJECTIFS ET STRUCTURATION DU SITE PILOTE DE BELLECOMBE

1-Contexte et objectifs

La présence de résidus de médicaments et de produits de diagnostic dans les milieux aquatiques, et plus particulièrement dans les ressources servant à la production d'eau de consommation humaine est une préoccupation internationale majeure en raison des enjeux environnementaux, sanitaires, stratégiques et financiers.

Ainsi, suite au Grenelle de l'Environnement et au 2e plan national santé environnement (PNSE-2), un plan national sur les micropolluants et un plan spécifique sur les résidus de médicaments (PNRM) ont été initiés par les ministères chargés de la santé et de l'environnement, avec un soutien affiché au développement et à la structuration de sites-pilotes sur des bassins expérimentaux favorisant la pluridisciplinarité scientifique et technique et la prise en compte des enjeux économiques et sociaux.

En 2009, le Syndicat Intercommunal de Bellecombe (SIB) (aujourd'hui Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe) a décidé de prévoir des travaux d'extension de sa station d'épuration des eaux usées (STEP) en raison notamment, de la construction d'un nouvel hôpital sur son territoire.

Figure 1 Vue aérienne du site pilote de Bellecombe (SIPIBEL) lors de la construction du Centre Hospitalier Alpes Léman (source : Suez, 2011) et la rivière Arve

L'arrêté préfectoral du 7 mai 2009 relatif à l'autorisation de ces travaux a imposé de:
-collecter et traiter les eaux usées du futur hôpital sur une filière biologique réservée, pour une durée minimale de 3 ans à compter de l'ouverture de l'établissement,
-réaliser une étude de caractérisation des effluents de l'hôpital avant sa mise en service, et à l'issue d'une période minimale de 3 ans après son ouverture.

Cet arrêté a conduit le Syndicat de Bellecombe et le Centre Hospitalier Alpes Léman (CHAL) à initier un programme d'étude ambitieux permettant de répondre à ces obligations réglementaires. Le SIB a donc sollicité l'association GRAIE (Groupe de Recherche Rhône-Alpes sur les Infrastructures et l'Eau), expérimentée dans l'animation de dispositifs de recherche pluridisciplinaires, qui a su mobiliser scientifiques, acteurs du territoire et partenaires institutionnels. Suez, concepteur de la STEP a également pris part au projet dès son élaboration.

Une première réunion en mars 2010, réunissant les membres fondateurs et les partenaires du projet, a ainsi permis d'établir les bases de Sipibel -Site Pilote Bellecombe, site expérimental d'observation et de recherche ayant pour objectifs de réaliser l'étude de la caractérisation, de la traitabilité et des impacts des effluents hospitaliers en station urbaine.

2- Un site d'expérimentation exceptionnel

2-1 Configuration du site pilote de Bellecombe

Situé sur le département de la Haute-Savoie, à proximité de la frontière suisse (figure 2), le site pilote de Bellecombe (SIPIBEL) est composé :

- **du Centre Hospitalier Alpes Léman (CHAL)**, mis en service en février 2012 ;
- **de la station d'épuration de Bellecombe**, avec deux filières de traitement distinctes permettant d'isoler les effluents hospitaliers ;
- **et d'un milieu récepteur** : **la rivière Arve,** qui alimente une partie des ressources en eau destinée à la consommation humaine du bassin genevois.

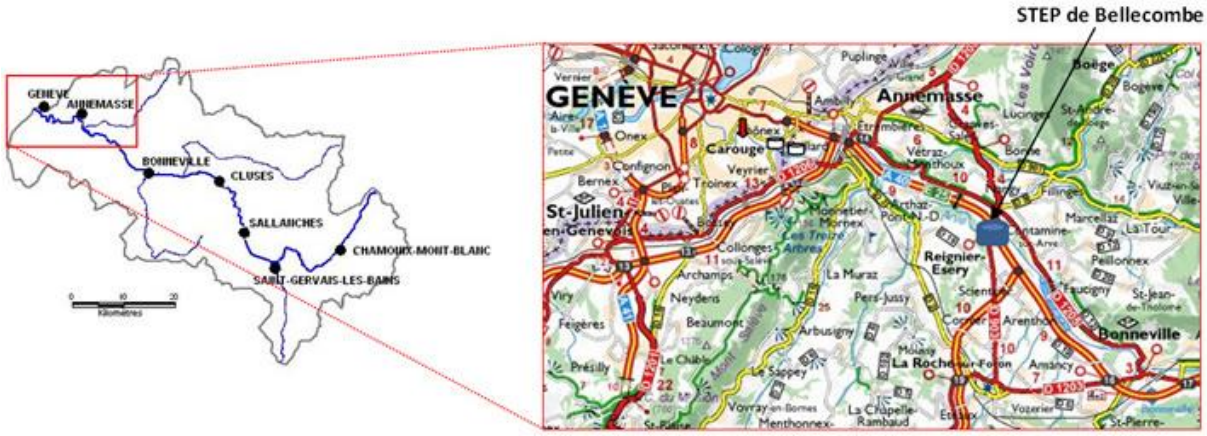


Figure 2 Le site pilote de Bellecombe est situé en Haute-Savoie, à proximité de la frontière suisse

Le Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe (SRB) gère 350 km de réseaux et deux stations d'épuration (STEP), dont celle de Bellecombe, mise en service en 1979. Avec une capacité de 5 400 équivalents habitants (EH), elle a été agrandie en 1995 pour porter sa capacité à 16 000 EH. En 2009, elle a fait l'objet d'une nouvelle extension à **32 000 EH.**

Ces travaux d'extension ont été en partie justifiés par la création du nouveau centre hospitalier (figure 3), dont le rejet était estimé à 2 000 EH. Les activités de cet **établissement de 450 lits** (1 300 patients/jour et 1 450 professionnels) sont les suivantes :

- médecine ;
- chirurgie ;
- gynécologie – obstétrique – enfants ;
- hôpital de Jour (32 lits) ;
- 3 plateaux de consultations externes ;
- dialyse (16 postes) ;
- urgences (140 passages/jour) / hélistation (15 rotations/mois) ;
- plateau interventionnel (salles d'opération, endoscopie, bloc obstétrical) ;
- soins critiques (Réanimation, Soins Continus, USIC, Néonatologie) ;
- imagerie (radiologie, IRM, scanner, médecine nucléaire) ;
- laboratoire d'analyses biologiques (14 millions de B/an) ;
- pôle logistique (pharmacie, magasin, transports, UCP, services techniques,…) ;
- la stérilisation et la blanchisserie sont externalisées.

Les installations techniques de l'établissement comprennent notamment des dispositifs de traitement des polluants « classiques » (séparateurs hydrocarbures, bacs dégraisseurs, noues plantées de macrophytes, etc.), des dispositifs de stockage et de contrôle des eaux usées liées aux activités de médecine nucléaire et une gestion technique centralisée (alarmes, historisation des données, etc.).

Un réseau distinct a été construit de façon à acheminer les effluents de l'hôpital jusqu'à la STEP, séparément des effluents urbains.

Figure 3 La station d'épuration de Bellecombe et le Centre Hospitalier Alpes Léman (source : CHAL, 2012)

Dans le cadre des travaux, il a été prévu la possibilité de traiter les effluents hospitaliers, soit en commun avec les effluents urbains en les mélangeant et en répartissant l'ensemble des effluents sur les trois files, soit séparément en dédiant la file 2 de 5 400 EH à ces effluents, et en envoyant les effluents urbains vers les files 1 et 3 d'une capacité totale de 26 600 EH.
De même, l'atelier de déshydratation des boues par filtre à bandes, a été remplacé par un filtre presse, qui permet un traitement séparé des boues en provenance des différentes filières de traitement des eaux, le filtre à bandes ayant été conservé en secours sur la filière « hôpital », comme illustré dans la figure 4.

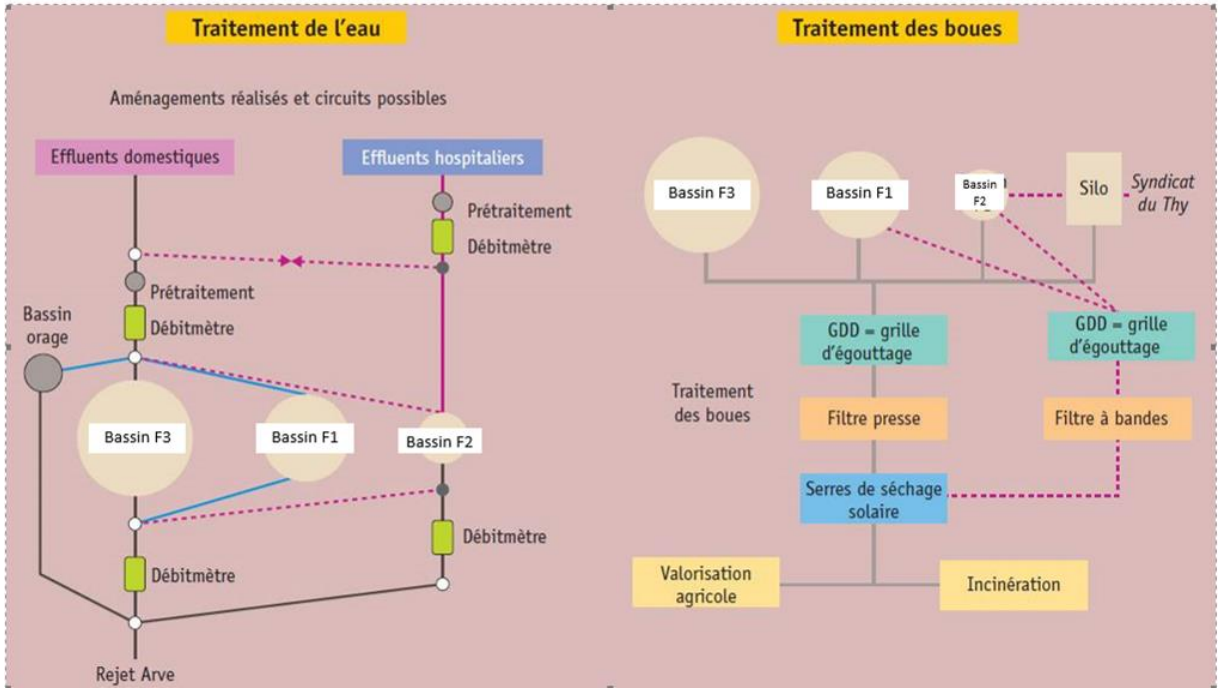


Figure 4 La station d'épuration de Bellecombe comporte 3 files de traitement dont une peut être entièrement dédiée aux effluents hospitaliers
(source : schéma extrait de la revue Techniques Hospitalières, déc. 13)

Cet ensemble unique a permis de développer un programme d'étude particulièrement intéressant en réalisant des expériences pouvant à volonté mélanger ou non les effluents de l'hôpital avec ceux du réseau urbain.

2-2 Un site étendu au territoire du bassin versant franco-suisse de l'Arve aval

Conscient de ne pas étudier tous les compartiments du cycle de l'eau, à savoir la gestion de la ressource en eau potable, le SRB et le Graie se sont rapprochés des autres acteurs du territoire afin de mettre en place un projet transfrontalier qui traiterait cette question en appui sur la dynamique du site SIPIBEL.

Le lien transfrontalier est en effet évident considérant que l'Arve est utilisée pour réalimenter artificiellement la nappe avec un volume de 9 millions de m3 par an, ce qui représente 60 % du volume prélevé. Lancé au début des années 1970 parce que le niveau de la nappe souterraine s'abaissait à cause des besoins grandissants de la région, et accéléré par la sécheresse de 1976, un projet transfrontalier a abouti à la construction sur territoire suisse (Vessy) d'une station de réalimentation de la nappe au moyen d'eau prélevée dans l'Arve puis filtrée (figure 5). La commission internationale de gestion de la nappe du genevois, qui réunit régulièrement les acteurs locaux suisses et français en charge de gérer et d'exploiter cette ressource, coordonne depuis lors la réalimentation et les prélèvements d'eau. C'est un exemple internationalement reconnu de collaboration transfrontalière en matière de ressource en eau.

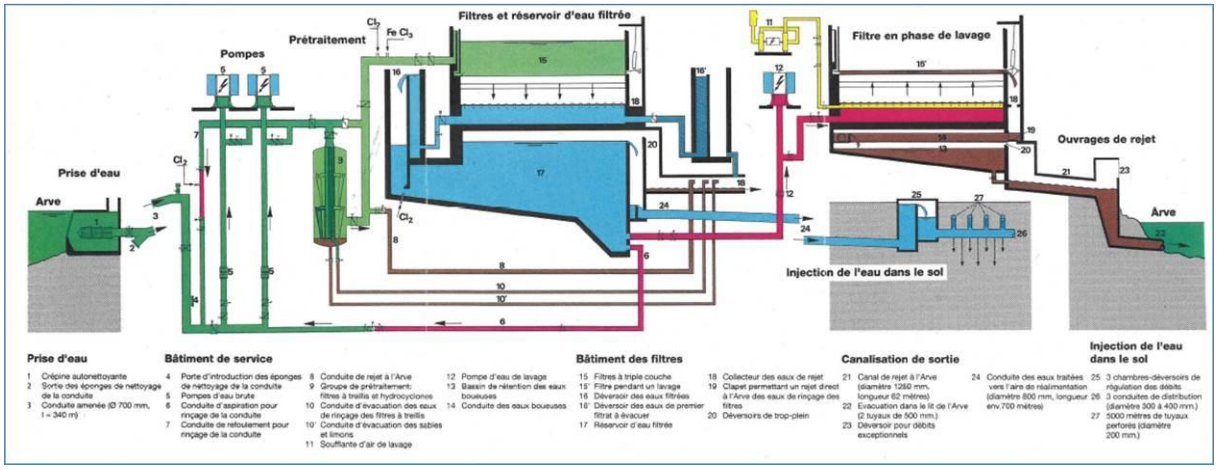


Figure 5 Schéma de la station de Vessy de réalimentation de la nappe du Genevois, gérée par les Services Industriels de Genève (SIG)

Avant d'être injectée dans la nappe, l'eau de l'Arve subit un dessablage, une floculation, une filtration et une chloration. En complément, les installations sont dotées d'analyseurs en continu de la qualité des eaux de la rivière, de manière à pouvoir arrêter immédiatement et automatiquement la réalimentation en cas de pollution de l'Arve. Ces contrôles, réalisés à 1,5 km en amont de la prise d'eau, portent sur la turbidité, différents métaux lourds, les détergents, les hydrocarbures et les matières organiques. Parallèlement, un laboratoire analyse chaque semaine des échantillons d'eau prélevés avant et après traitement par la station de Vessy.

Le contexte transfrontalier est particulièrement impactant sur le thème des micropolluants du fait de politiques et stratégies très différentes dans ce domaine entre les deux pays**.** La solidarité entre l'amont et l'aval a donc tout intérêt à être renforcée sur cette problématique des micropolluants pour que l'amélioration qualitative de la ressource soit faite avec les meilleures solutions techniques et financières mobilisables en France comme en Suisse.

Toutes les conditions étaient donc réunies pour bâtir un projet Interreg franco-suisse sur cette problématique, **le projet IRMISE Arve aval** –Impacts des Rejets de Micropolluants (et résidus de médicaments) Issus des Stations d'Epuration urbaines (voir ci-après).

3- Un dispositif d'observation et de recherches

3-1 SIPIBEL est structuré en trois volets :

- **Un observatoire :** qui a pour vocation d'assurer le suivi des effluents hospitaliers et urbains et de leurs impacts sur le milieu récepteur suite à l'ouverture du Centre Hospitalier Alpes Léman ;
- **Des études et des actions de recherche** développées en appui sur l'observatoire et structurées dans le programme de recherche Sipibel selon quatre axes :
  - Axe 1 : Connaissance et modélisation des flux de micropolluants
  - Axe 2 : Procédés de traitement
  - Axe 3 : Risques écotoxicologiques, écologiques et sanitaires
  - Axe 4 : Sociologie et changement de pratiques

  Ces actions sont élaborées pour répondre aux grandes questions de connaissances et de stratégies identifiées dans les différents plans nationaux et régionaux en cours de mise en œuvre.
- **Une cellule d'animation et de valorisation du projet** avec un site internet, des publications et des conférences. Elle garantit une animation concertée et intégrée des deux volets observation et recherche, leur inscription dans les plans nationaux et régionaux et l'association à des démarches plus larges de politiques territoriales et d'échanges d'expériences (réseau régional sur la gestion des effluents non domestiques, intervention lors de séminaires, etc.).

La distinction de ces trois volets du dispositif vise à en améliorer la lisibilité, notamment vis-à-vis des partenaires, en termes d'objectifs et de rendus.

SIPIBEL est notamment le support de deux projets d'études et recherche majeurs, décrits ci-après.

3-2 Le projet IRMISE Arve aval (2012 –> juin 2015)

Objectifs et résultats attendus

Mis en place en 2013 en appui sur SIPIBEL, le projet Interreg franco-suisse IRMISE Arve aval porte sur l'Impact des Rejets de Micropolluants (et résidus de médicaments) Issus de Stations d'Epuration sur le bassin versant de l'Arve aval et la nappe du genevois.

La finalité de ce projet visait à **mieux connaître et maîtriser les risques de pollution des eaux de l'Arve et de la nappe du Genevois par les micropolluants, en particulier par les résidus de médicaments et les détergents/biocides liés aux activités de santé.** Il s'intéressait à l'ensemble des compartiments du cycle de l'eau en intégrant la dimension « ressource en eau » non prise en compte dans SIPIBEL.

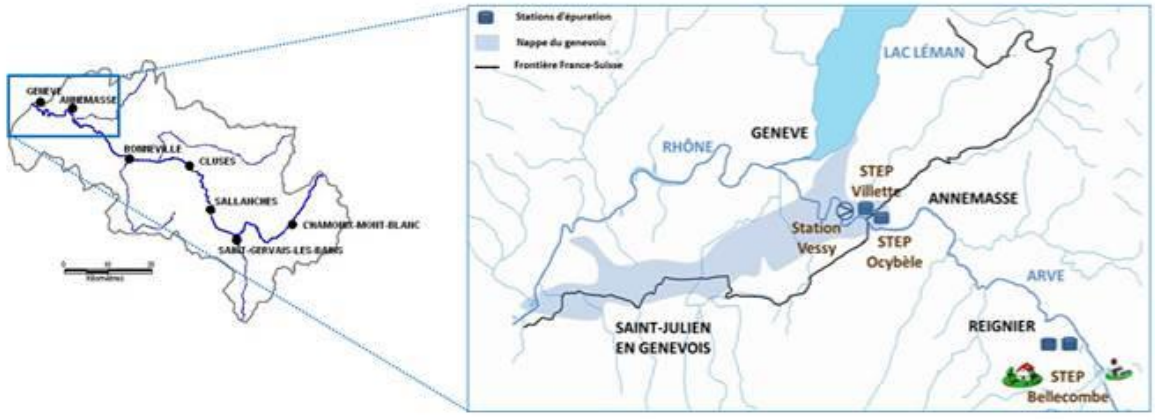


Figure 6 Territoire du projet Interreg franco-suisse IRMISE Arve aval

Un premier objectif du projet était d'identifier et de quantifier la pollution en micropolluants rejetée par les STEP du bassin versant de l'Arve aval et retrouvée dans le milieu aquatique (Arve, Rhône et nappe du Genevois), notamment vis à vis de la potabilité.

Le projet visait également à formaliser les enjeux, identifier les points de blocage et leviers, et définir les priorités et solutions de réduction à la source et/ou traitement à mettre en œuvre, si les risques sont avérés. Enfin, le projet devait permettre de bâtir les éléments nécessaires au déploiement d'une communication et sensibilisation efficace sur cette thématique et à une meilleure synergie entre les différents acteurs clés de ce territoire (chercheurs, opérationnels, collectivités, citoyens).

Les principaux résultats attendus pour ce projet étaient :
-d'une part, une meilleure connaissance des flux de résidus de médicaments et de détergents/biocides liés aux activités de santé, et de leur impact sur le milieu et la ressource, ainsi que des pressions actuelles et à venir
-d'autre part, une étude stratégique et intégrative, proposant différents scénarios de gestion de l'eau vis-à-vis de cette problématique, avec la recherche de solutions préventives et curatives et une première analyse socio-économique.

Pour ce faire, le projet comportait 4 volets :

- **Volet 1 – Un observatoire** des micropolluants dans les effluents de STEPs, les cours d'eau (Arve et Rhône) et la nappe du Genevois (ressource en eau). Il étend le territoire de prélèvement de l'observatoire SIPIBEL.
- **Volet 2 - Une étude de modélisation** permettant d'estimer les flux de micropolluants en fonction des consommations, des caractéristiques du bassin d'apport et du système d'assainissement.
- **Volet 3 – Une étude stratégique** visant à mettre en perspective les autres actions du projet et devant aboutir à l'élaboration de scénarios de gestion de l'eau et des flux de micropolluants, avec une première approche sociale et technico-économique.
- **Volet 4 – Un volet animation et valorisation**, comportant notamment un site internet et l'organisation d'une conférence internationale Eau et Santé au printemps 2015, permettant de valoriser les résultats du projet.

3-3 Le projet SIPIBEL-RILACT (novembre 2014 –> mai 2018)

Objectifs

Le projet SIPIBEL-RILACT (Risques et Leviers d'Actions relatifs aux rejets de médicaments, détergents et biocides dans les effluents hospitaliers et urbains) a été retenu dans le cadre de **l'appel à projets national** « Innovation et changements de pratiques : micropolluants des eaux urbaines » initié par l'ONEMA, les Agences de l'Eau et le Ministère en charge de l'écologie.

En appui sur le site pilote, RILACT concerne, d'une part les rejets de résidus de médicaments dans les effluents hospitaliers et urbains et, d'autre part, les rejets de détergents et biocides utilisés notamment dans les établissements de soin. Il permet de compléter le dispositif déjà en place, afin de répondre aux trois grands objectifs suivants partagés par les scientifiques et les gestionnaires locaux :

1. **Mieux connaître les sources de rejets** de médicaments, détergents et biocides et leurs processus de métabolisation et de dégradation dans les réseaux d'assainissement urbains et hospitaliers ;
2. **Contribuer à la caractérisation des risques** sanitaires et environnementaux liés à ces effluents ;
3. **Identifier et expérimenter les leviers d'actions** en impliquant toute la chaîne de responsabilité d'usage.

Volets et tâches du projet :

Volet	Tâche	Pilote	Autres partenaires
VOLET I – Développer des méthodes d'identification et quantification de médicaments, Détergents et biocides (DtB), métabolites et produits de dégradation			
	T1.1 : Analyses métabolites médicaments	ISA	
	T1.2 : Analyses détergents	ISA	
VOLET II – Caractériser finement les rejets de médicaments et leur dynamique dans les effluents hospitaliers et urbains			
	T2.1 : Rejets et dégradation des résidus de médicaments	INSA	SRB, GRAIE
VOLET III – Contribuer à l'évaluation des risques environnementaux par l'évaluation des effets biologiques			
	T3.1 : Évolution des effets biologiques en réseau	Univ. Paris Sud	Univ.Limoges, ENTPE
VOLET IV - Développer des recherches et une étude sociologiques			
	T4.1 : Changement des pratiques	EHESP	EVS
	T4.2 : Pratiques hospitalières	CHAL	ENTPE
VOLET V – Valoriser et transférer les résultats observés et les connaissances acquises			
	T5.1 : Coordination du projet	GRAIE	SRB
	T5.2 : Valorisation du projet	GRAIE	

4-Gouvernance et partenaires

4-1 Acteurs mobilisés

Le Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe et le GRAIE se sont rapprochés en 2010 et ont mobilisé leurs réseaux pour monter le projet, des points de vue techniques et financiers.

Figure 7 Les membres et partenaires de SIPIBEL réunis à l'occasion des réunions de comité de pilotage du projet au Centre Hospitalier Alpes Léman

Les acteurs du territoire :

- Gestionnaire de la STEP de Bellecombe : Syndicat des Eaux des Rocailles et de Bellecombe
- Gestionnaire du site hospitalier : Centre Hospitalier Alpes Léman (CHAL)
- Gestionnaire de la rivière : Syndicat Mixte d'Aménagement de l'Arve et de ses Abords (SM3A)
- Les partenaires français et suisses du projet IRMISE Arve aval, gestionnaires de l'assainissement, de l'eau potable et du milieu naturel : Annemasse les Voirons Agglomération, la Communauté de Communes du Genevois, les Services Industriels de Genève, l'Etat de Genève et la CIPEL (Commission Internationale pour la Protection des Eaux du Léman)

Des laboratoires publics de recherche de renommée internationale :

Ils associent des compétences pluridisciplinaires dans les domaines de l'analyse et de la métrologie, de la modélisation, du traitement des eaux, de l'écotoxicologie, de l'évaluation des risques et des sciences humaines :

- Les membres scientifiques fondateurs de SIPIBEL, qui ont déjà réalisé des recherches et études spécialisées sur les rejets hospitaliers dans un contexte international : l'ENTPE de Lyon, l'INSA Lyon, l'Université de Limoges, l'Université Paris Sud et l'Institut des Sciences Analytiques de Lyon
- Les partenaires du programme de recherche Persist'Env, en appui sur SIPIBEL : l'Institut de Chimie de Poitiers, l'INRA de Thonon et Vet'agro sup
- Les équipes de sciences humaines, mobilisées dans le nouveau projet SIPIBEL-RILACT : l'EHESP et l'EVS labex IMU

Un industriel spécialisé dans le traitement des eaux usées et potables :

La société Suez, conceptrice de la STEP.

Des consultants :

- L'équipe de consultantes composée de Claire Tillon, Sandra Decelle-Lamothe (Agence Edel) et Myriam Poitau (Kaleido Scop), spécialisée dans l'animation de réseau, la communication et l'accompagnement au changement. Mandataire de l'étude stratégique IRMISE, l'équipe mène aux côtés du Graie une nouvelle étude en appui sur le site, intitulée SIPIBEL-MediATeS.
- Christine Bazin, de la plateforme d'innovation technologique Rhône-Alpes PROVAMDEMSE qui pilote l'ensemble des bioessais sur organismes aux côtés de l'ENTPE.

Des partenaires institutionnels engagés dès le montage du projet :

SIPIBEL s'inscrit pleinement dans la mise en œuvre des politiques publiques, locales, nationales et européennes, pour la maîtrise des micropolluants et répond directement à certains des objectifs nationaux et régionaux définis dans les différents plans. Le projet a ainsi l'appui des différents partenaires mobilisables sur cette thématique : Agence de l'Eau RMC, Région Auvergne - Rhône-Alpes, Union Européenne (fonds FEDER), ONEMA, Ministère de l'Écologie et de la Santé, ARS Rhône-Alpes et Département de Haute-Savoie.

Une structure d'animation expérimentée, véritable liant et stimulateur du projet :

Le Graie (Groupe de Recherche Rhône-Alpes sur les Infrastructures et l'Eau) est familier des programmes multipartenaires comme l'OTHU -Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine-, la ZABR -Zone Atelier Bassin du Rhône- et les programmes de recherche associés.
Structure associative créée en 1985, elle a fait ses preuves et met ses compétences au service du projet pour l'animation d'un dispositif multipartenaire, le transfert des connaissances vers des publics techniques et le rayonnement au niveau national et international.

4-2 Gouvernance

La structuration des acteurs autour de SIPIBEL est présentée ci-dessous et schématisée dans la figure 8.

Les membres fondateurs de SIPIBEL sont regroupés en 4 collèges :

Les responsables du projet (cellule d'animation)

1. Syndicat des Eaux des Rocailles et de Bellecombe, représenté par Jean-François CICLET (Président) et Luc PATOIS (Directeur)
2. Graie, représenté par Elodie BRELOT (Directrice) et Vivien LECOMTE (chargé d'animation)

Les acteurs du site :

3. SM3A, représenté par Robert DECHAMBOUX (Élu) et Claire BRIVET (Chargée de mission Arve Pure)
4. CHAL, représenté par Pascal DI MAJO (Ingénieur service techniques)

Le consortium scientifique :

5. ENTPE, LEHNA-IPE, représenté par Yves PERRODIN
6. Université de Limoges, GRESE et UMR Inserm 1092, représenté par Christophe DAGOT
7. INSA Lyon, DEEP, représenté par Jean-Luc BERTRAND-KRAJEWSKI
8. Université Paris Sud, UMR 8079, CNRS AgroParis Tech, représenté par Yves LEVI
9. ISA, équipe TRACES, représentée par Emmanuelle VULLIET et Laure WIEST

Les industriels :

10. La société Suez, représentée par Adriana GONZALEZ OSPINA

Les partenaires de l'observatoire sont :

1. L'agence de l'eau RMC
2. La Région Auvergne - Rhône-Alpes
3. Le Département de la Haute-Savoie
4. L'Agence Régionale de la Santé –Rhône-Alpes
5. L'Agence Régionale de la Santé –ARS DT 74
6. La Direction Départementale du Territoire – DDT 74
7. La CIPEL
8. L'ONEMA
9. Le Ministère en charge de la Santé
10. Le Ministère en charge de l'Écologie
11. L'Union européenne

Les acteurs de SIPIBEL en quelques chiffres

-32 organismes membres et partenaires

-Dont 10 équipes de recherche

-Des partenaires français et suisses

-Une liste de diffusion de 110 personnes

Les partenaires de projets de SIPIBEL :

En 2015, ils sont au nombre de 11 :

Scientifiques :

1. L'UMR 5557 Écologie microbienne de Lyon, VetagroSup – Lyon 1, représentée par Benoit COURNOYER
2. L'UMR 0042 Carrtel de l'INRA de Thonon, représentée par Agnès BOUCHEZ
3. L'UMR 7285 de l'institut de Chimie de Poitiers, représentée par Jérôme LABANOWSKI
4. L'EHESP de Rennes, représentée par Cyrille HARPET
5. L'EVS, labex IMU, représentée par Jean-Yves TOUSSAINT

Territoire :

6. République et Canton de Genève
7. Services Industriels de Genève (SIG)
8. La Communauté de Communes du Genevois
9. Annemasse Les Voirons Agglomération

Consultants :

10. Équipe de consultantes pilotée par Claire Tillon
11. Christine Bazin, de la plateforme d'innovation technologique PROVAMDEMSE

Figure 8 Gouvernance et structuration des acteurs de SIPIBEL

4-3 Budget et financements

Le budget de SIPIBEL et des programmes développés en appui sur le site, est d'environ **3 millions d'euros au cours de la période 2010-2015** avec une augmentation au fil des années.

En 2015, le budget est d'environ 1 million d'euro, répartis comme suit :

- 300 K€ pour l'Observatoire, dont environ 160 K€ d'analyses ;
- 550 K€ affectés aux projets IRMISE et SIPIBEL-RILACT ;
- 150 K€ pour les autres études et recherche en appui sur le site.

Au-delà de la mise à disposition et de l'autofinancement apportés par les acteurs du projet, le fonctionnement de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE a bénéficié du financement de l'Agence de l'Eau RMC, la Région Rhône-Alpes, le Département de Haute-Savoie et l'Union Européenne (fonds FEDER.)

Les actions de recherche en appui sur SIPIBEL ont pu être engagées rapidement grâce à des fonds communs à SIPIBEL apportés par les Ministères en charge de la Santé et de l'Ecologie dans le cadre de la mise en œuvre des plans nationaux, ainsi qu'un financement via l'ARS Rhône-Alpes dans le cadre du PRSE2.

Enfin, le projet SIPIBEL-RILACT retenu dans le cadre de l'appel à projets national « Micropolluants » bénéficie à ce titre de financements de l'ONEMA et de l'Agence de l'Eau RMC.

5-Valorisation des résultats et ouvertures de SIPIBEL

Le GRAIE, structure d'animation et de valorisation du site pilote de Bellecombe, permet d'assurer :

- le bon fonctionnement de l'observatoire : définition et gestion des campagnes de mesures en adéquation avec les objectifs et les actions de recherche ;
- la capitalisation des données avec un système de gestion des données en cohérence avec les démarches nationales et européennes ainsi que la coordination et diffusion des rapports ;
- l'animation du consortium des scientifiques, en adéquation avec les attentes des partenaires opérationnels pour la définition des programmes de recherche ;
- la valorisation et la diffusion des connaissances issues des programmes d'observation et de recherche, et les actions d'accompagnement favorisant leur appropriation par les acteurs de terrain et les éventuels changements de pratiques qui en découlent ;
- une attention particulière est portée sur les possibilités de développements technologiques (notamment en métrologie) en partenariat avec d'autres structures telles que Provademse ;
- la représentation du consortium et le porté à connaissance de l'expérience et des connaissances acquises dans le cadre de SIPIBEL.

5-1 Sites internet

Depuis octobre 2013, SIPIBEL et IRMISE ont deux sites internet dédiés (figure 9) **:** www.sipibel.org et www.irmise.org.

Figure 9 Capture d'écran des sites internet de SIPIBEL et IRMISE

Ces sites constituent la vitrine du site pilote de Bellecombe et des projets en appui (IRMISE, SIPIBEL-RILACT et programmes de recherches), avec la mise en ligne de nombreux documents (rapports d'études, livrables, etc.), la liste de l'ensemble des publications et une rubrique « actualité ». Ils comportent également un espace réservé facilitant l'information et les échanges entre acteurs et partenaires du programme. Environ **6 500 visites ont été recensées en 2015** sur l'ensemble des deux sites.

En parallèle, un portail Eau et Santé a été créé sur le site du Graie (www.graie.org/graie/th-eau-sante.htm) : il propose aux acteurs de la gestion de l'eau de consulter les actualités de la thématique (conférences, évolutions réglementaires, etc.), des liens vers des sites pertinents et de nombreuses références bibliographiques (publications scientifiques, rapports, etc.).

5-2 La conférence Eau et Santé 2015 :

Les médicaments dans le cycle urbain de l'eau : état des connaissances et stratégies de réduction

Cette manifestation a été organisée par **le Graie et l'ASTEE**, à l'occasion de la fin du projet franco-Suisse Irmise Arve aval. Elle s'inscrit dans le cycle des conférences « Eau et Santé » organisées tous les deux ans depuis 2006.

Elle avait pour objectifs de **valoriser les résultats de SIPIBEL et IRMISE**, mais aussi à faire **un état des connaissances** en sollicitant des communications scientifiques et retours d'expériences européens afin d'échanger sur les stratégies opérationnelles développées sur différents territoires.

Elle visait à :

- repositionner la problématique des médicaments dans la partie urbaine du cycle de l'eau : caractériser les apports des rejets urbains et rejets hospitaliers, connaître la pollution et les risques associés ;
- apporter des réponses aux porteurs de politiques publiques, locales et nationales, sur les outils de suivi et les stratégies d'action envisageables. Les stratégies étudiées et discutées au cours de cette conférence portent sur les différents leviers d'action, de la réduction à la source, avec la mobilisation des acteurs de santé, au traitement en STEP.

La conférence « Eau et Santé » 2015

-2 journées de conférences

-220 participants et 30 intervenants : scientifiques, professionnels de l'eau et de la santé, élus et acteurs du territoire

-Posters et temps de convivialité

-Traduction simultanée français-anglais

Enfin, cette conférence a permis de **croiser les regards des acteurs de l'eau, de la santé, des techniciens et des élus,** comme illustré dans le programme de la conférence et le public mobilisé (voir encadré).

Deux journées de conférence :

-Jeudi 26 mars- Risques et outils de suivi - restitution des résultats de SIPIBEL-IRMISE, Genève

Cette journée a permis de porter à connaissance les résultats des deux projets, avec une matinée axée sur les médicaments dans le système urbain de gestion de l'eau et une après-midi sur les risques et outils de suivi.

-Vendredi 27 mars - Les médicaments dans l'eau : enjeux et leviers d'action, Ville-la-Grand (74)

Cette journée a permis de croiser les regards des acteurs de l'eau et de la santé, des techniciens et des élus, avec un premier temps de cadrage de la problématique et des acteurs et un second temps sur les stratégies de gestion à la source.

Figure 10 Conférence « Eau et Santé » 2015, 27 mars 2015, Ville-la-Grand (74)

La synthèse de cette conférence *est consultable en annexe 1.*

Les actes *sont téléchargeables sur le site internet www.sipibel.org, rubrique « publications ».*

Une prochaine édition *sera organisée à l'occasion de la fin du projet SIPIBEL-RILACT.*

5-3 Participation à des conférences et porté à connaissance

Les membres et partenaires de SIPIBEL portent régulièrement à connaissances les résultats acquis sur le site pilote, à travers :

- **des communications orales** à l'occasion de conférences nationales, séminaires scientifiques internationaux et soutenances de thèse ;
- **des rapports d'étude et des publications scientifiques** ;
- **le groupe de travail régional du Graie** sur la gestion des effluents non domestiques ;
- **le groupe de travail de la Commission Internationale pour la Protection des Eaux du Léman (CIPEL)** sur les pollutions industrielles ;
- **les plans nationaux et régionaux :** SIPIBEL et IRMISE font partie des actions phares du volet Eau et Santé du PRSE2 Rhône-Alpes. SIPIBEL est également cité dans le projet de nouveau « plan national Micropolluants 2016-2021 ».
- **le projet multimédia Méli Mélo**, avec un épisode dédié aux médicaments dans l'eau

Entre 2011 et juillet 2016 :

-8 rapports d'étude publics

-30aine publications dans des revues scientifiques et techniques

-20aine communications dans des conférences nationales

-20aine communications dans des conférences internationales

-4 thèses soutenues (et 1 en cours)

***La liste des publications et communications SIPIBEL** entre 2011 et 2015 est présentée en annexe 4.*

*Cette liste, régulièrement mise à jour, est consultable sur **www.sipibel.org***

5-4 Collaboration et partenariats avec d'autres projets

Dès la mise en place du site pilote, des collaborations ont été initiées avec d'autres porteurs de projets travaillant, pour partie, sur la même thématique que SIPIBEL et en particulier avec :

- **les programmes européens PILLS et NO PILLS** qui portent sur le traitement et la réduction à la source des rejets de micropolluants issus des usages de médicaments : ces programmes intègrent le site pilote de Bellecombe et permettent des mutualisations et comparaisons entre 7 sites européens ;
- **les 13 projets issus de l'appel à projets national « Micropolluants »** initié par l'ONEMA, les Agences de l'Eau et le Ministère de l'Écologie :
  - Plusieurs passerelles ont été établies avec le projet REMPAR (REseau MicroPolluants du bassin d'ARcachon), piloté par le Syndicat Intercommunal du Bassin d'Arcachon (SIBA) afin de disposer d'éléments pertinents de comparaison des projets, tant sur la méthodologie (protocole d'échantillonnage, liste de paramètres, méthodologie d'enquête sociologique, etc.) que sur les résultats.
  - Le Graie porte, avec le soutien de l'ONEMA, une action d'«optimisation et de partage de l'outil base de données SIPIBEL » : les objectifs sont de mutualiser l'effort de structuration d'un outil base de données, de contribuer à la dynamique d'échanges entre les projets et de permettre, à terme, le partage, l'analyse croisée et la capitalisation des données issues des différents projets.

Figure 11 Rencontre entre porteurs de projets organisée par le Graie le 25 mars 2015

II. L'OBSERVATOIRE SIPIBEL-IRMISE : SYNTHÈSE DES RÉSULTATS DE QUATRE ANNÉES DE SUIVI

1-Le dispositif de suivi mis en place

1-1 Objectifs du suivi

Les campagnes de mesures mises en place dans l'Observatoire répondent aux objectifs de **caractérisation des effluents, de leur traitabilité, de leur impact** sur la qualité des milieux récepteurs et des risques potentiels pour la santé. La comparaison des effluents hospitaliers aux effluents urbains est au cœur du dispositif.

Un travail préalable intégrant les études et recherches nationales et étrangères, a été réalisé par l'ensemble des partenaires de SIPIBEL, en appui sur le consortium scientifique, afin d'établir le protocole de suivi des effluents : sites, fréquences et méthodes de prélèvements, échantillonnage et paramètres suivis. Il s'appuie notamment sur le programme ESPRIT réalisé sur l'OTHU (Bécouze, 2010 ; Dembele *et al.,* 2009), sur les résultats du programme Ampère (Coquery *et al.*, 2011 ; Soulier *et al.*, 2011) et des travaux spécifiques aux effluents hospitaliers et à leur écotoxicité (Boilot *et al.*, 2008 ; Brackers De Hugo *et al.*, 2011 ; Jean *et al.*, 2012 ; Karolak *et al.*, 2008 ; Mullot, 2009).

Étant donné le coût des analyses spécifiques, le protocole de suivi retenu résulte également d'un bon compromis technico-économique, discuté entre les scientifiques, les gestionnaires et les partenaires, notamment en termes de fréquences d'analyses et de paramètres. Ce protocole est déjà partagé avec d'autres collectivités souhaitant mettre en place des suivis spécifiques.

Ce protocole de suivi a été mis en œuvre en février 2011 pour l'état zéro, avant la mise en service du CHAL, et maintenu début 2012 pour l'observation après démarrage de l'hôpital. Celui-ci est évidemment évolutif en fonction des observations et de l'évolution des connaissances – très rapide – dans ce domaine. Les recherches menées en appui sur l'observatoire permettent notamment d'élaborer de nouveaux protocoles d'analyse répondant aux besoins de l'observatoire lui-même.

Ces campagnes de prélèvements sont réalisées par le Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe (sites de l'observatoire SIPIBEL) et par les partenaires du projet IRMISE (sites du territoire d'IRMISE), le tout étant coordonné par le Graie.

1-2 Sites et fréquences de prélèvement

Sites du territoire SIPIBEL – bassin versant de la STEP de Bellecombe

Les prélèvements et analyses de l'Observatoire SIPIBEL sont réalisés sur différentes matrices :

- **Les effluents urbains et les effluents hospitaliers de la STEP de Bellecombe** sont gérés en parallèle sur deux filières distinctes. Ils font l'objet de **prélèvements mensuels** en entrée -Eaux brutes- et en sortie -Eaux traitées- ainsi que sur les boues activées des bassins d'aération.
- **3 sites sont suivis sur la rivière Arve,** à raison de **3 campagnes par an,** coordonnées avec les campagnes sur les sites de prélèvement IRMISE (voir ci-après) : un site en amont (« Arve amont »), un site à l'aval immédiat des rejets de la STEP (« Arve aval 1 ») et un site plus éloigné (« Arve aval 2 »).

La figure 12 présente les sites de prélèvement de l'Observatoire SIPIBEL entre février 2012 (mise en service du nouvel hôpital CHAL) et septembre 2014.

La configuration de la STEP de Bellecombe a par la suite été modifiée (injection d'effluent urbain dans la filière hospitalière) pour étudier les conséquences d'un mélange des effluents sur la STEP et sur la qualité de l'effluent rejeté dans le milieu (voir partie IV.).

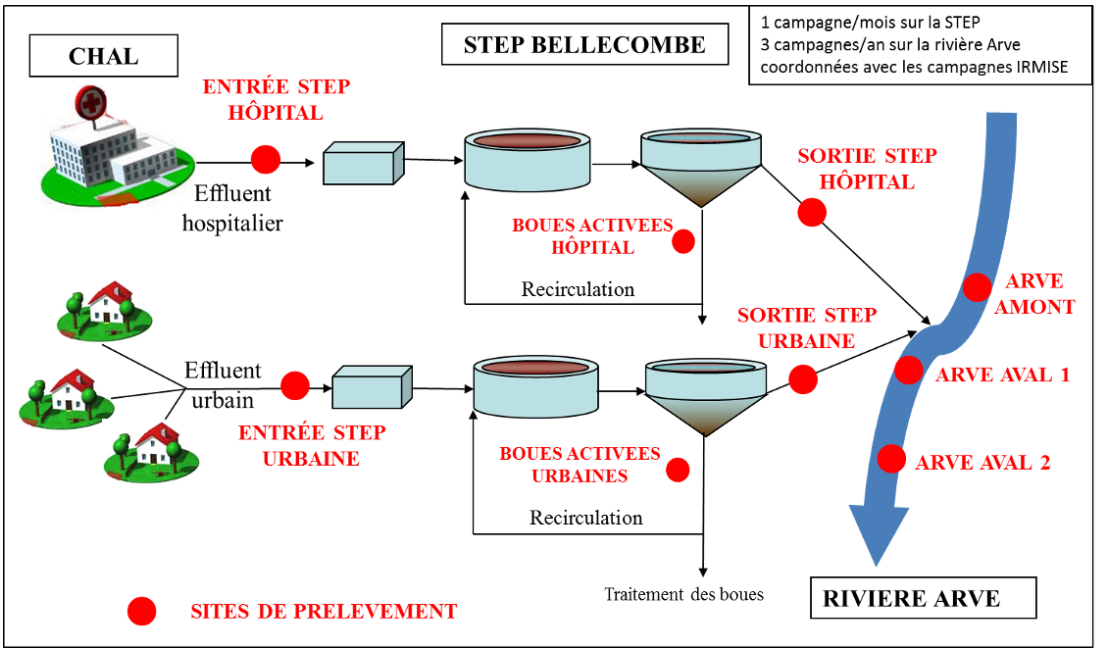


Figure 12 Sites de prélèvement de l'observatoire SIPIBEL entre février 2012 et septembre 2014

Caractéristiques de la station d'épuration de Bellecombe et de ses effluents

La STEP de Bellecombe est desservie par un réseau de 250 km répartis sur 14 communes dont **99% est en séparatif**.

La filière hôpital de la station est desservie par un réseau séparatif de 480 m.

29 postes de relevage permettent aux effluents de passer les reliefs pour être acheminés à la station, dont un qui permet aux effluents hospitaliers de traverser l'Arve.

(i) Procédé de traitement :

Le procédé de traitement est le suivant :

- Le traitement est de type biologique, par boues activées très faibles charges. La station est prévue pour traiter la pollution carbonée et azotée.
- Prétraitement : dégrilleur automatique et dégraisseur – dessableur ; à la sortie du prétraitement, l'eau passe par un canal de mesure composé d'un venturi et d'une sonde à ultra son, pour comptabiliser les volumes et mesurer les débits d'entrée.
- Bassin d'orage : en cas de dépassement du débit admissible de la station (fortes pluies), le volume excédentaire est alors dirigé vers un bassin d'orage de 400 m^3. Si celui-ci est plein, il déverse l'effluent (prétraité) vers le milieu récepteur.
- Traitement biologique :
  - Bassin d'aération (3 bassins dont 1 dédié aux effluents hospitaliers) : c'est un chenal d'aération équipé d'aérateurs horizontaux, dans lequel se développent les micro-organismes permettant de transformer la pollution.
  - Au centre du chenal d'aération, il y a un clarificateur raclé pour séparer l'eau claire de la boue par décantation. Les boues décantées sont recirculées vers le bassin d'aération et vers la zone de contact.
  - L'eau traitée passe par un canal de sortie (un pour les effluents urbains et un autre pour les effluents hospitaliers) avant d'être rejetée dans la rivière Arve, en un point de rejet unique.
- Déshydratation des boues : les boues en excès sont traitées par un filtre presse :
  - Les boues sont extraites dans les bassins d'aération proportionnellement à leur charge entrante.

- Elles sont épaissies par table d'égouttage entre 35 - 50 g/L, suivant la saison.
- Elles sont ensuite déshydratées par filtre presse polymère à membrane à une siccité moyenne de 25 %. Du chlorure ferrique est ajouté pour ajuster le pH et permettre une meilleure floculation.
- Pour finir, elles sont amenées et séchées à une siccité de 85% dans les serres de séchage solaire.
- Les boues issues de la filière urbaine sont ensuite valorisées en agriculture suivant le plan d'épandage de la station ; les boues issues de la filière hôpital sont quant à elles incinérées.

- Matière de vidange – graisses :
  - Un traitement des graisses et matières de vidange a été mis en place grâce à un réacteur biologique spécifique ;
  - Après traitement par oxydation, ces matières sont rejetées dans la filière urbaine de la station.

(ii) Profils hydrauliques :

Les profils hydrauliques sont très différents entre les filières urbaines et hôpital, comme illustré sur la figure 14 et dans les chiffres ci-dessous. Notons en particulier une plus forte variabilité inter-mensuelles de la filière urbaine, davantage influencée par les saisons et conditions météorologiques (pluie, neige, végétation, sols…) en raison de la perméabilité de certains points du réseau.

Figure 13 La STEP de Bellecombe

Les débits
quelques ordres de grandeur

-Effluent du CHAL : 140 m^3/jour

-Effluent urbain : 5 200 m^3/jour en moyenne soit près de 40 fois le débit moyen de l'hôpital

Arve en basses eaux : 20 à 30 m^3/s soit 300 à 500 fois le débit moyen rejeté par la STEP de Bellecombe, et très variable au cours de la journée et des saisons

Le temps de séjour hydraulique de la filière hôpital est par ailleurs très élevé (environ 10 jours contre 1,5 jour pour la filière urbaine) en raison d'un fonctionnement en sous-charge, de l'ordre de 13 % du débit nominal par temps sec et de 20 % de la charge maximale sur le paramètre DCO (environ 1 100 Equivalent habitants DCO en moyenne sur une filière de 5 400 Equivalent Habitants).

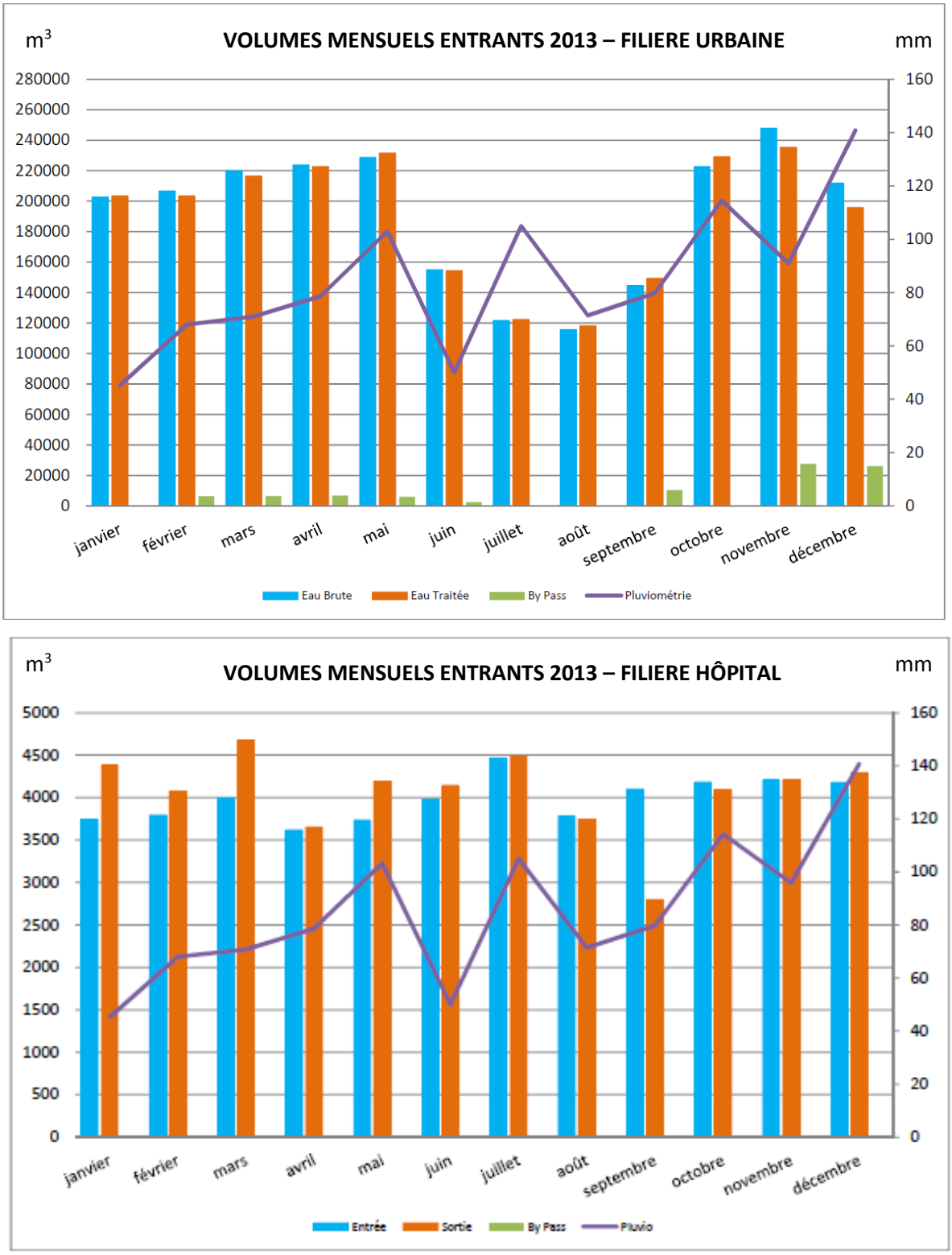


Figure 14 Volume mensuels entrants dans les deux filières de la station d'épuration en 2013
(source : Rapports annuels d'autosurveillance 2013 de la STEP de Bellecombe)

(iii) Caractéristiques des effluents entrant à la STEP :

Comme le montre le tableau I, **l'effluent du CHAL est plus chargé que l'effluent urbain** de la STEP de Bellecombe. **En ce qui concerne la DCO,** il est nettement plus chargé qu'un effluent urbain moyen (sur le bassin RMC) et un peu plus chargé qu'un effluent domestique type, ce qui est classique pour un effluent hospitalier.

Tableau I Concentrations moyennes des paramètres globaux pour l'effluent hospitalier et l'effluent urbain entrant à la STEP de Bellecombe (d'après rapports d'autosurveillance 2012, 2013 et 2014), **valeurs de références d'un effluent domestique et valeurs moyennes d'un effluent urbain du bassin RMC**

	Concentrations moyennes effluent hospitalier STEP Bellecombe	Concentrations moyennes effluent urbain STEP Bellecombe	Valeurs de référence effluent domestique (note du Ministère de l'intérieur de 1999)	Valeurs moyennes d'un effluent urbain du bassin Rhône-Méditerranée Corse (données ARPE PACA)
DBO_5 (mgO_2/L)	379	225	400	251
DCO (mgO_2/L)	**861**	560	800	627
MES (mg/L)	291	272	450 à 600	289
NTK (mgN/L)	67	52	100	68,3
PT ($mgPO_4$/L)	12	7	25	9,3

(iv) Rendements d'épuration :

Comme illustré dans le tableau II, les filières urbaines et hôpital de la station ont **des performances d'épuration nettement supérieures aux exigences réglementaires**. Globalement, les taux d'abattement de la filière hôpital sont légèrement supérieurs à ceux de la filière urbaine, probablement en raison du temps de séjour plus élevé.

Tableau II Synthèse des performances de traitement des filières urbaines et hôpital de la STEP de Bellecombe entre 2012 et 2014 (d'après les rapports d'autosurveillance 2012, 2013 et 2014)

		DBO_5	DCO	MES	NH_4	NTK
CHARGE REJET (kg/j)	Valeur max. arrêté	160	800	224	115	/
	Moyenne 2012 : filière urbaine / filière hôpital	21 / 0,74	148 / 6,39	30 / 2,37	7 / 0,18	9 / 0,28
	Moyenne 2013 : filière urbaine / filière hôpital	22,4 / 0,66	113,8 / 3,13	29,0 / 0,83	8,70 / 0,15	9,75 / 0,37
	Moyenne 2014 : filière urbaine / filière hôpital	23,1 / 0,66	109,9 / 3,13	29,3 / 0,83	18,2 / 0,15	21,9 / 0,37
RENDEMENT (%)	Valeur mini. arrêté	80	75	90	70	/
	Moyenne 2012 : filière urbaine / filière hôpital	97 / 98	93 / 93	98 / 92	96 / 96	95 / 96
	Moyenne 2013 : filière urbaine / filière hôpital	98 / 99	95 / 98	98 / 98	96 / 96	96 / 97
	Moyenne 2014 : filière urbaine / filière hôpital	98 / 99	96 / 98	97 / 98	93 / 98	92 / 97
CONCENTRATION (mg/L)	Valeur max arrêté	25	125	35	15	/
	Moyenne 2012 : filière urbaine / filière hôpital	4 / 6	30 / 53	5 / 22	1 / 1,44	2 / 2,57
	Moyenne 2013 : filière urbaine / filière hôpital	4 / 4	21 / 19	5 / 5	1,69 / 0,86	1,91 / 2,28
	Moyenne 2014 : filière urbaine / filière hôpital	4 / 4	21 / 19	6 / 5	3,79 / 0,86	4,57 / 2,28

Principales caractéristiques de la station d'épuration de Bellecombe et de ses effluents :

1. *Le traitement est de type biologique, par boues activées très faibles charges. La station est prévue pour traiter la pollution carbonée et azotée.*

2. *Le débit de l'effluent hospitalier est bien plus faible que celui de l'effluent urbain (140 m^3/jour vs 5 200 m^3/jour en moyenne).*

3. *Le temps de séjour hydraulique de la filière hôpital est très élevé (10 jours en moyenne contre 1,5 jours pour la filière urbaine).*

4. *L'effluent hospitalier entrant est plus chargé que l'effluent urbain de la STEP de Bellecombe. En ce qui concerne la DCO, il est nettement plus chargé qu'un effluent urbain moyen (sur le bassin RMC) et un peu plus chargé qu'un effluent domestique type, ce qui est classique pour un effluent hospitalier.*

5. *Les filières urbaines et hôpital de la station ont des performances d'épuration nettement supérieures aux exigences réglementaires.*

Sites du territoire IRMISE – bassin versant franco-suisse de l'Arve aval

Entre 2013 et 2015, 13 sites de prélèvement supplémentaires ont été suivis dans le cadre du projet Interreg IRMISE, étendant le territoire d'étude à l'ensemble du bassin versant franco-suisse de l'Arve aval, jusqu'à la ressource en eau destinée à la consommation humaine (figure 15) :

- les effluents traités des **STEP d'Ocybèle (France) et Villette (Suisse)** ;
- 2 sites supplémentaires sur l'**Arve** : situés en aval des 3 points suivis dans SIPIBEL ;
- 2 sites sur le **Rhône** : un premier à la sortie du lac Léman et un second à l'aval de la confluence Arve-Rhône ;
- 3 sites au niveau de la **station de réalimentation de Vessy** et 4 sites sur la **nappe du Genevois** (en France en en Suisse).

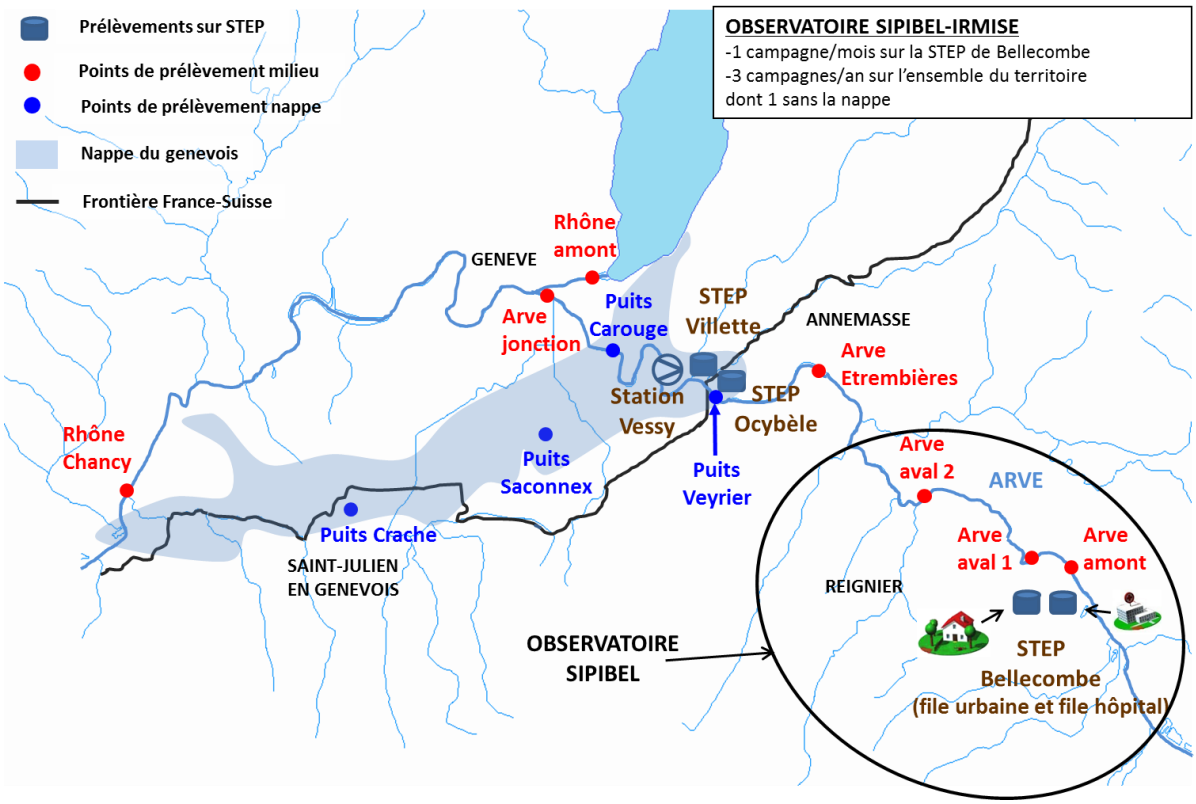


Figure 15 Sites de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE

Ces sites supplémentaires ont fait l'objet de **3 campagnes de prélèvement par an (dont 1 sans la nappe)** entre 2013 et 2015, coordonnées avec les campagnes SIPIBEL.

1-3 Protocoles de prélèvement et d'échantillonnage

S'agissant de détecter et quantifier des polluants à l'état de traces, de nombreuses précautions sont nécessaires en matière de prélèvement et d'échantillonnage. Bénéficiant de l'expérience acquise dans des programmes de recherche antérieurs, le protocole appliqué suit les recommandations du **guide technique opérationnel Aquaref** sur les « Pratiques d'échantillonnage et de conditionnement en vue de la recherche de micropolluants prioritaires et émergents en assainissement collectif et individuel » (Aquaref, Cemagref, 2011), comme détaillé ci-après.

Méthodes de prélèvement

Le tableau III précise le type de prélèvement associé à chacun des sites de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE.

Tableau III Type de prélèvement sur les sites de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE

		Prélèvement 24 h asservi au débit	Prélèvement 24 h asservi au temps avec reconstitution d'un échantillon moyen	Prélèvement 24 h asservi au temps	Prélèvement ponctuel
STEP	Effluents STEP *(6 sites de prélèvement)*	**X** (du mardi au mercredi)			
	Boues activées STEP *(2 sites)*				**X** (mercredi matin)
Cours d'eau	Arve *(5 sites)*		**X** (du mardi au mercredi)		
	« Rhône amont »				**X** (mercredi matin)
	« Rhône Chancy »			**X** (mardi au mercredi)	
Eau souterraine	Station de réalimentation de Vessy *(3 sites)*				**X** (mercredi matin)
	Puits sur la nappe du Genevois *(4 sites)*				**X** (mercredi matin)

Prélèvements sur effluents de STEP

Pour garantir la meilleure représentativité possible des échantillons analysés en laboratoire, les prélèvements des effluents hospitaliers et urbains sont effectués au moyen de **préleveurs automatiques réfrigérés fonctionnant proportionnellement aux volumes écoulés** (figure 16).

Les prélèvements élémentaires de 100 mL sont regroupés dans un seul récipient contenant l'échantillon moyen 24 h : en moyenne, l'échantillon moyen 24 h est ainsi constitué d'environ 200 prélèvements élémentaires. Les pas de volumes des prélèvements élémentaires sont fixés à partir des données de débits de la veille de la campagne de prélèvement.

Pour éviter les risques de forte dilution liés au temps de pluie, les campagnes de mesure n'ont lieu que lorsque le débit entrant de la file urbaine de la STEP de Bellecombe est **inférieur à 6 000 m^3/jour** (le débit de référence par temps sec de la station étant de 6 400 m^3/jour), sur 24 heures, **du mardi au mercredi.**

Figure 16 Prélèvements en sortie de la filière urbaine de la STEP de Bellecombe (à gauche) et sur l'Arve (à droite).

Prélèvements sur l'Arve et le Rhône

Un préleveur portatif (24 flacons verre 350 mL) est utilisé sur chacun des sites de prélèvement de l'Arve et du Rhône (figure 16). Des prélèvements élémentaires de 170 mL sont effectués à un pas de temps de 10 min (soir 144 prélèvements élémentaires) : pour des raisons de volume nécessaire aux analyses, les flacons des sites « Arve amont », « Arve aval 1 » et « Arve aval 2 » (observatoire SIPIBEL) sont changés et les préleveurs relancés deux fois durant les 24 heures de la campagne.

Concernant les points de l'Arve, l'échantillon moyen 24h est ensuite reconstitué en mélangeant les sous-échantillons proportionnellement au débit mesuré par les stations de mesure gérées par EDF (station pont d'Arthaz) et l'Etat de Genève.

Pour des raisons de dilution et de faisabilité de terrain, ces prélèvements sur l'Arve et le Rhône ont lieu **en période de basses eaux**, c'est-à-dire durant l'automne ou l'hiver.

Homogénéisation et distribution de l'échantillon

L'échantillon moyen obtenu grâce aux prélèvements élémentaires est **homogénéisé mécaniquement** au moyen d'une pale d'agitation et distribué dans les flacons destinés aux différents laboratoires d'analyses **à l'aide d'une pompe**, selon le mode suivant : distribution en **trois remplissages partiels de 1/3, 1/3, 1/3** pour l'ensemble des flacons (à l'exception de celui destiné aux analyses de COV qui doit être rempli en une seule fois et bouché immédiatement sans bulle d'air).

Matériel utilisé et rinçages

Pour limiter au maximum les phénomènes de contamination et d'adsorption, le matériel utilisé est conforme aux préconisations retenues pour les campagnes **RSDE** (Programme national de recherche des substances dangereuses dans l'Eau) : éléments de préleveurs et petit matériel en contact avec l'échantillon en **verre et téflon** principalement.

En complément, l'ensemble du matériel utilisé (préleveurs, flacons, pompe, tuyaux, etc.) est nettoyé entre chaque campagne de prélèvement, selon le protocole détaillé en annexe 2.

Blancs de prélèvement

En complément, des tests de « blancs de prélèvement » (mesure en amont et en aval de la chaîne de prélèvement) sont régulièrement effectués sur chacun des préleveurs afin de contrôler la fiabilité du protocole et valider/corriger les données collectées :

- Des blancs de prélèvement avec de l'eau déminéralisée : ils permettent d'évaluer les phénomènes de contamination éventuelle de l'échantillon ;
- Des blancs de prélèvement avec de l'échantillon réel : ils permettent d'évaluer les phénomènes d'adsorption éventuelle des composés sur le matériel utilisé.

Le protocole de ces campagnes de blancs de prélèvement est détaillé en annexe 3.

1-4 Les paramètres suivis

Récapitulatif des paramètres suivis

L'observatoire se concentre sur les paramètres significatifs en termes d'observation et qui sont communs à plusieurs actions de recherche. Les analyses portent sur les paramètres classiques, mais aussi sur des paramètres spécifiques aux activités de soin et sur des indicateurs permettant d'évaluer à terme les risques pour l'environnement et pour la santé.

Au total, **plus de 130 paramètres sont suivis**, comme présenté dans le tableau IV.

Tableau IV Paramètres suivis dans les sites de prélèvement de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE
(nombre d'analyses par site de prélèvement et par an entre 2012 et 2014)

	PARAMÈTRES	SIPIBEL				IRMISE		
		Entrées STEP Bellecombe	Sorties STEP Bellecombe	Boues activées	Arve	Sortie STEP Ocybèle et Villette	Arve et Rhône	Nappe Genevois
PHYSICO-CHIMIE	**Paramètres autosurveillance :** DBO_5, DCO, MES, azote et phosphore pour les eaux – Siccité et % fractions organique/minérale pour les boues - ***Laboratoire prestataire LAEPS***	12	12	12	3	3	3	2
	DCOdure et NTK dure - ***Labo. prestat. LAEPS***	12	3			3		
	Autres paramètres classiques : pH, conductivité, COT, COD, COV et AOX ***Labo. prestat. LAEPS***	12	3		3	3	3	2
	Métaux : Zn, Cu, Ni, Pb, Cr, Gd, Hg, As et Cd *(sur fractions dissoute et particulaire pour les entrées de STEP, dissous uniquement sur les autres matrices)* – ***Labo. prestat Asposan***	12	3	12	3	3	3	2
	Alkylphénols - ***Labo. prestat. Alpachimie***	12	3	3	3	3	3	2
	Indicateurs familles de détergents : composés anioniques, cationiques et non ioniques - ***Labo prestat. Eurofins***	12	3		3	3	3	2
	Médicaments : 15 molécules - ***ISA***	12	12		3	3	3	2
MICRO-BIOLOGIE	**Intégrons de multirésistance -** ***Univ. Limoges***	12	12	12	3	3	3	1
	Pseudomonas aeruginosa : pathogènes opportunistes - ***Vet'agro sup***	12	12		3	3	3	2
BIOESSAIS	**Bioessais** sur micro-crustacés et micro-algues (pas d'essai algues sur l'Arve) - ***Provademse***	3	3		3			
	Essais de génotoxicité : SOS Chromotest, essai micronoyau ***(Labo prestati. Toxem),*** essai des comètes ***(ENTPE)***	3	3					
	Détection d'effets perturbateurs endocriniens – ***Univ. Paris Sud***	3	3		3			
HYDRO-BIOLOGIE	**Indices de biologiques de qualité d'un cours d'eau :** IBGN DCE et IBD ***Bureau d'étude Gay Environnement***				2			

Les résidus de médicaments

Les médicaments en France
(ANSES, 2014)

-2 800 substances actives

-11 000 médicaments

-un français consomme en moyenne 48 boites de médicaments par an (chiffre stable)

-53 % des quantités vendues sont à prescription obligatoire

Liste des composés suivis :

Les médicaments cibles ont été sélectionnés en fonction de leur consommation (en milieu hospitalier et/ou domestique), de leur risque potentiel pour l'environnement et la santé (bioaccumulation, effets toxiques mis en évidence) et des possibilités analytiques des laboratoires : **15 molécules** ont été retenues à ce jour (analysables dans une méthode unique), parmi les 62 envisagées initialement :

- Analgésiques : paracétamol et acide salicylique ;
- Anti-inflammatoires : kétoprofène, diclofénac et ibuprofène ;
- Bétabloquants : aténolol et propranolol ;
- Antifongique : éconazole ;
- Hormone : éthinylestradiol ;
- Antidépresseur : carbamazépine ;
- Antibiotiques : sulfaméthoxazole, ciprofloxacine, aztreonam, meropenem et vancomycine.

À noter que l'analyse n'a porté que sur **la fraction dissoute des composés parents** (pas de mesure de la fraction particulaire ni des métabolites/produits de dégradation des médicaments).

Méthode d'extraction et d'analyse :

La méthode utilisée pour analyser les résidus de médicaments comprend **une extraction sur phase solide (SPE)** suivie par une analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem **(CL-SM/SM)**. Cette stratégie a été élaborée à partir de méthodes publiées et validées sur des eaux de surface, effluents urbains (Gros *et al.,* 2006) et effluents hospitaliers (Gomez *et al.,* 2006).

Plus précisément, après prélèvement et conservation à 4°C, les échantillons d'eaux sont traités dans les 24 heures suivant le prélèvement, en 4 étapes :

- Filtration sur filtre en fibre de verre 0,7 µm : cette étape permet de récupérer uniquement la fraction dissoute de l'échantillon et d'assurer un rendement répétable d'extraction par SPE
- Dopage avec une solution de standards internes (Paracetamol-d3, Sulfamethoxazole-d4, Ciprofloxacine-d8, Miconazole-d5, Ketoprofen-d4, Diclofenac-d4, Ibuprofen-d3, Salicylic Acid-d6, Atenolol-d7, Propranolol-d7, Ethinylestradiol-d4, Carbamazepine-d10) : ainsi, chaque médicament est quantifié par étalonnage interne, avec son propre standard interne ; seule méthode, à l'heure actuelle, qui permette une quantification fiable dans des matrices aussi complexes (Hewavitharana, 2011). Seuls les 3 antibiotiques hospitaliers (vancomycine, aztreonam et meropenem) n'ont pas de standard interne, mais ceux-ci sont analysés semi-quantitativement.
- Extraction SPE sur cartouches Oasis HLB (60 mg, 3 cc) : le volume extrait dépend de l'échantillon, entrée de STEP, 100 mL, sortie de STEP, 250 mL et eau de surface, 400 mL. L'extrait obtenu est congelé jusqu'à analyse.
- Analyse par CL-SM/SM, la technique d'analyse la plus sensible et la plus sélective à l'heure actuelle. Le système utilisé comprend une chaîne Agilent 1100 (colonne : Agilent Zorbax Eclipse C18) couplée à un spectromètre de masse AB Sciex Qtrap 3200.

Enfin, en raison de suppressions de signal récurrentes sur le paracétamol et l'acide salicylique, les échantillons d'entrées de STEP sont également injectés directement en CL-SM/SM pour confirmer la quantification de ces deux médicaments.

La sensibilité obtenue de cette méthode est compatible avec l'analyse environnementale, les limites de quantification se situant entre 0,5 et 35 nanogrammes par litre (ng/L) pour les entrées et sorties de STEP et entre 0,1 et 10 ng/L pour les eaux de l'Arve.

Par comparaison, **les limites de quantification des 3 familles de détergents suivies** (agents de surfaces anioniques, cationiques et non ioniques) **sont bien plus élevées** (respectivement de 50 µg/L, 400 µg/L et 300 µg/L).

Les intégrons de multirésistance

(i) Contexte :

Si la découverte et l'utilisation des antibiotiques ont indubitablement permis de larges progrès dans la couverture des soins et la prolongation de la durée de vie, **l'apparition de germes de résistance** voire de multirésistance à ces molécules, devient un problème de santé publique à l'échelle mondiale.

Ainsi, les dernières données (Carlet et Lecoz, 2015) estiment la mortalité liée à la résistance aux antibiotiques à 25 000 morts par an avec des coûts associés de 1,5 à 2 milliards d'euros par an. La prise de conscience de cette problématique donne lieu actuellement à de nombreux apports de la communauté internationale afin de prendre d'urgence des mesures pour endiguer la progression du phénomène sachant qu'il s'avère actuellement plus rapide que la synthèse de nouvelles molécules antibiotiques. Ainsi :

- 3 antibiotiques ont été ajoutés en 2015 sur la **liste de surveillance** de la communauté européenne ;
- l'OMS, les états unis ont proposé **un plan national pour combattre les antibiotiques** ;
- un **groupe de travail** nommé par la ministre de la santé en France a publié son rapport sur la préservation des antibiotiques suite notamment aux conclusions de la conférence environnementale de 2015 (Carlet et Lecoz, 2015) ;
- les Pays-Bas, la Suisse, l'Écosse ont également publié différents **états des lieux** et des programmes de recherche européens ont publié des **rapports et recommandations** (No Pills, 2015 ; Pills, 2012).

(ii) Méthodologie :

Les études classiques sur la recherche de germes résistants aux antibiotiques portent des biais liés aux méthodes de culture bactérienne utilisées. En effet, il est reconnu aujourd'hui que seulement 1 % des bactéries peuvent être cultivées par ce type de méthode. C'est pourquoi les recherches se sont orientées vers le développement d'**outils moléculaires** permettant de travailler directement sur les échantillons sans passer par des étapes de cultures. Une des méthodes actuelles est la recherche des intégrons.

Les intégrons de multirésistance (IMs) sont des éléments génétiques pouvant à la fois acquérir, échanger et exprimer des gènes présents sous forme de cassettes (figure 17). Les IMs ont été montrés comme fortement impliqués dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram négatives, et sont considérés comme **un marqueur de la multirésistance**. Plus de 130 cassettes de gène de résistance, conférant des résistances à la quasi-totalité des familles d'antibiotiques connues, ont été décrites dans les IMs.

Dans ce travail, les intégrons de classe 1, 2 et 3 ont été détectés par PCR en temps réel multiplex et les gènes encodant l'ARNr 16S par PCR en temps réel simplex en utilisant les amorces universelles 338F et 518R. La quantité de bactéries présentes dans chaque échantillon a été estimée en divisant la quantité de gènes codant l'ARNr 16S déterminée par le nombre moyen de copies de gène codant l'ARNr 16S par bactérie. Le calcul de la concentration d'IR et des « bactéries » a été réalisé en soustrayant les valeurs obtenues pour le témoin d'extraction, et en prenant en compte le volume d'eau filtrée ou la masse sèche extraite pour les matrices solides. Pour chaque extrait d'ADN, l'abondance relative des IR a été calculée en divisant la concentration moyenne d'IR par la concentration moyenne de Bact-16S estimée.

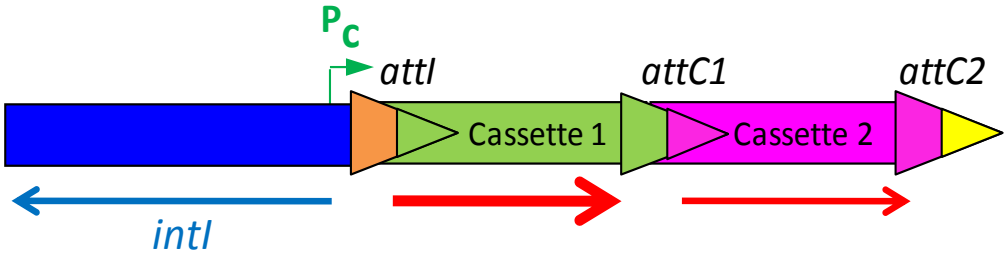


Figure 17 Représentation schématique d'un intégron -
Pc : promoteur, AttI, AttC1, attC2 : site de recombinaison, IntI : gene de l'intégrase

Les *Pseudomonas aeruginosa*

(i) Intérêt du suivi :

Parmi les sources de contaminants microbiens, se distingue le cas des fèces qui peuvent contenir 10^{11} bactéries par gramme, composés de 5 phyla regroupant 500 espèces dont des agents pathogènes chez 10-35 % des individus (7 % virus, 40 % protozoaires, 45 % bactéries).

Des campagnes de caractérisation menées dans plusieurs hôpitaux français (Leprat, 1999 ; Emmanuel *et al.,* 2005 ; Boillot, 2008) ont mis en évidence, outre la présence de composés chimiques, la présence d'une grande diversité de contaminants microbiologiques (flore microbienne banale et agents pathogènes) d'origine fécale ou provenant des infections en cours de soins. Parmi les **agents** pathogènes responsables d'**infections nosocomiales**, les *Pseudomonas aeruginosa* arrivent en troisième position (Ministère de la Santé – bilan 2012).

Le portage rectal en agent pathogène montre une plus forte prévalence en milieu hospitalier et par exemple 20 % de portage en *P. aeruginosa* chez les particuliers contre plus de 60 % à l'hôpital (Lavenir *et al.,* 2008). De plus, *P. aeruginosa* est **un agent pathogène opportuniste** retrouvé dans l'environnement et capable de coloniser et d'infecter les individus immuno-déprimés ou sains. Des études ont été réalisées sur l'efficacité d'élimination des microorganismes par le traitement des effluents via des « boues activées » ; les abattements observés étaient de l'ordre de 1,2 log à plus de 3 log selon les types de bactéries mais les eaux en sortie de traitement pouvaient contenir des organismes pathogènes (Baumont *et al.,* 2004).

***P. aeruginosa* est un excellent indicateur** pour évaluer (1) l'efficacité des traitements d'épuration sur les bactéries d'origine hospitalière et (2) l'impact des rejets d'une STEP sur le milieu récepteur.

(ii) Méthodologie :

Une adaptation de la méthode culturale a été retenue pour le suivi des *P. aeruginosa* dans les eaux brutes et traitées des filières hospitalières et urbaines, dans les eaux de surface de l'Arve et du Rhône et les eaux de nappe, en raison des grandes variations d'effectifs. Une méthode basée sur la méthodologie du **Nombre le Plus Probable (NPP)** (figure 18) associée à un **diagnostic PCR** de *P. aeruginosa* a été utilisée pour dénombrer cette bactérie (Petit *et al.,*, soumis).

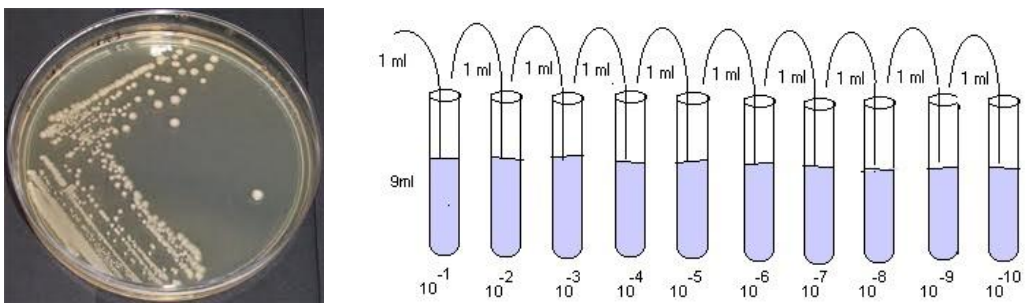


Figure 18 Méthodologie du Nombre le Plus Probable (NPP)
pour les dénombrements des *Pseudomonas aeruginosa*

Le principe de la méthode NPP repose sur une estimation statistique de la densité en micro-organismes à laquelle des intervalles de confiance sont attachés. La méthode est progressive : il faut d'abord évaluer la croissance dans les tubes contenant un agent sélectif, et déterminer ensuite par PCR spécifique si l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est présente. Le gène *ecfX* a été ciblé. Ce gène code un facteur sigma, EcfX, impliqué dans l'acquisition du Fer. Le gène *ecfX* est spécifique de *Pseudomonas aeruginosa* (Lavenir *et al.,* 2007), et ce marqueur est désormais la référence pour l'identification de cette bactérie par des tests PCR (classique, PCR quantitative, ou, comme dans cette étude, NPP-PCR). À partir du nombre et de la répartition des tubes positifs, un nombre caractéristique est retenu pour chaque échantillon. En se référant à la table statistique standard NPP (http://www.jlindquist.net/generalmicro/102dil3.html), le nombre caractéristique est converti en nombre le plus probable de *Pseudomonas aeruginosa* par unité d'échantillon (NPP/100mL). Chaque analyse est réalisée trois fois, de façon indépendante. La limite de détection de la méthode NPP est de 0,03 NPP/mL soit 3 NPP/100mL ; cette limite est plus sensible que celle de la PCRq.

Les bio-essais

Quatre familles de bio-essais ont été retenues pour le suivi écotoxicologique et de la perturbation endocrinienne des effluents hospitaliers et urbains, ainsi que de l'Arve:

- Des essais d'écotoxicité aiguë,
- Des essais d'écotoxicité chronique,
- Des essais de génotoxicité et de mutagénicité,
- La détection de la présence de perturbateurs endocriniens.

Tableau V Liste des bio-essais mis en œuvre dans le cadre du programme sur le site SIPIBEL - essais réalisés dans le cadre d'une collaboration entre le LEHNA (UMR 5023, Université de Lyon, CNRS, ENTPE), l'UMR 8079 (Université Paris-Sud, CNRS, AgroParisTech), POLDEN (INSAVALOR) et TOXEM.

Famille de bio-essais	Bio-essais
Essai d'écotoxicité aiguë	Inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* **Norme ISO 6341**
Essais d'écotoxicité chronique	Inhibition de la croissance de l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata* **Norme NF T90-375**
	Inhibition de la reproduction du rotifère *Brachionus calyciflorus* **Norme NF ISO 20666**
	Inhibition de la croissance de l'ostracode *Heterocypris incongruens* selon protocole du concepteur du Toxkit® **Norme ISO 14371**
Essais de génotoxicité	Essai des comètes sur lignée RTL W1 (épithélium hépatocytaire de truite arc-en-ciel), sur extrait **Devaux *et al.*, 1997 ; Kienzler *et al.*, 2012**
	SOS chromotest, sur extrait **Quillardet *et al,* 1985; White *et al.*, 1996**
	Test de dénombrement des micronoyaux sur lignée cellulaire CHO (Chinese Hamster Ovary), sur extrait **Norme OCDE TG 487**
Détection d'effets perturbateurs endocriniens	Perturbation de la transcription des récepteurs aux estrogènes sur lignée cellulaire MELN, sur extrait **Jugan *et al.*, 2009**
	Perturbation de la transcription des récepteurs aux hormones thyroïdiennes sur cellules PC-DR-LUC, sur extrait **Jugan *et al.*, 2007**

À l'issue des premières campagnes d'analyses, **le protocole a été modifié** de manière à optimiser la batterie des outils de détection sélectionnés. Des essais montrant systématiquement l'absence d'effets ont été retirés comme, notamment l'essai Microtox. Des essais sur des extraits obtenus après extraction solide/liquide SPE (Solid-Phase Extraction) des effluents non filtrés ont été ajoutés pour une meilleure prise en compte de la globalité des **polluants dissous et particulaires**. Les bio-essais finalement retenus dans la procédure sont présentés dans le tableau V.

Les essais perturbateurs endocriniens sont réalisés sur des cultures de cellules de mammifères génétiquement modifiées pour donner un signal facilement détectable lorsque les récepteurs aux hormones sont stimulés. Il est ainsi possible de mesurer si le récepteur est activé comme le ferait une hormone (action mimétique) ou si le récepteur est bloqué et inactivé (action inhibitrice). La lignée MELN permet d'observer la réaction de perturbation du récepteur ERα aux hormones stéroïdiennes et le modèle PC-DR-LUC permet de mesurer la réaction de perturbation du récepteur TRα aux hormones thyroïdiennes (Jugan *et al.,* 2007 ; Jugan *et al.,* 2009). En complément, un essai de viabilité cellulaire est réalisé afin de vérifier l'impact toxique de l'extrait d'eau sur les cellules en culture.

1-5 Bilan des campagnes réalisées et gestion des données

Bilan des campagnes réalisées

Afin d'établir un état zéro, deux campagnes de mesures ont été menées entre février 2011 et janvier 2012 sur les sites de prélèvement suivants :

- les effluents urbains de la STEP de Bellecombe ;
- l'Arve : en amont, en aval immédiat et en aval éloigné du rejet de la STEP ;
- un effluent industriel (une fromagerie) rejeté à proximité du point amont de l'Arve : afin de pouvoir distinguer les contributions des rejets (STEP et fromagerie) dans l'Arve ;
- l'effluent de l'ancien hôpital d'Annemasse (avant traitement) a été suivi afin d'établir une liste pertinente de paramètres analytiques, et de caractériser, a priori, les rejets du futur hôpital CHAL. Ces analyses ont ainsi permis d'obtenir des valeurs de référence pour la convention de déversement à l'ouverture de l'hôpital en février 2012.

Dès la mise en service du nouvel hôpital CHAL en février 2012, l'observatoire SIPIBEL a été mis en place, suivi début 2013, des premières campagnes sur le territoire d'IRMISE.

Tableau VI Quelques grands chiffres de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE
(nombre de campagnes, échantillons et données « résultats » sur période février 2011-décembre 2015)

	SIPIBEL			IRMISE (2013-2015)			TOTAL
	Etat zéro (hôpital Annemasse, fromagerie, Arve et STEP - 2011)	STEP Bellecombe (2012-2015)	Arve (2012-2015)	Sortie STEP Ocybèle et Villette	Arve et Rhône	Nappe Genevois	
Nombre de prélèvements réalisés	2	38	9	9	9	7	**40 campagnes**
Nombre d'échantillons analysés	14	220	26	18	36	40	**350 échantillons**
Nombre de données « résultats » produites	1 600	26 000	3 800	2 000	4 000	4 000	**41 000 données**

Le tableau VI présente quelques grands chiffres bilan de l'Observatoire. Entre février 2011 et décembre 2015, environ 350 échantillons ont été prélevés et analysés, sans compter les blancs de prélèvement (environ 50 échantillons).

La base de données SIPIBEL

Dès 2013, le Graie et les partenaires de SIPIBEL ont souhaité mettre en place un outil base de données permettant :

- **de stocker** tous les résultats des campagnes de mesure de l'observatoire ;
- **de qualifier** ces données (qualité correcte, douteuse ou incorrecte) à partir de différents critères liés à la qualité de l'échantillon (matériel, échantillonnage, etc.), de l'analyse et aux résultats des blancs de prélèvement (figure 19);
- **et de partager ces données** avec l'ensemble des partenaires pour permettre leur exploitation.

La base de données SIPIBEL

Plus de 40 000 données compilées :
35 000 résultats d'analyses physico-chimiques
1 000 résultats d'analyses microbiologiques
5 000 résultats de bioessais
100aine de mesures hydrobiologiques

9 critères de validation de la donnée :
qualité de l'échantillon
qualité de l'analyse
résultats des blancs de prélèvements

Des tableaux statistiques et graphiques automatiques
pour faciliter la visualisation des résultats et fournir des indicateurs d'avancement

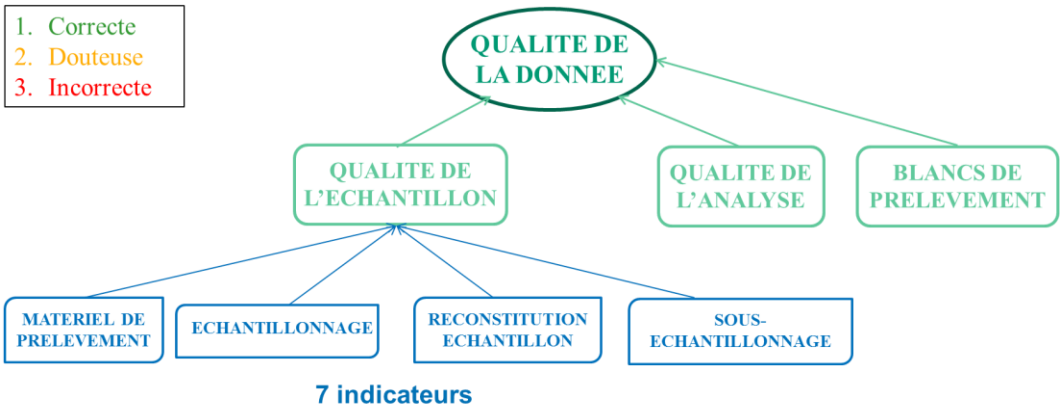


Figure 19 Procédure de validation des données

Il a alors été fait le choix de développer cet outil sous **format Excel**, afin d'en faciliter la consultation par l'ensemble des partenaires. Le support a été conçu à partir du format de la base de données du réseau NORMAN (géré par l'INERIS) et intègre une présentation des résultats ludique avec notamment des graphiques automatiques et croisés dynamiques (figure 20).
Avec le soutien de l'Onema, le Graie mène, en 2016, une action visant à optimiser et adapter cet outil base de données afin de le **partager avec d'autres porteurs de projets volontaires.**

Date	Sampling site	Individual compound	Type of concentration	Value	Unit	Analysis problem	Analysis quality	Sample quality	Data quality
16/2/2012	ENTREE STEP BELLECOMBE HOPITAL	1,2-dichloroethane	3 - Less than LoQ		µg/L	Valeur sous-estimée	UNCERTAIN	UNCERTAIN	UNCERTAIN
4/9/2012	ENTREE STEP BELLECOMBE URBAIN	Paracetamol	1 - Individual Value	5205	ng/L	Valeur sous-estimée	INCORRECT	CORRECT	INCORRECT
22/1/2013	ARVE AVAL 1	Nickel	3 - Less than LoQ		µg/L		CORRECT	INCORRECT	INCORRECT
23/7/2015	SORTIE STEP BELLECOMBE HOPITAL	Anionic compounds	2 - Less than LoD		mg/L		CORRECT	CORRECT	CORRECT
-	-	-			-			-	CORRECT

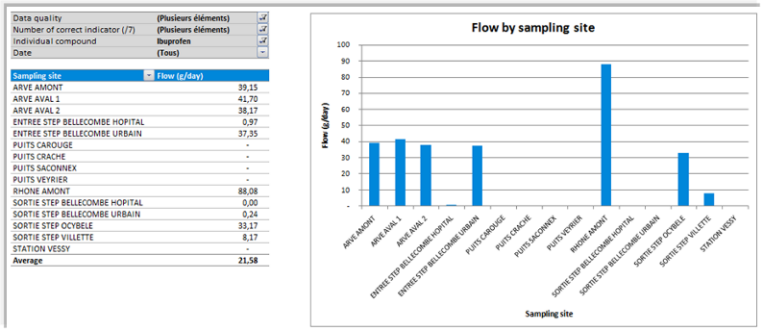


Figure 20 Extraits de la base de données SIPIBEL - tableau de résultats et graphique croisé dynamique

2-Caractérisation des dangers et des effets biologiques des effluents hospitaliers et urbains

Dans cette partie, on s'intéressera uniquement aux effluents **en entrées de la STEP de Bellecombe** (avant traitement), comme illustré en figure 21.

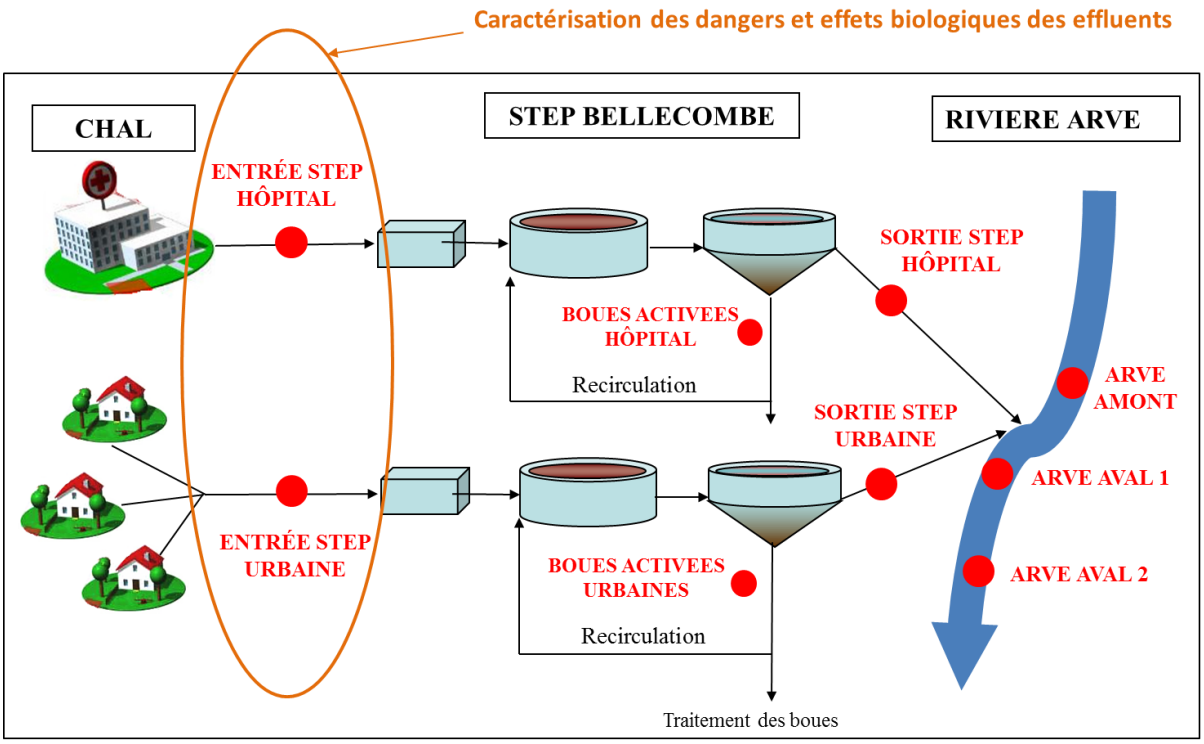


Figure 21 Zone d'étude concernée par cette partie du rapport

L'objectif est ici de caractériser le danger et les effets biologiques des effluents hospitaliers et urbains.

2-1 Résultats des analyses de médicaments et détergents

Concentrations et flux de médicaments et détergents en entrées de STEP

Dans le but d'étudier la spécificité de l'effluent hospitalier issu du CHAL par rapport à l'effluent urbain, quinze médicaments et trois familles de détergents (anioniques, cationiques et non-ioniques) ont été suivis sur le site de SIPIBEL (voir partie 1-4). Les concentrations et fréquences de détection de ces composés sont représentées en figure 22.

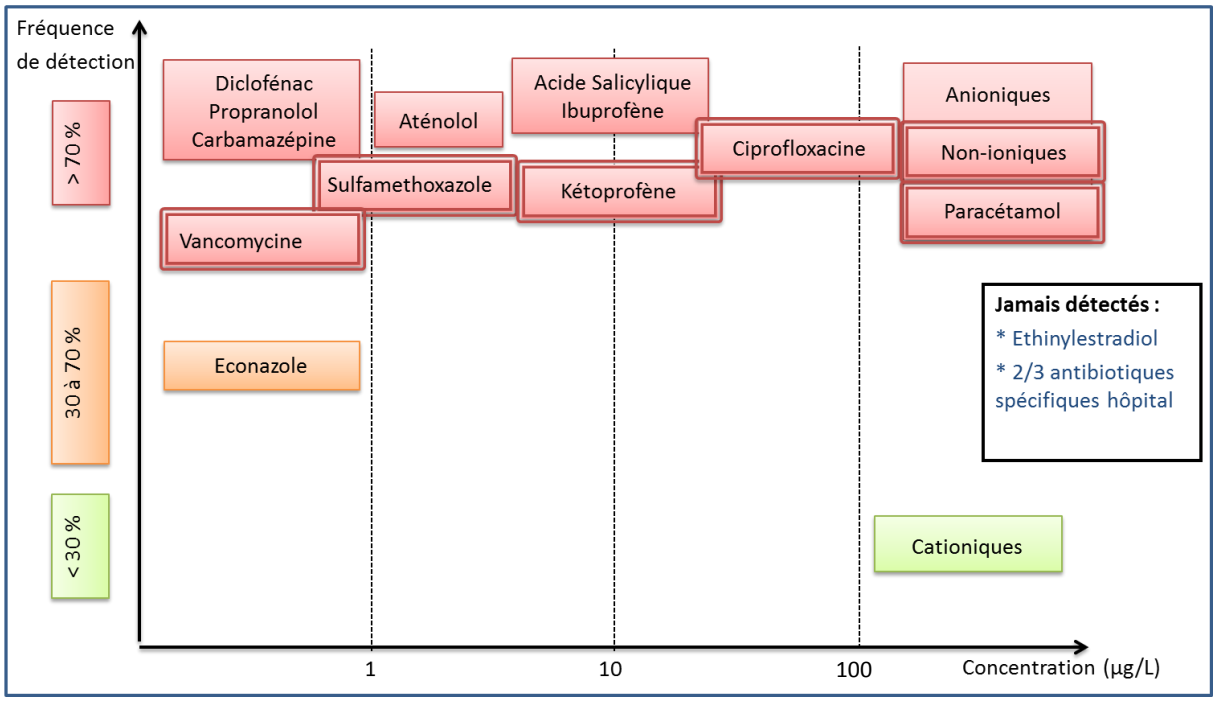


Figure 22 Concentrations et fréquences de détection en médicaments et détergents des effluents hospitaliers issus du CHAL (février 2012 à octobre 2014 ; 30 campagnes) - les molécules présentant des concentrations significativement supérieures à l'effluent urbain sont doublement encadrées

Toutes les molécules recherchées ont été quantifiées au moins une fois dans les échantillons, à l'exception de l'éthinylestradiol et des antibiotiques, méropenem et aztréonam.

Sur les molécules quantifiées, trois catégories peuvent être distinguées :

- Les molécules dont les concentrations sont du **même ordre de grandeur** dans les effluents hospitalier et urbain : les béta-bloquants aténolol et propranolol, l'acide salicylique, l'ibuprofène, la carbamazépine, l'éconazole et les détergents cationiques, ces deux derniers ayant des fréquences de détection inférieures à 50 %.
- Les molécules dont les concentrations sont **significativement inférieures** dans l'effluent hospitalier par rapport à l'urbain : c'est le cas du diclofénac et des détergents anioniques, avec des concentrations en moyenne deux fois supérieures dans l'effluent urbain pour le diclofénac et cinq fois supérieures pour les détergents anioniques.
- Et enfin, les molécules dont les concentrations sont **significativement supérieures** dans l'effluent hospitalier par rapport à l'urbain : le paracétamol, le kétoprofène, les détergents non-ioniques et les 3 antibiotiques ciprofloxacine, sulfaméthoxazole et vancomycine. La différence en concentrations est la plus marquée pour ces derniers, avec des concentrations au minimum 10 fois supérieures dans l'effluent hospitalier. Malgré ces différences en concentrations, le débit de l'effluent urbain étant en moyenne 37 fois plus élevé que celui de l'effluent hospitalier, les flux issus du CHAL restent significativement inférieurs à ceux de l'effluent urbain, sauf pour la ciprofloxacine et la vancomycine (figure 23).

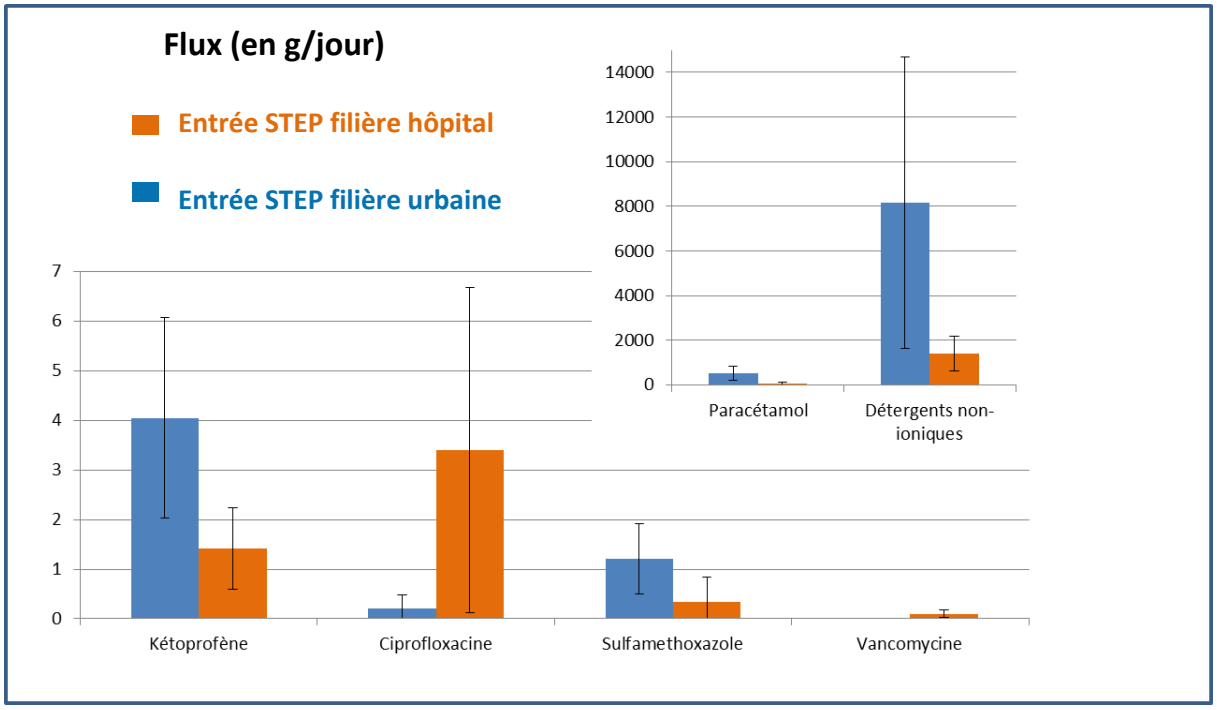


Figure 23 Flux (en g/j) apportés par les effluents urbains et hospitaliers, de molécules dont les concentrations sont supérieures dans l'effluent hospitalier (février 2012 à octobre 2014 ; 30 campagnes)

Les concentrations retrouvées en résidus de médicaments, ainsi que les fréquences de détection sont cohérentes avec la littérature, aussi bien dans l'effluent urbain (Verlicchi *et al.,* 2012) que dans l'effluent hospitalier (Al Aukidy *et al.,* 2014). Bien que récemment répertoriée dans les listes de substances à surveiller, l'**éthinylestradiol** n'a pas été détectée non plus dans plusieurs études (Zorita *et al.,* 2009, Nagarnaik *et al.,* 2010). Ceci peut s'expliquer par le fait que les concentrations auxquelles elle est présente sont généralement très faibles, inférieures au ng/L, alors que les méthodes d'analyse multi-résidus utilisées ici ne permettent pas de la détecter à des seuils aussi bas.

Des concentrations supérieures en **paracétamol, kétoprofène et en antibiotiques**, dans les effluents hospitaliers par rapport aux effluents urbains ont également été observées dans l'étude d'Al Aukidy (Al Aukidy *et al.,* 2014) dans laquelle est présentée une revue des données acquises dans la littérature depuis 2005. Les antibiotiques font d'ailleurs partie de la liste de médicaments prioritaires à surveiller, issue de cette étude, ce qui est confirmé par nos résultats.

En ce qui concerne **les détergents**, les trois familles ont été quantifiées dans les eaux d'entrées de STEP, avec des fréquences de quantification proches de 100 % pour les anioniques et non-ioniques (figure 22). Les données de la littérature sont beaucoup moins nombreuses que pour les médicaments, alors que les concentrations retrouvées dans les eaux usées sont de l'ordre du mg/L, et celles en médicaments de l'ordre du µg/L, soit 1000 fois plus faibles. Néanmoins, les concentrations très élevées en détergents sont cohérentes avec les études précédentes et notamment celles en détergents non-ioniques dans les effluents hospitaliers (Boillot *et al.,* 2008, Nagarnaik *et al.,* 2010, Henriques *et al.,* 2012).

Malgré des concentrations plus élevées au sein de l'effluent hospitalier, la contribution de ce dernier en termes de **flux de résidus de médicaments et détergents** entrant à la STEP de Bellecombe reste inférieure à 30 % sauf pour les antibiotiques ciprofloxacine et vancomycine dont les flux sont en majorité apportés par l'effluent du CHAL. Très peu de données de comparaison sont disponibles dans la littérature ; nos résultats sont néanmoins cohérents avec une étude récente réalisée au Portugal (Santos *et al.,* 2013), qui révèle également la forte contribution de l'effluent hospitalier en termes de flux rejetés d'antibiotiques.

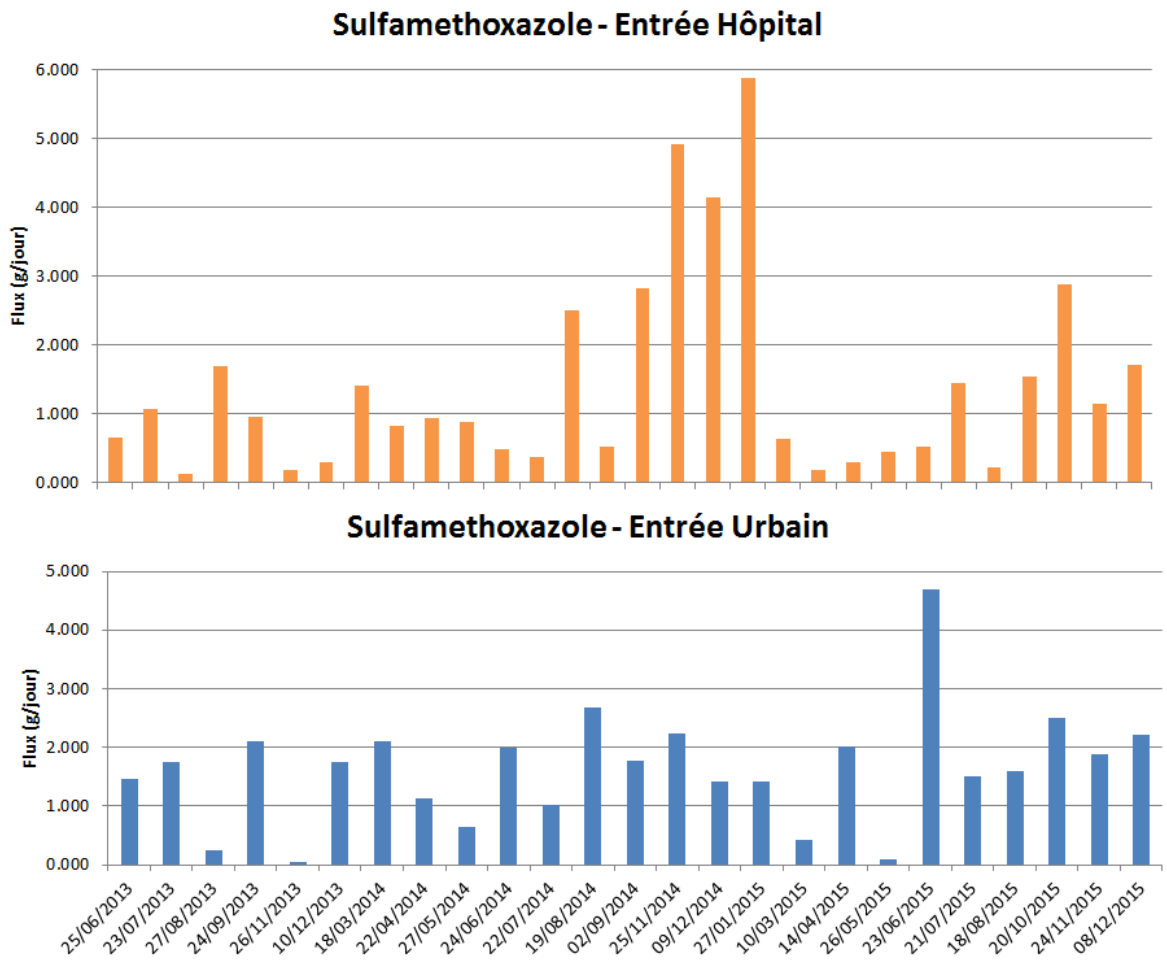


Figure 24: Flux en g/jour de sulfaméthoxazole en entrée des filières hôpital et urbaines de la STEP
(juin 2013 à décembre 2015 ; 25 campagnes)

Enfin, les campagnes mensuelles montrent **une grande variabilité des concentrations**, aussi bien en entrée hôpital qu'en entrée urbaine, avec des coefficients de variation allant jusqu'à 150 % sur les deux filières. Un exemple est donné en figure 24, pour le sulfaméthoxazole. Une hausse des flux de ce composé peut être observée en automne 2014 et 2015, sur la filière hôpital, qui peut être attribuée à une hausse de la consommation durant ces périodes. Hormis ce cas, aucune saisonnalité n'a été observée pour les autres composés, aussi bien sur la filière urbaine qu'hôpital. Ceci est en contradiction avec certaines études publiées (Fernández *et al.*, 2014, Yu *et al.*, 2013) mais, la durée (1 an) et le nombre de campagnes ne sont pas comparables avec le programme SIPIBEL.

Zoom sur les campagnes de 7 jours consécutifs

Les campagnes classiques mensuelles d'échantillons moyens 24 h sont effectuées systématiquement (sauf en cas de problème technique) du mardi au mercredi, pour s'affranchir des éventuelles variations journalières des concentrations et des flux au cours de la semaine dans l'interprétation et la comparaison des résultats.

Afin de détecter et quantifier des fluctuations journalières à l'échelle hebdomadaire, trois campagnes de 7 jours consécutifs ont été effectuées (dates de début : 25/06/2013, 18/09/2013 et 21/05/2014) sur les effluents urbains et hospitaliers, pour l'ensemble des molécules cibles suivies durant les campagnes mensuelles.

(i) Concentrations mesurées pour l'antibiotique ciprofloxacine

À titre d'exemple de résultats, la figure 25 et la figure 26 (pages suivantes) montrent les résultats obtenus lors des trois campagnes de 7 jours pour la ciprofloxacine, respectivement pour les effluents urbains et hospitaliers. Les échelles verticales sont identiques pour chaque type d'effluent afin de faciliter la comparaison visuelle des graphiques.

Concernant les effluents urbains, toutes les valeurs mesurées sont inférieures à la limite de détection (LOD = 1.75 ng/L) pour la première campagne. Cinq valeurs sur sept sont également inférieures à la LOD pour la deuxième campagne, les deux autres valeurs étant de l'ordre de 93 à 98 ng/L. Pour la troisième campagne, seules deux valeurs sur sept sont inférieures à la LOD, les cinq autres valeurs étant comprises entre 78 et 85 ng/L. La concentration moyenne observée sur les 21 jours est de 30 ng/L. Les variabilités inter-journalière et inter-hebdomadaire sont très importantes (coefficient de variation = 137 % sur les 21 valeurs).

Concernant les effluents hospitaliers, les concentrations sont très largement supérieures à celles observées dans les effluents urbains : on passe de quelques dizaines de ng/L à plusieurs dizaines de milliers de ng/L, soit un ordre de grandeur multiplié par 1 000 environ. Les concentrations mesurées sont toutes supérieures à 9 700 ng/L (sauf le 26 juin 2013 où la donnée est manquante). C'est lors de la première campagne que les valeurs sont les plus faibles et les plus resserrées entre 13 600 et 25 900 ng/L (moyenne = 17 600 ng/L, CV = 27 %). Pour la deuxième campagne, les valeurs augmentent significativement et varient de 9 700 à 60 400 ng/L (moyenne = 29 500 ng/L, CV = 58 %). La troisième campagne présente les valeurs les plus élevées, comprises entre 68 700 et 124 500 ng/L (moyenne = 87 000 ng/L, CV = 22 %). De manière générale, les variabilités inter-journalière et inter-hebdomadaire sont assez marquées (CV = 75 % sur les 20 valeurs mesurées) mais de plus faible amplitude relative que pour les effluents urbains.

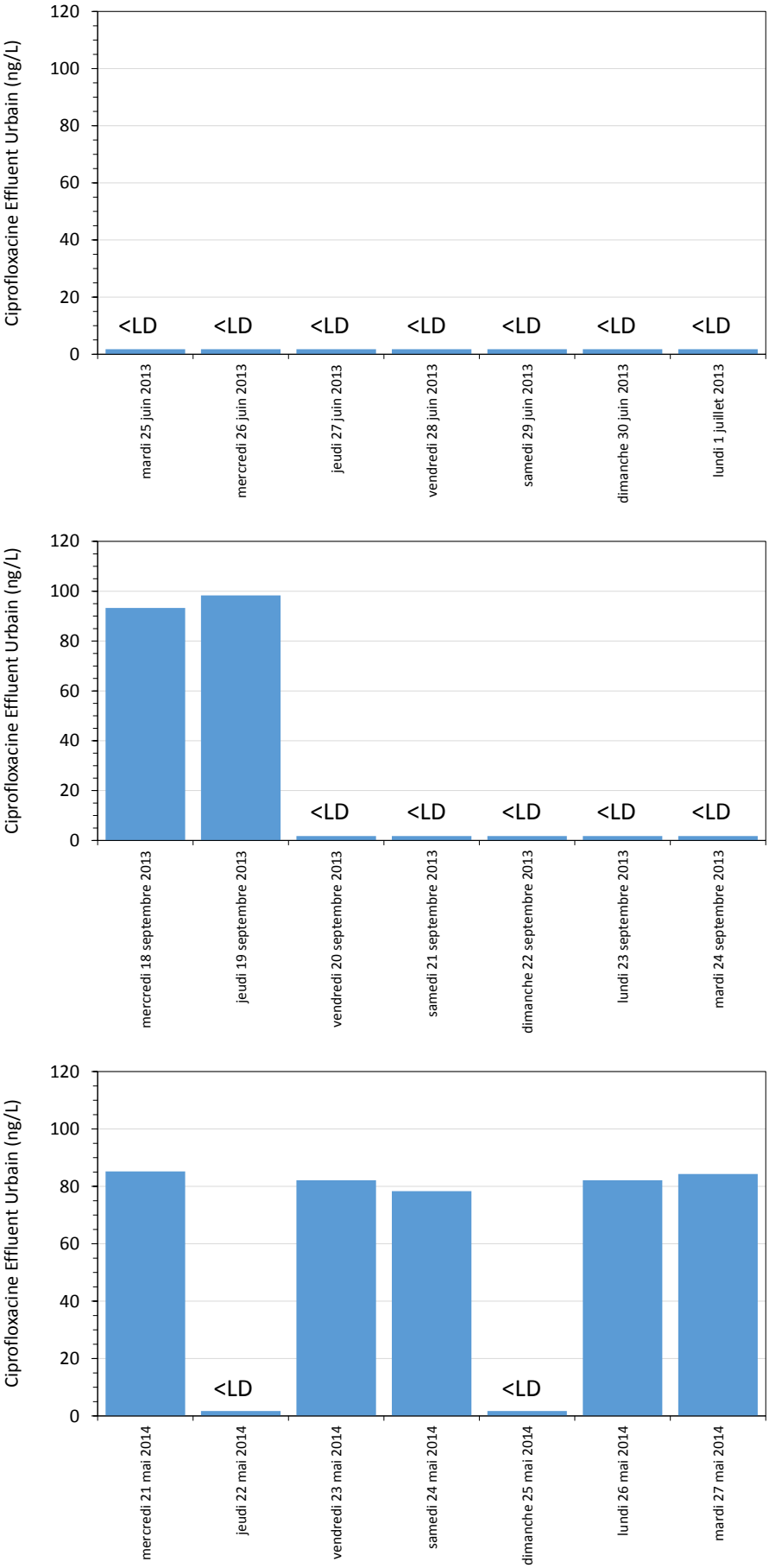


Figure 25 Concentration en ciprofloxacine dans les effluents urbains entrant à la STEP de Bellecombe au cours des 3 campagnes de 7 jours

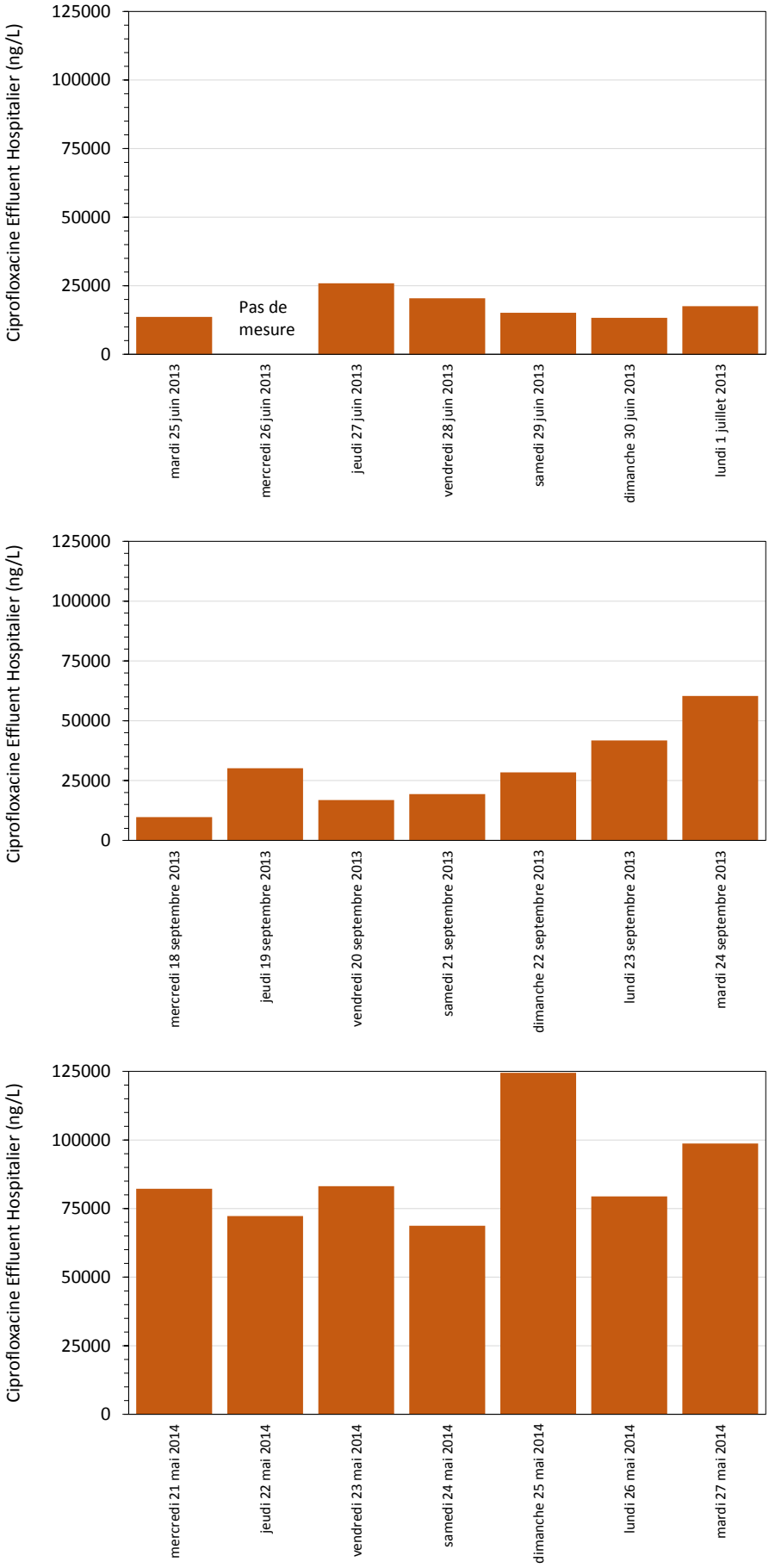


Figure 26 Concentration en ciprofloxacine dans les effluents hospitaliers entrant à la STEP de Bellecombe au cours des 3 campagnes de 7 jours - en raison d'un problème technique, aucune mesure n'a été effectuée le 26 juin 2013

(ii) Variabilité des concentrations et flux de résidus de médicaments

Cette variabilité importante des concentrations moyennes journalières est observée pour l'ensemble des 15 molécules cibles analysées. Un deuxième exemple en est donné par le tableau VII qui présente les résultats pour le paracétamol (partie gauche). Pour les effluents urbains, la concentration moyenne des 21 échantillons moyens journaliers est de 129 µg/L et le coefficient de variation CV est de 34 %. Pour les effluents hospitaliers, la concentration moyenne des 20 échantillons moyens journaliers mesurés est de 812 µg/L et CV = 45 %. L'analyse campagne par campagne montre des concentrations moyennes hebdomadaires qui varient dans un rapport d'environ 1 à 2 : 166, 114 et 107 µg/L pour les effluents urbains ; 636, 1246 et 528 µg/L pour les effluents hospitaliers.

Tableau VII Concentrations en paracétamol (µg/L) et en DBO_5 (mg/L) dans les effluents hospitaliers et urbains entrant à la STEP de Bellecombe pour les 3 campagnes de 7 jours

date	Paracétamol Effluent Urbain	Paracétamol Effluent Hospitalier	date	DBO5 Effluent Urbain	DBO5 Effluent Hospitalier
mardi 25 juin 2013	163.5	780.0	mardi 25 juin 2013	246	407
mercredi 26 juin 2013	165.5		mercredi 26 juin 2013	228	
jeudi 27 juin 2013	178.0	648.0	jeudi 27 juin 2013	351	569
vendredi 28 juin 2013	173.5	498.5	vendredi 28 juin 2013	226	356
samedi 29 juin 2013	153.0	598.5	samedi 29 juin 2013	264	433
dimanche 30 juin 2013	171.5	663.0	dimanche 30 juin 2013	368	438
lundi 1 juillet 2013	158.0	629.0	lundi 1 juillet 2013	276	470
mercredi 18 septembre 2013	78.4	833.0	mercredi 18 septembre 2013	226	461
jeudi 19 septembre 2013	93.3	1195.0	jeudi 19 septembre 2013	109	403
vendredi 20 septembre 2013	118.5	1475.0	vendredi 20 septembre 2013	99	380
samedi 21 septembre 2013	14.6	1505.0	samedi 21 septembre 2013	263	278
dimanche 22 septembre 2013	164.5	1365.0	dimanche 22 septembre 2013	316	315
lundi 23 septembre 2013	169.0	1014.5	lundi 23 septembre 2013	366	508
mardi 24 septembre 2013	162.0	1335.0	mardi 24 septembre 2013	294	384
mercredi 21 mai 2014	146.0	584.5	mercredi 21 mai 2014	347	469
jeudi 22 mai 2014	114.0	505.0	jeudi 22 mai 2014	339	430
vendredi 23 mai 2014	69.2	365.5	vendredi 23 mai 2014	139	505
samedi 24 mai 2014	88.1	609.0	samedi 24 mai 2014	163	293
dimanche 25 mai 2014	143.0	518.5	dimanche 25 mai 2014	208	344
lundi 26 mai 2014	96.9	623.0	lundi 26 mai 2014	229	524
mardi 27 mai 2014	95.4	495.0	mardi 27 mai 2014	180	364
moyenne	129.3	812.0	moyenne	249	417
écart type	44.3	364.5	écart type	82	79
CV	34.3	44.9	CV	33	19

Il apparait que **la variabilité des concentrations en polluants classiques est moindre** que celle des concentrations en médicaments. Le tableau VII montre l'exemple des concentrations en DBO_5 des deux types d'effluents (partie droite), qui peuvent être comparées à celles du paracétamol (partie gauche). Le ratio des concentrations moyennes entre effluents hospitalier et urbain est d'environ 1,67 : l'effluent hospitalier est plus concentré en DBO_5 que l'effluent urbain. La variabilité inter-journalière est plus faible que pour les résidus de médicaments : les coefficients de variation sont de 33 % et de 19 % respectivement pour les effluents urbains et hospitaliers, à comparer respectivement aux 34 % et 45 % pour le paracétamol, et 137 % et 75 % pour la ciprofloxacine.

Cette variabilité inter-journalière et inter-hebdomadaire des concentrations en résidus de médicaments dans les effluents hospitaliers et urbains est clairement mise en évidence grâce aux trois campagnes de 7 jours consécutifs.

Dans la littérature, quelques études se sont intéressées à l'étude de la dynamique temporelle des résidus de médicaments en entrée de STEP (Göbel *et al.,* 2005, Salgado *et al.,* 2011, Teerlink *et al.,* 2012, Coutu *et al.,* 2013). Les méthodologies et durées d'échantillonnage étant différentes d'une étude à l'autre, il est cependant délicat de comparer directement les résultats. Néanmoins, une

étude menée sur 7 jours consécutifs en entrée d'une STEP recevant des eaux usées urbaines et hospitalières n'a pas montré de variabilité significative des flux de ciprofloxacine (Coutu *et al.,* 2013).

Dans le cas de la station de Bellecombe, on observe, **pour certains médicaments dans les effluents urbains, une moindre variabilité des flux journaliers que des concentrations moyennes journalières.** Ceci s'explique en grande partie par les variations du débit journalier liées aux événements pluvieux. L'autre élément d'explication est la variabilité des consommations journalières de médicaments. Elle est plus marquée à l'échelle de l'hôpital : certains médicaments étant consommés par un nombre limité de patients, quelques patients de plus ou de moins d'un jour à l'autre suffisent à faire varier significativement les flux journaliers rejetés. Au contraire, à l'échelle du bassin versant urbain, plusieurs médicaments sont consommés par plusieurs centaines de patients, ce qui conduit de fait à un certain lissage des flux journaliers rejetés dans les eaux usées.

Ces observations sont illustrées ci-dessous pour le diclofénac dans les effluents urbains.

La figure 27 montre les variations des débits journaliers des effluents urbains en entrée de STEP sur les 3 campagnes de 7 jours (graphique du haut) et les valeurs correspondantes de la conductivité (graphique du bas). Les débits les plus élevés correspondent aux valeurs de conductivité les plus faibles, comportement typique observé en réseau unitaire où les eaux usées sont diluées par les eaux de ruissellement et d'infiltration liées aux événements pluvieux. Le phénomène est particulièrement net sur la 2° semaine où les débits baissent d'un facteur 2 environ du mercredi au mardi tandis que la conductivité remonte régulièrement sur la même période. Et en début de semaine 3 où les débits augmentent alors que la conductivité diminue. Les débits sont presque constants en semaine 1, sauf le samedi, et dans une moindre mesure le dimanche, où la légère augmentation observée correspond à une baisse de la conductivité sur ces deux mêmes jours.

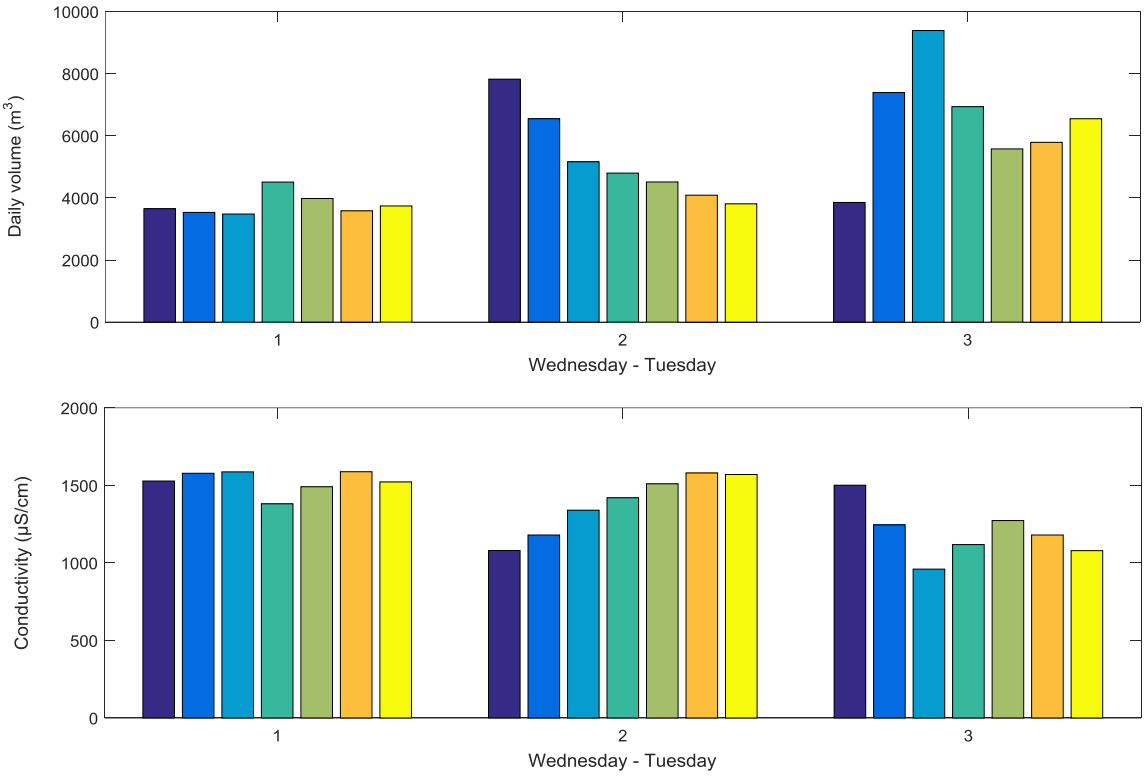


Figure 27 Débits journaliers (m^3/j) et conductivité (µS/cm) des effluents urbains entrant à la STEP de Bellecombe pour les 3 campagnes de 7 jours

La figure 28 montre les concentrations moyennes journalières (graphique du haut) et les flux journaliers (graphique du bas) en diclofénac. La 2° semaine présente le comportement le plus typique : les concentrations en diclofénac varient de manière globalement croissante sur la semaine, (min = 398 ng/L, max = 744 ng/L, moyenne = 601 ng/L), selon une progression qui ressemble un peu, avec plus de fluctuations, à celle de la conductivité, et avec un coefficient de variation CV = 28 %.

Parallèlement, les flux sont beaucoup plus stables autour de la valeur moyenne de 3 g/j (min = 2.6 g/j, max = 3,6 g/j), avec un coefficient de variation divisé par deux environ : CV = 13 %.

En semaine 1, les concentrations moyennes journalières en diclofénac sont globalement plus élevées et moins dispersées qu'en semaine 2 (moyenne = 949 ng/L, CV = 15 %), mais les flux journaliers sont assez proches de ceux de la semaine 2 (moyenne = 3,6 g/j, CV = 13 %). En semaine 3, les concentrations les plus élevées en début de semaine sont également observées lorsque les débits sont les plus faibles. Mais les flux présentent une valeur moyenne plus faible (2,8 g/j) et une variabilité supérieure à celle des deux autres semaines (CV = 66 %) : la variabilité observée est donc en plus grande partie imputable aux variations des consommations de diclofénac.

Les variations du débit journalier en lien avec les événements pluvieux jouent donc un rôle déterminant dans les variations des concentrations journalières, les fluctuations des consommations de médicaments étant le deuxième facteur explicatif dans le cas des effluents urbains.

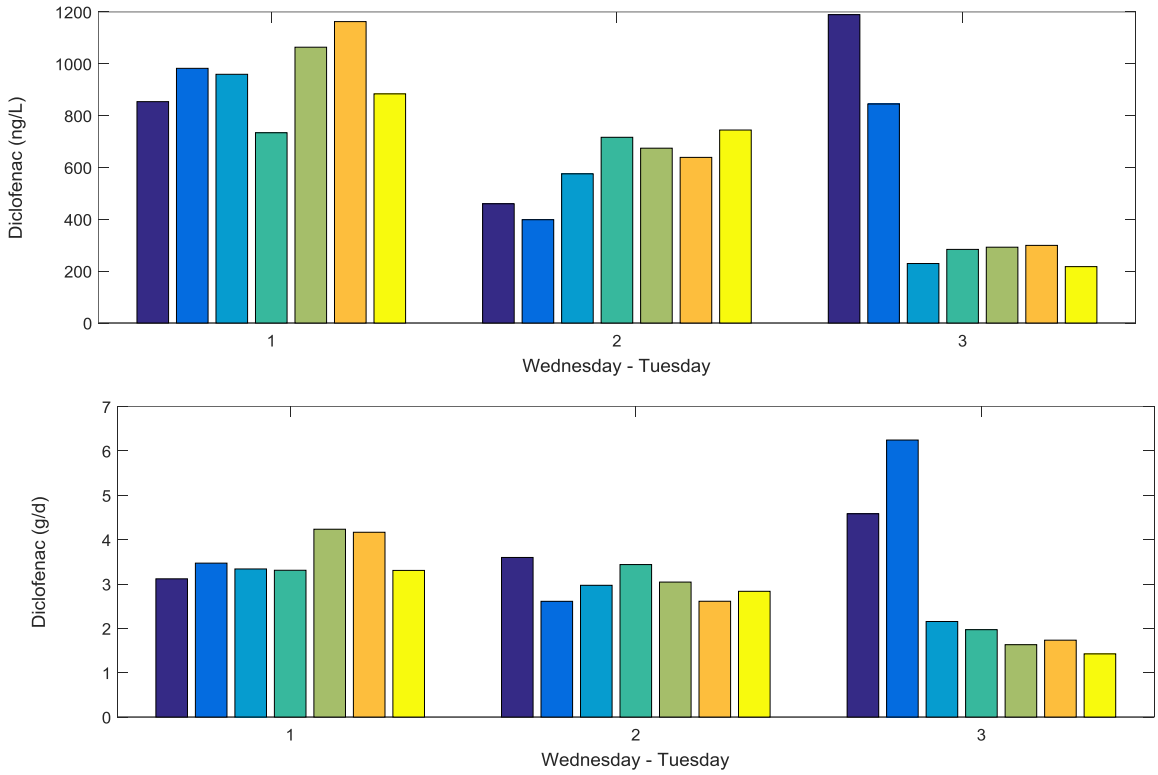


Figure 28 Concentrations moyennes journalières (ng/L) et flux journaliers (g/j) en diclofénac dans les effluents urbains entrant à la STEP de Bellecombe pour les 3 campagnes de 7 jours

Principales conclusions sur les résidus de médicaments et détergents :

1. *Toutes les molécules recherchées ont été quantifiées au moins une fois dans les échantillons, à l'exception de l'éthinylestradiol et des antibiotiques méropenem et aztréonam.*

2. *Les trois familles de détergents ont été quantifiées avec des fréquences de quantification proches de 100 % pour les anioniques et non ioniques.*

3. *Malgré des concentrations plus élevées au sein de l'effluent hospitalier, la contribution de ce dernier en termes de flux de résidus de médicaments et détergents entrant à la STEP de Bellecombe reste inférieure à 30 % sauf pour 2 antibiotiques, plus spécifiquement utilisés en milieu hospitalier : la ciprofloxacine et la vancomycine.*

4. *La variabilité observée dans le cadre des 3 campagnes de 7 jours consécutifs constitue une difficulté supplémentaire pour établir un modèle prédictif des concentrations et flux de médicaments, et confirme qu'une approche stochastique semble pertinente pour tenter de la reproduire par le calcul, les variations de débit journalier étant un facteur explicatif important mais non suffisant des variations des concentrations.*

2-2 Résultats des analyses microbiologiques

Résultats du suivi des intégrons de multi-résistance

La résistance aux antibiotiques a été estimée sur le site de SIPIBEL, dans les effluents urbains et hospitaliers, depuis 2011, par la mesure des intégrons de (multi)résistance (IM) (voir partie 1-4).
La figure 29 présente les résultats de ce suivi en entrée des deux filières, urbaine (effluent urbain) et hospitalière (effluent hospitalier). Elle regroupe :

- les valeurs de concentration des intégrons de classe 1 (rond rouge) : estimation de la quantité de bactéries antibiorésistantes ;
- les valeurs de concentrations d'ARN 16S (croix bleues) : équivaut à la concentration de l'ensemble des bactéries quantifiées par cette méthode ;
- l'abondance relative (triangle rose) : ratio entre la concentration en intégrons et la concentration en ARN 16S ;
- la concentration en *Pseudomonas aeruginosa* (croix verte) : une espèce qualifiée de pathogène opportuniste (voir partie « Résultats du suivi des *Pseudomonas aeruginosa* »).

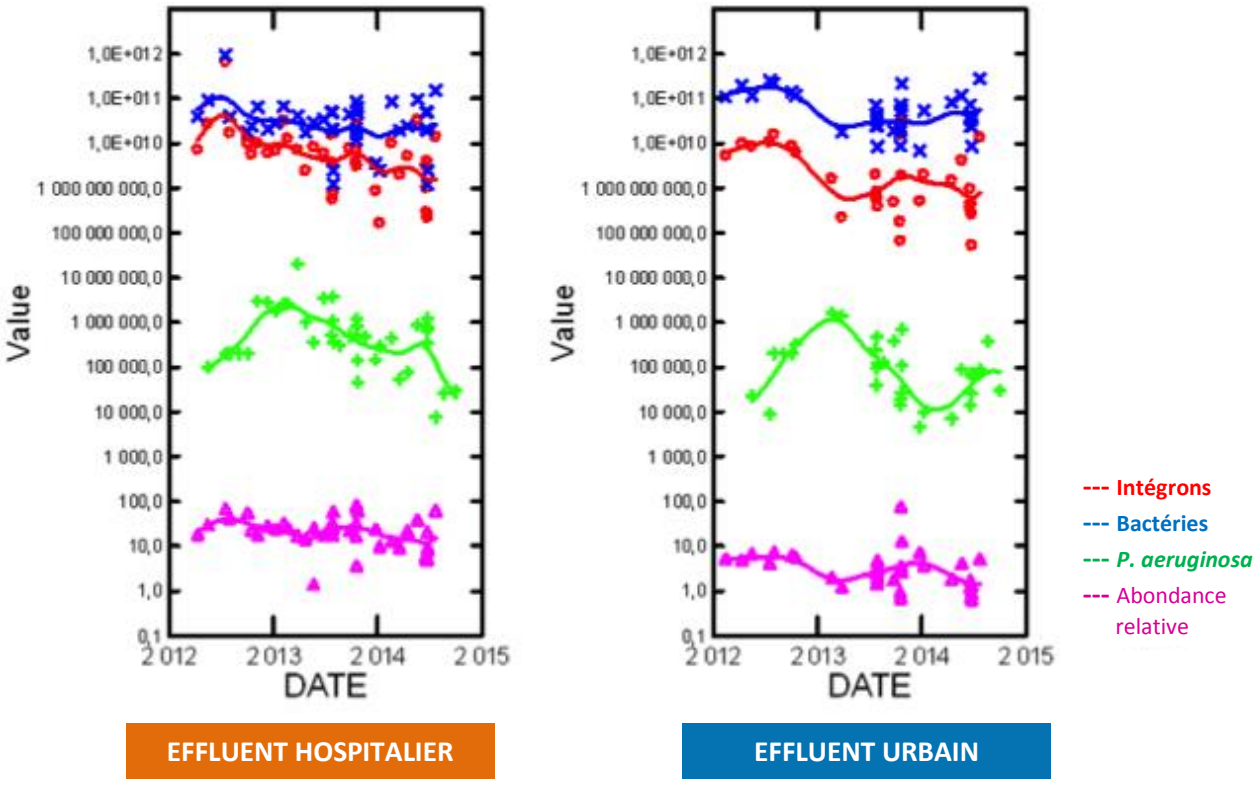


Figure 29 Concentrations en intégrons de classe 1, en ARN16S (équivalent bactéries) et en *Pseudomonas aeruginosa* et abondance relative (ratio entre la concentration en intégrons et la concentration en ARN16S) sur les effluents hospitaliers et urbains en entrée de STEP, entre 2012 et 2015

Il apparait que les valeurs de concentrations en intégrons de classe 1 oscillent significativement autour de 10^{11}/L dans les effluents hospitaliers, valeur en moyenne légèrement supérieure à celle de l'effluent urbain (10^{10}/L).

L'abondance relative d'intégrons dans les échantillons prélevés (à savoir le ratio entre la quantité d'intégrons de classe 1 et la quantité d'ARN16S) est toujours supérieure dans l'effluent hospitalier avec des valeurs supérieures comprises entre 0,1 et 0,7, tandis qu'elles ne dépassent pas 0,1 dans l'effluent urbain. Cela signifie que pour une quantité équivalente d'ARN16S (et proportionnellement de bactéries), la quantité d'intégrons est plus importante dans l'effluent hospitalier. On en conclut que la quantité de résistances portée par une bactérie issue d'un effluent hospitalier est plus

importante que celle portée par une bactérie issue d'un effluent urbain. **La bactérie « hospitalière » est potentiellement « plus » multirésistante.**

Ces résultats confirment ceux trouvés à l'échelle européenne (Pills, 2012) pour différents établissements de santé avec des valeurs d'abondance relative variant entre des valeurs maximales supérieures à 4,5 % et minimales de 1 %, tandis que les valeurs d'abondance relative dans les eaux usées urbaines ou dans le milieu naturel sont toutes inférieures.

Résultats du suivi des *Pseudomonas aeruginosa*

La figure 30 illustre les résultats de dénombrement des *P. aeruginosa* obtenus depuis l'ouverture de l'hôpital (février 2012) jusqu'à octobre 2014 de chaque filière, avant traitement de la STEP de Bellecombe. **Les *P. aeruginosa* sont significativement plus abondants (ANOVA, p.value<0.05) dans les eaux brutes de la filière hospitalière que dans celles de la filière urbaine sauf en été.**

Les encadrés indiquent les périodes estivales où des valeurs similaires sont observées entre les eaux usées hospitalières et urbaines. Les dénombrements en *P.aeruginosa* sont significativement plus élevés (Kruskal-Wallis, p.value<0,05) dans les périodes de faible débit (période plus chaude = mois de mai à octobre) dans la filière urbaine. La filière hospitalière est peu impactée par les changements de température et/ou de pluie. Cette différence d'impact des conditions climatiques (pluie, chaleur) peut expliquer les résultats observés en été ainsi que le nombre de patients qui est généralement moins élevé pendant la période estivale.

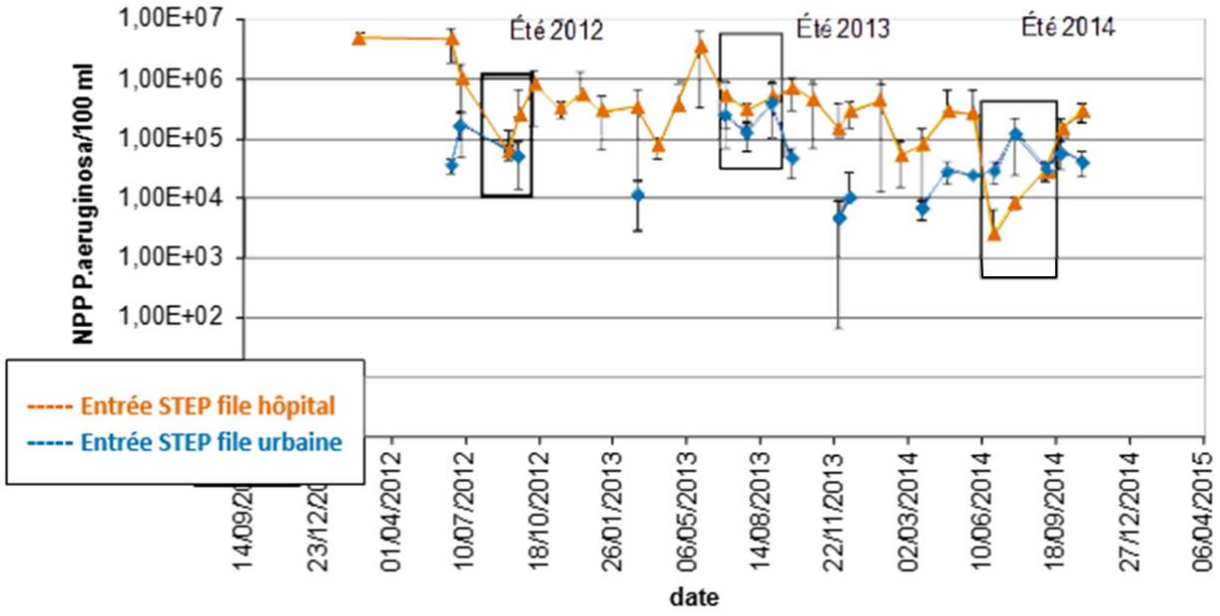


Figure 30 Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* (NPP/100mL) dans les eaux usées brutes (avant traitement) des filières hospitalière et urbaines de la STEP de Bellecombe de février 2012 (ouverture de l'hôpital) à octobre 2014

Principales conclusions des analyses microbiologiques :

1. *La bactérie « hospitalière » est potentiellement plus « multirésistante » que la bactérie « urbaine ».*

2. *Les Pseudomonas aeruginosa sont significativement plus abondants dans les effluents hospitaliers que dans les effluents urbains, sauf en été.*

2-3 Résultats des bio-essais

Variabilité des effets biologiques de l'effluent hospitalier

La mise en œuvre en entrées de STEP des bio-essais sélectionnés pour la caractérisation des effluents hospitaliers et urbains prélevés, a tout d'abord montré que l'écotoxicité de l'effluent hospitalier sur daphnies, algues, rotifères et ostracodes ainsi que le niveau d'effet estrogénomimétique étaient très variables au cours de l'année (figure 31 et figure 32).

Cette variabilité, jusqu'ici peu étudiée sur le plan international en raison de l'absence de chroniques d'analyses écotoxicologiques et de perturbation de l'activité endocrinienne suffisamment longues, s'ajoute à la variabilité au cours d'une journée d'activités, démontrée dans le cadre de travaux précédents (Boillot *et al.,* 2008).

Résultats des essais d'écotoxicité

Il apparait globalement un profil de toxicité relativement similaire au cours du temps pour les organismes testés, les algues présentant quelques spécificités de réponse selon les dates.

La mise en œuvre de la même batterie d'essais d'écotoxicité sur l'effluent urbain a par ailleurs montré que **l'effluent hospitalier était nettement plus écotoxique que l'effluent urbain** (figure 31), ce qui va dans le sens des données générales de la bibliographie (Berto *et al.*, 2009 ; Boillot *et al.*, 2008 ; Emmanuel *et al.*, 2005 ; Orias *et al.*, 2013; Verlicchi *et al.*, 2012 ; Villegas-Navarro, 1997).

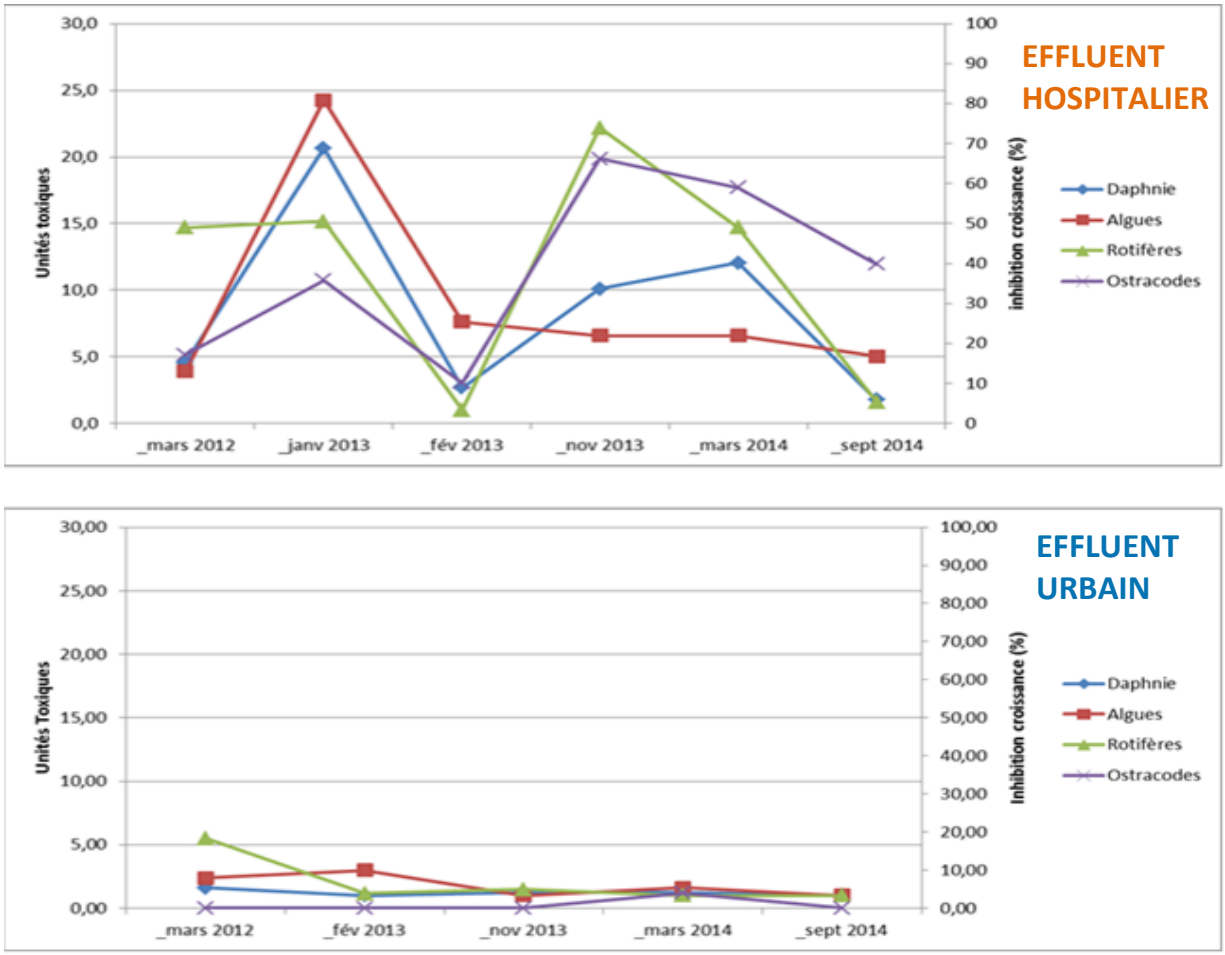


Figure 31 Comparaison de l'écotoxicité des effluents hospitaliers et urbains avant traitement
(Daphnies, Algues et Rotifères: unités toxiques = (1/CE20) x 100 ;
ostracodes : inhibition de la croissance des organismes)

Résultats des mesures d'effets perturbateurs endocriniens

Aucun effet estrogéno-antagoniste n'a été observé sur les deux types d'effluents.

Par contre, il apparait **un effet estrogénomimétique très significatif**, comme dans toutes les eaux usées. Les valeurs observées varient de 5 à 70 équivalents ng/L en estradiol qui est la molécule de référence (figure 32). Ces niveaux sont assez classiques pour des effluents urbains non traités et correspondent au mélange non seulement d'hormones naturelles féminines ou artificielles mais aussi de produits connus pour leurs effets estrogéniques comme des résidus de détergents, des plastifiants, des pesticides... Il est impossible, sans procéder à des travaux complexes de fractionnements chromatographiques couplés à des essais biologiques, d'identifier les molécules en cause. Ceci justifie l'importance accordée aux essais biologiques qui ont l'avantage de fournir une réponse globale ainsi qu'une mesure des effets que les analyses détaillées ne pourraient donner.

Il apparait **une évolution temporelle** avec une croissance des effets estrogénomimétiques au fur et à mesure de la montée en charge des activités hospitalières avec **un niveau qui est tout à fait similaire à celui de l'effluent urbain**. Un pic exceptionnel est apparu lors de la campagne de novembre 2014 sur l'effluent hospitalier sans qu'une explication puisse être donnée. Il en est de même, mais à un niveau bien moindre, pour l'effluent urbain.

Aucun effet antagoniste ou agoniste n'a été observé sur les récepteurs aux hormones thyroïdiennes.

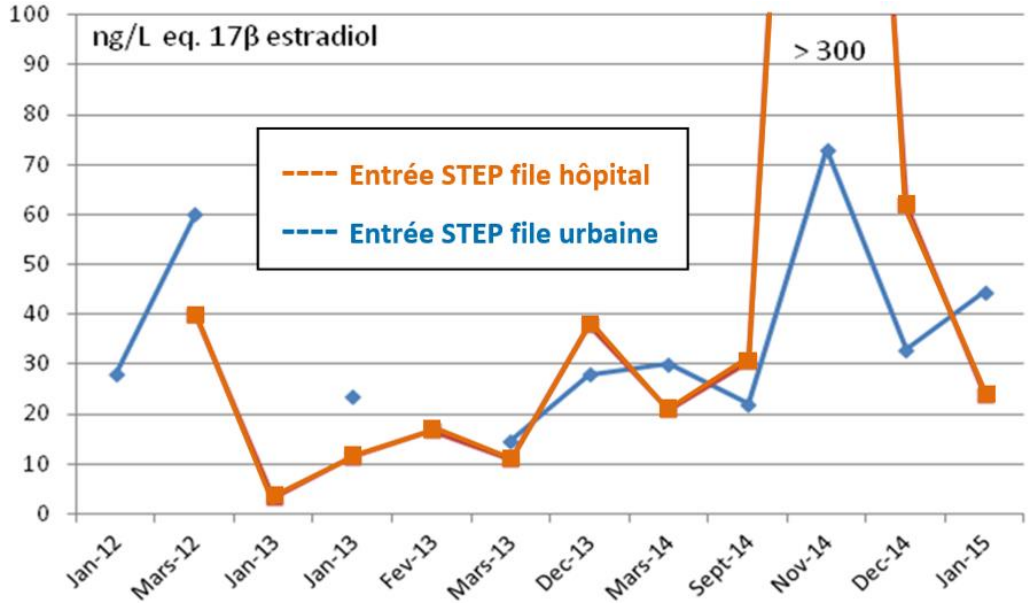


Figure 32 Évolution de l'effet estrogénomimétique mesuré *in vitro* sur le modèle MELN dans les eaux d'entrée de STEP

Principales conclusions des bioessais :

1. *L'écotoxicité de l'effluent hospitalier sur daphnies, algues, rotifères et ostracodes ainsi que le niveau d'effet estrogénomimétique sont très variables au cours de l'année.*

2. *L'effluent hospitalier est nettement plus écotoxique que l'effluent urbain. En parallèle, on observe une croissance des effets estrogénomimétiques au fur et à mesure de la montée en charge des activités hospitalières avec un niveau qui est tout à fait similaire à celui de l'effluent urbain.*

3. *Aucuns effets estrogéno-antagoniste, ni effets agoniste/antagoniste sur les récepteurs aux hormones thyroïdiennes n'ont été observés.*

3-Traitabilité et impacts des effluents hospitaliers et urbains sur le milieu

Dans cette partie, on s'intéressera :

- aux **performances d'abattements** des deux filières de la STEP de Bellecombe, en terme de micropolluants et effets biologiques ;
- aux **flux de micropolluants et de bactéries rejetés** par les STEPs du bassin versant de l'Arve aval : STEPs de Bellecombe, Ocybèle et Villette ;
- aux concentrations et effets biologiques mesurés dans le **milieu** : Arve, Rhône et nappe du genevois.

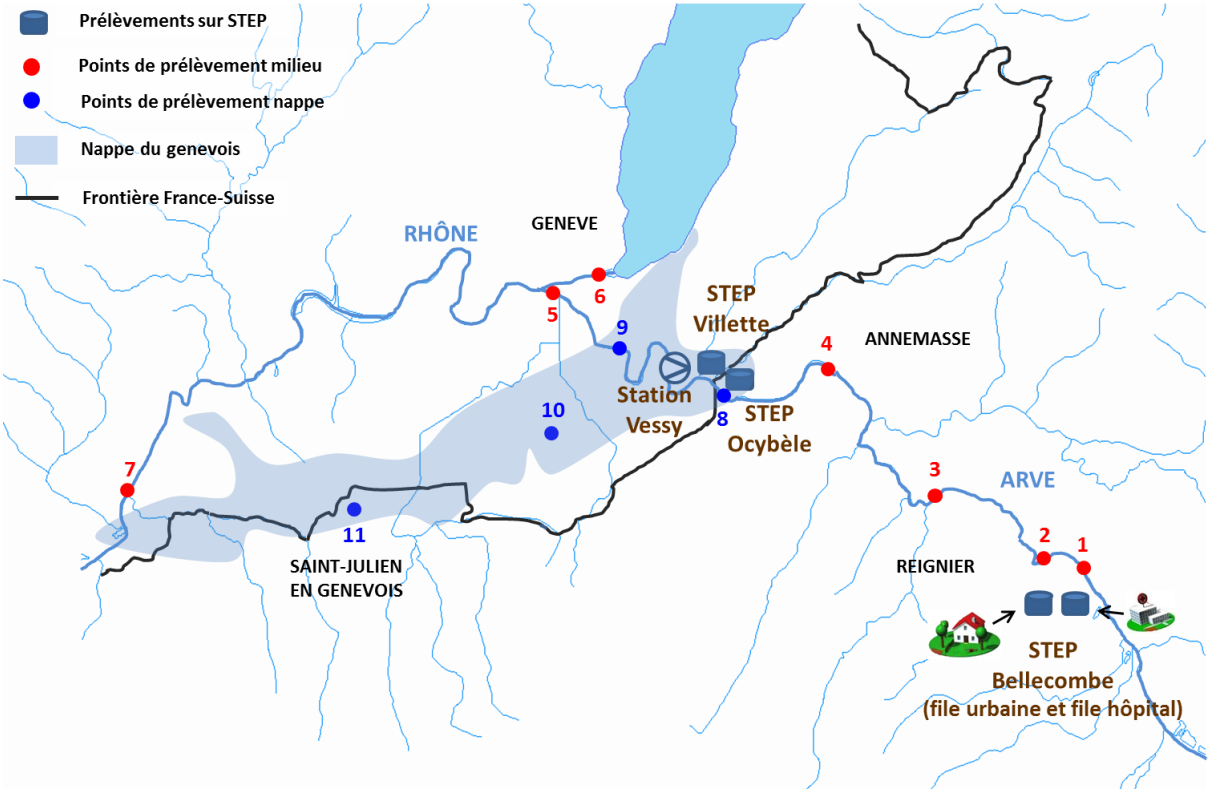


Figure 33 Zone d'étude concernées par cette partie du rapport : le bassin versant de l'Arve aval

L'objectif est ici de caractériser la traitabilité et les impacts des effluents hospitaliers et urbains sur le milieu étudié.

3-1 Résultats des analyses de résidus de médicaments et détergents

Abattement des résidus de médicaments et détergents au sein de la STEP de Bellecombe

L'observatoire SIPIBEL nous a permis de suivre l'abattement de quinze médicaments cibles et trois familles de détergents (anioniques, cationiques et non-ioniques) sur les 2 filières de traitement (urbaine et hôpital) de la STEP de Bellecombe.

En ce qui concerne les détergents, la limite de quantification de la méthode d'analyse utilisée étant comprise entre 100 et 400 µg/L, ces composés n'ont été que très rarement quantifiés. Compte-tenu des concentrations retrouvées dans les eaux d'entrées de STEP, il est fort probable que ces composés soient présents en sortie de STEP à des concentrations de l'ordre du µg/L. Il paraît donc important de développer des méthodes d'analyse permettant d'obtenir ces seuils de sensibilité, ce qui est prévu dans le nouveau projet RILACT construit en appui sur le site SIPIBEL.

Les abattements et les flux moyens de résidus de médicaments rejetés par les deux filières de la STEP (composés quantifiés uniquement) sont représentés sur la figure 34.

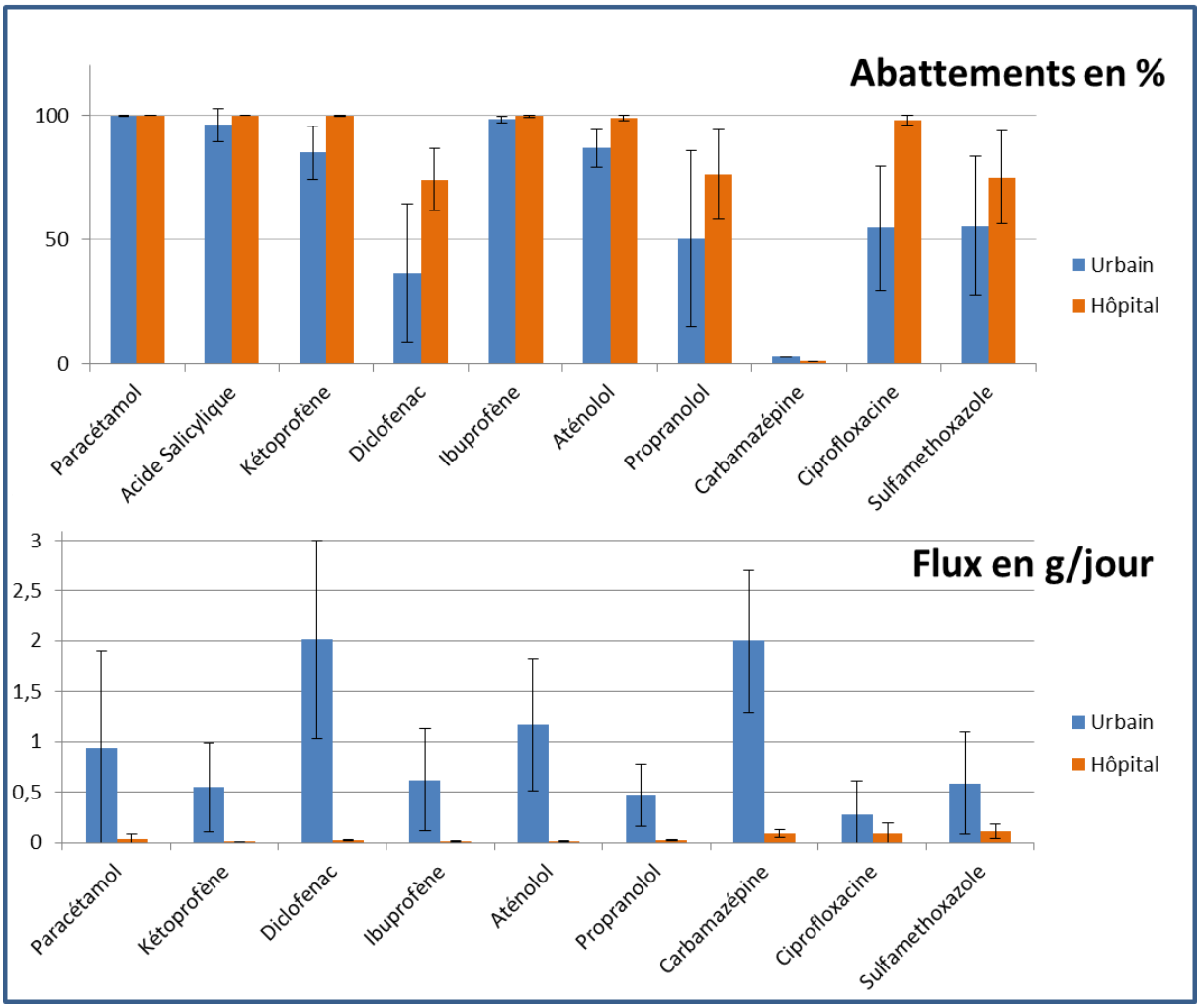


Figure 34 Moyennes des abattements et flux de médicaments en sortie des filières urbaine et hôpital
(février 2012 à octobre 2014 ; 20 campagnes)

Plusieurs résultats sont mis en évidence par ces graphiques.

Tout d'abord, le débit de la filière urbaine étant en moyenne 37 fois supérieur à celui de la filière hôpital, **les flux de résidus de médicaments** rejetés par la file urbaine sont significativement supérieurs.

Les abattements des deux filières sont très variables selon les composés. Certains sont très bien abattus comme le paracétamol, l'acide salicylique et l'ibuprofène. Cependant, sur les dix molécules quantifiées, quatre présentent des abattements significativement inférieurs : le diclofénac, le propranolol, la carbamazépine et le sulfaméthoxazole. Ces observations sont cohérentes avec la littérature (Verlicchi *et al.,* 2012) et notamment le projet ARMISTIQ (Choubert *et al.,* 2012).

De plus, **des abattements négatifs** ont été observés ponctuellement pour ces molécules au cours des 4 années d'observatoire, avec des concentrations supérieures après traitement. Ce phénomène peut être le reflet d'un échantillonnage qui ne tient pas compte du temps de séjour (l'entrée et la sortie sont échantillonnées simultanément), ce qui est plus particulièrement le cas de la filière hôpital (10 jours de temps de séjour en moyenne). Il peut également être expliqué par deux autres hypothèses :

- la présence de métabolites conjugués dans les eaux brutes qui se transforment en molécule mère après traitement, ce qui est notamment le cas de la carbamazépine (Verlicchi *et al.,* 2012), de la ciprofloxacine et du sulfaméthoxazole (Guerra *et al.,* 2014) ;
- l'adsorption de résidus de médicaments sur les particules des eaux usées qui repassent en phase aqueuse après traitement de la STEP, ce qui est le cas de la ciprofloxacine (Verlicchi *et al.,* 2012).

Des différences sont également observées entre les 2 filières de traitement. Globalement, **les abattements sont supérieurs dans la filière hôpital** alors que l'hypothèse est souvent faite que de par sa composition, un effluent hospitalier réduit l'efficacité épuratoire d'une station d'épuration (Oliveira *et al.,* 2015). Cinq molécules présentent des abattements significativement inférieurs dans l'effluent urbain par rapport à l'effluent hospitalier : le kétoprofène, le diclofénac, l'aténolol, le propranolol et le sulfaméthoxazole. On observe également le même phénomène pour les paramètres classiques d'autosurveillance (voir partie 1-2). Les paramètres majeurs influençant l'abattement des micropolluants sont la quantité de biomasse et l'âge des boues, le temps de séjour hydraulique, le pH et la température (Verlicchi *et al.,* 2012). Dans le cas de SIPIBEL, les deux derniers paramètres sont identiques dans les deux filières, et n'expliquent donc pas ces différences. Par contre l'âge des boues et le temps de séjour sont très différents avec en moyenne, un temps de séjour de 10 jours pour la filière hôpital et de 1,5 jours pour la filière urbaine. Ces deux paramètres sont connus pour influencer fortement l'abattement des micropolluants (Guerra *et al.,* 2014, Petrie *et al.,* 2014) et expliquent probablement ces différences.

Enfin, **un effet saison** est observé avec des abattements globalement inférieurs en hiver par rapport à l'été, particulièrement pour le diclofénac dans la file urbaine, avec une moyenne de 1 % en hiver et de 55 % en été.

Comparaison des rejets des 3 stations d'épuration du bassin versant de l'Arve aval

Le projet IRMISE a permis d'étendre le territoire d'observation du projet SIPIBEL, en incluant des sites de prélèvement supplémentaires au sein du bassin versant de l'Arve aval. Dans ce cadre, nous pouvons comparer la composition des effluents de deux STEPs qui sont également déversés dans l'Arve : les STEPs Ocybèle et Villette.

Les STEPs de Bellecombe, Villette et Ocybèle diffèrent par leur dimensions : 32 000 EH pour Bellecombe contre 50 000 EH et 125 000 EH pour Villette et Ocybèle respectivement. De plus, la STEP Ocybèle possède un traitement par biofiltration et Bellecombe et Villette, un traitement biologique par boues activées.

Le flux total en médicaments de chaque STEP est bien corrélé à leur dimension : en moyenne 7 g/j pour Bellecombe contre 38 et 102 g/j pour Villette et Ocybèle respectivement. La figure 35 représente la part de chaque médicament sur la totalité des concentrations en médicaments des eaux traitées. Cette figure met en évidence la spécificité de l'eau traitée hôpital, avec de fortes proportions en antibiotiques, ciprofloxacine et sulfaméthoxazole.

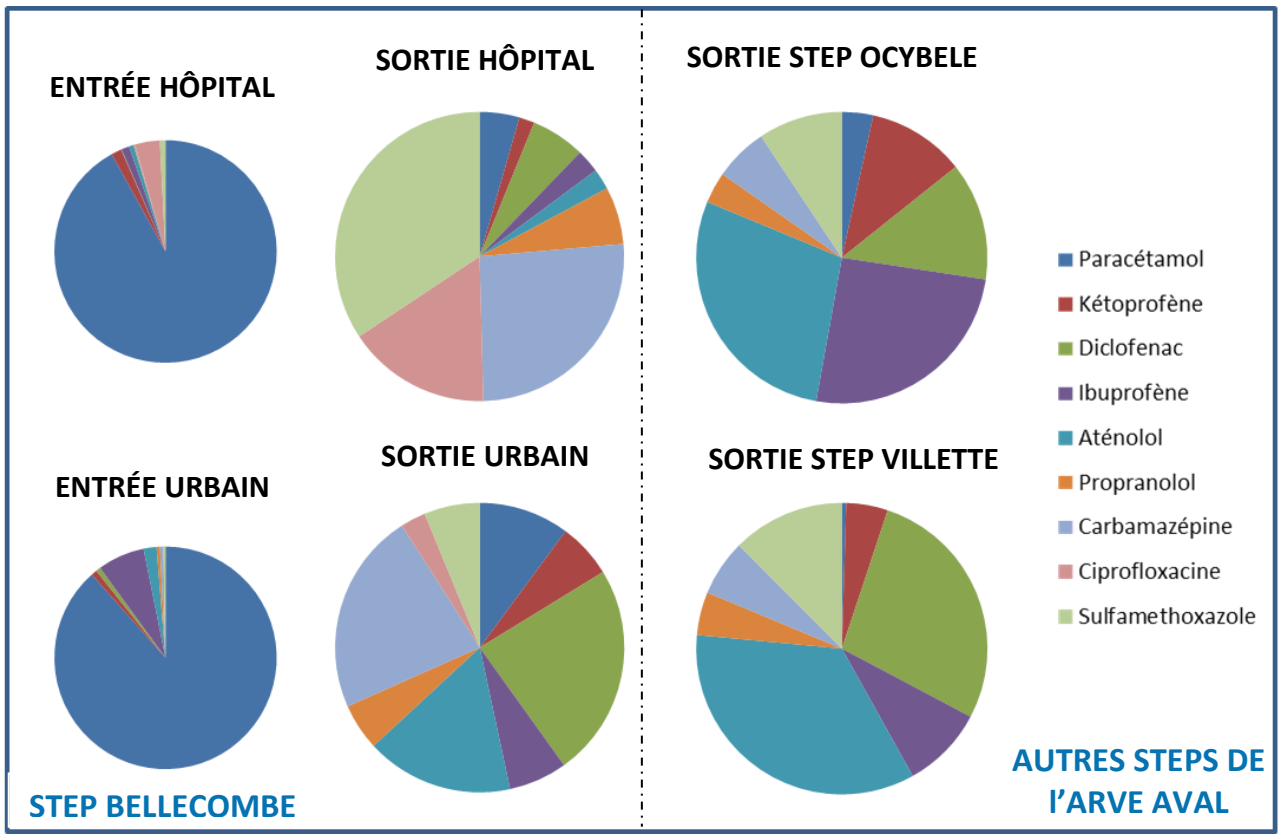


Figure 35 Contribution de chaque résidu de médicament à la somme des molécules analysées dans les eaux en entrées et sorties des STEPs étudiées -
Observatoire SIPIBEL-IRMISE (janvier 2013 à janvier 2015 ; 9 campagnes)

Les eaux traitées urbaines ont des compositions assez semblables, avec la présence majoritaire de diclofénac et aténolol, mais présentent également des spécificités, avec une forte proportion en carbamazépine dans l'eau traitée de Bellecombe et une forte proportion en ibuprofène dans celle d'Ocybèle. Les différences observées peuvent être également liées aux différences de temps de séjour hydraulique : 6 h sur la STEP Ocybèle, 12 h sur Villette, 36 h sur Bellecombe filière urbaine et enfin, 10 jours sur Bellecombe, filière hôpital.

En ce qui concerne les détergents, contrairement aux eaux traitées de Bellecombe dans lesquelles ils sont rarement quantifiés (fréquence de quantification inférieure ou égale à 10 %), les échantillons d'Ocybèle et Villette présentent des contaminations plus fréquentes en détergents anioniques et non-ioniques. Les limites de quantification étant de 100 à 400 µg/L, les détergents, lorsqu'ils sont quantifiés, représentent des flux bien supérieurs aux flux de médicaments pour les STEPs Ocybèle et Villette : en moyenne, 3 000 et 4 000 g/j en détergents anioniques, et 7 000 et 10 000 g/j en détergents non-ioniques, pour Ocybèle et Villette, respectivement.

Concentrations relevées dans les eaux de surface et la nappe du genevois

(i) Impact de la STEP de Bellecombe sur la rivière Arve

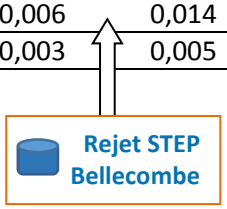
L'observatoire SIPIBEL a permis d'étudier l'impact de la STEP de Bellecombe sur la rivière Arve sur le long terme puisque 11 campagnes ont été réalisées entre 2011 et 2015 en amont, en aval immédiat et en aval éloigné de son rejet.

En ce qui concerne les détergents, seuls les détergents non-ioniques ont été quantifiés, mais à des fréquences inférieures à 30 % des campagnes. Comme précédemment indiqué, ces composés mériteraient le développement d'une méthode d'analyse plus sensible, afin de valider ou non ces données. Cependant, ces résultats sont cohérents avec une étude de 2002 (Petrovic *et al.,* 2002) qui montre la présence d'alkylphénols éthoxylés dans des eaux de surface à hauteur de 31 µg/L, composés qui appartiennent à la famille des détergents non-ioniques.

En ce qui concerne les médicaments, 8 ont été détectés à des fréquences supérieures à 50 %. Les concentrations moyennes mesurées pour ces composés sont présentées dans le tableau VIII.

Tableau VIII Concentrations moyennes dans l'Arve (observatoire SIPIBEL -fév. 2011 à janv. 2015 ; 11 campagnes)**, concentrations médianes mesurées dans le monde sur des eaux de surface** (Hughes *et al.,* 2013)**, PNEC** (Orias and Perrodin, 2013) **et NQE/VGE** (INERIS) **en µg/L**

	SIPIBEL			Concentrations médianes eaux de surface dans le monde	PNEC	NQE/VGE
	Arve amont	Arve aval 1	Arve aval 2			
Paracétamol	0,112	0,123	0,137	0,148	6,92	
Kétoprofène	0,003	0,007	0,003	0,097	2	
Diclofenac	0,010	0,017	0,012	0,136	0,02	0,1
Ibuprofène	0,017	0,018	0,016	0,504	0,2	
Aténolol	0,013	0,020	0,015	0,091		
Propranolol	0,003	0,005	0,003	0,019	0,05	
Carbamazépine	0,006	0,014	0,008	0,174	2	2,5
Sulfamethoxazole	0,003	0,005	0,002	0,083	0,59	



Les concentrations sont de l'ordre du ng/L pour le kétoprofène et le sulfaméthoxazole, et jusqu'à la centaine de ng/L pour le paracétamol. Elles sont du même ordre de grandeur voire inférieures aux concentrations médianes des eaux de surface retrouvées dans le monde (Hughes *et al.,* 2013).

Il apparait que les concentrations retrouvées sont bien inférieures aux concentrations prévisibles sans effet dans l'environnement (PNEC) (Orias et Perrodin, 2013) et aux normes de qualité environnementale (NQE) disponibles (INERIS), sauf pour **le diclofénac**, ce qui concorde avec sa prise en compte dans la liste de vigilance de l'Union Européenne du 10 mars 2015.

D'où viennent ces résidus de médicaments ?

Des rejets d'eaux usées :

-Principalement via l'excrétion naturelle des principes actifs et de leurs métabolites : 70 % du cocktail médicamenteux consommé est excrété (Pills, 2012)

-Secondairement, par une mauvaise élimination des médicaments non utilisés via l'évier, les toilettes ou les décharges ;

-À l'échelle d'une agglomération possédant un centre hospitalier, la charge médicamenteuse liée à l'hôpital ne représente qu'environ 20% de la charge globale ;

-Les rejets diffus sur les lieux de production de médicaments contribuent également à cette pollution.

Des rejets issus d'activités d'élevage :

-Soit directement au milieu : ex activités piscicoles ;

-Soit par ruissellement, après épandage sur les sols ;

-Consommations d'antibiotiques en 2012 : 720 t pour les humains (stagnation, voire hausse) VS 760 t pour les animaux (en baisse, grâce au plan Ecoantibio).

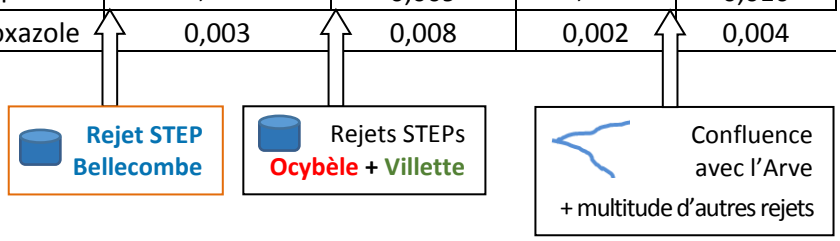
Cependant, pour ces 8 composés, **aucune variation temporelle significative** n'a pu être observée depuis l'ouverture du CHAL en février 2012. Il n'apparait également **aucune différence significative entre les points amont et aval 2**, ce qui montre que la contamination en résidus de médicaments est déjà présente en amont de la STEP de Bellecombe.

(ii) Impacts des rejets des 3 STEPs du bassin versant étudié

En complément de l'observatoire SIPIBEL, le projet IRMISE a permis d'élargir l'étude de la contamination de l'Arve, en aval de la STEP de Bellecombe, après les STEPs Ocybèle et Villette ainsi que dans le Rhône, avant et après la confluence avec l'Arve. Les concentrations moyennes retrouvées sont présentées dans le tableau IX.

Tableau IX Concentrations moyennes dans l'Arve et dans le Rhône -
(janvier 2013 à janvier 2015; 9 campagnes)

	Arve Etrembières	Arve Jonction	Rhône Amont	Rhône Chancy
Paracétamol	0,112	0,173	0,007	**0,041**
Kétoprofène	0,011	0,004	0,001	0,001
Diclofenac	0,012	0,020	0,0004	**0,009**
Ibuprofène	0,009	**0,033**	0,003	0,010
Aténolol	0,003	**0,023**	0,0005	**0,008**
Propranolol	0,007	0,004	0,001	0,001
Carbamazépine	0,002	0,009	0,016	0,016
Sulfamethoxazole	0,003	0,008	0,002	0,004



Neuf campagnes ont été réalisées depuis 2013, et aucune **concentration** retrouvée en résidus de médicaments dans l'Arve et le Rhône n'a jamais dépassé les PNEC. D'autre part, les concentrations retrouvées sont du même ordre que dans l'Arve au niveau de la STEP de Bellecombe, c'est-à-dire du ng/L à la centaine de ng/L. Enfin, des différences significatives de concentrations sont observées sur l'Arve, en ibuprofène et aténolol, et sur le Rhône, en paracétamol, diclofénac et ibuprofène. Pour comprendre d'où viennent ces différences, nous avons comparé les flux apportés par les STEPs Ocybèle et Villette, l'Arve et le Rhône (figure 36).

Tout d'abord, il faut préciser que **le bilan de flux** est bouclé sur le tronçon concernant l'Arve, mais pas sur le Rhône, ce qui confirme qu'il existe des apports en médicaments, autres que l'Arve sur le Rhône, entre les points Rhône Amont et Rhône Chancy (notamment d'autres rejets de station d'épuration suisses).

D'autre part, il apparait une forte contribution de la STEP Ocybèle en ibuprofène et aténolol, ce qui confirme les différences de concentrations observées dans l'Arve.

En ce qui concerne le Rhône, des différences significatives entre les flux provenant du Rhône et de l'Arve sont mises en évidence, avec des flux plus élevés de l'Arve en paracétamol, diclofénac, ibuprofène et aténolol, qui expliquent pour partie l'augmentation des concentrations de ces composés entre Rhône amont et Rhône Chancy. Enfin, il apparait une forte proportion en carbamazépine sur le site Rhône amont, eau qui provient du lac Léman, ce qui est cohérent avec le rapport 2010 de la CIPEL (Ortelli *et al.,* 2011). En effet, cette molécule étant synthétisée sur les sites industriels situés dans le bassin versant du Rhône valaisan, de fortes concentrations sont retrouvées dans le lac Léman.

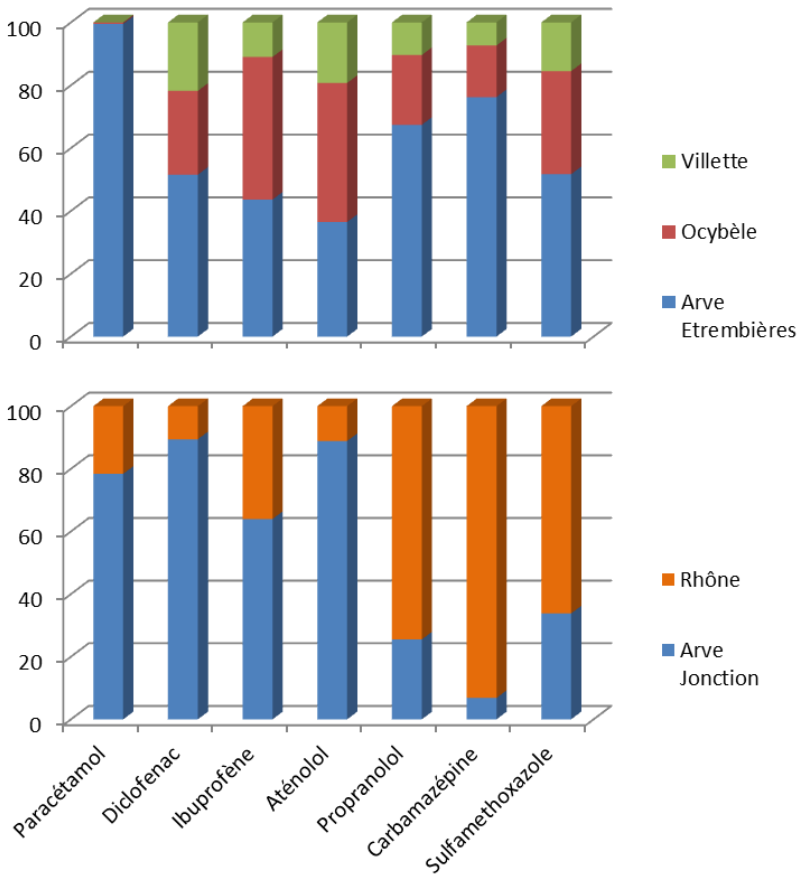


Figure 36 Contributions au flux total (en %) des STEPs Ocybèle et Villette, de l'Arve et du Rhône - (janvier 2013 à janvier 2015 ; 9 campagnes)

(iii) Station de réalimentation de Vessy et nappe du Genevois

Les eaux souterraines de la nappe du Genevois ont également été analysées. **La nappe contient de très faibles traces de résidus de médicaments** (figure 37) : quatre substances ont été détectées, trois très hydrophiles, le paracétamol, l'acide salicylique et le sulfaméthoxazole et un contaminant ubiquitaire, la carbamazépine. Seul **le sulfaméthoxazole** a été détecté sur les 5 sites et quantifié dans 5 des 7 échantillons du Puits Carouge et dans tous les échantillons de la station de Vessy (station de réalimentation de la nappe par de l'eau de l'Arve) à des teneurs de l'ordre de 0,002 µg/L, donc très inférieures à la PNEC (0,59 µg/L).

La présence de sulfaméthoxazole dans les échantillons des 5 sites peut s'expliquer soit par une source diffuse telle que l'utilisation en agriculture en tant que médicament vétérinaire, soit par des interactions entre l'eau souterraine et l'eau de surface. La présence de ce composé dans les eaux souterraines a déjà été reportée dans la littérature. Barnes *et al.*, en 2008, ont réalisé un très large screening de contaminants dans les eaux souterraines des Etats-Unis. Le sulfaméthoxazole faisait partie des composés les plus détectés (23% des échantillons), avec des concentrations entre 20 ng/L et 1 µg/L. Banzhaf *et al.* (2013) ont également étudié le transfert de résidus de médicaments entre une eau de surface et une eau souterraine, démontrant le caractère particulièrement mobile de trois d'entre eux : la carbamazépine et deux antibiotiques, sulfaméthazine et sulfaméthoxazole.

Le cas de la station Vessy est différent : celle-ci étant une station de réalimentation de la nappe au moyen d'eau prélevée dans l'Arve, les substances retrouvées proviennent certainement de la contamination initiale de l'Arve. Cependant, l'eau analysée ayant été traitée, ces résultats montrent la résistance du sulfaméthoxazole et de la carbamazépine au procédé de traitement spécifique appliqué à la station de réalimentation de Vessy (désablage, floculation, filtration et chloration).

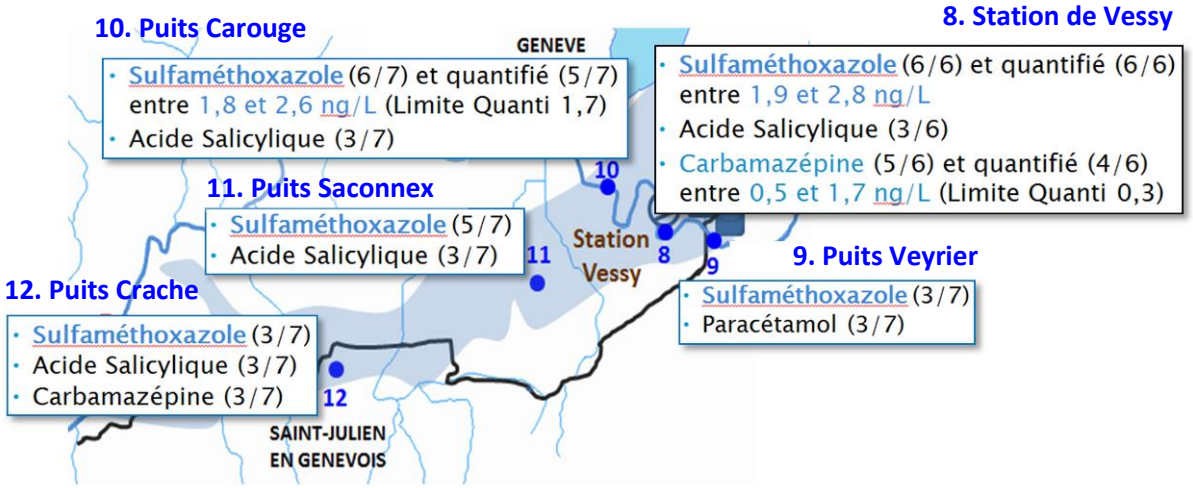


Figure 37 Molécules détectées dans plus de 40 % des échantillons (nombre d'échantillons dans lesquels la molécule a été détectée / nombre d'échantillons analysés) - Observatoire SIPIBEL-IRMISE (janvier 2013 à janvier 2015 ; 7 campagnes)

Principales conclusions sur les résidus de médicaments et détergents :

1. *Les abattements des deux filières de la STEP de Bellecombe sont très variables selon les composés avec certains très bien abattus comme le paracétamol, l'acide salicylique et l'ibuprofène et d'autres plus réfractaires comme le diclofénac, le propranolol, la carbamazépine et les antibiotiques ciprofloxacine et sulfaméthoxazole. Les abattements sont supérieurs dans la filière hôpital, probablement en raison d'un temps de séjour plus élevé.*

2. *Les eaux traitées urbaines des STEPs de Bellecombe, Ocybèle et Villette ont des compositions assez semblables avec la présence majoritaire de diclofénac et aténolol, mais présentent également des spécificités, avec une forte proportion en carbamazépine dans l'eau traitée de Bellecombe et une forte proportion en ibuprofène dans celle d'Ocybèle.*

3. *Les flux de résidus de médicaments rejetés par la filière urbaine de la STEP de Bellecombe sont très nettement supérieurs à ceux de la filière hôpital, en raison notamment, d'un débit environ 37 fois plus élevé*

4*. Huit médicaments ont été détectés à des fréquences supérieures à 50 % dans l'Arve, à proximité du rejet de la STEP de Bellecombe : seul le diclofénac présente une concentration moyenne supérieure à la norme de qualité environnementale (NQE). En complément, aucune variation temporelle significative n'a pu être observée depuis l'ouverture du CHAL et les mesures montrent que la contamination en médicaments est déjà présente en amont de la STEP de Bellecombe.*

5. *Le bilan des flux de résidus de médicaments est bouclé sur le tronçon de l'Arve entourant les rejets des STEP d'Ocybèle et Villette.*

6. *La nappe du Genevois contient de très faibles traces de résidus de médicaments. Seul l'antibiotique sulfaméthoxazole a été régulièrement quantifié (> 1,7 ng/L) dans les eaux de la station de Vessy (eau de l'Arve injectée dans la nappe) et des puits étudiés.*

7. *Il est essentiel de développer des méthodes d'analyses permettant la recherche de composés détergents ciblés (à des seuils de sensibilité bas) et de métabolites de médicaments dans les eaux, les sédiments et les organismes. Une recherche des résidus de médicaments et détergents dans les boues destinées à l'épandage est également pertinente.*

3-2 Résultats des analyses microbiologiques

Résultats du suivi des intégrons de multi-résistance

(i) Efficacité du traitement de la STEP de Bellecombe

La figure 38 présente les résultats d'abondance relative (voir partie 1-4) en termes de médianes, valeurs maximales et valeurs minimales, sur les sites de prélèvement de l'observatoire SIPIBEL.

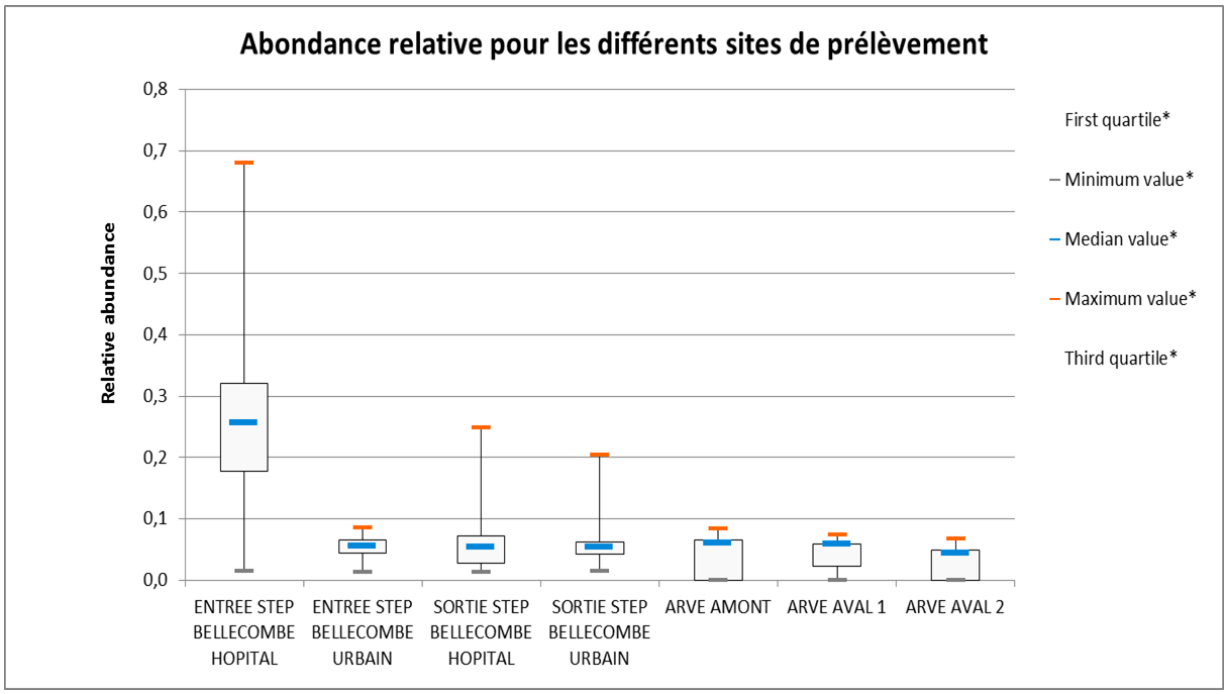


Figure 38 Abondance relative sur les sites de prélèvement de l'observatoire SIPIBEL : entrées et sorties de la STEP de Bellecombe et Arve en amont, aval immédiat et aval éloigné du rejet de la STEP -
(février 2012 à juillet 2014 ; 20 campagnes)

On constate, comme vu précédemment, que l'effluent non traité issu de l'hôpital présente l'abondance relative la plus importante en terme de médiane avec une valeur maximale de 0,67, tandis qu'à l'entrée de la filière urbaine, cette abondance relative est inférieure à 0,1, avec une faible variabilité entre la valeur maximale et la valeur minimale.

En sortie des 2 filières de traitement, **les valeurs d'abondance relative sont identiques à la fois en terme de valeur médiane, qu'en terme de valeur maximale, avec une abondance relative voisine de 0,05. En terme de concentrations, les valeurs sont sensiblement les mêmes pour les 2 sites, autour de 10^8 intégrons/L.**

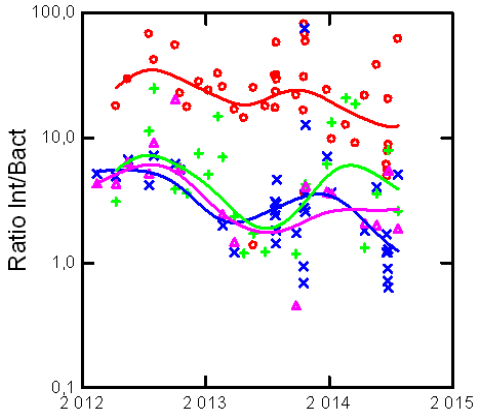


figure 39Cela se visualise sur la figure 39 où sont comparées en terme d'abondance relative et de concentrations d'intégrons les entrées et sorties des deux filières de traitement durant toute la période d'analyse. La quantité d'intégrons diminue entre les entrées et sorties de la station avec des valeurs d'abattement classiques pour un abattement bactérien en station d'épuration classique (2 à

3 log). Les concentrations d'intégrons en sortie sont en moyenne identiques pour les deux filières. Il en est de même pour les valeurs d'abondance relative. Autrement dit, le traitement de la STEP hospitalière permet de ramener la quantité de bactéries antibiorésistantes présente dans les effluents hospitaliers au niveau de celle mesurée dans l'effluent urbain en sortie de traitement.

Ces résultats sont comparables à ceux retrouvés sur les différents hôpitaux européens avec des abattements bactériens voisins de 2 log pour une station classique (type STEP de Bellecombe) à 5 log pour des systèmes élaborés (type membrane d'ultrafiltration). Il est important de noter que l'on n'observe pas de différence significative entre l'abattement de bactéries non résistantes et de bactéries résistantes.

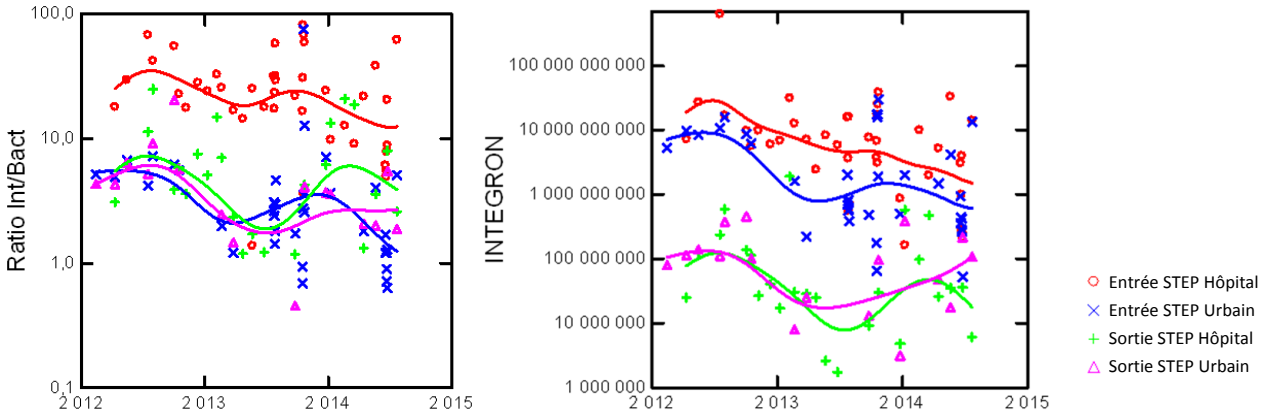


Figure 39 Evolution des concentrations en intégrons de résistance (à droite, en intégrons/L) et de l'abondance relative (à gauche) en entrée et en sortie des 2 filières de la STEP de Bellecombe, de 2012 à juillet 2014 – abondance relative = ratio entre la concentration en intégrons (estimation de la quantité de bactéries antibiorésistantes) et la concentration en ARS16S (estimation de la quantité de bactéries)

(ii) Suivi des boues activées de la STEP de Bellecombe

Les bactéries étant constitutives des boues d'épuration, les intégrons ont également été recherchés dans les bassins biologiques des 2 filières de traitement de la STEP de Bellecombe. Rappelons qu'initialement les bassins ont eu la même boue, donc le même écosystème bactérien, puis l'une des filières a été alimentée par les eaux usées urbaines et l'autre par les eaux usées issues de l'hôpital.

Les concentrations d'intégrons et l'abondance relative des boues activées hospitalières et urbaines ont été comparées avec, comme limite d'interprétation, la différence de fonctionnement des 2 filières, la file de traitement du CHAL ayant un âge de boue plus important que celle traitant les eaux urbaines.

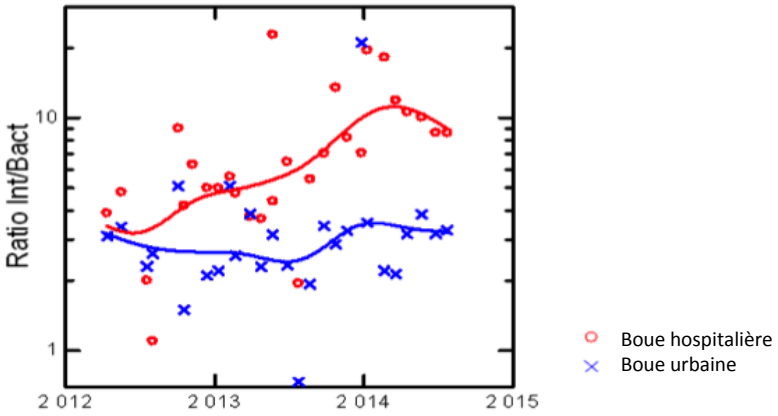


Figure 40 Evolution de l'abondance relative pour les boues hospitalière et urbaine de la STEP de Bellecombe entre février 2012 et juillet 2014

Les résultats moyennés sur la durée de l'observation ont montré une augmentation de l'abondance relative dans le bassin alimenté par l'effluent hospitalier (figure 40). Cela se traduit par le fait que pour une quantité de bactéries donnée, le nombre d'intégrons de résistance est plus important et a tendance à augmenter tout le long du suivi. Ceci est confirmé par la représentation de Student (figure 41) présentant la distribution normale de tous les échantillons ainsi que les valeurs maximales et minimales pour les boues hospitalières et urbaines.

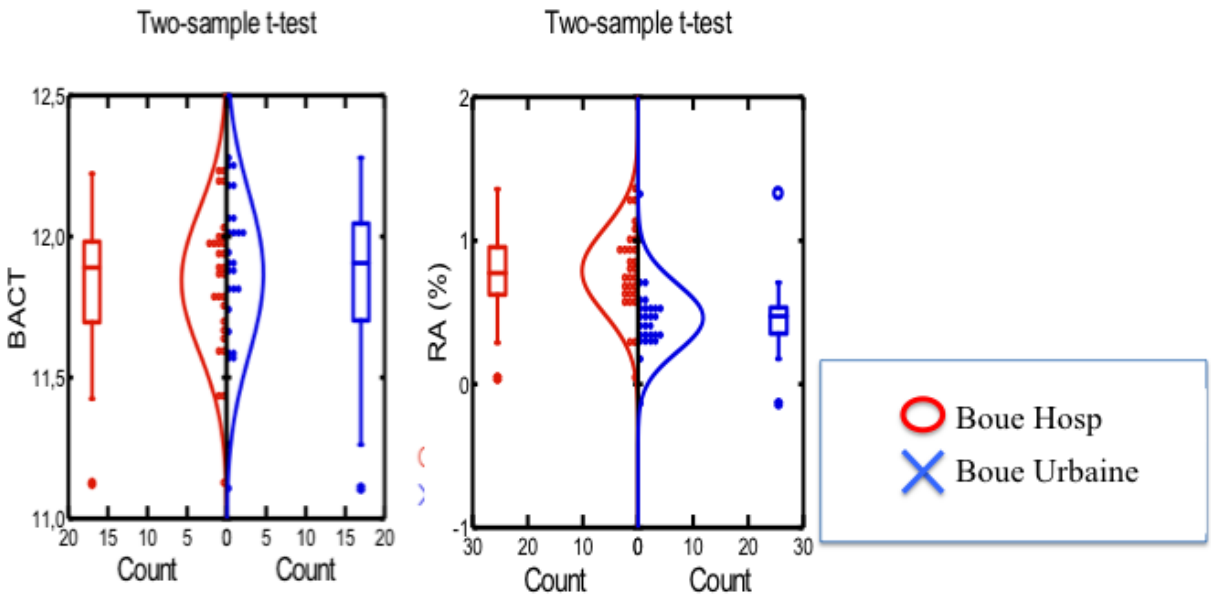


Figure 41 Synthèse des mesures d'intégrons (BACT) –à gauche- et d'abondance relative (RA %) – à droite - en bleu les boues urbaines et en rouge les boues hospitalières

Cette représentation permet de visualiser que si, en terme de concentration, il n'y a pas de différence majeure entre les boues urbaines et hospitalières, le décalage de distribution est significatif en terme d'abondance relative. Cela confirme que dans les conditions de fonctionnement, les boues hospitalières se sont enrichies en intégrons de résistance.

(iii) Impact des rejets des 3 stations d'épuration sur le milieu récepteur

Les quantités d'intégrons mesurées dans l'Arve en amont et en aval des points de rejets des stations sont extrêmement faibles et très voisines, évoluant en moyenne autour de 10^7 – 10^8 intégrons/L, ce qui, compte tenu du flux, représente des valeurs moyennes de 3.10^{16} intégrons/jour. On ne constate **pas d'effet « rejet de la station ».** Cela est certainement dû à un effet de dilution.

Les intégrons n'ont pu être quantifié dans la nappe, leur concentration étant trop faible et aurait nécessité des volumes de filtration trop important.

La figure 42 permet de constater la **stabilité du flux d'intégrons sur le bassin versant**, valeurs principalement liées aux facteurs de dilution.

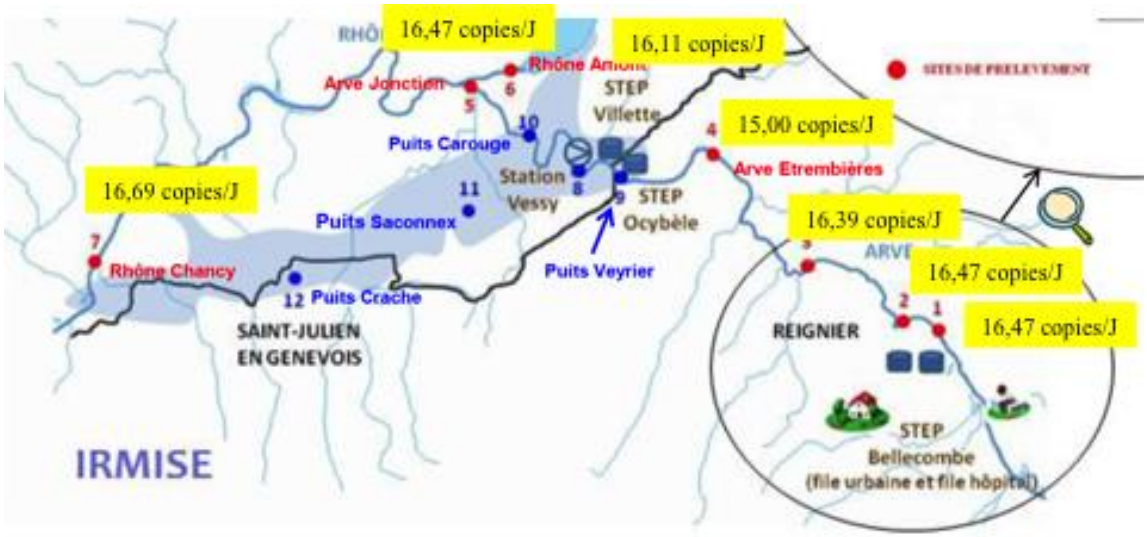


Figure 42 Nombre de copies d'intégrons de résistance (en log10 copies/J) dans l'Arve et le Rhône
(moyennes calculées sur les résultats des 5 campagnes menées entre janvier 2013 et mars 2014)

Résultats du suivi des *Pseudomonas aeruginosa*

(i) Abattement des deux files de traitement de la STEP de Bellecombe

La figure 43 illustre les résultats de dénombrement des *P. aeruginosa* obtenus depuis l'ouverture de l'hôpital (février 2012) jusqu'à octobre 2014 pour chaque filière avant et après traitement de la STEP de Bellecombe.

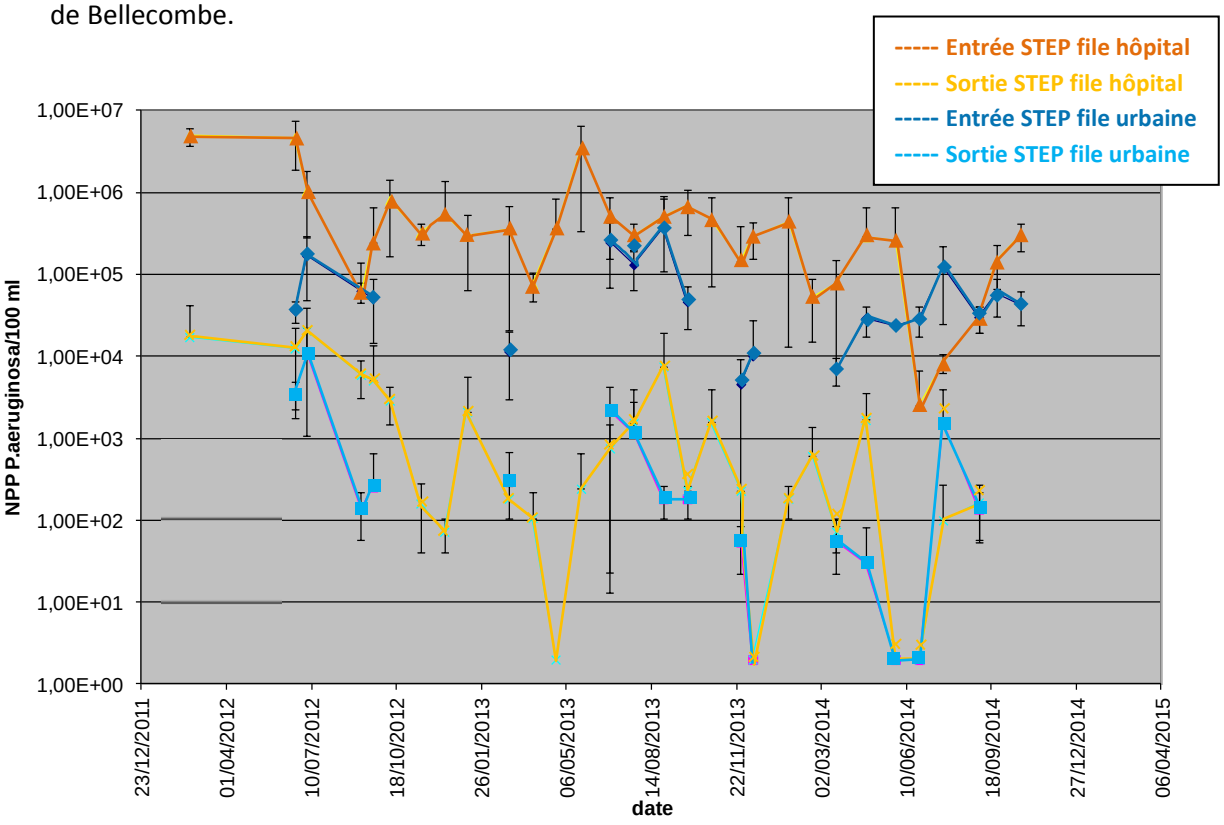


Figure 43 Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* (NPP/100ml) dans les eaux usées des filières hôpital et urbaines de la STEP de Bellecombe - février 2012 à octobre 2014

Un abattement significatif des *P. aeruginosa* pour les 2 filières est observé (ANOVA, p-value<0.05). Ces résultats sont en accord avec des études portant sur l'efficacité d'élimination des microorganismes par le traitement des eaux usées par « boues activées » ; des réductions de

bactéries variant de 1,2 log à plus de 3 log selon les types de bactéries avaient été observées (Vandermeersch, 2006).

L'abattement est plus élevé pour la filière hospitalière (Kruskal-Wallis, p-value<0.05) de 1 à 5,1 log que dans la filière urbaine de 1 à 4 log. Ceci peut s'expliquer par le temps de résidence hydraulique qui est supérieur dans la filière hospitalière (10 jours en moyenne VS 1,5 jours pour la filière urbaine). En effet, les *P. aeruginosa* ont une forte aptitude pour la colonisation des surfaces inertes. De plus, Slekovec *et al.,* (2012) ont observé de fortes concentrations dans les boues de STEP. Ceci suggère une probable adsorption ou un attachement via certains appendices (fimbriae, lectines) sur les matières initialement en suspension. Ce phénomène est d'autant plus marqué que les temps de contact et de dépôt sont longs.

Les eaux traitées de la STEP de Bellecombe contiennent de <3 à 10^5 NPP *P.aeruginosa* /100ml dans la filière urbaine et de <3 à 10^4 dans la filière hospitalière. Une estimation des charges totales (et analyse des flux) en *P. aeruginosa* pourrait être effectuée en fonction des débits observés, et le facteur de dilution lié au milieu récepteur, selon les débits de l'Arve, pourrait être calculé. Ces résultats sont en accord avec diverses études ayant montré une présence significative de bactéries d'origine fécale dans les eaux traitées (e. g. 10^3 à 10^6 UFC coliformes totaux/100ml) (Baumont *et al.,* 2004).

Ces résultats indiquent clairement **des transferts significatifs de *P. aeruginosa* dans le milieu récepteur**. Le bilan de l'antibiorésistance des souches isolées par Slekovec *et al.,* (2012) suggère une forte prévalence de souches multi-résistantes dans la filière hospitalière mais faible dans la filière urbaine. Des études de l'antibiorésistance des isolats du site de Bellecombe sont présentées en partie III. 3-5 du rapport, et confirment cette tendance.

(ii) Résultats du suivi à l'échelle du bassin versant

La présence de *P.aeruginosa* dans les eaux de surface de l'Arve à l'amont, au niveau des rejets et à l'aval a été suivie, tout comme le Rhône, la nappe du Genevois et les rejets de deux autres STEPs du bassin versant.

Tableau X Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* (NPP/100 mL) dans les eaux usées traitées de STEPs connectées sur l'Arve

Unité : NPP/100 mL	Nov. 13	Déc. 13	Mars 14	Sept 14	Nov. 14	Déc. 14
Sortie STEP Bellecombe filière hôpital	230	<3	72,7	165	ND	ND
Sortie STEP Bellecombe filière urbaine	54,3	<3	54,3	137	184	653
Sortie STEP Ocybèle	119	<3	230	2 160	230	230
Sortie STEP Villette	108	<3	72,7	91,0	91,0	<3

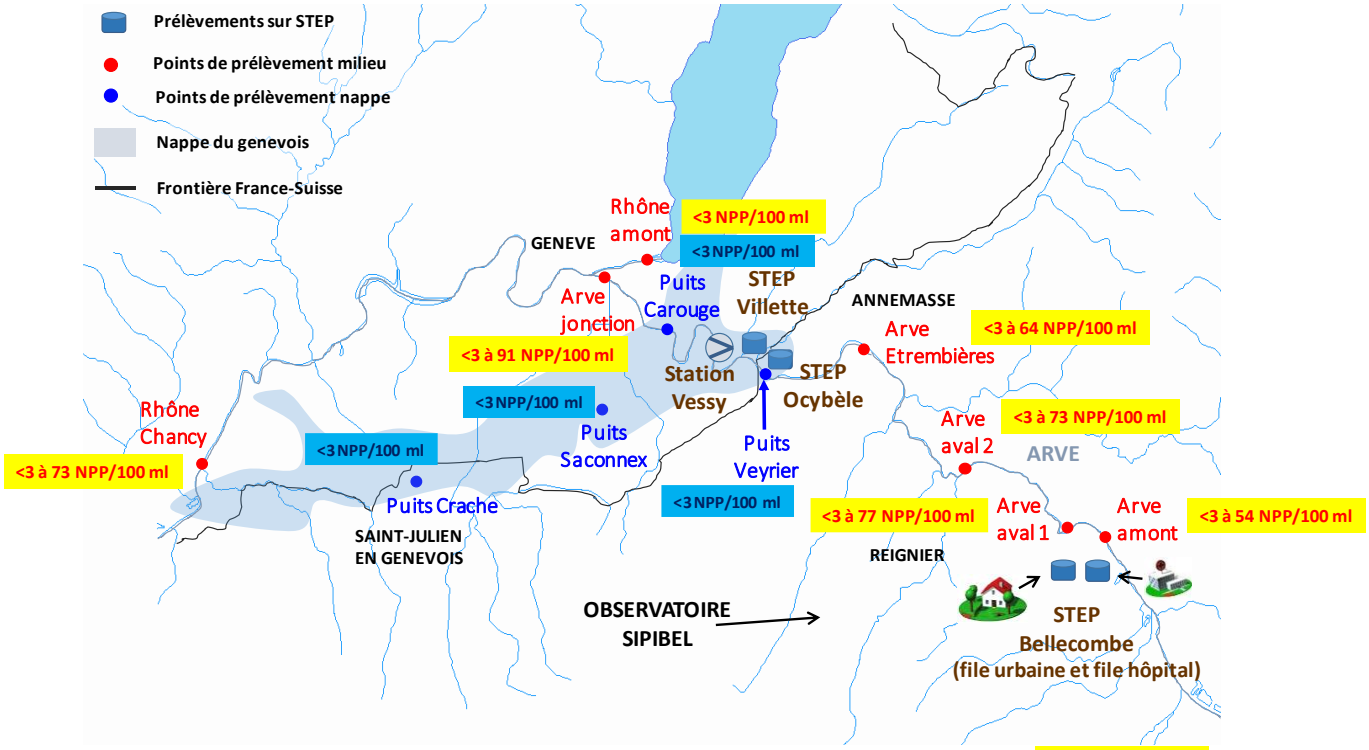


Figure 44 Résultats des dénombrements en *P.aeruginosa* sur les sites de prélèvements des eaux de surface (en jaune) du Rhône et de l'Arve et d'eaux de nappe (en bleu) -
moyenne des résultats obtenus sur les campagnes menées entre 2013 et 2014 (2 à 3 campagnes par an selon les sites)

Les dénombrements en *P. aeruginosa* des **eaux traitées** des STEPs Villette et Ocybèle en comparaison avec les 2 filières de la STEP de Bellecombe sont présentés dans le tableau X et révèlent des résultats comparables.

Les résultats des mesures effectuées sur **les eaux de surface et la nappe du Genevois** sont présentés dans la figure 44. Dans les eaux de nappe, les nombres de *P.aeruginosa* étaient sous le seuil de détection de la méthode. Une plus forte prévalence de *P.aeruginosa* dans les eaux de surface de l'Arve à l'aval des rejets (aval 1 jusqu'à la jonction de l'Arve avec le Rhône) a été observée. Les dénombrements étaient cependant faibles et parfois comparables aux concentrations de l'amont. Les sédiments et le périphyton pourraient être des réservoirs ou habitats des *P. aeruginosa* allochtones. À l'amont de l'exutoire de l'Arve (sortie du lac Léman), les eaux de surface du Rhône ne présentaient pas de *P.aeruginosa* (résultats inférieurs au seuil de détection de la méthode). À l'aval de l'exutoire, des dénombrements faibles mais comparables à ceux de l'Arve étaient détectés.

Principales conclusions des mesures microbiologiques :

1. *La quantité d'intégrons de résistance diminue entre les entrées et sorties de la STEP de Bellecombe avec des valeurs d'abattement classiques pour un abattement bactérien en STEP classique (2 à 3 log). Le taux d'abattement de la filière hôpital est plus élevé que celui de la filière urbaine, que ce soit pour les intégrons ou les P. aeruginosa, probablement en raison d'un temps de séjour plus important (10 jours dans la filière hôpital VS 1,5 jour dans la filière urbaine)*

2. *Les boues des bassins d'aération de la filière hospitalière ont tendance à s'enrichir en intégrons de résistance.*

3. *Les quantités d'intégrons mesurés dans l'Arve en amont et en aval du point de rejet des stations sont extrêmement faibles et très voisines : on ne constate pas d'effets « rejet de la station ». Notons en revanche une plus forte prévalence de P.aeruginosa à l'aval de ces mêmes rejets : ces résultats indiquent clairement des transferts significatifs de ces microorganismes dans le milieu.*

4. *Les intégrons de résistance et les P.aeruginosa n'ont pas été quantifiés dans la nappe du genevois.*

3-3 Résultats des bio-essais

Effet du traitement de la STEP

La mise en œuvre de la batterie de bioessais sélectionnée, avant et après traitement, montre l'**abattement important de l'écotoxicité et de l'activité œstrogénomimétique** par la station pour les deux types d'effluents. Cet abattement est plus flagrant dans le cas des effluents hospitaliers, dont l'écotoxicité avant traitement est plus importante.

Ce phénomène est illustré ci-dessous par les résultats de la campagne de mesure de novembre 2013 (tableau XI) qui, bien qu'elle corresponde à un des effluents les plus écotoxiques de la période étudiée, est représentative des tendances observées sur les autres campagnes.

Sur cette date d'échantillonnage, le taux d'élimination de l'effet oestrogénique est de plus de 99 % pour l'effluent hospitalier et de 95 % pour l'effluent urbain. Dans ce dernier type d'effluent, le résiduel, avant la dilution dans la rivière, est néanmoins encore d'un niveau susceptible d'induire de faibles effets perturbants sur la faune aquatique.

Tableau XI Comparaison de l'écotoxicité et de l'effet estrogénomimétique avant et après traitement pour les deux types d'effluents - exemple de la campagne de mesure de novembre 2013

Campagne de mesure de novembre 2013		EFFLUENT HOSPITALIER		EFFLUENT URBAIN	
		ENTRÉE	SORTIE	ENTRÉE	SORTIE
Daphnies	(CE_{50}) (%)	9,9	> 90	78,8	> 90
Algues	(CE_{20}) (%)	15,1	80	> 80	80
Rotifères	(CE_{20}) (%)	4,5	20	34,1	> 100
Ostracodes	Inhibition croissance (%)	66,2	0	0	0
Essai des comètes (sur extrait)	(% tail DNA)	NS	NS	NS	NS
SOS Chromotest (sur extrait)	(Induc. factor)	1,2	1,2	1,1	1
Essai micronoyaux (sur extrait)	(nb noyaux)	2,5	1,25	12,5	1,3
Perturbateurs endocriniens (hormones thyroïdiennes) (extrait)	(ng/L Eq T3)	NS	NS	NS	NS
Perturbateurs endocriniens (oestrogènes) (extrait)	(ng/L Eq E2)	114	0,55	28	1,5

Légende :

CE 50 daphnies, CE 20 algues, rotifères	0 - 10 %	**IF SOS chromotest**	> 2	**Perturbation activité oestrogénique**	> 10 ng/L EqE2
	10 – 30 %		1,5 - 2		1 - 10 ng/L EqE2
	> 30 %		0 - 1,5		0 - 1 ng/L EqE2
Inhibition croissance ostracodes	> 30 %	**Essai micronoyaux**	> 30 noyaux	**NS : Non significatif**	
	10 – 30 %		10 - 30 noyaux		
	0 – 10 %		0 - 10 noyaux		

Code couleurs : Rouge : concentrations induisant des effets importants. Orange : concentrations induisant des effets intermédiaires. Vert : concentrations induisant peu d'effets ou l'absence d'effet (Santiago *et al*, 2002 ; Degrémont *et al.*, 2009).

Très peu d'études existent concernant la comparaison de l'écotoxicité des effluents hospitaliers avant et après traitement, en raison du mélange quasi-systématique de ceux-ci avec les effluents urbains avant traitement dans la station d'épuration locale.

Cette étude montre donc, pour une des toutes premières fois sur le plan international, les potentialités d'abattement de l'écotoxicité globale de ces effluents par une station d'assainissement biologique à filière « classique ».

Des études complémentaires vont être maintenant engagées en vue de progresser encore sur la connaissance de la dynamique de l'écotoxicité et de la perturbation de l'activité endocrinienne des effluents au sein des systèmes étudiés (hôpital, réseau, station d'épuration,…).

Pour réaliser une généralisation de ces résultats à d'autres effluents hospitaliers, et à d'autres types de traitements, il est nécessaire d'élargir le panel des effluents et des stations étudiés sur le plan national. Cela pourra notamment être fait dans le cadre du programme national micropolluants « ONEMA/MEDDE/AE » en cours.

Impact du rejet de la STEP sur l'Arve

Des mesures de l'effet perturbateur endocrinien ont été effectuées sur des échantillons des effluents traitées de la STEP et de l'Arve (figure 45).

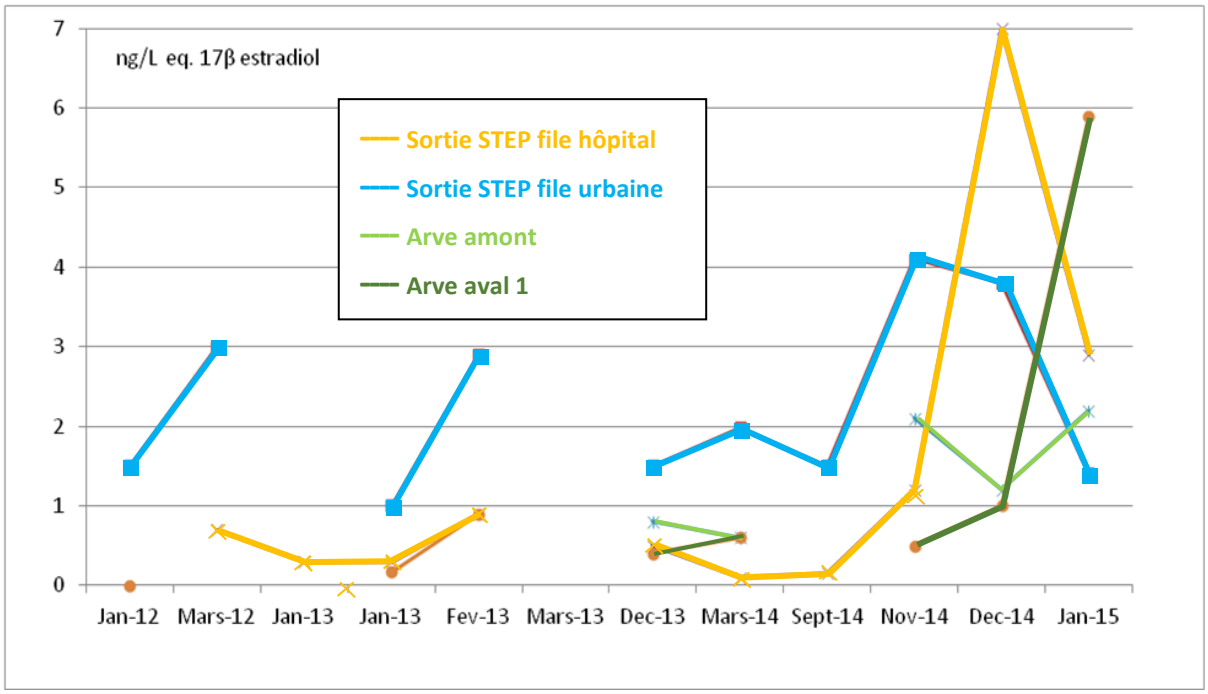


Figure 45 Évolution de l'effet estrogénomimétique mesuré *in vitro* sur le modèle MELN dans les eaux traitées urbaines et de l'hôpital et les eaux de l'Arve en amont et en aval du rejet de la STEP

Ces mesures ne révèlent aucun effet perturbateur des récepteurs aux hormones thyroïdiennes ni aucun effet estrogénoantagoniste, comme dans le cas dans les eaux d'entrées de STEP.

Dans les eaux traitées, les effets estrogénomimétiques se situent entre 0,1 et 7 ng/L eq estradiol. À titre indicatif, les effets mesurés dans des rivières contaminées en France se situent autour de 1 à 3 ng/L eq estradiol. Des concentrations de l'ordre de 4 à 5 ng/L sont connues pour perturber l'écologie d'un lac.

Les effets dans l'Arve amont se situent entre 0,1 et 2 ng/L, valeurs tout à fait similaires à ce qui est mesuré en aval excepté pour la campagne de janvier 2015 où, sans que les effluents de la STEP soient d'un niveau élevé, l'échantillon aval montre des effets supérieurs à la moyenne habituelle.

Des essais d'écotoxicité normalisés ont également été appliqués lors de certaines campagnes, sur les eaux de l'Arve en amont et en aval du rejet. Ces mesures n'ont pas mis en évidence d'écotoxicité significative des échantillons d'eau de cette rivière à fort débit.

Les résultats des mesures des paramètres classiques (DBO, DCO, NH_4, etc.), médicaments, détergents, métaux et autres micropolluants effectuées sur les eaux de l'Arve, en amont et aval de la STEP de Bellecombe révèlent d'ailleurs des concentrations très faibles sur cette matrice, qui expliquent sans doute l'absence de réponse sur ce type de bioessais :

- Concernant les résidus de médicaments, seul le diclofénac est mesuré à des concentrations supérieures aux NQE (voir partie 3-1) ;
- Concernant les familles de détergents, seuls les détergents non-ioniques ont été quantifiés, et à une fréquence inférieure à 30 % des campagnes (voir partie 3-1) ;
- Concernant les métaux, les résultats sont présentés dans le tableau XII et ne révèlent qu'une contamination faible qui confirme l'efficacité des actions menées par le SM3A et les collectivités du bassin versant depuis 20 ans dans la lutte contre les pollutions industrielles.

Tableau XII Résultats des mesures de métaux effectuées sur les sites Arve amont, Arve aval 1 et Arve aval 2 – résultats issus de 11 campagnes menées entre février 2011 et janvier 2015

	Fréquence de quantification (%)	Concentrations minimale et maximale mesurées (µg/L)	Concentration moyenne (µg/L) (sur les valeurs quantifiées)
Zinc	100	28 - 247	140
Arsenic	47	1,4 – 2,5	1,9
Chrome	27	2 – 21,3	6,8
Cuivre	21	4,4 – 5,7	4,9
Nickel	7 (quantifié sur une seule campagne en 2 points)	11,7 – 12,8	/
Gadolinium	4 (quantifié sur une seule campagne en 1 point)	0,2	/
Cadmium, plomb et mercure	0	/	/

En complément, le suivi de l'impact du rejet de la STEP sur les organismes aquatiques a également été évalué par des campagnes d'analyses hydrobiologiques (voir ci-après) et dans le cadre d'actions de recherche telles que la thèse de l'ISA (voir partie III. 3-2) et le projet Persist'Env (voir partie III. 3-4).

Principales conclusions des bioessais :

1. *Un abattement important de l'écotoxicité et de l'activité œstrogénomimétique par la station est observé pour les deux types d'effluents.*

2. *Malgré cet abattement, le résiduel de l'activité oestrogénomimétique mesuré dans les effluents traités est encore, à certaines dates et avant dilution dans la rivière, d'un niveau susceptible d'induire de faibles effets perturbants sur la faune aquatique.*

3. *Dans la rivière Arve :*
-les essais d'écotoxicité normalisés n'ont pas mis en évidence d'écotoxicité significative des échantillons d'eau de cette rivière à fort débit, qui présente des concentrations très faibles en micropolluants dans la matrice eau ;
-les effets oestrogénomimétiques sont d'un niveau similaire en amont et en aval du rejet, à l'exception de la campagne de janvier 2015 où, sans que les effluents de la STEP soient d'un niveau élevé, l'échantillon aval montre des effets supérieurs à la moyenne habituelle, à des niveaux de concentrations (environ 6 ng/L) connus pour perturber l'écologie d'un lac.

3-4 Résultats des analyses des peuplements d'invertébrés et de diatomées dans l'Arve

Un suivi de l'état biologique de la rivière a été réalisé, en amont, en aval immédiat et en aval éloigné du rejet de la STEP de Bellecombe, à partir d'analyses des communautés benthiques (macrofaune invertébrée) et épilithiques (microflore diatomique).

Deux campagnes de prélèvement ont été menées avant la mise en service du CHAL (état zéro du site) en février 2012 ; six campagnes ont ensuite été effectués entre mars 2012 et janvier 2015.

Peuplements invertébrés

Le tableau XIII représente les valeurs indicielles (IBGN recalculés, IBGN corrigés par le test de robustesse), la richesse taxinomique, le numéro et le nom du groupe faunistique indicateur (GFI) ainsi que la densité des peuplements (effectif par m²), par station et par campagne.

Tableau XIII Résultats des campagnes de prélèvements d'invertébrés dans la rivière Arve -
IBGN : Indice Biologique Global Normalisé ; GFI : Groupe Faunistique Indicateur (source : Rapport Gay Environnement)

Dates	Stations	IBGN	Richesse taxinomique	N° du GFI	GFI	IBGN « corrigé »	GFI	N° du GFI	Effectif par m²
01/02/11	Arve amont	14	18	9	*Perlodidae*	12	*Leuctridae*	7	2915
17/01/12		14	19	9	*Perlodidae*	12	*Leuctridae*	7	1693
13/03/12		13	22	7	*Leuctridae*	12	*Nemouridae*	6	3175
22/01/13		14	20	9	*Perlodidae*	12	*Leuctridae*	7	1343
26/02/13		13	21	7	*Leuctridae*	12	*Nemouridae*	6	2018
26/11/13		13	21	7	*Leuctridae*	12	*Nemouridae*	6	2705
25/11/14		13	22	7	*Leuctridae*	12	*Nemouridae*	6	2423
27/01/15		15	21	9	*Taeniopterygidae*	13	*Leuctridae*	7	2433
01/02/11	Arve aval 1	15	21	9	*Perlodidae*	13	*Leuctridae*	7	2490
17/01/12		15	24	9	*Perlodidae*	13	*Leuctridae*	7	5218
13/03/12		15	30	9	*Perlodidae*	13	*Heptageneidae*	7	1700
22/01/13		17	29	9	*Taeniopterygidae*	15	*Leuctridae*	7	4560
26/02/13		14	25	7	*Leuctridae*	13	*Leuctridae*	6	2358
26/11/13		13	16	9	*Perlodidae*	13	*Taeniopterygidae*	9	1703
25/11/14		16	25	9	*Perlodidae*	13	*Taeniopterygidae*	9	6198
27/01/15		14	18	9	*Perlodidae*	16	*Leuctridae*	7	3038
01/02/11	Arve aval 2	14	19	9	*Perlodidae*	14	*Taeniopterygidae*	9	3375
17/01/12		14	20	9	*Perlodidae*	12	*Leuctridae*	7	1412
13/03/12		16	26	9	*Perlodidae*	14	*Leuctridae*	7	5543
22/01/13		15	24	9	*Perlodidae*	13	*Leuctridae*	7	2185
26/02/13		15	21	9	*Perlodidae*	13	*Leuctridae*	7	2370
26/11/13		16	26	9	*Perlodidae*	14	*Leuctridae*	7	3090
25/11/14		15	24	9	*Perlodidae*	15	*Taeniopterygidae*	9	3140
27/01/15		16	25	9	*Perlodidae*	16	*Taeniopterygidae*	9	3160

État	« Très bon »	« Bon »	« Moyen »	« Médiocre »	« Mauvais »	« non défini »

Ces différents éléments montrent que **les indices IBG sont peu discriminants s'agissant de l'impact du rejet de la STEP de Bellecombe**. En effet, compte tenu du niveau de perturbation apparent de la station témoin, l'évolution indicielle indique une meilleure qualité au niveau des 2 stations aval rejet.

L'analyse de la répartition de la faune en fonction des couples supports - vitesses prélevés arrive à une conclusion similaire : la station amont présente une communauté benthique moins diversifiée, hormis au niveau des sables en vitesse nulle. Cependant, si globalement la station amont héberge une faune moins diversifiée, certains habitats semblent plus sensibles à la présence et la modification du rejet tels que les sables et les graviers en vitesses moyennes à lentes.

En d'autres termes, si les indices IBG sont non discriminants, l'analyses de certains supports spécifiques -peut-être plus sensibles car soumis à des vitesses lentes ou faibles - peut permettre de mieux appréhender et donc apprécier les impacts éventuels du rejet de la STEP de Bellecombe.

Peuplements diatomiques

Le tableau XIV présente les valeurs indicielles (IBD, IPS) et la richesse taxonomique (nombre de taxa) par station et par campagne de prélèvement.

Tableau XIV Résultats des analyses de la flore diatomique lors des campagnes de prélèvement sur l'Arve - IBD : Indice Biologique Diatomées ; IPS : Indice de polluo-sensibilité (source : Rapport Gay Environnement)

Dates	Stations	IBD	IPS	Nombre de genres	Nombre d'espèces	Diversité	Équitabilité
01/02/2011	Arve amont	16,9	17,5	10	16	2,9	0,73
17/01/2012		16,5	14,9	14	32	3,82	0,76
13/03/2012		20,0	16,0	12	17	2,6	0,64
22/01/2013		15,9	14,7	12	32	3,83	0,77
26/02/2013		16,2	14,8	13	31	3,63	0,73
26/11/2013		18,4	15,6	10	22	2,95	0,66
25/11/2014		20,0	18,1	11	24	2,56	0,56
27/01/2015		20,0	17,8	11	20	2,97	0,69
01/02/2011	Arve aval 1	16,7	17,2	11	20	3,53	0,82
17/01/2012		16,1	nc	8	11	nc	nc
13/03/2012		17,4	15,1	14	34	3,62	0,71
22/01/2013		16,7	17,2	17	30	3,94	0,8
26/02/2013		10,7	12,2	14	25	3,16	0,68
26/11/2013		14,1	12,9	13	23	3,12	0,69
25/11/2014		19,1	16,2	15	37	4,21	0,81
27/01/2015		20,0	18,2	11	22	2,97	0,67
01/02/2011	Arve aval 2	20,0	17,9	8	16	2,63	0,66
17/01/2012		15,6	15,2	12	22	3,67	0,81
13/03/2012		20,0	16,7	10	13	2,63	0,71
22/01/2013		20,0	17,9	14	28	3,06	0,64
26/02/2013		20,0	18,9	9	12	2,16	0,6
26/11/2013		20,0	19,3	9	11	1,45	0,42
25/11/2014		16,1	14,8	8	23	3,32	0,73
27/01/2015		20,0	18,4	10	16	1,55	0,39

État	« Très bon »	« Bon »	« Moyen »	« Médiocre »	« Mauvais »	« non défini »

Ces différents éléments montrent que **les indices IBD sont plus discriminants** que les indices IBG s'agissant de l'impact du rejet de la STEP de Bellecombe. En effet, malgré le niveau de perturbation apparent de la station témoin, l'évolution indicielle indique **une moins bonne qualité au niveau de la station aval proche rejet, le milieu semblant récupérer assez rapidement.**

Conclusions de ces mesures de l'état biologique de la rivière :

1. *L'impact du rejet de la STEP de Bellecombe - avant et après raccordement des effluents de l'hôpital - est très peu perceptible à partir de ces mesures réalisées sur les peuplements d'invertébrés et sur la flore diatomique.*

2. *Il apparait cependant certaines tendances intéressantes qui doivent être confirmées par la poursuite du suivi, telles que la sensibilité accrue du peuplement invertébré au sein des habitats lentiques (zones à circulation lente).*

III. PREMIERS RÉSULTATS DES ÉTUDES ET DES RECHERCHES EN APPUI SUR LE SITE PILOTE

Le programme de recherche du site pilote de Bellecombe

Le programme de recherche défini constitue un cadre d'action et de perspectives de partenariat pour les équipes de recherche membres et partenaires de SIPIBEL.

Il peut être découpé en **4 axes**, eux-mêmes découpés en tâches :

- Axe 1 : Connaissance et modélisation des flux polluants hospitaliers et urbains ;
- Axe 2 : Procédés de traitement ;
- Axe 3 : Risques écotoxicologiques et écologiques ;
- Axe 4 : Sociologie et changement de pratiques.

Ces axes de recherche sont portés par des scientifiques de renom, engagés dans des programmes de recherche internationaux et intègrent donc au plus près l'état des recherches et des connaissances dans le domaine. Ils visent à répondre pour partie aux grandes questions soulevées actuellement dans les plans nationaux sur les micropolluants et plus spécifiquement sur les médicaments. Chacun des axes de recherche est amené à utiliser des données de l'observatoire.

Le tableau XV résume l'ensemble des actions de recherche et études réalisées ou en cours sur le site pilote. Depuis 2010, **6 thèses et 5 programmes d'études et recherche** ont été initiés sur le site.

Tableau XV Études et recherches en appui sur le site pilote de Bellecombe -
en bleu : les actions dont les résultats sont présentés dans ce rapport

AXE			
1	CONNAISSANCE ET MODELISATION DES FLUX		
	-Etude modélisation apports des Step Léman/Arve **-Thèse** Modélisation flux de médicaments (IRMISE) **-RILACT :** développement analytique métabolites médicaments **-RILACT :** rejets et dégradation des résidus de médicaments	CIPEL INSA – Paris Sud ISA INSA	2012 -> 2014 2012 -> 2016 2014 -> 2017 2015 -> 2017
2	TRAITEMENT		
	-Thèse sur les micropolluants dans les boues d'épuration **-Projet européen NO PILLS** **-Projet Triumph** et pilotes de traitement dont **1 thèse** bioessais	Univ. Limoges- Suez Univ. Limoges Suez – ISA - ENTPE	2011 -> 2014 2012 -> 2015 2012 -> 2016
3	RISQUES ENVIRONNEMENTAUX ET SANITAIRES		
	-Echantillonneurs passifs appliqués à la rivière Arve **-Etude** de la qualité microbiologique de l'air à la STEP **-Etude** *Pseudomonas* et *Aeromonas* effluents hospitaliers **-Thèse** bioaccumulation médicaments **-Thèse** développement analytique micropolluants / biote **-Projet Persist'Env** sur la persistance de médicaments/pathogènes **-RILACT** : évolution des effets biologiques en réseau	ISA Cabinet Air et Bio Vet'agro ENTPE ISA Poitiers-INRA-Vetagro P.Sud–ENTPE–Limoges	2011 2013 2012 -> 2015 2012 -> 2015 2012 -> 2015 2012 -> 2016 2015 -> 2018
4	REDUCTION A LA SOURCE / CHANGEMENT DE PRATIQUES		
	-Etude bibliographique usages / pratiques / médicaments **-Etude stratégique** IRMISE **-RILACT :** étude des pratiques hospitalières **-Thèse RILACT** : anthropologie / changement de pratiques **-Etude SIPIBEL-MediATeS :** animation territoriale / sensibilisation médicaments	ISA SM3A-Genève-C.Tillon CHAL – ENTPE EHESP – EVS C.Tillon - Graie	2013 -> 2014 2013 -> 2015 2015 -> 2016 2014 -> 2017 2015 -> ……

AXE 1 – Connaissance et modélisation des flux polluants hospitaliers et urbains

1-1 Objectifs scientifiques et opérationnels

L'axe 1 du programme de recherche SIPIBEL porte sur la détermination et la modélisation des flux polluants rejetés par l'hôpital d'une part et par le bassin versant urbain de la STEP d'autre part. Il vise à comparer les concentrations et les flux véhiculés par ces deux types d'effluents. La modélisation des flux de résidus de médicaments passe par la connaissance i) des consommations au sein de l'établissement de soin (données de la pharmacie centrale du CHAL) et ii) des ventes en pharmacies de ville sur le bassin versant urbain (données commerciales globales sur le bassin versant), couplées à des mesures des concentrations en résidus de médicaments dans les effluents. Une attention particulière est également portée sur la quantification des apports en détergents et biocides en entrée de STEP.

Tâche 1.1 Sources et consommations de médicaments,
Tâche 1.2 Techniques analytiques,
Tâche 1.3 Mesure des flux de polluants hospitaliers et urbains en entrée de STEP,
Tâche 1.4 Evolution des polluants en réseau d'assainissement,
Tâche 1.5 Modélisation des flux de résidus de médicaments et de polluants hospitaliers et urbains.

Équipes mobilisés :

-Laboratoire DEEP de l'INSA de Lyon,
-Le groupe Santé Publique-Environnement de la Faculté de Pharmacie de l'Université Paris Sud, UMR 8079 CNRS AgroParisTech,
-L'équipe TRACES de l'Institut des Sciences Analytiques (ISA) de Lyon.

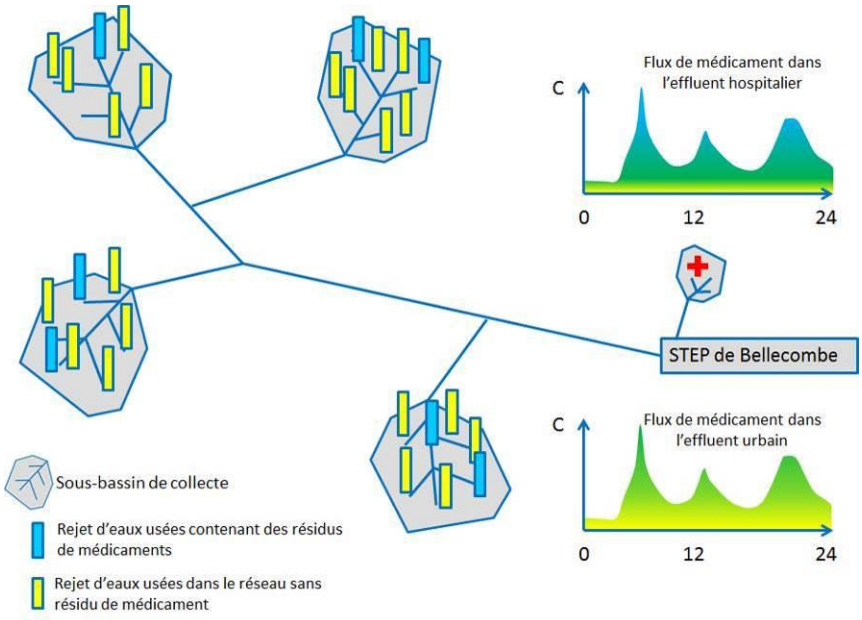


Figure 46 Modélisation des flux de micropolluants dans le bassin versant de la STEP de Bellecombe

1-2 Thèse sur la modélisation des flux de résidus de médicaments

Thèse menée par Tanguy Pouzol et co-encadrée par l'INSA Lyon et l'Univ. Paris Sud (2012-2016)

La mesure des flux de résidus de médicaments entrant en STEP reste aujourd'hui difficile et coûteuse. C'est pourquoi des modèles prédictifs sont mis en place pour pallier cette difficulté. De plus, l'élaboration de ces modèles apporte une réflexion sur les processus en jeu dans le cycle de vie du médicament. Les modélisations disponibles dans ce domaine sont souvent simplistes et utilisent des données de ventes de médicaments établies pour de grandes zones géographiques sur des temps longs (ventes annuelles d'un pays par exemple).

Au sein des projets SIPIBEL et IRMISE Arve aval, **un nouveau modèle** est proposé. Utilisant des données précises géographiquement et temporellement, il permet de décrire les **processus qui influencent la vie du médicament depuis sa vente jusqu'à son entrée en STEP.** La méthodologie proposée est appliquée d'une part pour un bassin urbain, d'autre part pour un bassin hospitalier.

Acquisition des données de vente de médicaments

La collecte des données de ventes de médicaments est dans la plupart des cas une première difficulté pour des modélisations prédictives. Dans le cas présent, la collaboration du Centre Hospitalier Alpes Léman au projet a permis d'assurer un accès facile et complet à la base de données de la pharmacie centrale de l'**hôpital**, permettant ainsi d'obtenir une **résolution temporelle journalière** (un traitement à l'échelle hebdomadaire des données est effectué pour établir le modèle afin de tenir compte de certains artefacts des données journalières).

Concernant le **bassin versant urbain**, l'accès aux données de ventes de médicaments par les pharmacies de ville s'est avéré plus délicat. Sur les six pharmacies présentes sur le territoire, une seule s'est montrée réticente à partager ces données. Néanmoins les conditions d'accès aux données des cinq autres pharmacies ne permettaient pas une extraction envisageable dans le cadre du projet. En effet, l'unique solution envisageable consistait à imprimer les tableaux de ventes de chaque pharmacie sur place, les scanner et opérer une reconnaissance de caractères pour permettre un traitement informatique automatisé. Cela aurait représenté environ 5 000 pages par an à traiter. Un traitement manuel aurait quant à lui été trop chronophage et source d'erreurs puisque le catalogue français comprends plus de 11 000 spécialités de médicaments pour plus de 2 800 molécules (à titre d'exemple le Vidal recense 270 spécialités contenant du paracétamol).

Les demandes faites aux grossistes et regroupements de grossistes en pharmacie n'ont abouti qu'à des solutions incomplètes et onéreuses. D'autre part, les données de l'Assurance Maladie, bien que relativement accessibles, n'offrent qu'une vision incomplète de la vente de médicaments en France. Finalement, **les données mensuelles de vente de médicaments** des six pharmacies du bassin versant et de l'ensemble de la Haute-Savoie, pour une période de deux ans et demie, ont été achetées à IMS Health, une société fournissant des données dans le domaine de la santé.

Présentation du modèle

Trois grandes étapes ont été distinguées dans le parcours du médicament entre sa vente et son arrivée à la STEP : la consommation, le métabolisme et le transport. Nombre des processus rencontrés sont sujets à de grandes variabilités, ce qui engendre un spectre de réponses très variables (flux de médicaments variables à la STEP). Afin de représenter cette variabilité, le modèle est construit à l'aide d'une approche stochastique. Il est donc nécessaire d'effectuer de nombreuses simulations (plusieurs centaines au minimum) afin de générer une distribution statistique fiable et représentative des réponses.

- **La consommation :** cette étape consiste à traiter les données de ventes de médicaments pour la zone considérée à l'échelle de temps adéquate, pour estimer le nombre de personnes consommant un médicament un certain jour. Puis à construire, pour chacune de ces personnes, un planning journalier de prise de médicaments. Pour ce faire, les posologies recommandées pour chacun des médicaments sont utilisées.

- **Le métabolisme :** partant des plannings construits préalablement, cette étape décrit le devenir des médicaments au sein du corps humain jusqu'à leur excrétion. Le modèle s'inspire des recherches faites en pharmacocinétique et propose une représentation simplifiée du métabolisme humain. Par exemple, si l'on considère un médicament à prise orale, il se retrouve en premier lieu dans le système digestif. Là, une partie passe progressivement dans le système sanguin, au sein duquel il est utilisé par le foie qui ne laissera qu'une partie du médicament inchangée. Le tout est progressivement filtré hors du système sanguin par les reins, puis stocké dans la vessie. Couplant cette approche avec un modèle de prédiction d'urination, les instants d'excrétion des résidus de médicaments sont déterminés par le modèle.
- **Le transport :** les médicaments excrétés par le corps se retrouvent, via les urines, au sein des réseaux d'assainissement qui les transportent jusqu'à la station d'épuration. Dans le cas du CHAL raccordé à la STEP de Bellecombe, le réseau est très court (480 m environ) et linéaire, aussi cette étape a été négligée dans un premier temps. Dans le cas du bassin versant urbain, il faut d'abord modéliser l'ensemble des eaux usées parcourant le réseau car ce sont elles qui transportent les médicaments jusqu'à la STEP. Pour ce faire, les usages domestiques de l'eau sont répertoriés et modélisés en corrélation avec l'emploi du temps des habitants de la zone (INSEE, 2009-2010). Une composante non domestique est ensuite ajoutée afin de caler au mieux le modèle sur les données expérimentales de débit enregistrées à l'entrée de la STEP.

Premiers résultats

Les premières analyses indiquent que **le lien entre les ventes et la consommation de médicaments n'est pas direct**. Néanmoins, les variations des ventes (mensuellement ou hebdomadairement) représentent correctement les variations de consommations journalières.

- **Bassin hospitalier :** les premiers résultats du modèle indiquent que les deux processus influençant majoritairement les flux entrants en STEP sont la consommation et le métabolisme. Malheureusement, certains paramètres régissant ces processus sont assez mal connus. De plus, certains processus non modélisés peuvent être envisagés, notamment les transformations que subissent les médicaments au sein des réseaux d'assainissement (adsorption, transformations biochimiques,…). Pour ces raisons, les résultats bruts du modèle sont variables selon les molécules (figure 47 pour l'exemple du diclofénac). L'efficacité du modèle doit encore être testée en incluant les différentes incertitudes (mesure et calcul).

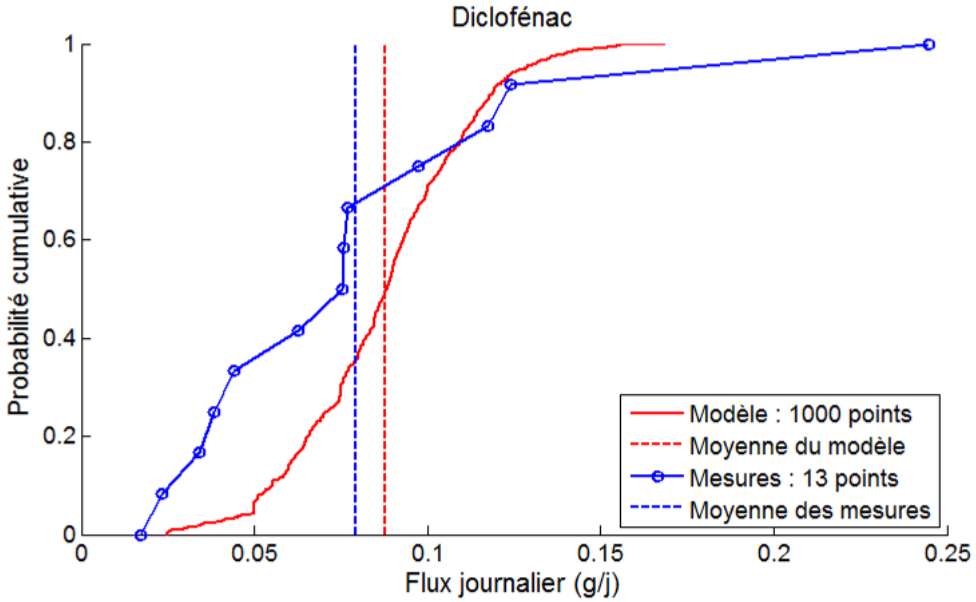


Figure 47 Comparaison des mesures et du modèle des flux de diclofénac entrant en STEP pour la filière hôpital

- **Bassin urbain :** les premiers résultats ne concernent que la modélisation hydraulique des eaux usées du réseau (figure 48). Ceux-ci sont très prometteurs et mettent en évidence la présence de différents types d'eaux au sein du réseau : eaux usées domestiques et non domestiques, infiltration, pluie, etc.

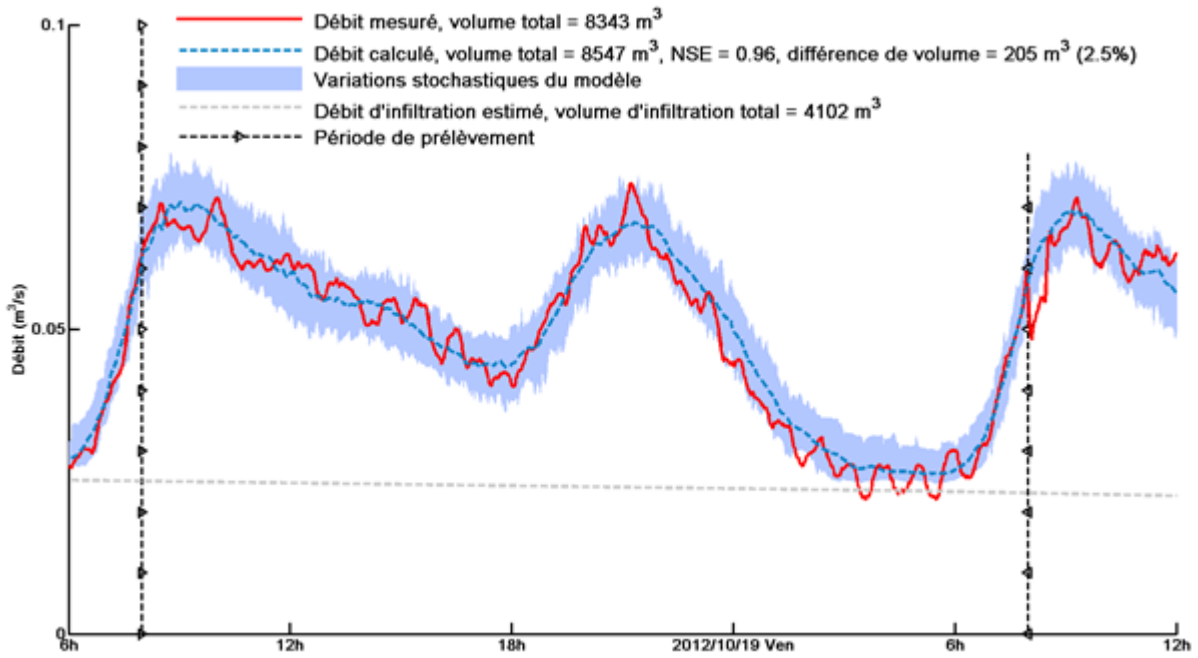


Figure 48 Exemple de résultat du modèle hydraulique. L'adéquation entre mesure et modèle est très bonne. On notera la présence d'un débit nocturne fort, probablement dû à des infiltrations parasites.

Conclusions et perspectives

Les diverses parties du modèle global sont établies et doivent maintenant être couplées de manière intégrée. Les premiers résultats semblent néanmoins cohérents avec les observations. La suite du travail consistera à :

- caler finement les modèles,
- assurer le couplage entre les débits d'eaux usées domestiques et le transport des résidus de médicaments,
- comparer les résultats avec les observations de terrain,
- comparer les bassins urbain et hospitalier
- et comparer le modèle à d'autres modèles existants.

La complexité et les différentes natures de phénomènes intervenant dans le cycle de vie du médicament amènent à construire un modèle également complexe dont la cohérence et les incertitudes doivent être maîtrisées.

1-3 Modélisation de la micropollution issue des stations d'épuration de la région lémanique

Étude pilotée par la CIPEL et l'OFEV et confiée à Envilab AG et au Centre Ecotox (2013)

Avec 89 km^3, le Léman est la plus grande réserve d'eau douce d'Europe occidentale ; il permet l'approvisionnement en eau potable de près de 900 000 habitants de la région.

La Commission internationale pour la protection des eaux du Léman couvre un territoire franco-suisse de 10 320 km^2 : le bassin du Rhône de sa source à sa sortie de Suisse, ce qui comprend notamment le bassin du Léman mais aussi celui de l'Arve. Sur ce territoire, près de 2,3 millions d'habitants rejettent quotidiennement des micropolluants via l'utilisation de certains produits cosmétiques, ménagers ou médicaments. Ces contaminants vont rejoindre les milieux aquatiques après avoir transité par pas moins de 218 STEPs. Leur présence dans les eaux est une préoccupation majeure de la CIPEL. Avec l'OFEV, elle a souhaité évaluer :

- **le degré de contamination des eaux de surface** (lac et cours d'eau) par les micropolluants provenant des rejets d'eaux usées domestiques, d'une part,
- **le succès des mesures de réduction qui pourraient être prises au niveau des STEP**, comme l'installation d'un traitement quaternaire par ozonation ou par dosage de charbon actif en poudre, d'autre part.

Pour cela, ils ont confié à Envilab AG et au Centre Ecotox une étude de modélisation des flux de micropolluants dans les STEPs.

Molécules sélectionnées pour la modélisation

À partir des résultats de la surveillance des cours d'eau et du lac, **13 molécules** particulièrement problématiques ont été sélectionnées en raison de leur concentration élevée et de leurs occurrences répétées dans les eaux.
Ce sont : l'aténolol et le métoprolol (deux bétabloquants), la carbamazépine et la gabapentine (deux antiépileptiques), la clarithromycine et le sulfaméthoxazol (deux antibiotiques), le diclofénac et l'acide méfénamique (deux analgésiques), la metformine (un antidiabétique), un métabolite de la carbamazépine (carbamazépine-10,11-dihydro-10-dihydroxy), l'acésulfame (un édulcorant de synthèse), le benzotriazole (un produit anticorrosion) et le nonylphénol (un tensioactif).

Modélisation des charges et concentrations dans les cours d'eau

À l'échelle des cours d'eau, le modèle procède en **additionnant les charges de pollution rejetées dans les eaux** par le biais des effluents d'épuration. Celles-ci sont estimées sur la base des données de consommation combinées à des informations sur le comportement de la substance (métabolisme dans le corps, élimination dans les STEP) et des concentrations mesurées en sortie de STEP.
Le modèle permet ensuite de calculer des concentrations dans le cours d'eau récepteur en chaque point de rejet d'eaux usées en période d'étiage, conditions pessimistes mais réalistes.
Un bilan des flux est par ailleurs réalisé au niveau du lac pour 4 substances et permet d'estimer et de prédire l'évolution des stocks retenus dans le Léman, sur une période de calcul de 30 ans, sur la base d'hypothèses simples de modélisation.

Évaluation écotoxicologique

Pour l'évaluation du risque lié à l'exposition à long terme à une molécule pour les communautés biologiques, **la concentration modélisée dans l'environnement est comparée à un critère de qualité chronique** pour cette molécule (figure 49).
Parmi les points de rejet des 218 STEP du territoire, 19 se font directement au Léman ; pour eux, on ne parle pas de concentration dans le milieu. Parmi les autres, le critère de qualité est dépassé (toutes molécules confondues) au droit de 35 % des points en aval de rejets dans les cours d'eau (51% avec population saisonnière). Le risque dépend de l'écotoxicité de la molécule, du débit du cours d'eau et de la population raccordée. Il est par exemple particulièrement important pour le diclofénac ou le nonylphénol.

Les résultats de cette étude pointent sur les points sensibles du réseau hydrographique vis-à-vis des micropolluants issus des STEP. Particulièrement touchés sont, d'une part, les cours d'eau des régions alpines latérales qui connaissent, simultanément à la période d'étiage, une démultiplication de la population raccordée due au tourisme (Haute-Savoie et Valais) et, d'autre part, des régions comptant de nombreuses petites STEP déversant dans des cours d'eau de faible débit (Ain et Vaud).

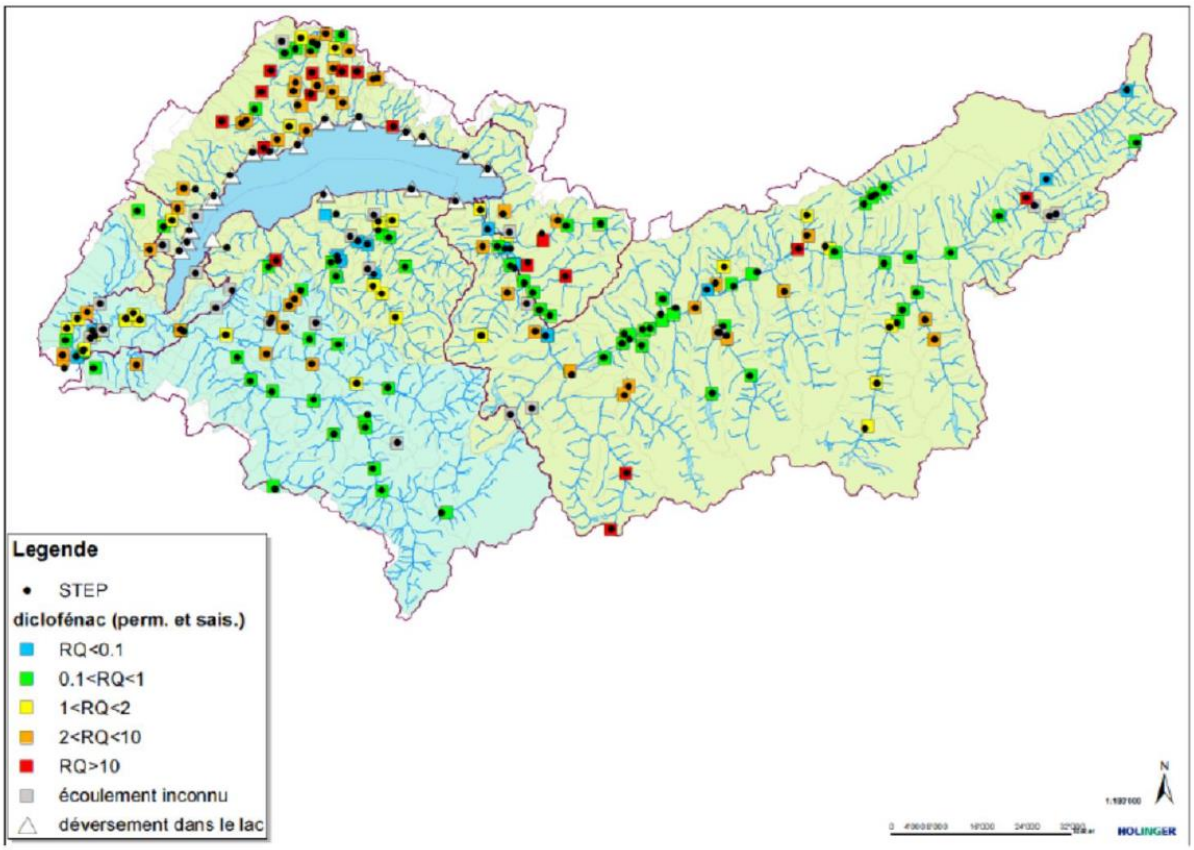


Figure 49 Modélisation globale à l'échelle du Léman et du bassin de l'Arve : exemple du diclofénac, dont la concentration modélisée est comparée à un critère de qualité RQ
(source : Envilab AG & Centre Ecotox pour CIPEL et OFEV, 2013)

Scenarii modélisés

L'étude de **trois *scenarii*** permet d'illustrer l'effet de différentes stratégies d'équipement des STEP et, en particulier, de montrer les réductions de charges en micropolluants et l'amélioration de la qualité des cours d'eau qu'il est ainsi possible d'atteindre. Pour chaque molécule, on retient un taux d'abattement moyen entre des procédés de traitement par ozonation ou charbon actif en poudre (CAP). Les coûts d'investissement et de maintenance associés sont également grossièrement estimés.

1. **Réduction de la charge :** ce scénario vise la protection des ressources (« responsabilité amont-aval »). Les mesures visent des objectifs quantitatifs de réduction de charge moyenne déversée dans les milieux récepteurs d'environ 50 % (scénario 1a) ou 80% (scénario 1b).
2. **Protection de l'écosystème :** ce scénario poursuit l'objectif d'éviter les concentrations problématiques dans les milieux récepteurs.
3. **Stratégie suisse d'aménagement des STEP :** ce scénario combine les stratégies 1 et 2 selon des critères proposés par la Confédération dans le cadre de la révision de la Loi sur la protection des eaux (tels que discutés en 2013). Il prévoit l'équipement des installations de plus de 80 000 habitants raccordés, de plus de 8 000 habitants raccordés et dont les effluents représentent plus de 10 % du débit du milieu récepteur ainsi que de plus de 24 000 habitants raccordés et dont les effluents sont déversés dans le bassin versant d'un lac. Ce scénario n'est calculé que pour la partie suisse du territoire de la CIPEL.

Les calculs associés démontrent que ces objectifs de réduction de charge moyenne ou de respect des critères de qualité dans les milieux récepteurs sont atteignables, même si une réduction importante de la charge n'implique pas nécessairement le respect généralisé des critères de qualité, et vice-versa. Ils nécessitent l'équipement de diverses STEP : 20 pour le 1, 86 pour le 2, ou 29 pour le 3.

Conclusions

L'étude a permis de mettre en évidence que **certains cours d'eau sont d'ores et déjà soumis à un potentiel risque écotoxicologique**. Son importance varie selon les molécules, la population raccordée et le débit du milieu récepteur. L'équipement spécifique de certaines STEP pour le traitement de la micropollution peut se montrer efficace mais son optimisation à l'échelle du territoire de la CIPEL est complexe et demande une réflexion au cas par cas. Le regroupement de petites STEP ou la dérivation des rejets vers un cours d'eau récepteurs de débits plus importants permettraient par exemple d'optimiser encore les mesures proposées.

L'exercice n'aborde pas la question des effets de mélange, ni les autres sources de micropolluants dans les milieux, mais avec les précautions nécessaires, les résultats pourront servir d'**aide à la décision** en Suisse comme en France pour des actions de lutte et de réduction des micropolluants dans les eaux.

*L'étude complète est disponible via le site **www.cipel.org**.*

AXE 2 – Procédés de traitement

2-1 Objectifs scientifiques et opérationnels

L'axe 2 du programme de recherche SIPIBEL est centré sur la capacité des STEPs à traiter les effluents hospitaliers. Le site de Bellecombe permet de tester en conditions réelles de fonctionnement, les répercutions d'un effluent hospitalier sur un traitement biologique conventionnel, de le comparer au traitement des effluents urbains, pour mieux appréhender les différences et les impacts probables, et de quantifier les performances de traitement dans les conditions de fonctionnement résultantes. Pour cela, différentes approches sont mises en œuvre comme le suivi de l'activité bactérienne, la diversité de la population bactérienne, l'étude de la structure du floc bactérien et l'efficacité de traitement des micropolluants.

Tâche 2.1 Impact d'un rejet hospitalier sur une opération de traitement biologique,
Tâche 2.2 Caractérisation des mécanismes de rétention/destruction des médicaments au sein de bassin biologique,
Tâche 2.3 Les procédés de traitement des effluents hospitaliers : de la gestion de l'existant aux traitements avancés.

Équipes mobilisées :
-Le GRESE de l'Université de Limoges,
-Suez –Traitement de l'eau (et les partenaires du projet Triumph : ISA et ENTPE).

Figure 50 Bassin d'aération et serre de séchage des boues de la STEP de Bellecombe

2-2 Projet TRIUMPH sur le traitement des micropolluants

Projet européen piloté par Suez, avec le partenariat de l'ISA et de l'ENTPE (2012-2016)

Contexte

Les connaissances acquises sur la capacité de STEP actuelles à traiter les micropolluants démontrent le potentiel d'élimination d'un certain nombre de composés par le biais de :

- la dégradation chimique (oxydation) et biologique (biodégradation),
- l'adsorption sur la boue (matières particulaire et biomasse),
- la volatilisation (échanges gazeux avec l'atmosphère).

Cependant, **ces performances sont très variables** et l'efficacité reste faible pour un nombre important de composés de type pharmaceutiques solubles et/ou non biodégradables. Des traitements supplémentaires s'avèrent donc nécessaires si l'on souhaite réduire la charge de composés rejetés dans les eaux traitées. Les traitements pressentis à l'heure actuelle sont l'oxydation à l'ozone et l'adsorption sur charbon actif. Des technologies qui répondent également aux enjeux d'intégration des produits tertiaires dans les filières de traitement nouvelles ou existantes.

L'ozone, déjà utilisé dans l'eau usée épurée à des fins de désinfection, présente un réel intérêt pour le traitement des micropolluants. Grace à son pouvoir oxydant et à l'affinité d'un nombre important de micropolluants à l'ozone, les performances de traitement de ces composés sont élevées.

Dispositif mis en place à la STEP de Bellecombe

Ce traitement par ozonation est testé sur le site pilote de Bellecombe dans le cadre du **projet européen TRIUMPH**.

Les configurations proposées répondent à trois objectifs principaux :

- accroitre les performances de traitement des micropolluants organiques par la synergie des traitements oxydatifs,
- optimiser les conditions de fonctionnement du procédé,
- caractériser globalement le système de traitement.

Les performances de traitement des micropolluants sont évaluées **à l'échelle pilote** en associant l'oxydation biologique et chimique à l'ozone.

Un effluent mixte (50 % hospitalier / 50 % urbain) reconstitué à partir des effluents arrivant séparément sur la station, alimente deux procédés biologiques (boues activées et réacteur biologique à biomasse fixe fluidisée) pour lesquels le niveau de traitement est identique et les temps de séjour hydrauliques sont différents (figure 51).

Pour la boue activée, le temps de résidence des boues est celui nécessaire à la nitrification totale en fonction de la température des effluents. L'ozonation tertiaire est réalisée en colonne de contact à bulles en appliquant différents taux de traitement avec un rendement de transfert d'ozone maitrisé.

Figure 51 Pilotes de traitement Suez installés à la STEP de Bellecombe (source : Suez, 2012)

La caractérisation globale proposée dans le projet inclut l'évaluation de l'**efficacité de traitement** de 35 micropolluants, l'évaluation des **effets écotoxicologiques** sur les organismes et la recherche des **signatures chimiques**.

Résultats des travaux sur l'efficacité de traitement

35 composés (appartenant aux groupes des composés pharmaceutiques, détergents, pesticides et hormones) sont analysés en utilisant la méthode multi-résidus SPE-LC- MS/MS. Elle inclut l'extraction en phase solide couplée à la chromatographie liquide et la spectrophotométrie de masse en tandem.

Les résultats reportés ci-après concernent 10 des 12 composés pharmaceutiques dissous quantifiés en phase dissoute (ciprofloxacine et éthynilestradiol exclus). La fréquence de quantification et les concentrations en micropolluants obtenues, qui oscillent entre 3 ng/L et 31 µg/L avec une moyenne des 10 composés à 3 µg/L, témoignent d'une occurrence et de concentrations élevées. Pour le paracétamol, la concentration moyenne est 100 fois supérieure à celle de l'ensemble de composés pharmaceutiques.

Il apparait par les abattements individuels obtenus pour le système à boues activées (BA) et le réacteur biologique à support fluidisé (MBBR) qu'il n'y a pas de différence significative de traitement pour ces deux systèmes malgré les différences de fonctionnement process entre eux (figure 52). C'est le niveau de dépuration en nitrification totale pour les deux traitements (et par conséquent la diversité bactérienne présente) plutôt que le temps de résidence des boues qui participe au traitement des micropolluants à ce niveau.

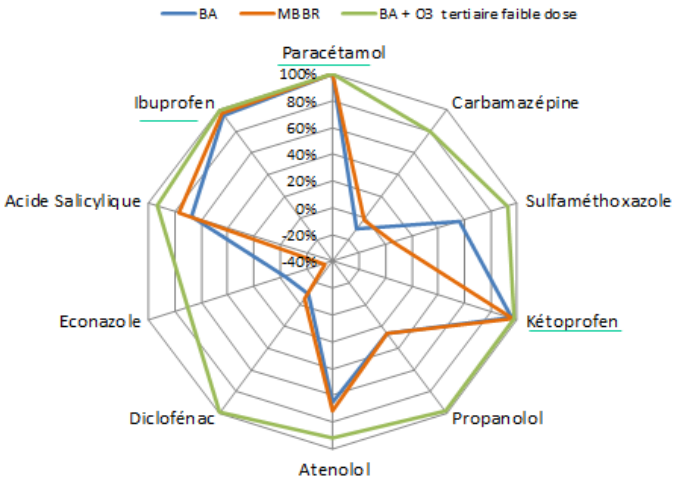


Figure 52 Efficacité des traitements biologiques seuls et avec ozonation tertiaire -
Boues activées ; **MBBR (procédé biologique de type culture fixée)** ;
Boues activées + ozone tertiaire faible dose –
les composés les moins réfractaires au traitement sont soulignés

Le rendement moyen calculé pour les 10 composés quantifiés est de 45 % pour le BA et le MBBR marqué par des abattements négatifs obtenus pour la carbamazépine, l'éconazole et le diclofénac. Il est de seulement 24 % si l'on considère les 7 composés les plus réfractaires au traitement biologique (non soulignés sur la figure 52). Ces rendements sont également caractérisés par des écart-types supérieurs à 20 % témoignant d'une forte variabilité des performances.

Les abattements obtenus pour le système biologique et l'ozonation tertiaire (BA + O_3 tertiaire) mettent en évidence l'**efficacité de traitement élevée obtenue dès l'utilisation des doses faibles d'ozone transférées** (4 à 5 mgO_3/L). Un rendement moyen de 92 % est obtenu pour les 10 composés pharmaceutiques avec un rendement minimum de 70 % pour l'éconazole.

La figure 53 représente l'efficacité du traitement du système « Boues activées + ozonation tertiaire » obtenue avec 3 doses d'ozone transférées différentes : faible, intermédiaire et forte. **Il apparait avec la dose intermédiaire de 13 mg/L, une augmentation de 6 points de l'abattement moyen obtenu à faible dose**. Cela s'explique d'une part, par l'augmentation des performances sur les composés déjà bien éliminés à faible dose d'ozone d'autre part, par l'efficacité à dose intermédiaire obtenue sur les composés dont l'affinité à l'ozone était la plus faible (éconazole).

Le passage vers une dose forte d'ozone ne permet pas d'augmenter les performances moyennes quantifiées à dose intermédiaire pour les résidus de médicaments dissous étudiés dans ce projet.

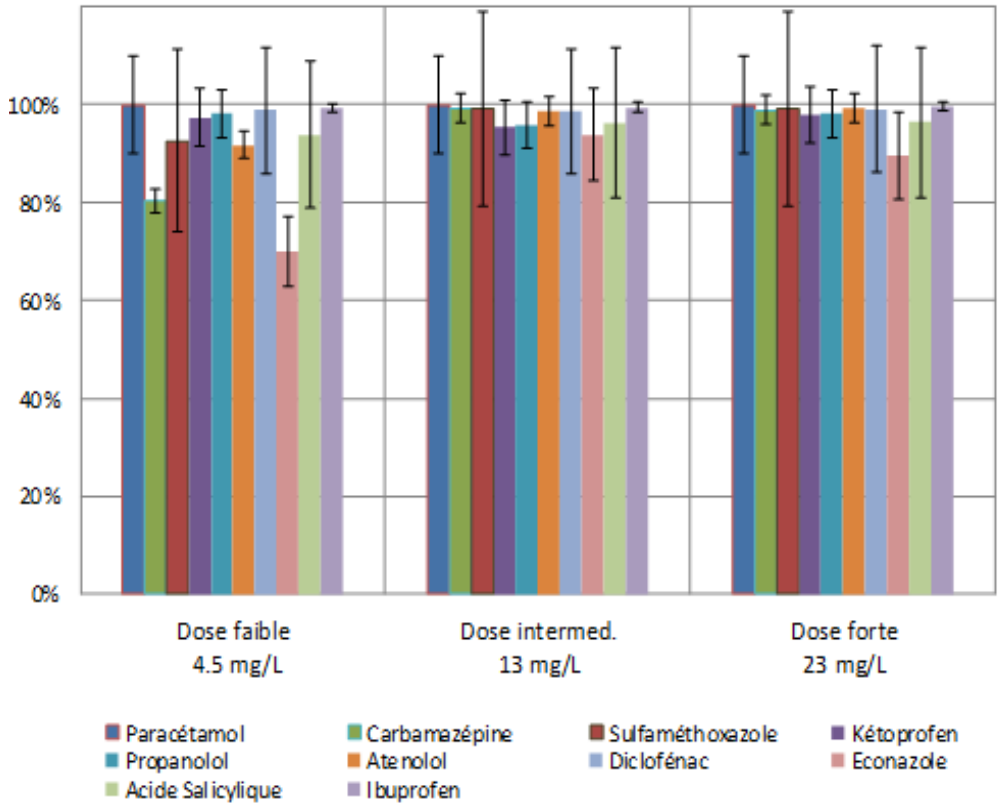


Figure 53 Efficacité de traitement du système « Boues activées + ozonation tertiaire » obtenue avec 3 doses d'ozone transférées différentes

Évaluation de l'écotoxicité des effluents après traitement biologique et ozonation tertiaire

Thèse menée par Adriana Wigh au sein de l'ENTPE Lyon (2013-2016)

Une thèse est menée dans le cadre du projet TRIUMPH, avec pour objectifs d'évaluer les effets écotoxicologiques des effluents bruts (mélange d'effluents urbains et hospitaliers), traités biologiquement et par oxydation tertiaire conventionnelle. Des bio-essais normalisés et modifiés (*in vivo* et *in vitro),* axés sur l'étude d'effets génotoxiques, reprotoxiques et des anomalies du développement, qui peuvent affecter la fitness des organismes à très faibles concentrations environnementales sont utilisés. La sensibilité relative entre les bio-essais utilisés est également comparée et discutée.

Ces travaux ont été menés en appui sur les **pilotes de traitement Suez**, qui sont alimentés en effluent mixte (mélange à 50 % v/v des effluents hospitaliers et urbains arrivant séparément sur la station). Sont étudiés ici :

- le traitement biologique par boues activées conventionnelles (BA) en nitrification totale,
- l'ozonation tertiaire (BA+O_3) réalisée dans une colonne de contact avec une dose d'ozone transférée de 15 mg O_3/L.

(i) Bioessais utilisés :

Des bioessais normalisés (*in vivo*) :

- Inhibition de la croissance sur algue *(Pseudokirchneriella subcapitata*) NF ISO 8692
- Inhibition de la croissance sur ostracode (*Heterocypris incongruens*) OSTRACODTOXKIT F® (ISO standard 14371)
- Inhibition de la reproduction sur rotifère (*Brachyonus calyciflorus*) ROTOXKIT® (NF ISO 20666)
- Mortalité sur *Danio rerio* (Fish Embryo Toxicity; FET; OECD N°236)

Des bioessais modifiés (*in vivo*) :

- Effet sur le développement embryonnaire de *Danio rerio* (Fish Embryo Toxicity; FET; OECD N°236 complémenté par 9 critères sub-létaux observés)

- Evaluation de la génotoxicité sur les cellules embryonnaires (*D.rerio*) issues du FET avec l'essai des comètes modifié par une étape à l'enzyme Fpg (sensibilité et spécificité augmentées)

Quantification des effets perturbateurs endocriniens (*in vitro)*:

- Activité estrogénique (lignée cellulaire MELN)
- Activité (anti-) androgénique et glucocorticoïde (lignée MDA-kb2)

(ii) Résultats des essais normalisés :

L'effluent mixte non dilué (100 %) avant traitement est comme attendu, très toxique et inhibe la croissance des algues à 91,5 % et des ostracodes à 57,9 %. La reproduction des rotifères est inhibée de 56,1 % par cet effluent. Par contre, aucune inhibition de la croissance ou de la reproduction ne peut être détectée dans les eaux traitées BA, MBBR et BA+O_3, MBBR+ O_3 par rapport au témoin ISO. La stimulation fréquente de la croissance ou de la reproduction (marqué avec ***** dans le tableau XVI) est très probablement liée aux concentrations en nutriments résiduelles dans ces effluents complexes. Par conséquence les effets toxiques potentiels sont difficiles à mettre en évidence avec ce type de tests. En conclusion, **ces essais normalisés sur algues et microcrustacés ne mettent pas en évidence de différence entre les effluents traités** biologiquement par boues activées ou ozonée (BA+O_3) et/ou le témoin.

Tableau XVI Résultats des tests normalisés monospécifiques sur algues, ostracodes et rotifères sur les différents échantillons (100 % d'effluent) et le témoin ISO -
en bleu = significativement différent du témoin ISO - * = stimulation

Biomarqueur (pour 100 % d'effluent)	Test / organisme utilisé	Témoin ISO	Effluent mixte avant traitement	Effluent traité par boues activées	Effluent traité par boues activées + ozonation tertiaire
Inhibition de la croissance [% du témoin]	**Algues (*P. subcapitata*)** NF ISO 8692	**0**	**91,5**	**Pas d'inhibition***	**Pas d'inhibition***
	Ostracodes (*H. incongruens*) OSTRACODTOXKIT F ® (ISO standard 14371)	**0**	**57,9**	**Pas d'inhibition***	**Pas d'inhibition***
Inhibition de la reproduction [% du témoin]	**Rotifères (*B.calyciflorus*)** ROTOXKIT® (NF ISO 20666)	**0**	**56,1**	**Forte stimulation***	**Forte stimulation***

(iii) Résultats des essais modifiés et de la quantification de perturbateurs endocriniens :

Les résultats de ces essais sont présentés dans le tableau XVII.

L'effluent mixte est excessivement toxique quel que soit le bioessai utilisé. Une toxicité résiduelle nulle à faible dans les effluents traités BA, et BA+O_3 est détectée avec le Fish Embryo Test (FET) (mortalité et développement embryonnaire) et une génotoxicité sur les cellules de *D.rerio* issues du FET. Les tests sur embryons de poisson (mortalité, développement et génotoxicité) révèlent une toxicité résiduelle nulle à faible dans les effluents traités BA, et BA+O_3. La prise en compte de critères sub-létaux dans le cadre du FET apporte une amélioration de la sensibilité du test par rapport à sa version normalisée qui ne prend en compte que la mortalité des embryons.

Bien que très abattues par rapport aux effluents mixtes, les activités estrogénique et glucocorticoïde mesurées dans les effluents BA pourraient être encore suffisantes (marquée avec * dans le tableau XVII) pour induire un effet défavorable dans les organismes (Kugathas *et al.*, 2013 ; Segner *et al.*, 2003). Cette activité correspond à une quantification de plusieurs produits associés : jusqu'à présent,

ce type de réponse n'a pas suffisamment été étudié pour pouvoir dire si cet effluent peut ou non activer une réponse négative dans le système endocrinien des organismes aquatiques. Par contre, **après ajout d'un traitement d'ozonation tertiaire, ces activités descendent sous la limite de quantification de la méthode** (<0,1 ng/L pour l'activité estrogénique). Aucune activité androgénique ou anti-androgénique n'a été détectée dans les échantillons après traitement avec ou sans ozonation.

Tableau XVII Résultats des tests sur embryon de *Danio rerio* et ses cellules et quantification des activités potentielles des perturbateurs endocriniens sur les différents échantillons (100 % d'effluent) et le témoin ISO

- EEQ: Equivalent 17β-Estradiol; DEX-EQ: Equivalent Dexaméthasone; DHT-EQ: Equivalent Dihydrotestosterone ;

en bleu = significativement différent du témoin ISO

* = activité suffisante pour induire un effet défavorable dans les organismes

Biomarqueur (pour 100 % d'effluent)	Test / organisme utilisé	Témoin ISO	Effluent mixte avant traitement	Effluent traité par boues activées	Effluent traité par boues activées + ozonation tertiaire
Mortalité poisson 96h [%]	**Fish Embryo Test (FET) (*Danio rerio*)** OECD N° 236	1,35	**100 excessif** (LC_{50} 33,2 %)	**13 Nul/faible** (LC_{50} >> 100 %)	**13,33 Nul/faible** (LC_{50} >> 100 %)
Développement embryonnaire [%]	**FET corrigé pour effets sub-létaux**	2,85	**100 excessif** (EC_{50} 33,2 %)	**16,33 Faible** (EC_{50} > 100 %)	**26,02 Faible** (EC_{50} > 100 %)
Génotoxicité [% tail intensity]	**Cellules embryon *D.rerio***	7,9	**23,65 excessif** (à 27,5 % d'effluent)	**14,72 Nul/faible**	**13,37 Nul/faible**
Perturbation endocrinienne [ng/L d'effluent non dilué]	**Activité estrogénique** (lignée MELN); [EEQ]	< LQ	**Excessivement toxique**	**3***	< LQ
	Activité glucocorticoïde (lignéeMDA-kb2); [DEX-EQ]	< LQ	non testée car toxique	**600***	< LQ
	Activité andro- ou anti androgénique (lignéeMDA-kb2); [DHT-EQ]	< LQ	non testée car toxique	< LQ	< LQ

Pour conclure, malgré la mise en œuvre de nombreux bioessais, hormis une réduction sous le seuil de quantification des activités estrogénique et glucocorticoïde, l'ozonation tertiaire à 15 mg/L n'influence pas le niveau de toxicité par comparaison à des traitements biologique seuls. La grande complexité chimique des effluents et les faibles doses de composés qu'ils contiennent rendent la mise en évidence d'effets écotoxicologiques fins difficiles.

Pour la suite, **il faudra privilégier des expositions plus longues et si possible *in situ*** (par exemple il est prévu des expositions de couples de gammares directement aux effluents du site pilote à la STEP) et il faudra se concentrer exclusivement sur les tests révélant des effets chroniques (sub-létaux) tels que la génotoxicité, la reprotoxicité et le développement embryonnaire. Il nous semble dans ce cadre pertinent de rechercher des effets multigénérationnels (par exemple avec un essai de reproduction sur plusieurs générations de *Ceriodaphnia magna* qui sera mise en place prochainement).

2-3 Thèse sur les micropolluants dans les boues d'épuration

Thèse menée par Delphine Lachassagne, co-encadrée par l'Université de Limoges et Suez et cofinancée par l'ADEME (2011-2014)

Introduction

La sorption des micropolluants sur les boues de STEP dépend fortement de leur coefficient de partage eau-octanol (K_{ow}) ou de l'hydrophobicité relative qui traduit leur capacité à être soluble ou, au contraire, fortement retenus par la matrice particulaire. L'adsorption est un phénomène important pour les molécules lipophiles, notamment celles dont le coefficient de partage est supérieur à 4,5 (Besse et Garric, 2008 ; Grung *et al.*, 2008). Ainsi, une fraction importante des micropolluants reste dans la phase solide, est concentrée avec la matière solide et se retrouve dans les boues à évacuer.

Le traitement final des boues peut remobiliser certaines de ces molécules qui représentent un risque pour une valorisation agricole en toute sécurité. Les micropolluants ou leurs sous-produits de dégradation peuvent alors se retrouver au niveau des sols, être relargués et, (re)contaminer des eaux ou s'accumuler dans les chaînes alimentaires.

Objectifs et méthodologie

Ce travail de thèse a eu pour objectif d'apporter des éléments de compréhension du devenir de **11 molécules pharmaceutiques et 2 éléments traces métalliques**, pour différents types de procédés de traitement des boues urbaines ou hospitalières : chaulage, digestion anaérobie, compostage.
La méthodologie est schématisée sur la figure 54.

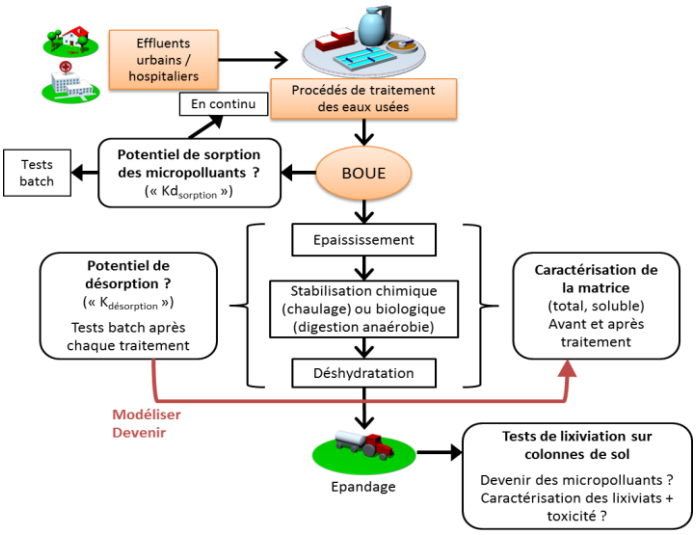


Figure 54 Description de la méthodologie de travail développée sur la file boue

Au cours des traitements, les boues ont été caractérisées et les paramètres de sorption et de désorption ont été déterminés pour chaque couple (micropolluant / boue). Le comportement des micropolluants étant dépendant des propriétés des composés choisis ainsi que des procédés de traitement, les paramètres déterminés (constantes de sorption et désorption) ont ensuite été mis en relation avec les propriétés physico-chimiques des composés pharmaceutiques étudiés et avec les caractéristiques des boues (composition biochimique, groupements de surface…) grâce aux outils d'analyse statistique (ANOVA, régression PLS).

Ceci permet également de comparer :

- d'une part, **les effets des différents traitements de stabilisation** de la boue sur le devenir des micropolluants

- et, d'autre part **les effets liés aux origines des boues** (urbaine, hospitalière, ozonée).

Enfin, chaque lot de boues stabilisées par chaulage et digestion anaérobie a été « épandu » par la mise en œuvre de **tests de lixiviation sur colonnes de sol** afin de déterminer la présence de micropolluants dans les phases lixiviées (et donc leur rétention dans le sol) ainsi que leur caractère écotoxique.

Résultats – détermination du comportement de sorption

La détermination du comportement de sorption (coefficients de partage soluble/particulaire $Kd_{sorption}$) au cours du traitement des boues a permis de classer les micropolluants en fonction du **type de traitement appliqué** (chaulage ou digestion) et de l'**origine des boues** (urbaine, hôpital et urbaine ozonée).

(i) Composés dont la répartition est identique après chaulage ou digestion :

- Pour les lots de boue urbaine et hospitalière, la ciprofloxacine, l'acide salicylique, le paracétamol et l'éconazole sont majoritairement concentrés dans la fraction particulaire des boues (à plus de 80 %).
- Pour les lots de boue urbaine et hospitalière, l'ibuprofène et la carbamazépine sont principalement contenus dans la phase soluble. Néanmoins, dans les boues hospitalières, il y a quasiment autant de carbamazépine dans chaque fraction de la boue.

(ii) Composés dont la répartition est différente après chaulage ou digestion :

- Pour les lots de boue urbaine et hospitalière, le sulfaméthoxazole est complètement dégradé au cours de la digestion anaérobie, alors qu'il est concentré dans la phase particulaire des boues après chaulage.
- Pour les lots de boue urbaine et hospitalière, le diclofénac est majoritairement dans la phase soluble de la boue après digestion, tandis qu'il est à près de 70 % présent dans la fraction particulaire après chaulage.
- Pour les boues urbaines, le propranolol est majoritairement contenu dans la fraction particulaire après digestion et dans la phase soluble après chaulage et digestion. Cette différence étant due à l'origine de la boue qui ne présente pas exactement la même composition biochimique et fonctionnelle.

(iii) Cas particuliers :

L'aténolol n'a été détecté dans aucun lot de boues stabilisées. Le kétoprofène quant à lui a uniquement été détecté dans les boues hospitalières et il se retrouve après digestion concentré dans la fraction particulaire.

(iv) Cas des ETM :

Le cadmium et le cuivre sont concentrés dans la fraction particulaire des boues et la digestion anaérobie s'avère être un procédé biologique qui les concentre du fait de la réduction de la matière organique. Le traitement par chaulage induit une forte augmentation du pH, ce qui va modifier la spéciation des métaux et leur concentration est diminuée par effet de dilution.

Les travaux concernant le lot de boues urbaines ayant subi un traitement d'oxydation à l'ozone avant l'application des traitements de stabilisation par chaulage et digestion anaérobie, ont montré que **l'ozonation était un prétraitement de la boue efficace, dans la mesure où il a permis d'éliminer un grand nombre de médicaments** (seuls les composés suivants : ciprofloxacine, éconazole, aténolol et propranolol, ont été détectés).

Il a été montré :

- que la masse molaire et la solubilité des molécules à usage de médicaments influencent le comportement de sorption au cours du traitement des boues,

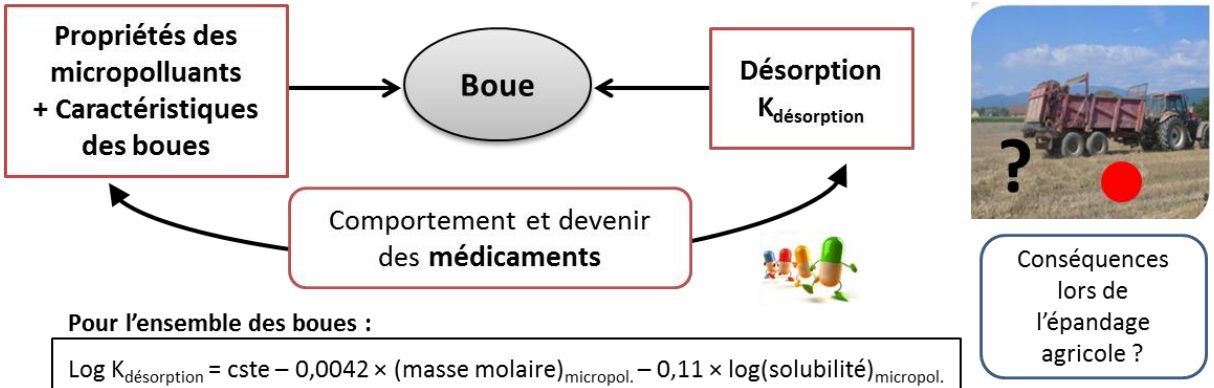
- que la composition de la fraction soluble a la plus grande influence sur la répartition des micropolluants : concentration en substances de type humique, capacité d'échange protonique et, de manière plus importante, la proportion de groupements phosphoriques,
- que les groupements amine/hydroxyle contenus dans la fraction particulaire qui marquent une différence entre les boues activées, épaissies et digérées au niveau de l'évolution de la répartition des micropolluants au cours du traitement.

Résultats – détermination du potentiel de désorption

Le potentiel de désorption des micropolluants $K_{désorption}$ a été mesuré sur les boues par des tests en batch. Cette mesure permet en effet d'avoir une idée des composés les plus facilement mobilisables.

Ces tests de désorption, effectués sur les boues après chaulage et digestion, ont montré que les micropolluants organiques dans les boues chaulées ont tendance à être plus facilement relargués qu'après digestion anaérobie. D'autre part, le cadmium et le cuivre sont moins disponibles après digestion anaérobie qu'après chaulage. Le procédé de traitement biologique par **digestion anaérobie semble donc être plus efficace** pour réduire la disponibilité des micropolluants dans les boues.

Les résultats obtenus par l'analyse statistique de toutes les données ont montré que le **pH des boues** avait une influence significative sur le potentiel de désorption des micropolluants. De plus, comme pour la sorption, la **masse molaire** et la **solubilité des composés organiques** jouent un rôle majeur ainsi que la **proportion en groupements fonctionnels** de type carboxyle dans la fraction particulaire des boues (figure 55).



Pour l'ensemble des boues :

$$\text{Log } K_{désorption} = \text{cste} - 0{,}0042 \times (\text{masse molaire})_{micropol.} - 0{,}11 \times \log(\text{solubilité})_{micropol.} + 0{,}12 \times pH_{boue} - 0{,}013 \times (\%\text{groupements carboxyliques phase particulaire})_{boue}$$

Sans les boues chaulées :

$$\text{Log } K_{désorption} = \text{cste} - 0{,}0056 \times (\text{masse molaire})_{micropol.} - 0{,}21 \times \log(\text{solubilité})_{micropol.} - 0{,}019 \times (\%\text{groupements carboxyliques phase particulaire})_{boue}$$

Figure 55 Modélisation de $K_{désorption}$ en fonction des propriétés des molécules de médicaments et des caractéristiques des boues

Résultats – tests de lixiviation

Les tests de lixiviation en colonne ont montré que l'ibuprofène, l'acide salicylique, le diclofénac et le paracétamol étaient les seuls composés détectés dans les phases lixiviées des sols amendés avec les boues stabilisées. De plus, leur présence dans les lixiviats est liée à l'origine des boues et non au procédé de stabilisation alors que les tests en batch menés sur les boues seules avaient démontrés un effet du chaulage sur la disponibilité.

Ce résultat démontre bien l'intérêt de la prise en compte **des interactions micropolluants/boues** mais aussi **micropolluants/sols**.

L'ibuprofène et le diclofénac étaient présents dans les phases lixiviées de sol amendé par les boues urbaines (chaulées et digérées), tandis que le paracétamol et l'acide salicylique ont été détectés dans les lixiviats des sols amendés avec les boues hospitalières (chaulées et digérées). La carbamazépine, la ciprofloxacine, le sulfaméthoxazole, le kétoprofène, l'éconazole et l'aténolol, pourtant présents dans les boues stabilisées épandues (sauf l'aténolol), n'ont pas été détectés dans les lixiviats, ce qui traduit une faible mobilité de ces composés dans le sol.

Pour l'épandage des **boues urbaines ozonées stabilisées**, **aucun composé pharmaceutique** n'a été détecté dans les lixiviats, sachant que seuls la ciprofloxacine, l'éconazole et le propranolol étaient présents dans les boues stabilisées avant épandage. Ce procédé, réalisé en amont de l'étape de stabilisation, semble donc particulièrement prometteur pour limiter et réduire la présence et donc la migration des micropolluants organiques dans les lixiviats de sol.

*Le manuscrit de la thèse est consultable via le site **www.sipibel.org**.*

AXE 3 - Risques écotoxicologiques et écologiques

3-1 Objectifs scientifiques et opérationnels

L'axe 3 du programme de recherche SIPIBEL a permis de caractériser les dangers infectieux, écotoxiques et écologiques spécifiques aux établissements de soin et aux résidus de médicaments. Il passe par une caractérisation fine de l'écotoxicité des effluents hospitaliers -avant et après traitement- et de la présence de germe pathogène ainsi que par une analyse du développement de l'antibiorésistance.
Une évaluation des impacts écologiques a été réalisée à partir du suivi d'indicateurs biologiques dont le périphyton (ou biofilm) qui constitue un indicateur intégratif et par l'implantation d'échantillonneurs passifs de micropolluants dans le milieu récepteur.

Tâche 3.1 Caractérisation des dangers liés aux contaminants des effluents,
Tâche 3.2 Caractérisation écotoxique des effluents et mesure de leur impact écologique,
Tâche 3.3 Caractérisation microbiologique des effluents et des impacts dans le milieu,
Tâche 3.4 Mise en place d'échantillonneurs passifs de collecte de micropolluants.

Équipes mobilisées :
-L'équipe IPE du laboratoire LEHNA de l'ENTPE de Lyon,
-Le groupe Santé Publique-Environnement de la Faculté de Pharmacie de l'Université Paris Sud, UMR 8079 CNRS AgroParisTech,
-Le GRESE de l'Université de Limoges,
-L'équipe TRACES de l'Institut des Sciences Analytiques (ISA) de Lyon,
-L'équipe EGS de l'institut de Chimie des Milieux et des Matériaux de Poitiers (IC2MP),
-L'équipe RITOX de l'UMR CARRTEL de l'INRA de Thonon,
-Ecologie microbienne de Lyon, Université Lyon 1 et VetAgro Sup.

Figure 56 Dispositif mis en place pour le projet Persist'Env (source : Jérôme Labanowski, IC2MP)

3-2 Thèse sur le développement de méthodologies pour l'étude de la bioaccumulation de polluants émergents chez des invertébrés aquatiques d'eau douce

Thèse menée par Alexandra Berlioz-Barbier au sein de l'Institut des Sciences Analytiques (ISA) (2012-2015)

Introduction

Les systèmes de traitement des rejets urbains, s'ils sont efficaces pour assurer l'abattement des macro-polluants réglementés depuis longtemps, ne le sont plus totalement face à la diversité des substances à traiter (détergents, solvants, pesticides, résidus de médicaments, etc.) (Loos *et al.,* 2013). En découle une micropollution permanente sur le long terme, qui nécessite de développer des connaissances quant à son impact sur les organismes, sur le fonctionnement et la qualité des milieux aquatiques.

Ce projet répond donc à des besoins méthodologiques récemment soulignés par la Directive européenne Cadre sur l'eau (2000/60/CE) et par ses directives filles (2008/105/CE et 2013/39/UE) qui imposent désormais des normes de qualité environnementale pour le biote pour quelques substances prioritaires. Mais contrairement au domaine marin, aucune méthodologie fondée sur des connaissances quant aux capacités de bioaccumulation d'organismes sentinelles n'est disponible en milieu d'eau douce. Ces lacunes s'expliquent notamment par l'absence de méthodologies analytiques adaptées aux matrices environnementales biotiques de très petite taille telles que les invertébrés benthiques, à la base des chaînes trophiques et du fonctionnement des écosystèmes, pesant seulement quelques dizaines de microgrammes.

Les objectifs de ce projet pluridisciplinaire qui réunit les compétences complémentaires de l'Institut des Sciences analytiques (ISA) et de l'Institut national de Recherche en Sciences et Technologies pour l'environnement et l'agriculture (IRSTEA) sont donc :

- d'une part, le développement de nouveaux outils analytiques basés sur la nanochromatographie permettant l'étude, à l'échelle d'un individu, de la biodisponibilité, bioaccumulation et biotransformation de contaminants organiques chez des invertébrés aquatiques d'eau douce ;
- d'autre part, l'étude, grâce à ces outils, du devenir des molécules ciblées dans les organismes.

Les données obtenues contribueront à évaluer l'impact des effluents de STEP en termes de contaminants biodisponibles et de contamination de différentes espèces représentatives des milieux aquatiques.

Programme de recherche

(i) Choix des molécules d'intérêt et des espèces sentinelles

Sur la base de leurs caractéristiques physico-chimiques, fréquences de consommation occurrences avérées dans les milieux aquatiques et propriétés toxiques connues ou suspectées sur des organismes aquatiques, **35 molécules** plus particulièrement associées aux rejets urbains et reconnues comme traceurs de pollution anthropiques (perturbateurs endocriniens, cosmétiques, résidus de médicaments, etc.) ont été sélectionnées.

Trois espèces représentatives de différents groupes phylogénétiques ont été retenues pour cette étude : le mollusque gastéropode *Potamopyrgus antipodarum,* le crustacé amphipode *Gammarus fossarum* et la larve d'insecte *Chironomus riparius* (figure 57). Ces espèces sont à la base des chaînes trophiques, ce qui permettra de déterminer l'éventualité d'un impact sur les maillons supérieurs de la chaîne alimentaire.

Mollusque — *Potamopyrgus antipodarum*

Crustacé — *Gammarus fossarum*

Larve d'insecte — *Chironomus riparius*

Figure 57 Les trois espèces sentinelles retenues pour cette étude

(ii) Développements analytiques

L'analyse des composés présents à des concentrations de l'ordre de l'ultra-trace dans ces organismes de taille réduite demande une augmentation drastique de la sensibilité de l'analyse. Dans ce but, l'étape d'extraction a été miniaturisée et optimisée de manière à être transposée **à l'échelle d'un individu**. L'utilisation de la méthode QuEChERS pour « Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe », a permis d'obtenir des rendements d'extraction élevés, tout en minimisant les effets matrice. La miniaturisation d'une telle technique nous a permis de s'adapter à la faible masse des individus à extraire mais également de promouvoir une chimie plus « verte », en minimisant notamment les quantités de solvants organiques.

Pour l'étape d'analyse, la nanochromatographie (nano-LC) a été mise en œuvre : elle permet l'analyse à très haute sensibilité d'échantillons disponibles en quantité infime. Actuellement, cette technique séparative est principalement utilisée en analyse protéomique (Bachor *et al.,* 2014 ; Clement *et al.,* 2013). En revanche, à l'exception de premiers travaux réalisés par l'équipe TRACES (Berlioz-Barbier *et al.,* 2014), il n'existe à notre connaissance aucune autre publication concernant l'analyse par nano-LC de composés émergents dans des organismes aquatiques. Il s'agit donc encore aujourd'hui d'un défi analytique. Dans le cadre de l'analyse ciblée de molécules dans des matrices complexes, il est indispensable de disposer d'une détection à la fois sensible et sélective. La spectrométrie de masse en mode multiple réaction monitoring (MRM) étant reconnue comme étant une technique de choix (Huerta *et al.,* 2013) a été retenue pour cette étude.

(iii) Etude de la bioaccumulation des contaminants

Les organismes sentinelles choisis pour cette étude ont été exposés ***in situ*** **en amont et en aval d'une station d'épuration rhodanienne** durant une période de 7 jours pendant laquelle nous avons évalué les capacités d'accumulation propre à chaque espèce. Ces expérimentations ont été réalisées lors de deux campagnes : l'une en été, l'autre en automne 2012. A l'issu de cette étape d'exposition, les organismes ont été analysés. Les concentrations ainsi mesurées pour chacun des individus exposés mettent en évidence **des diversités de réponse inter-espèces**.

Une analyse globale des résultats, campagne par campagne, sur l'ensemble des réplicats, permet de mettre en évidence les composés détectés et quantifiés chez chaque espèce sentinelle lors de chaque campagne d'expérimentation, et présente une vue globale, qualitative et quantitative, de la contamination mesurée pour chacune des espèces.

Chez *Chironomus riparius* (figure 58), 12 composés ont été détectés et 10 ont été quantifiés lors de la campagne d'été, parmi lesquelles l'amytriptiline (antidépresseur) et la nicarpidine (régulation cardiaque) rarement recherchées et priorisées par Jean *et al.,* (Jean *et al.,* 2012) pour les rejets hospitaliers. À l'exception d'une contamination par la testostérone (>LQ) en été, on ne détecte que peu de molécules recherchées dans les organismes témoins.

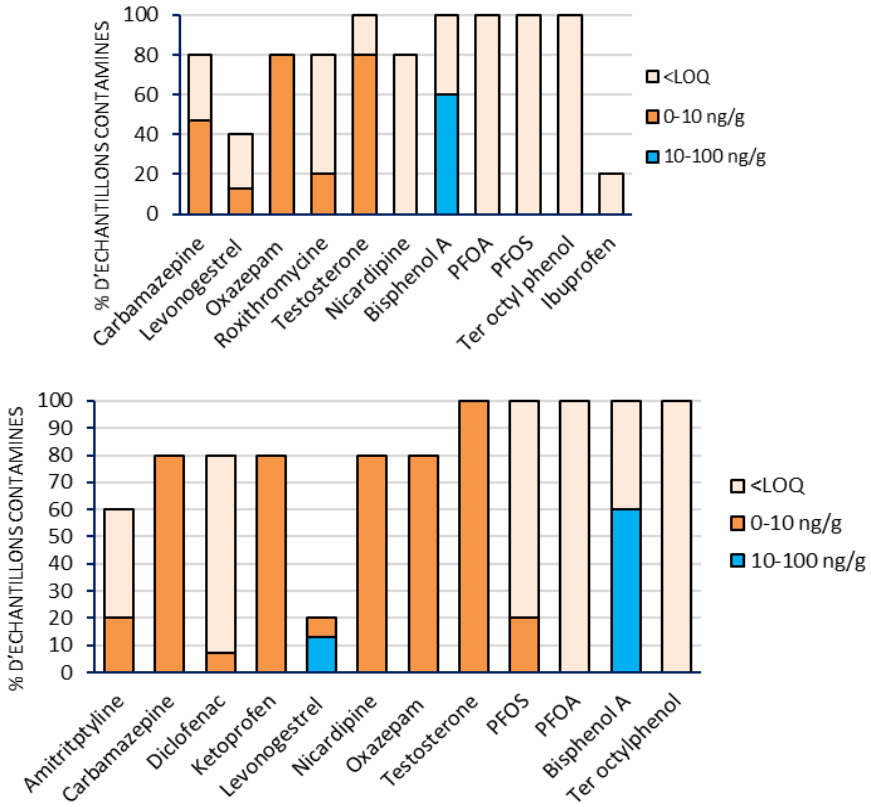


Figure 58 Vue globale de la contamination chez *Chironomus riparius* en automne (haut) et en été (bas)

En automne, 11 molécules ont été détectées et seulement 6 quantifiées. Globalement, la contamination apparait moins importante en automne qu'en été. De plus, les composés détectés diffèrent selon la saison. Par exemple, le kétoprofène, quantifié dans 80 % des échantillons lors de la campagne estivale, n'a pas été détecté en automne.

Chez *Gammarus fossarum* (figure 59), 15 composés ont été détectés et 8 quantifiés lors de la campagne d'été. Pour cette espèce, prélevée sur le terrain, il apparait une contamination des contrôles par le tert-nonylphenol (> LQ) en automne. En automne, 14 ont été détectés et 8 ont également quantifiés. Comme pour le chironome, les composés détectés en été différent de ceux détectés en automne. D'un point de vue quantitatif, nous ne pouvons, aux vues de ces simples histogrammes, suggérer une différence de contamination qui serait fonction de la saison.

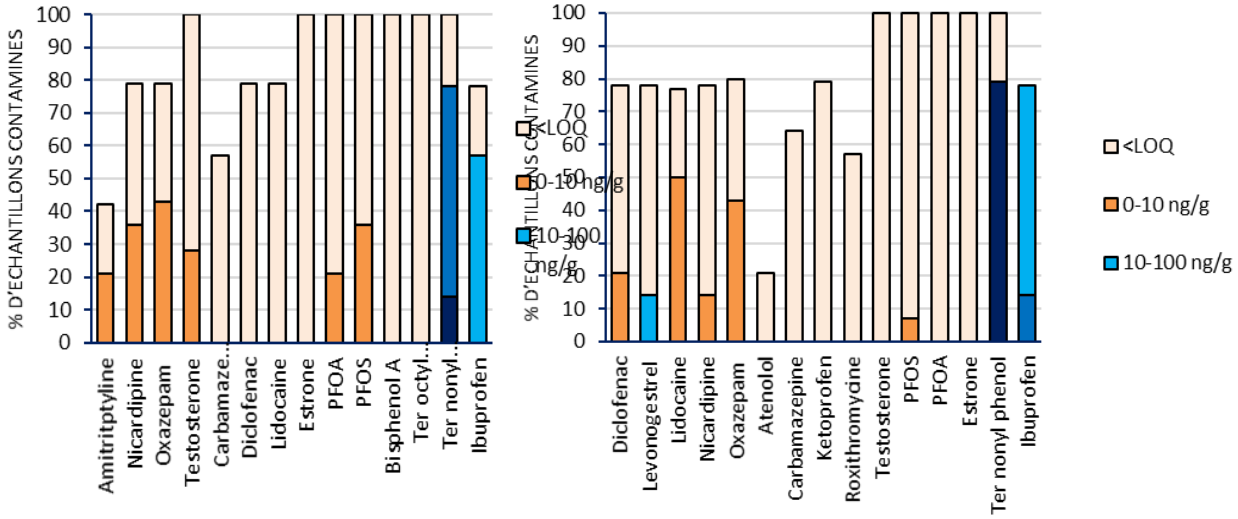


Figure 59 Vue globale de la contamination chez *Gammarus fossarum* en automne (à gauche) et en été (à droite)

Chez *Potamopyrgus antipodarum* (figure 60), 13 composés ont été détectés en été comme en automne. En été, 2 molécules sont significativement mesurées chez les organismes contrôles : l'éconazole et le tert-nonylphénol. Huit molécules ont été quantifiées en été, contre quatre seulement en automne. De plus, les gammes de concentration mesurées sont plus importantes en été qu'en automne. Ces résultats confirment donc les observations faites chez *Chironomus riparius*, indiquant **une contamination quantitativement plus importante lors de la période estivale,** cohérente avec les résultats des analyses dans l'eau et l'effluent. L'influence de la température d'exposition plus élevée en été est également un facteur de d'influence qu'il faudrait quantifier.

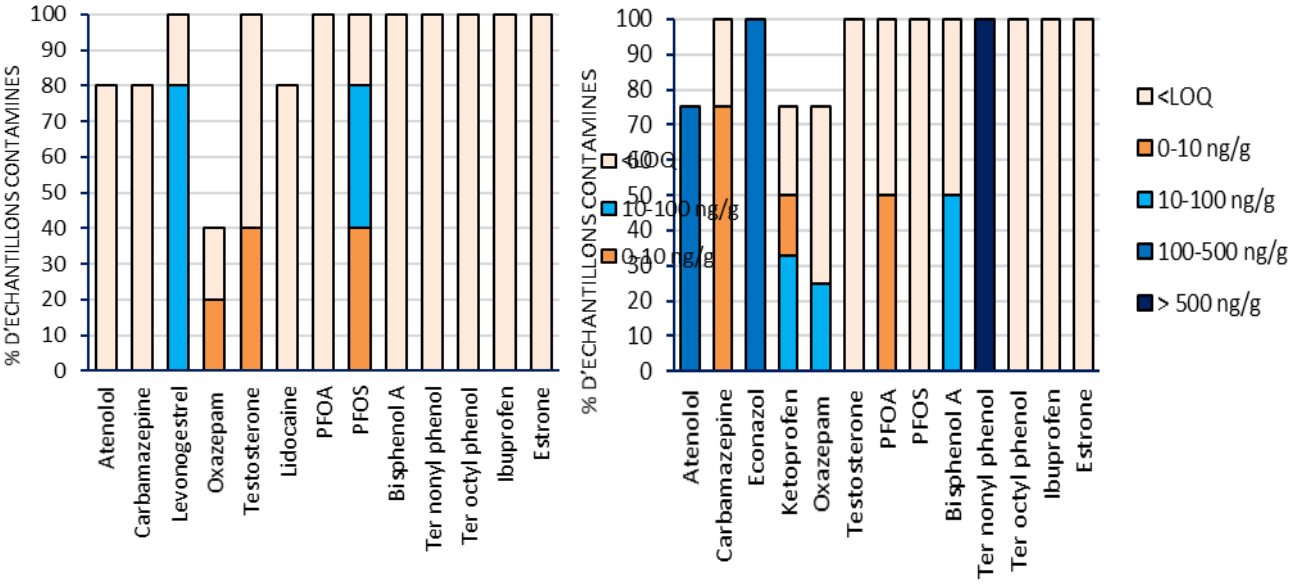


Figure 60 Vue globale de la contamination chez *Potamopyrgus antipodarum* en automne (à gauche) et en été (à droite)

Conclusion

Cette première évaluation des résultats de bioaccumulation chez les trois invertébrés benthiques choisis pour cette étude conduit à mettre en évidence une différence significative de contamination, tant sur le plan qualitatif que quantitatif, cohérente avec la contamination des milieux selon la saison. Indépendamment des échantillons, huit molécules sont détectées dans les trois espèces dont deux (oxazépam et PFOS) ont pu être quantifiées également chez les trois organismes.

L'utilisation d'espèces sentinelles apparait donc comme un outil potentiel permettant de caractériser la contamination des milieux aquatiques et d'apporter des réponses en termes de contribution à la contamination chimique des écosystèmes par les effluents.

3-3 Thèse sur l'écotoxicité et la bioconcentration des résidus de médicaments

Thèse menée par Frédéric Orias au sein de l'ENTPE Lyon (2012-2015)

Synthèse des données disponibles sur l'écotoxicité des effluents hospitaliers

La première partie de la thèse a porté sur la caractérisation de l'écotoxicité des résidus de médicaments (RM) *via* une revue bibliographique parue en 2013 (Orias et Perrodin, 2013). Dans cet article, a été faite une synthèse des données disponibles sur l'écotoxicité des effluents hospitaliers selon deux approches :

(i) **une approche « substances »** consistant, tout d'abord, à inventorier toutes les molécules déjà recherchées dans les effluents hospitaliers et à quelles concentrations elles avaient été mesurées. Dans un second temps, toutes ces molécules sont confrontées à leurs données d'écotoxicité. Elles ont ensuite été classées selon leur danger relatif au sein de l'effluent, travail qui a fait l'objet d'une autre publication (Orias et Perrodin, 2014),

(ii) **une approche « matrice »** qui consiste à réunir les résultats des essais d'écotoxicité effectués sur l'effluent global.

Caractérisation expérimentale de la bioaccumulation

Si une partie importante des RM est immobilisée ou dégradée au sein des STEPs, une grande partie est néanmoins émise vers l'environnement. Une fois dans l'environnement, en s'accumulant dans le réseau trophique, ces médicaments peuvent être responsables de la perturbation de l'écosystème dans son ensemble. Parmi les résidus de médicaments retrouvés dans l'environnement, certains sont particulièrement accumulables dans les organismes : on parle alors de composés bioaccumulables (Kow>3).

Ce travail a porté sur la caractérisation expérimentale de cette bioaccumulation. La molécule modèle choisie pour ces travaux est **le tamoxifène**. Il s'agit d'un anticancéreux utilisé dans le traitement du cancer du sein. Ce contaminant a déjà été retrouvé dans les effluents hospitaliers, dans les boues de stations d'épuration, dans les sédiments ainsi que dans les eaux de surface (rivières et estuaires). Par ailleurs, cette molécule a été identifiée comme molécule à risque pour les écosystèmes dans plusieurs contextes hydrologiques sur le plan international. Ces résultats ont été publiés dans un troisième article (Orias *et al.*, 2015).

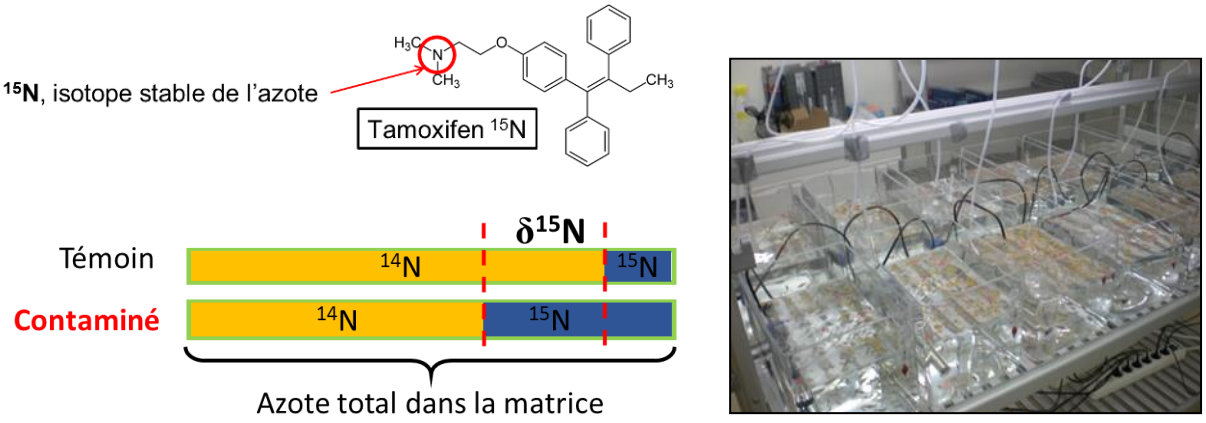


Figure 61 Principe de l'estimation de la concentration en tamoxifène (et métabolites) par la mesure du ratio des isotopes stables de l'azote - enrichissement de ^{15}N = accumulation de tamoxifène

Pour mesurer l'accumulation du tamoxifène dans ces organismes au cours du temps, une méthode analytique reposant sur la mesure du ratio isotopique des isotopes stables de l'azote, a été utilisée. Les organismes testés sont exposés au tamoxifène 15N (marqué en 15N sur le seul azote de la molécule). Après exposition au tamoxifène marqué, les ratios isotopiques 15N/14N des organismes sont mesurés par EA-IRMS. Via la comparaison des ratios isotopiques des organismes témoins non exposés aux ratios des organismes exposés, il est ensuite possible de remonter à la concentration en tamoxifène dans les organismes (figure 61).

Au cours de ces travaux, il a été montré expérimentalement que **le tamoxifène était très rapidement et très fortement bioaccumulable** dans les organismes testés. Chez les algues exposées à des concentrations de 1 à 100 µg/L pendant 5 jours, les facteurs de bioconcentration les plus forts sont supérieurs à 26 000 (Orias *et al.,* 2015). Chez les daphnies exposées 5 jours à des concentrations dans l'eau de 5 et 50 µg/L, la bioconcentration (accumulation liée seulement à l'exposition via le milieu) et la bioaccumulation (accumulation liée à l'exposition via le milieu et via l'alimentation) du tamoxifène ont pu être mesurées. Les facteurs de bioconcentration et de bioaccumulation les plus élevés sont respectivement de l'ordre de 12 800 et de 22 000. Lors de ces travaux, il a été mis en évidence que **le régime alimentaire représentait une part dans la bioaccumulation d'autant plus importante que la concentration dans le milieu était faible**.

Enfin, chez les poissons exposés 21 jours à des concentrations allant de 0,1 à 10 µg/L, la bioconcentration du tamoxifène a été mesurée dans le foie, les gonades et les muscles de l'organisme. Les BCF estimés vont de 14 920 dans les muscles à 85 600 dans les gonades en passant par des BCF de 73 800 dans le foie.

Tableau XVIII Estimation des facteurs de bioconcentration du tamoxifène et de ses métabolites par la mesure du ratio des isotopes stables de l'azote

Organismes		Facteurs de bioconcentration estimés
Pseudokirchneriella subcapitata (algue)		26 500
Daphnia magna (Daphnie)		12 800
Danio rerio (poisson zèbre)	Gonade	8 600
	Foie	7 400
	Muscle	1 500

Précisons ici que les BCF ci-dessus ont été déterminés sur la base d'une méthode qui mesure à la fois le tamoxifène et ses éventuels métabolites marqués en 15N. On devrait donc plutôt parler ici de facteurs d'accumulation du tamoxifène et de ses métabolites. Si les algues utilisées sont probablement peu capables de dégrader le tamoxifène dans les conditions de ces expériences, cela n'est sans doute pas vrai pour les daphnies et encore moins pour les poissons, même si le tamoxifène est une molécule particulièrement stable et difficile à dégrader. Des travaux sont en cours pour approfondir ces premiers résultats, et évaluer la proportion de chaque métabolite dans les organismes étudiés.

La conduite en parallèle de l'analyse isotopique et de l'analyse chromatographique LS/MS-MS (disponible à ce jour pour le dosage du tamoxifène) peut en revanche d'ores et déjà être proposée pour une caractérisation optimisée renseignant à la fois sur l'accumulation du tamoxifène lui-même, et sur l'accumulation de l'ensemble du groupe « tamoxifène + métabolites » dans les organismes.

*Le manuscrit de la thèse est consultable via le site **www.sipibel.org**.*

3-4 Projet PERSIST'ENV sur la persistance environnementale de médicaments et pathogènes

Projet mené par l'Institut de Chimie de Poitiers en partenariat avec l'INRA Thonon et VetAgro Sup (2012-2016)

Objectifs du projet et dispositif mis en place

Le projet Persist'Env est financé par l'ANSES dans le cadre de son appel à projet 2012. Ce projet est piloté par J. Labanowski (IC2MP - UMR CNRS 7285 - Université de Poitiers), et inclut deux autres partenaires A. Bouchez (UMR CARRTEL - INRA - Université Savoie Mont-Blanc) et B. Cournoyer (UMR 5557 - CNRS - VetAgro Sup).

Il a pour objectif de **suivre l'impact des rejets** de la station d'épuration de Bellecombe (filières hospitalière et urbaine) sur le milieu récepteur (la rivière Arve, née des mers de glace du Mont Blanc et affluent du Rhône en sortie du lac Léman à Genève), de manière à :

- **quantifier le danger chimique** par l'évaluation des teneurs en médicaments dans les biofilms des effluents de sortie des deux filières de traitement (urbaine et hospitalière) et dans le milieu aquatique récepteur en aval des rejets de la STEP.
- **identifier le danger microbiologique** par la détermination des organismes pathogènes (*P. aeruginosa*, *Aeromonas caviae*, etc.) présents dans les biofilms (files de traitement et milieu récepteur) et identifier le rôle éventuel des autres communautés microbiennes autochtones dans leur maintien environnemental.

Pour la réalisation de cette étude, **des dispositifs permettant un développement de biofilm** ont été élaborés, testés puis déployés en conditions réelles dans la rivière Arve et dans les rejets directement à la sortie des deux filières de traitement. Des campagnes d'échantillonnage des biofilms de l'Arve ont été effectuées depuis la mise en route de l'hôpital en 2012 (à raison de 1 à 2/an) et complétées par des campagnes d'échantillonnages des biofilms formés dans les rejets des files de traitement sur une période resserrée de février 2014 à juillet 2014 (à raison de 1/mois).

Premiers résultats

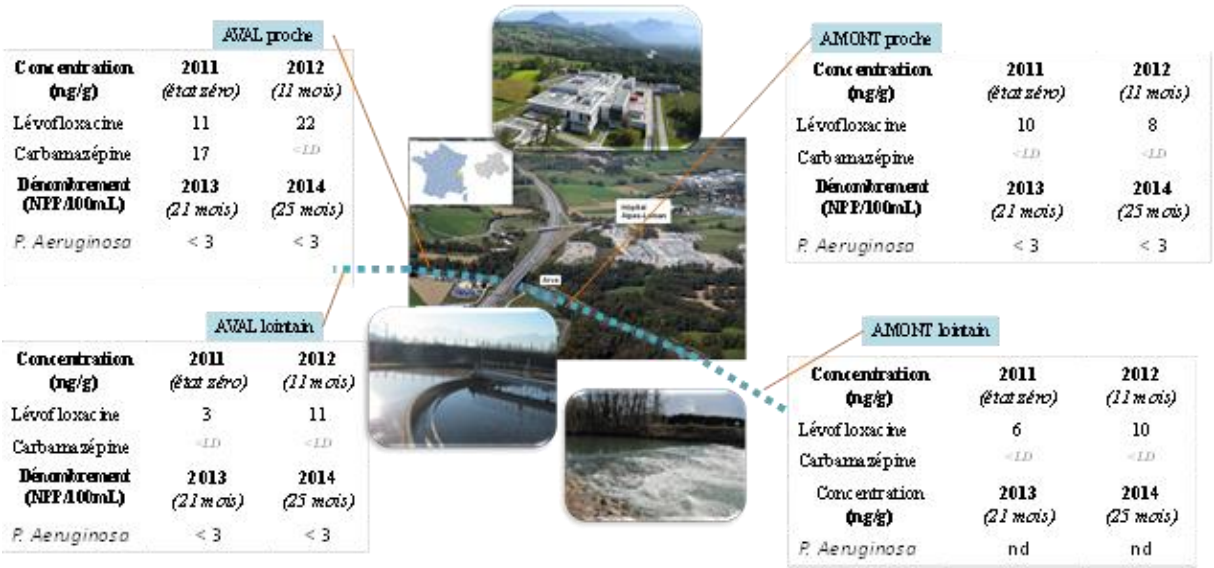


Figure 62 Vues du site SIPIBEL et exemples des teneurs en médicaments et organismes pathogènes retrouvées dans les biofilms de la rivière Arve

Les résultats acquis à ce stade du projet indiquent que **l'apport de l'effluent hospitalier (depuis février 2012) n'a pas conduit à une contamination additionnelle des biofilms de la rivière** par des médicaments (figure 62) ni par des organismes pathogènes, multirésistants (*Pseudomonas aeruginosa* - *Pae*) ou par *Aeromonas caviae (Aca*). Les teneurs en contaminants chimiques ou en agents pathogènes observées dans le milieu naturel en aval du rejet du site n'ont pas évolué plus que

les variations « naturelles » induites par d'autres rejets urbains localisés plus en amont dans le bassin versant. **L'effluent urbain, et de manière encore plus significative l'effluent hospitalier**, montrent pourtant **un fort potentiel de contamination**. Les résultats montrent notamment la présence de très nombreux médicaments à des teneurs importantes (de 10 à plusieurs dizaines de ng/g) dans les biofilms exposés aux effluents traités. De même, de nombreuses souches de *Pseudomonas aeruginosa*, dont certaines présentent une résistance à plus de cinq antibiotiques appartenant à des familles différentes, ont été isolées de ces biofilms.

Zoom sur les approches et résultats des analyses microbiologiques

Deux approches ont été utilisées pour répondre aux questionnements concernant les dangers microbiologiques :

(i) une approche culturale des suivis des bactéries pathogènes *P. aeruginosa* et *A. caviae* (par g de biofilm) a été réalisée de février à juillet 2014 au niveau des 2 filières. Ces résultats ont été mis en perspective avec les résultats de l'observatoire SIPIBEL. La figure 63 montre que *P. aeruginosa* et *A. caviae* ont systématiquement été détectés dans les biofilms des 2 filières.

Dans la filière urbaine, les *P.aeruginosa* et les *Aeromonas caviae* sont significativement plus abondants durant la période « chaude » (mois de Mai, Juin et Juillet) que durant la période « froide » (mois de février, mars et avril).

En période « froide », les *P. aeruginosa* sont significativement plus abondants dans le biofilm de la filière hospitalière (Kruskal-Wallis, p-value<0,05). Durant cette période, les dénombrements en *P.aeruginosa* dans les biofilms sont positivement corrélés aux taux de *P.aeruginosa* dans les eaux brutes (c'est à dire avant traitement) de chaque filière (Pearson, p-value<0,05).

Par contre, comme dans les eaux brutes des mois de juin et juillet, les *P. aeruginosa* sont significativement plus abondants dans le biofilm de la filière urbaine.

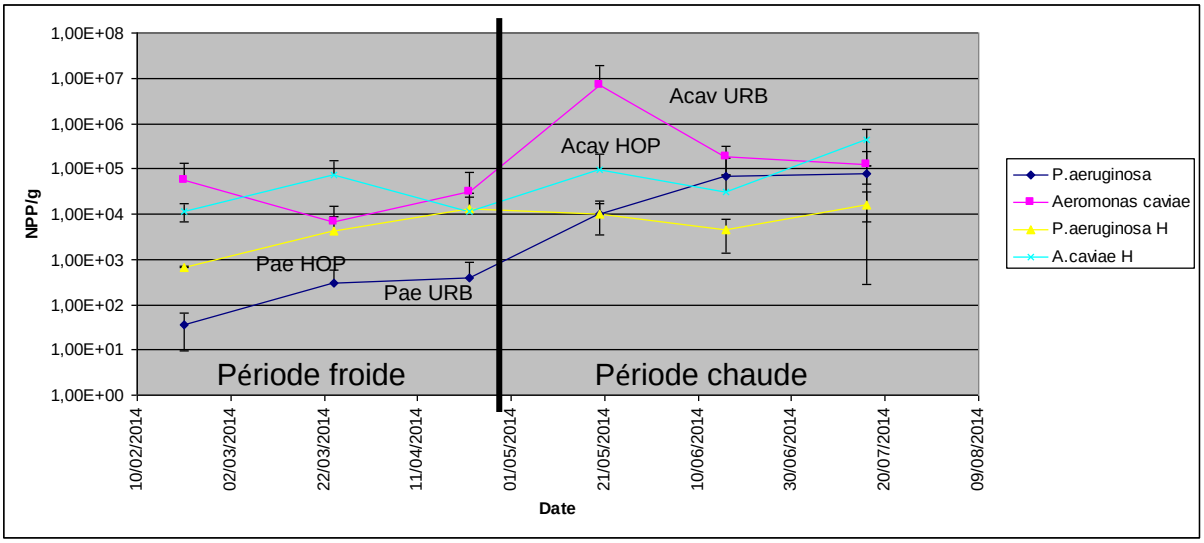


Figure 63 Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Aeromonas caviae* (NPP/g) dans les biofilms des 2 filières (URB=urbaine, HOP=hospitalière) de février à juillet 2014 - *le trait noir indique la séparation entre les périodes « froide » et « chaude »*

(ii) une approche d'analyse de la diversité génétique via des profilages ADN méta-taxogénomiques et indicateurs de certains types de contamination ou d'intégrons/cassettes de résistance aux antibiotiques :

- **Structure génétique des populations bactériennes pathogènes de l'Homme révélées par analyse des gènes *tpm* :**

  L'objectif est d'inférer le danger microbiologique par la détermination des bactéries pathogènes (*P. aeruginosa, L. pneumophila, les Burkholderia du cepacia complexe, Aeromonas caviae, A. hydrophila, les Vibrio, Bordetella*, etc.) présents dans les biofilms (files et milieux récepteurs). Ces travaux sont en cours.

- **Détection d'indicateurs de contamination fécale et de cassettes de résistance aux antibiotiques (intégrons) dans les ADN métagénomiques du périphyton :**

  Au sein des biofilms des filières de traitement des eaux de la STEP de Bellecombe (février à juillet 2014), des différences ont été observées dans l'occurrence des intégrons.

  Les intégrons de classe 1 et 2 ont été significativement plus abondants dans le biofilm de la filière urbaine (ANOVA, p-value<0.05 pour int1, Kruskal Wallis, p-value < 0.05 pour int2). Au niveau de la filière hospitalière, il apparait des fluctuations importantes dans les concentrations des intégrons de classes 1 et 2 en fonction des campagnes de prélèvement qui semblent indépendantes des fluctuations de température et de pluie (HFS/LFS). Ceci suggère la présence de sources variables (épidémie nosocomiale) et non corrélées à la présence de *P. aeruginosa* et *A. caviae*. D'autres espèces semblent contribuées aux variations observées. Des données de séquençage du 16S rDNA de bactéries multi-résistantes isolées de la filière hospitalière indiquent une forte abondance d'entérocoques, *Morganella, Stenotrophomonas, Klebsiella*, etc.

  Au niveau de l'Arve, les résultats de suivi des concentrations d'intégrons des 3 classes dans les biofilms à l'amont et à l'aval du rejet depuis octobre 2011 (état zéro) à juin 2014, sont présentés dans la figure 64.

  À l'état zéro (avant l'ouverture de l'hôpital), des intégrons des 3 classes sont détectés à l'amont et à l'aval (lointain seulement pour les intégrons de classe 1) du rejet de la STEP.

  Il existe une différence significative en fonction des campagnes pour les intégrons 1 et 2 et pour le marqueur HF183 (Kruskal, p-value <0.05). Les intégrons de classe 1 n'étaient pas détectés au point aval proche avant l'ouverture de l'hôpital, ils étaient ensuite systématiquement détectés (à partir de juin 2012) et augmentaient pour se stabiliser à partir de mai 2013. Ceci suggère que l'apport de l'effluent hospitalier (depuis février 2012) a conduit à une contamination additionnelle des biofilms de la rivière par les intégrons de type 1 (micro-organismes porteurs de ce type d'intégrons).

  Les intégrons de classe 2 et 3 sont détectés avant et après l'ouverture de l'hôpital à l'amont et à l'aval du rejet.

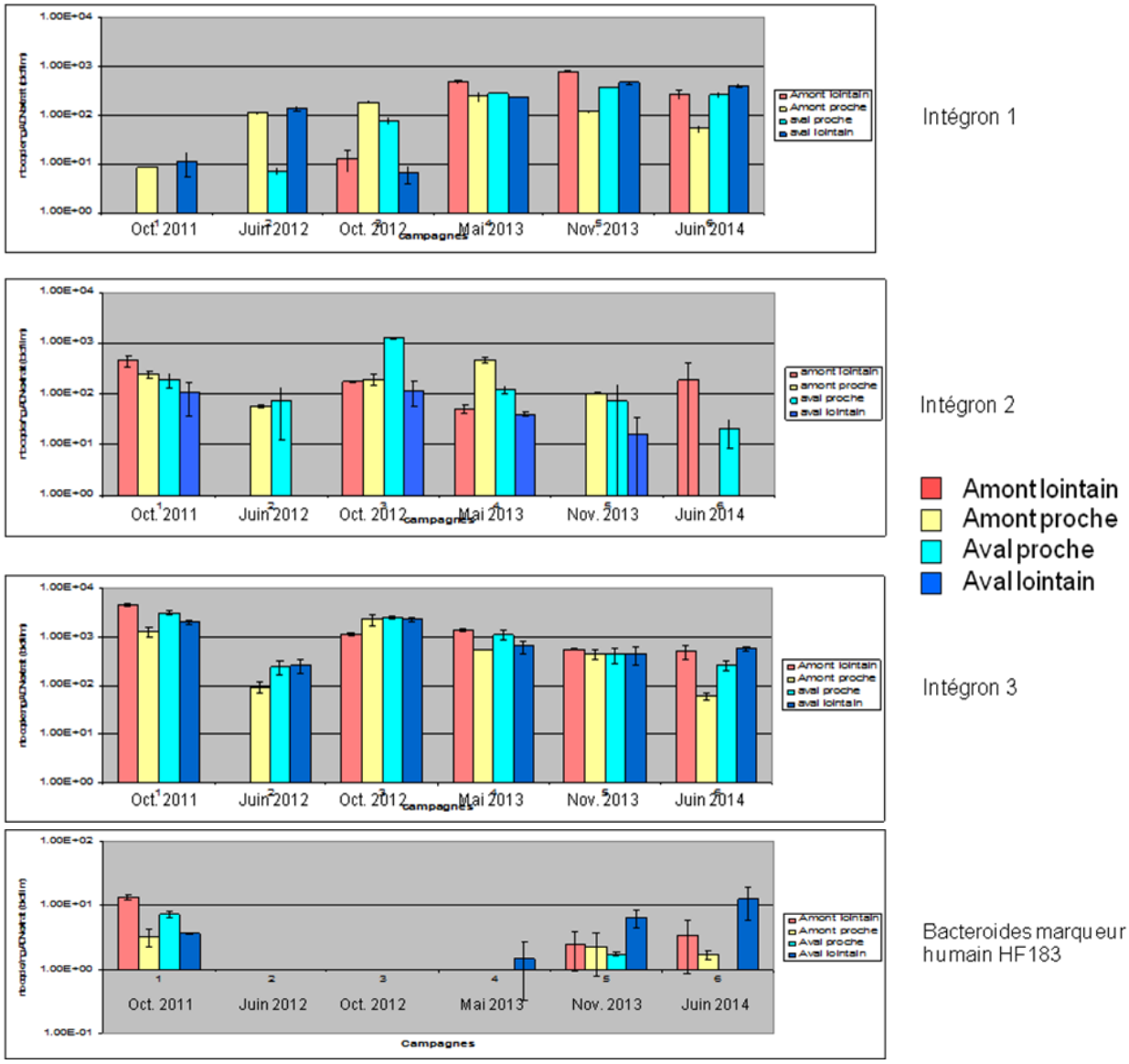


Figure 64 Détection PCRq des intégrons de classes 1, 2 et 3 et du marqueur humain HF183 au niveau des biofilms de l'Arve à l'amont (lointain et proche) et à l'aval (proche et lointain) du rejet de la STEP de Bellecombe d'octobre 2011 (état zéro) à juin 2014

Bilan du projet

Le projet Persist-Env se dirige désormais vers son terme puisque la restitution finale sera délivrée à l'ANSES au second semestre de l'année 2016. Les observations faites au travers des paramètres chimiques et biologiques font maintenant l'objet d'une exploitation croisée des données afin de dégager des éléments de connaissance.

L'ensemble des observations acquises sur les médicaments ou sur les organismes pathogènes ne permettent pas d'imputer l'évolution de l'état du milieu depuis 2011 plus au rejet de l'effluent hospitalier qu'à l'évolution anthropique grandissante du bassin versant.

Les réflexions engagées autour de la spécificité des deux effluents et du rôle des biofilms sur la captation des médicaments amènent aujourd'hui à se poser des questions sur les processus s'opérant dans les biofilms au niveau des réseaux/canalisations amenant les eaux usées à la STEP. En ce sens des perspectives sont envisagées pour regarder également la composition de ces biofilms.

3-5 Recherche d'antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa* et suivi d'un autre pathogène opportuniste : *Aeromonas caviae*

Action de recherche menée par VetAgro Sup (2012-2015)

Suivi des *Aeromonas caviae*

Le genre *Aeromonas* est remarquable par son profil de **résistance aux antibiotiques**, son large panel de **facteurs de virulence**, **la complexité de sa taxonomie** et la **grande variabilité phénotypique** entre et au sein des espèces. Les espèces les plus fréquemment isolées (en clinique) sont *Aeromonas veronii* biovar *sobria, Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae.* Les types d'infection extrêmement variés (infections de plaies, bactériémies, gastroentérites, péritonites, infections hépatobiliaires, respiratoires ou ophtalmiques) surviennent plutôt durant les mois d'été. Ce sont des infections rares mais émergentes, survenant chez les patients immunodéprimés ou individus immunocompétents. Les *Aeromonas* peuvent être associés à des infections nosocomiales (notamment à travers l'utilisation de sangsues en chirurgie reconstructrice). Ce sont des micro-organismes capables de survivre et de proliférer en milieu hydrique et de coloniser les biofilms de façon pérenne.

Les campagnes de septembre 2013 à novembre 2014 ont fait l'objet de dénombrements en *Aeromonas caviae* dans les différentes filières de traitement des eaux (avant et après traitement), ainsi que les 3 sites de prélèvements dans l'Arve (amont, aval 1 et aval 2).

La méthode du Nombre le Plus Probable (NPP ou MPN=Most Probable Number) couplée à une PCR spécifique a été utilisée pour quantifier les *Aeromonas caviae*.
Le principe de la méthode NPP (MPN) repose sur une estimation statistique de la densité en micro-organismes à laquelle des intervalles de confiance sont attachés. La méthode est progressive : il faut d'abord déterminer si une fermentation de la dextrine a eu lieu dans les tubes ou les puits, et déterminer ensuite par PCR spécifique (portion du gène de la thiopurine méthyl transférase (*tpm),* amorces spécifiques développées par l'équipe BPOE-LEM) si l'espèce *Aeromonas caviae* est présente. A partir du nombre et de la répartition des tubes/puits positifs, un nombre caractéristique est retenu pour chaque échantillon. En se référant à la table statistique standard NPP (www.jlindquist.net/generalmicro/102dil3.html), le nombre caractéristique est converti en nombre le plus probable *d'Aeromonas caviae* par unité d'échantillon (NPP/100mL). La limite de détection de la méthode NPP est de 0,03 NPP/ml soit 3 NPP/100ml.

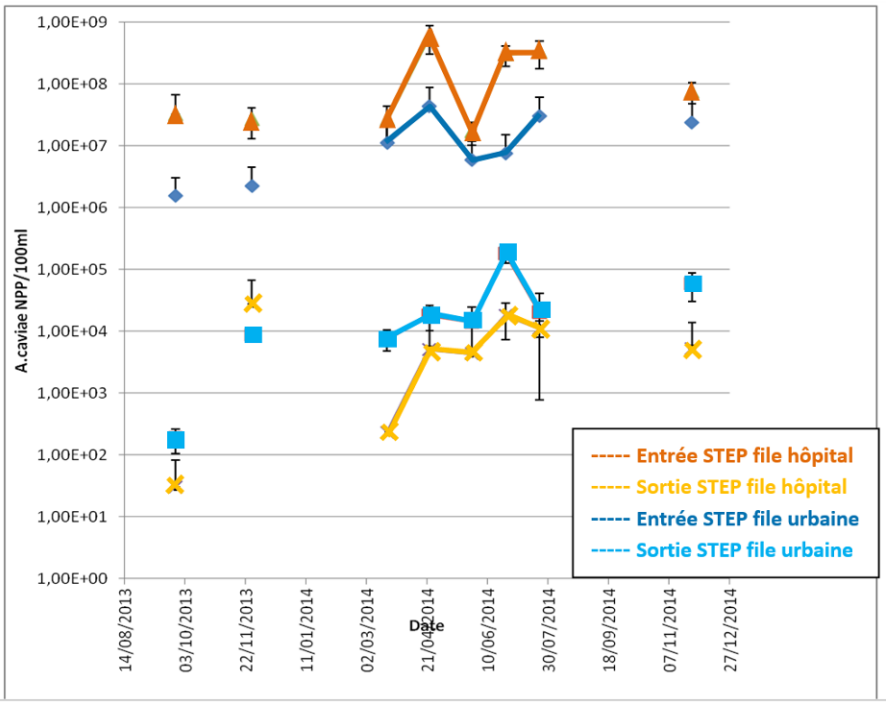


Figure 65 Dénombrements des *Aeromonas caviae* (NPP/100 mL) dans les eaux usées des 2 filières de la STEP de Bellecombe - période d'analyse : septembre 2013 à novembre 2014

La figure 65 présente l'ensemble des dénombrements *d'Aeromonas caviae* obtenus de septembre 2013 à novembre 2014 pour chaque filière avant et après traitement de la STEP de Bellecombe.
Les *Aeromonas caviae* étaient significativement plus abondants (Kruskal-Wallis, p-value<0.05) dans les eaux brutes de la filière hospitalière que dans celles de la filière urbaine sauf en été (effet température et/ou nombre de patients à l'hôpital inférieurs en été).

Un abattement significatif des *A. caviae* pour les 2 filières a été observé (Kruskal-Wallis, p.value<0,05). L'abattement a été plus élevé pour la filière hospitalière (Kruskal-Wallis, p.value<0,05) que dans la filière urbaine. Les eaux traitées de la STEP de Bellecombe qui sont rejetées dans l'Arve contiennent des *A. caviae* issus des 2 filières. Il n'y a pas de différence significative dans les dénombrements d'*A. caviae* dans les eaux de surface de l'Arve à l'aval proche et éloigné du rejet et en amont (données non-présentées).

Antibiorésistance des *P.aeruginosa* isolés des 2 filières d'eaux usées :

Le protocole et la liste des 21 antibiotiques utilisés pour les tests d'antibio-résistance des souches de *P. aeruginosa* ont été élaborés selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM).

La figure 66 montre la répartition du nombre de résistance aux antibiotiques des souches de *P. aeruginosa* en fonction de leur origine (filière urbaine ou hospitalière, avant ou après traitement STEP, Arve).

Elle met clairement en évidence que **les souches de *P. aeruginosa* multirésistantes ne sont détectées que dans la filière hospitalière** avant et après traitement par la STEP (46 % des souches dans les eaux brutes sont multirésistantes et 18 % dans les eaux après traitement). **Il persiste donc des souches multirésistantes de *P.aeruginosa* à l'issue du traitement en STEP**.

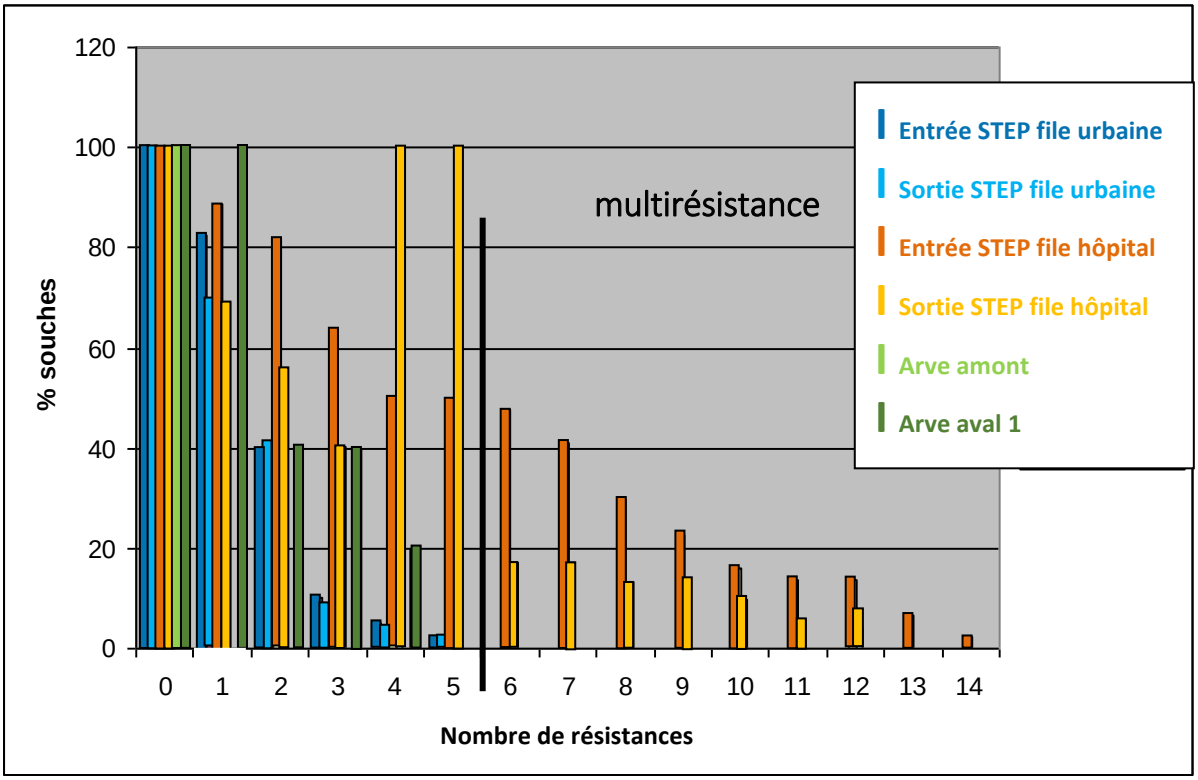


Figure 66 Bilan des résistances aux antibiotiques (hors résistance naturelle aux sulfamides et à la rifamycine) des souches (n=188) de *P. aeruginosa* des 2 filières avant et après traitement par la STEP de Bellecombe, et des eaux de surface de l'Arve mais isolées en amont ou aval de l'effluent de la STEP -
souches obtenues entre février 2012 (ouverture de l'hôpital) et mars 2013 (ouverture + 1 an); n= 86 pour filière urbaine et 96 pour filière hospitalière; n= 40 souches par mois réparties en 10 souches de entrées et sorties des deux filières. 6 souches issues de l'Arve (5 aval 1 -proche rejet- et 1 en amont) isolées en janvier 2013.

3-6 Les échantillonneurs passifs appliqués à la rivière Arve

Action de recherche menée par l'Institut des Sciences Analytiques (ISA) (2011)

Contexte

Au cours des dernières décennies, le besoin d'accéder à des valeurs de concentration moyenne en polluants émergents dans les eaux de surface s'est traduit par le développement et la validation de nombreux **outils d'échantillonnage**. Ces systèmes connus sous le nom d'échantillonneurs passifs peuvent être classés en deux catégories principalement selon leur mode de fonctionnement : ceux à l'équilibre et ceux accumulant linéairement dits intégratifs. L'échantillonneur passif sélectionné dans cette étude est **un échantillonneur intégratif de type Chemcatchers**, qui permet théoriquement d'accumuler des molécules ayant des log (Kow) compris entre 2 et 6, c'est-à-dire de faiblement hydrophobe à hydrophobe.

Méthodologie

Au préalable de l'application à l'Arve, l'utilisation de cet échantillonneur passif a été validée sur 20 molécules, dans le cadre d'une thèse (Camilleri *et al.,* 2012), en partenariat avec Cécile Miège de l'IRSTEA.

Cette liste de molécules a été choisie à partir des listes de molécules prioritaires et de composés à effet perturbateur endocrinien avéré ou supposé et comprend :

- 1 filtre UV: 4 methylbenzylidene camphor (4-MBC) ;
- 8 pesticides: linuron, atrazine, acétochlore, alachlore, carbendazime, prochloraz, iprodione, diuron et un produit de dégradation : la 3,4-Dichloroaniline ;
- 5 hormones: 17β-estradiol, estrone, progestérone, testostérone, acétate de mégestrol ;
- 2 phénols : bisphénol A, 4-tert-octylphénol ;
- 3 résidus de médicaments : la carbamazépine, l'ibuprofène et le diclofénac, qui sont également suivis dans l'observatoire SIPIBEL.

Douze échantillonneurs passifs ont été ainsi mis en place dans l'Arve, en novembre 2011, afin de suivre ces 20 molécules, en amont et en aval immédiat (point « Aval 1 ») de la STEP de Bellecombe.

Résultats

Les concentrations mesurées sur les échantillons issus des échantillonneurs passifs et des prélèvements moyens 24 h (prélèvements réalisés à la date la plus proche de l'échantillonnage passif) sont présentées dans le tableau XIX.

Douze molécules sur les vingt sélectionnées ont été quantifiées. Trois molécules font partie des substances prioritaires de la Directive Cadre Eau (DIRECTIVE 2013/39/UE) : atrazine, diuron et 4-tert-octylphénol et deux de la liste de vigilance de l'Union Européenne du 10 mars 2015 : diclofénac et estrone.

L'atrazine, le diuron et le diclofénac se situent bien en dessous des normes de qualité environnementales (NQE) (600, 300 et 100 ng/L, respectivement), mais le 4-tert-octylphenol est proche de la NQE qui est fixée à 100 ng/L. Il n'y a pas encore de NQE pour l'estrone mais la limite de quantification demandée pour cette molécule est très faible, à savoir 0,4 ng/L.

Six molécules font partie de la liste de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la Métropole et des DOM (Botta et Dulio, 2014) : carbendazime, iprodion, 4-MBC, carbamazépine, bisphénol A et estrone. Les concentrations retrouvées dans l'Arve concordent avec cette étude et confirment l'intérêt de suivre ces molécules, en particulier carbendazime, iprodion, carbamazépine et bisphénol A qui sont omniprésentes dans les eaux de surface françaises.

Enfin, l'ibuprofène (Hughes *et al.,* 2013) et la testostérone (Vulliet *et al.,* 2008) ont déjà été quantifiés à des concentrations du même ordre de grandeur dans les eaux de surface.

Tableau XIX Résultats des analyses réalisées dans l'Arve (ng/L) -
novembre 2011 : échantillonneurs passifs ; janvier 2012 : échantillon d'eau moyen 24 h

	ARVE AMONT		ARVE AVAL 1	
	Échantillonneurs passifs (ng/L)	Échantillon moyen 24h (ng/L)	Échantillonneurs passifs (ng/L)	Échantillon moyen 24h (ng/L)
Carbendazime	0,1	-	0,2	-
Atrazine	0,2	-	0,2	-
Diuron	0,3	-	0,3	-
Iprodione	< LD	-	0,7	-
4-MBC	0,2	-	0,4	-
Carbamazépine	1,8	3,0	3,0	4,6
Ibuprofène	26	3,0	24	3,5
Diclofénac	1,9	2,2	4,0	3,1
Bisphénol A	232	-	502	-
4-tert-octylphénol	90	380	120	330
Estrone	< LQ	-	3,5	-
Testostérone	1,1	-	0,7	-

Ces résultats montrent également une bonne concordance entre les concentrations par échantillonnage moyen 24 h et passif pour la carbamazépine et le diclofénac. Ils confirment également le **gain en sensibilité apporté par l'échantillonnage passif** puisque des concentrations très faibles en pesticides, de l'ordre de 0,1 ng/L, ont pu être quantifiées.

3-7 Étude la qualité microbiologique de l'air à la STEP de Bellecombe

Étude pilotée par le Graie et le Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe et confiée au cabinet Air & Bio (2013)

Objet

Une étude de la qualité microbiologique de l'air en différents points de la station d'épuration de Bellecombe a été réalisée par la société Air & Bio, à la demande du Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe et du GRAIE.

Une visite du site a eu lieu en présence du responsable Arnaud Le Bars afin de déterminer les situations d'exposition du personnel aux bio-aérosols, ainsi que la méthodologie optimale pour les mesures.

Méthodologie

Ont été mesurés lors de cette étude :

- **les microorganismes viables et cultivables :** via des prélèvements d'air effectués par impacteurs permettant un dénombrement et une identification des micro-organismes cultivables de l'air prélevé ;
- **les endotoxines :** l'air est aspiré au moyen de pompes portatives reliées à une cassette, contenant un filtre en fibres de verres.

Les points de mesure et durées d'échantillonnage sont listés dans le tableau XX. Les recherches d'endotoxines ont uniquement été réalisées sur 3 points considérés a priori comme sensibles.

Tableau XX Points de mesure de l'étude

Zone	Localisation Point de mesure	Id	Jour	Conditions de l'échantillonnage	Durée échantillonnage
Local prétraitement	Préleveur automatique	P1	J1	Niveau du sol, grille fermée	TS : 1 min Autres : 2 min
	Contrôle pompe	P2	J1	Niveau du sol, grille fermée	TS : 1 min Autres : 2 min
Zone contact bassin ouvert	Tuyau arrivée boues	ZC	J1	A ≈2 m du tuyau	1 min
Bassins d'aération	Point prélèvement F1	F1	J1	A ≈3 m du pont brosse en marche	1 min
	Point prélèvement F2	F2	J1	A ≈2 m du pont brosse en marche	1 min
	Point prélèvement F3	F3	J1	A ≈10 m du pont brosse en marche	1 min
Bât. déshydratation boues	Grille d'égouttage	GD	J2	En fonctionnement, niveau bord supérieur droit du caisson	0,5 min
	Filtre presse	DE	J2	Pendant débâtissage, au niveau intervenant	1 min
	Local rez de chaussée	SS	J2	Au fond du local	0,5 min
Canaux de sortie	Canal hôpital	C1	J1	Pendant nettoyage	1 min
	Canal urbain	C2	J1	Pendant nettoyage	1 min
Laboratoire	Air ambiant	L	J2	Jour de manipulations. Porte ouverte. Niveau paillasse.	2 min
Pilote Degrémont	Air ambiant	DP	J1	Au fond du local	1 min
Serres de séchage boues	Air ambiant	RB	J1	Pendant reprise boues, en bord de serre	0,5 min
	Air ambiant	EB	J2	Pendant étalement, en bord de serre	0,5 min
	Air ambiant	SE	J2	Hors activité humaine, en bord de serre, proximité fumerolles	0,5 min
Point témoin intérieur	Salle de réunion	SR	J1	Hors présence humaine	2 min
Point témoin extérieur	Amont site selon vent	EX	J2	Entre F1 et bât accueil, limite talus herbeux/bitume	2 min

Résultats et conclusions

L'étude met en évidence **des concentrations bactériennes élevées à très élevées** selon les points de mesure, avec une flore marquée par la présence d'espèces pathogènes et une proportion importante de bactéries à Gram négatif, génératrices d'endotoxines. Ces résultats sont **comparables quantitativement et qualitativement à ceux mis en évidence dans d'autres stations d'épuration.**

Les niveaux les plus élevés sont détectés dans le local de pré-traitement, le bâtiment de déshydratation des boues, le local pilote et dans la serre de séchage des boues pendant la mobilisation des boues.

Ces résultats sont également tout à fait concordants avec ceux de la littérature scientifique : les concentrations les plus élevées sont détectées en cas de confinement dans des locaux, en début de traitement (pré-traitement notamment) et en cas de génération d'un aérosol (opérations de pulvérisation de l'effluent pour des nettoyages par exemple).

En revanche, **on ne met pas en évidence de nette différence quantitative ou qualitative entre la filière « urbaine » et la filière « hôpital ».** Une étude comparative fine nécessiterait un nombre de points de comparaison plus important.

Au niveau des structures extérieures (bassins, canaux), les concentrations bactériennes sont élevées, du même ordre que celles détectées pour d'autres STEP, mais décroissent rapidement avec l'éloignement, du fait de la dilution des concentrations dans l'air extérieur.

Perspectives

Ces mesures ont été réalisées pendant une saison intermédiaire. Il est notoire dans la littérature scientifique que les niveaux de concentrations sont aussi liés aux conditions de température et d'humidité ambiantes et seraient supérieurs en période chaude et humide.

Il serait intéressant de compléter ces données d'exposition en contrôlant certains points en été lors de prochaines mesures.

De même les mesures dans le local pilote et le laboratoire seraient à compléter par des mesures portes fermées en hiver. Concernant les serres, il serait intéressant de réaliser des mesures d'exposition individuelle par pompe portative sur plusieurs heures, permettant d'évaluer plus précisément l'exposition journalière de la personne chargée de ce poste (prélèvement de longue durée par filtration). Enfin il serait intéressant de rechercher les bactéries du genre *Legionella* dans les effluents, les mesures dans l'air étant difficilement réalisable. Or, différentes sources citent la présence de *Legionella* dans les effluents de STEP.

AXE 4 - Sociologie et changement des pratiques

4-1 Objectifs scientifiques et opérationnels

L'axe 4 du programme de recherche SIPIBEL vise à développer des recherches et une étude sociologiques pour formaliser la perception des risques, les attentes et les innovations en termes de pratiques pouvant contribuant à limiter les apports de résidus de médicaments et de détergents et biocides dans l'eau.
Il s'agit de décrire les comportements impliqués dans les processus de rejets des micropolluants dans les eaux hospitalières et urbaines sur l'ensemble de la chaîne des responsabilités, usages et activités. Ces descriptions doivent permettre de concevoir les meilleures stratégies sociales et techniques pour modifier les pratiques sociales individuelles et collectives incriminées dans ces apports et rejets de substances xénobiotiques dans les réseaux et milieux.

Tâche 4.1 Etude de la perception des professionnels de la santé, des professionnels de l'eau et des citoyens,
Tâche 4.2 Description de la chaîne des responsabilités, usages et activités,
Tâche 4.3 Expérimentations de changement de pratiques,
Tâche 4.4 Innovations techniques.

Équipes mobilisées :
-l'équipe de consultantes de Claire Tillon,
-le laboratoire EVS, labex IMU (Intelligence des Mondes Urbains),
-l'EHESP (École des Hautes Études en Santé Publique),
-le Centre Hospitalier Alpes Léman.

Figure 67 Focus group de l'étude stratégique IRMISE

4-2 Étude stratégique du projet IRMISE Arve aval

Étude menée par le SM3A, l'Etat de Genève et le Graie et confiée à l'équipe de consultantes pilotée par Claire Tillon (2013-2015)

Contexte et objectifs

Les recherches avançant, les moyens de détection se perfectionnant, on sait aujourd'hui qu'on trouve des traces de résidus de médicaments dans les eaux usées avant traitement bien sûr, mais également après traitement, donc dans l'environnement et dans les eaux de distribution.
Or la préservation de la qualité de l'eau est primordiale autant pour des raisons sanitaires et environnementales auxquelles on pense en premier lieu, que sur les plans stratégique et financier. La prise de conscience de la contamination environnementale par les rejets de médicaments et de leurs effets potentiels a conduit de nombreux états dans le monde à définir et mettre en place des actions, aux niveaux législatif et scientifique. Ainsi, en France, les industriels sont désormais tenus d'évaluer le risque environnemental des médicaments dont ils souhaitent obtenir l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), même si aujourd'hui, l'impact environnemental ne peut pas constituer à lui seul un critère de refus de mise sur le marché.

En France, dans la continuité du Grenelle de l'Environnement et du plan national santé environnement (PNSE-2), les ministères chargés de la santé et de l'environnement ont initié un plan national sur les micropolluants et un plan spécifique sur les résidus de médicaments (PNRM). Ces démarches nationales ont révélé la complexité technique et sociétale des questions de santé-environnement, qui relèvent de l'émergence de ces « nouveaux risques ». Diffus, invisibles et difficiles à appréhender pour les citoyens comme pour les professionnels, ces **risques émergents interrogent également le champ des sciences humaines.**

Au cœur de notre territoire d'étude, plusieurs équipes pluridisciplinaires travaillent sur le site pilote de Bellecombe. L'élargissement, tant géographique (bassin d'apport des stations d'épuration de l'agglomération d'Annemasse et de Villette en Suisse) que sectoriel (eaux usées, mais également eau potable et milieu naturel) permet au projet IRMISE de balayer un champ plus vaste d'investigation et de commencer à poser des pistes de solutions. Il permet également de poser et de partager une vision commune du bassin versant, dans l'objectif, pour les décideurs, de définir une stratégie de territoire au regard de la problématique.

Le territoire d'étude est soumis à une forte pression démographique. Cette pression influe considérablement sur les besoins en matière de ressource en eau potable, dans un contexte où les eaux de l'Arve sont réinfiltrées artificiellement par la station suisse de Vessy pour être utilisées pour l'alimentation en eau potable du canton de Genève, de la Communauté de communes du Genevois et d'Annemasse Agglo. Elle influe également sur les rejets dans les réseaux d'assainissement, quelques soient les substances, et en particulier sur les résidus de médicaments et sur des détergents/désinfectants spécifiques aux activités de soin. En effet, la population augmente rapidement et la consommation de médicaments augmente en proportion.

Les gestionnaires sont confrontés à la nécessité de dépasser les limites de la frontière franco-suisse pour comprendre la problématique dans son ensemble et apporter des réponses cohérentes. Pour arriver à comprendre tous ces mécanismes, **le SM3A, l'Etat de Genève et les partenaires du projet IRMISE ont souhaité mettre en place cette étude, composé de trois phases.**

Phase 1 : connaissance du territoire, du contexte et des enjeux

Cette première phase de l'étude stratégique a permis de bien comprendre le contexte et de poser les enjeux au regard du territoire, notamment dans le cadre transfrontalier.
De cette première phase ressortent essentiellement les éléments suivants :

- le territoire affiche une dynamique démographique bien au-dessus des moyennes nationales ;
- la consommation individuelle de médicaments reste élevée (et en augmentation en Suisse) ;

- on manque encore de données, notamment sur la fraction excrétée des substances médicamenteuses et sur l'impact sur les milieux ;
- il existe des traitements efficaces en « bout de tuyau », à des coûts financiers et environnementaux qui peuvent paraître significatifs ;
- les approches française et suisse sur la question sont différentes.

Phase 2 : Enquête de perception de la problématique et identification des moteurs de changement

Les gestionnaires sont confrontés à la nécessité de dépasser les limites de la frontière franco-suisse pour comprendre la problématique dans son ensemble et apporter des réponses cohérentes. Dès lors, l'enquête de perception a permis de mieux comprendre comment sont perçus les différents enjeux liés à la présence de résidus de médicaments dans le cycle de l'eau, par les habitants du territoire, les professionnels de l'eau et les professionnels de la santé.

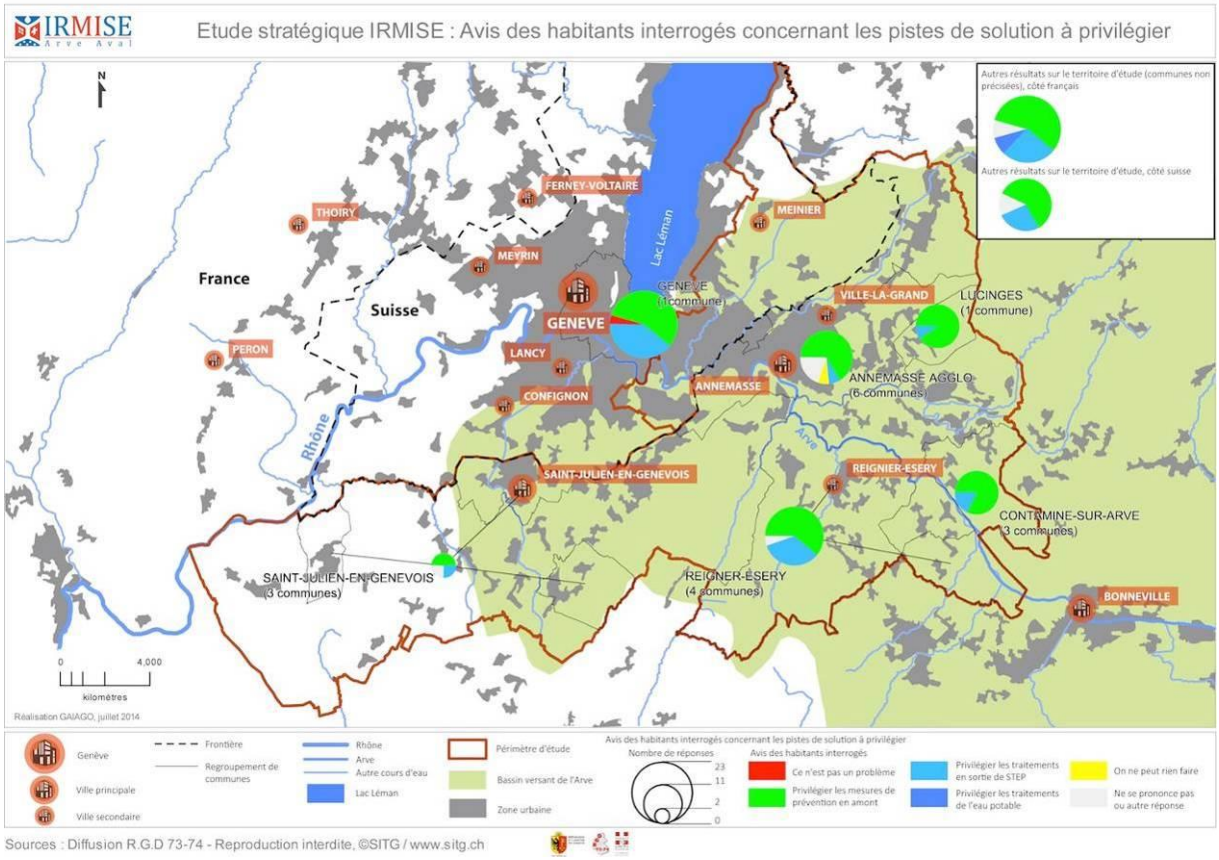


Figure 68 Avis des habitants interrogés concernant les pistes de solution à envisager

De cette phase d'enquête, il faut retenir les éléments suivants :

- le renforcement des traitements apparaît comme étant une partie de la solution mais pas la seule : on peut également agir à la source, comme illustré sur la figure 68 ;
- la réglementation constitue un appui solide pour donner un cadre clair tant aux fabricants (interdiction de l'usage de certaines molécules), qu'aux acteurs de l'eau (types de contrôle à effectuer) ou de la santé (ex : conditionnement) ;
- La question des médicaments non utilisés et plus largement des déchets médicamenteux est un enjeu majeur (« une part significative des médicaments prescrits ne seraient pas utilisés » selon les acteurs de la santé) ;
- les actions énoncées sont à mettre en lien avec une campagne de sensibilisation transfrontalière pour favoriser une prise de conscience (y compris pour les habitants du territoire) ;

- l'implication des acteurs de santé est indispensable à la fois dans les actions de formation dont ils peuvent bénéficier et en ce que leur position rend efficaces les actions de communication et de sensibilisation dont ils se font relais ;
- l'approche transfrontalière ne doit pas donner lieu à des oppositions en termes stratégiques. L'ensemble des acteurs œuvrant au service d'un enjeu qui les dépassent chacun pris séparément.

Phase 3 : Proposition de scénarios

Les deux premières phases de l'étude stratégique du projet IRMISE ont permis de bien comprendre et de s'approprier le contexte global et le contexte local. Elles ont mis en évidence la nécessité d'agir pour maîtriser les rejets de résidus de médicaments dans l'eau. Elles ont permis de mesurer la perception que les habitants, mais surtout les professionnels de l'eau et de la santé, ainsi que les décideurs locaux formulent quant à la présence de micropolluants dans l'eau, et notamment de substances médicamenteuses. Elles conduisent également à identifier les capacités d'évolution des attitudes et des comportements face à cette question, ainsi que tous les autres leviers d'action envisageables, préventifs ou curatifs, pour atteindre l'objectif général que tout gestionnaire doit se fixer : limiter, voire éradiquer la présence de micropolluants dans les milieux aquatiques quels qu'ils soient.

De cette phase, il faut retenir les éléments suivants :

- il ne s'agit plus de découvrir le sujet, même si la phase d'information peut et doit être renforcée, mais bien de faire de la pédagogie précisément sur le thème de « l'impact des résidus de médicaments dans l'eau », d'alimenter en informations scientifiques et en analyse, y compris pour convaincre du degré de gravité de la problématique ;
- les professionnels de santé, en tant que prescripteurs bien sûr mais aussi et tout autant par leurs pratiques professionnelles quotidiennes, sont à la fois des cibles prioritaires pour les actions de formation et de sensibilisation et les vecteurs principaux concernant des actions de sensibilisations préventives ;
- c'est aussi en impliquant conjointement les professionnels de la santé - et pas seulement le corps médical -, les professionnels de l'eau, les professionnels qui peuvent avoir un fort effet levier comme ceux du développement durable dans les hôpitaux par exemple (et les usagers y compris lorsqu'ils sont « patients »), que l'on pourra espérer dépasser le risque de stigmatisation des uns et des autres ;
- le fait de « ne pas alerter les foules » a été plusieurs fois évoqué en particulier par les professionnels de l'eau. A l'instar d'autres problématiques autour des micropolluants – pesticides, métaux lourds, etc.- et dans le registre souvent ambigu du principe de précaution, les résidus de médicaments dans l'eau peuvent apparaître comme une problématique potentiellement anxiogène pour la population. Or, pour les professionnels de l'eau et dans l'attente d'études scientifiques plus poussées, il s'agit d'être extrêmement vigilant sur la perception des usagers autour de la qualité de l'eau potable ;
- un meilleur partage des connaissances semble indispensable pour mener une démarche de lutte contre la présence des micropolluants dans l'eau. Les entretiens semi-directifs ont montré que les acteurs de l'eau sont en attente d'informations scientifiquement approuvées. Par ailleurs, du fait de la diversité de leurs métiers, ils peuvent manquer de vision d'ensemble et de données clés sur le sujet. Il est également important qu'ils puissent se situer par rapport à la problématique afin que leur action professionnelle permette elle aussi de tendre vers l'objectif de réduction de la présence de micropolluants.

Le travail des focus groups et du comité de pilotage a permis de faire émerger plusieurs leviers, présentés sur la figure 69**.**

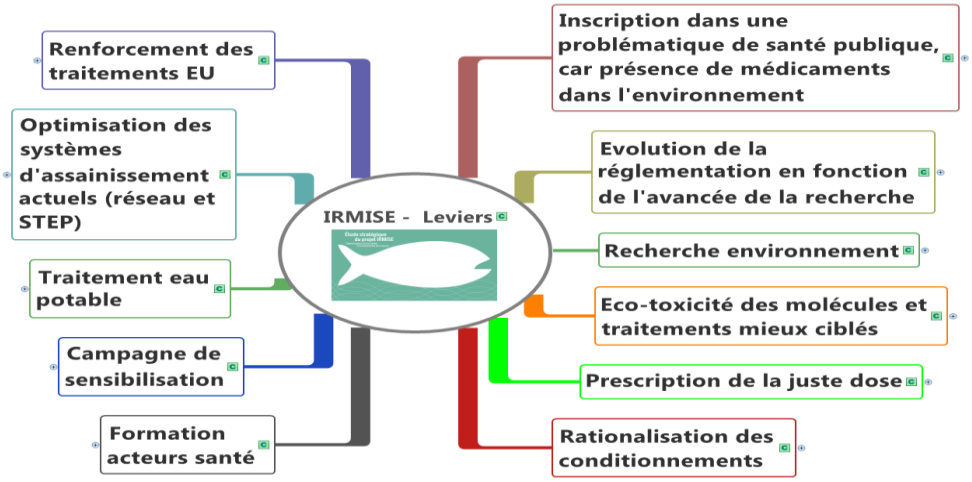


Figure 69 Leviers d'action issus de l'étude stratégique IRMISE

Conclusion : ce qu'il faut retenir

À la fin de cette étude stratégique, plusieurs éléments nous semblent devoir être retenus.

Les données scientifiques doivent encore être complétées et confortées. Malgré tout, les recherches avancent, et certains éléments laissent penser qu'il serait possible, tout au moins pour certaines pathologies, de **réduire les doses de molécules prescrites de 25 à 50 %** pour une même efficacité thérapeutique (Intervention de Benoit Roig, séminaire CIPEL-HUG). La traduction de ces résultats dans les protocoles de soins constituerait un réel effet levier pour la maîtrise des rejets. En attendant, elle démontre à elle seule l'intérêt de l'échange régulier entre le monde de la santé et le monde de la gestion de l'eau.

Si la tendance en termes de consommation de médicaments est à la baisse, en France, ces dernières années, elle demeure élevée par habitant, et la baisse constatée, même si elle se poursuit, ne suffit pas à maîtriser les rejets. De même, la mise en place de traitements complémentaires des eaux usées côté Suisse aura un effet immédiat sur les rejets, mais celui-ci sera rapidement compensé par une nouvelle hausse en lien avec l'augmentation de la population sur ce territoire particulièrement dynamique.

La maîtrise des rejets passera donc par une **combinaison de plusieurs leviers,** qui dépend des objectifs que se fixe le territoire.

Considérée seule, la problématique de la présence de micropolluants d'origine médicamenteuse dans le cycle de l'eau a peu de raisons d'être. Il faudra, pour espérer emporter l'adhésion des acteurs, la situer dans **un cadre plus large** : celui de la santé publique, celui de l'économie (efforts budgétaires) et/ou celui de la protection de l'environnement.

Perspectives

Fin 2015 a été lancée une nouvelle étude intitulée SIPIBEL-MediATeS, pilotée par le Graie et l'équipe consultante de Claire Tillon. Il s'agit de lancer une démarche expérimentale d'animation territoriale et de sensibilisation à la problématique des médicaments dans l'eau sur le territoire d'IRMISE, et avec les partenaires d'IRMISE**.** Ce projet vise à maintenir la dynamique locale autour de cette problématique, analyser l'impact de nouvelles pratiques et proposer une démarche de sensibilisation des professionnels de santé et du grand public autour des médicaments dans l'eau.

Les rapports et synthèses de l'étude stratégique sont consultables via le site www.sipibel.org.

IV. ÉTUDE DES CONSÉQUENCES DU MÉLANGE DES EFFLUENTS HOSPITALIERS ET URBAINS AU SEIN D'UNE STATION UNIQUE

1–L'arrêté préfectoral de 2009 et l'obligation de traiter séparément les effluents hospitaliers

L'arrêté préfectoral DDEA-2009.379 du 7 mai 2009 a contraint le Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe à :

- traiter les effluents du Centre Hospitalier Alpes Léman et les effluents urbains en deux files indépendantes,
- réaliser une étude de suivi des eaux usées de l'établissement avant et après traitement, demande.

Il prévoyait également la possibilité, pour le syndicat, de solliciter une modification de cet arrêté sur la base des conclusions de l'étude de suivi et à l'issue d'une période minimale de 3 ans.

Il soulevait ainsi **la question de la nécessité de la séparation du traitement des effluents hospitaliers et urbains** et, inversement, de la possibilité de mélanger sans risque les deux effluents au sein de la STEP de Bellecombe.

2–Démarche mise en place pour répondre à la question de l'arrêté

2-1 Le suivi des effluents hospitaliers et urbains entre février 2012 et septembre 2014

Les résultats du suivi analytique mis en place dès l'ouverture du Centre Hospitalier Alpes Léman (présentés en partie II.) ont permis de mettre en évidence :

- que les flux de résidus de médicaments en entrée (à l'exception de quelques antibiotiques spécifiques) et en sortie de la filière hospitalière sont très nettement inférieurs à ceux de la filière urbaine ;
- que le traitement par la STEP telle que conçue permet de ramener la quantité de bactéries antibiorésistantes présente dans les effluents hospitaliers (estimée par mesure des intégrons de résistance) au niveau de celui retrouvé dans l'effluent urbain ;
- que les deux types d'effluents présentent un niveau d'écotoxicité similaire après traitement.

2-2 L'expérimentation d'injection d'effluent urbain dans la filière hôpital menée à partir d'octobre 2014

Description de l'expérimentation

Afin de consolider ces éléments et d'étudier les conséquences du mélange des deux types d'effluents au sein d'une station unique, **la configuration de la STEP de Bellecombe a été modifiée à partir d'octobre 2014**, avec l'accord de la DDT de Haute-Savoie.

Après prétraitement, une partie de l'effluent urbain est injectée dans la filière hospitalière pour obtenir, un « **effluent mixte** » aux proportions souhaitée. Le débit injecté est contrôlé automatiquement en temps réel grâce aux débitmètres placés sur l'effluent hospitalier et sur la conduite d'injection (figure 70).

Compte-tenu de la pertinence scientifique et des possibilités techniques, l' « effluent mixte » testé est composé de **1/3 d'effluent hospitalier et de 2/3 d'effluent urbain** (volume/volume).

Figure 70 Conduite d'injection d'effluent urbain dans la filière hôpital

Les sites de prélèvements dans cette nouvelle configuration, sont présentés sur la figure 71 :

- les deux sites de prélèvements « Entrée STEP Hôpital » et « Entrée STEP Urbaine » restent inchangés, tout comme la filière urbaine dans son ensemble ;
- en revanche, l'injection d'effluent urbain dans l'effluent hospitalier aboutit à la création d'une « filière mixte 1/3 effluent hospitalier 2/3 effluent urbain » avec un « Effluent mixte pré-traité », des « Boues activées mixtes » et un point « Sortie STEP effluent mixte » ;
- Les boues issues de ces deux filières sont ensuite épaissies, déhydratées et séchées en serre de séchage solaire avant d'être valorisées en agriculture (boues urbaines) ou en incinération (boues mixtes, comme c'était déjà le cas pour les boues hôpital).

Les campagnes de mesure de l'observatoire ont été poursuivies sur la base des mêmes paramètres analytiques que précédemment.

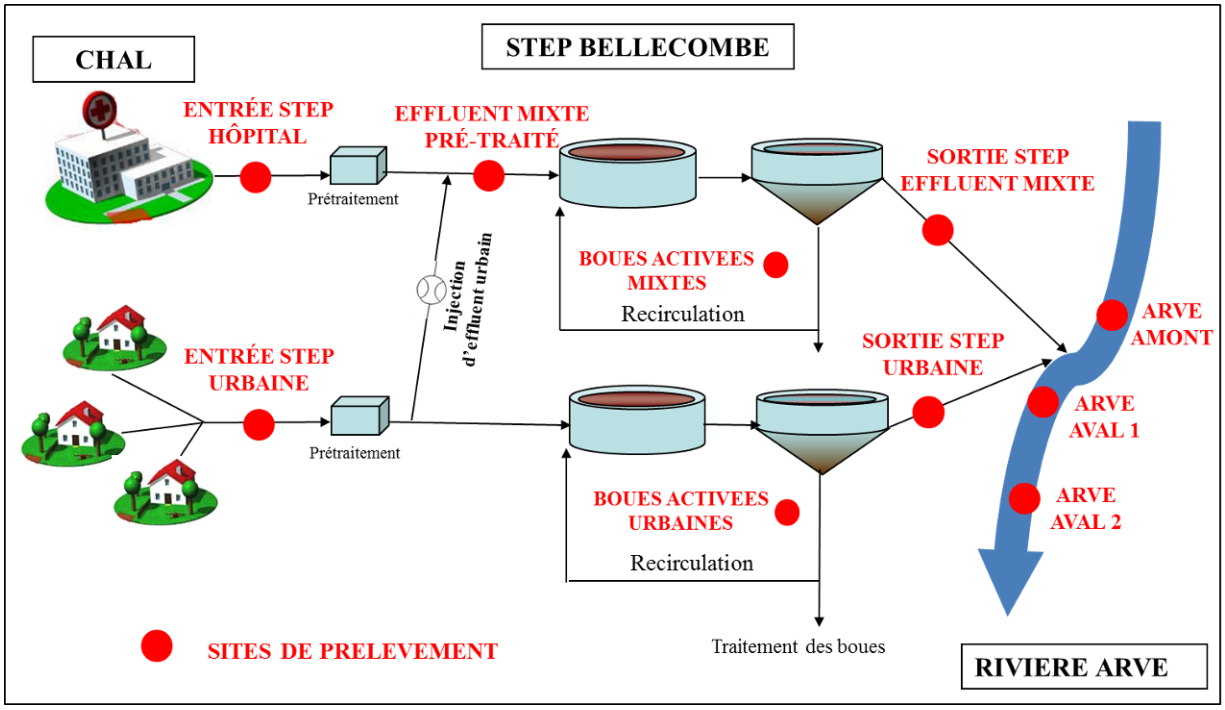


Figure 71 Configuration de la STEP de Bellecombe et des sites de prélèvements à partir d'octobre 2014

Résultats des analyses de médicaments et détergents

(i) Concentrations en sorties de station d'épuration :

La figure 72 représente les concentrations en sorties de STEP, filières urbaines et mixtes, des substances dont les concentrations sont significativement supérieures dans l'effluent hospitalier par rapport à l'urbain, en entrées de STEP (voir partie II. 2-1).

Sans surprise, les concentrations en antibiotiques ciprofloxacine et sulfaméthoxazole, sont supérieures en sortie de filière mixte par rapport à la filière urbaine. Ce n'est en revanche pas le cas du kétoprofène (concentrations du même ordre) et du paracétamol (concentrations inférieures), alors mêmes que ces composés présentent des concentrations supérieures dans l'effluent hospitalier entrant dans la STEP. Ceci peut être lié au temps de résidence hydraulique de la filière mixte qui est plus long que celui de la filière urbaine.

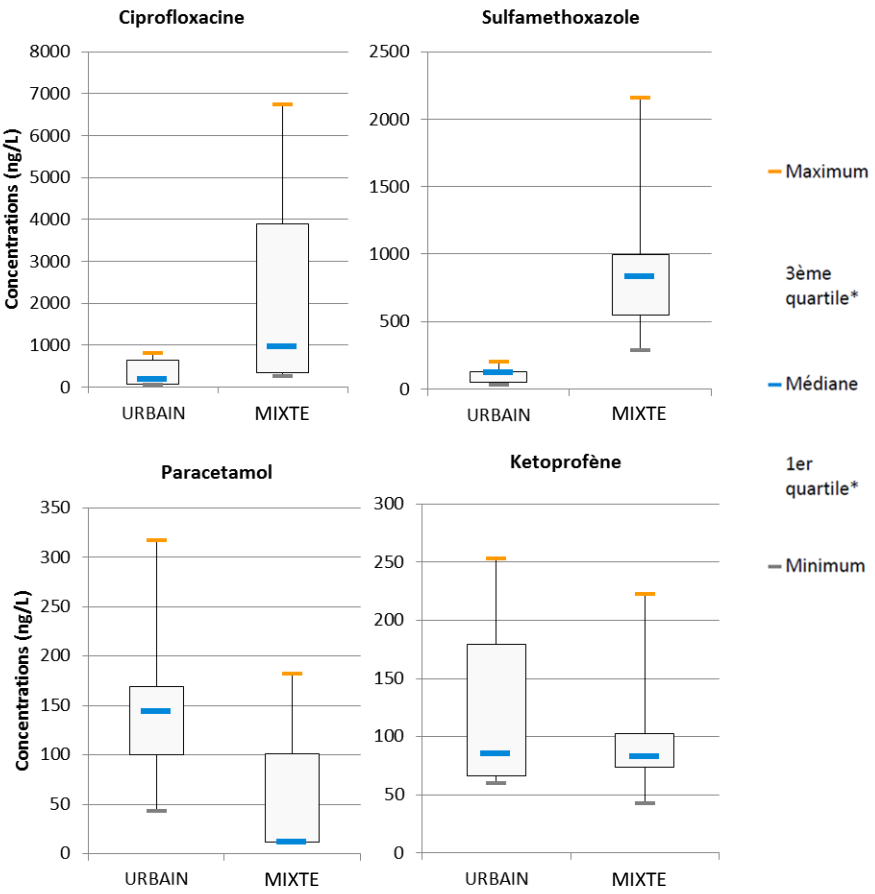


Figure 72 Concentrations en sortie de STEP (urbain et mixte) - janvier à août 2015; 7 campagnes

(ii) Abattements des deux filières de la STEP :

Les abattements de résidus de médicaments rejetés par les deux filières de la STEP, urbaine et mixte (composés quantifiés uniquement) sont représentés sur la figure 73.

Concernant la filière mixte, les abattements ont été calculés d'après les mesures effectuées en sortie de filière et sur l' « effluent mixte pré-traité » (qui est donc différent d'un effluent d'entrée STEP puisqu'ayant subi un dégrillage, dessablage, déshuilage).

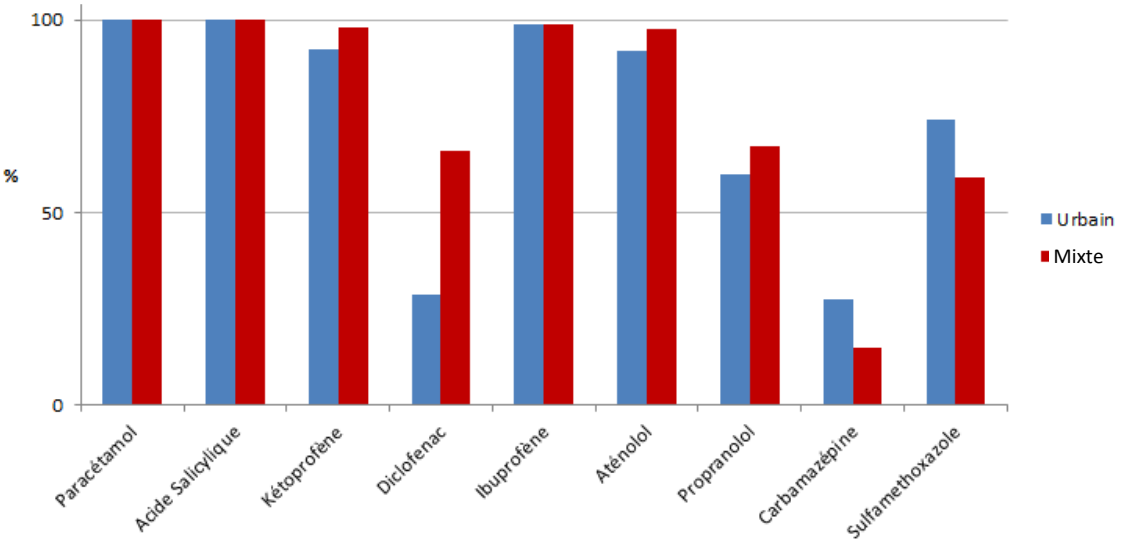


Figure 73 Abattements sur les filières urbaine et mixte de la STEP - janvier à octobre 2015; 6 campagnes.

Les abattements obtenus sont très similaires aux abattements des files urbaines et hôpital des campagnes précédentes (voir partie II. 2-1). Le paracétamol, l'acide salicylique et l'ibuprofène sont très bien abattus, contrairement au diclofénac, propranolol, carbamazépine et sulfaméthoxazole qui présentent des abattements inférieurs à 75 %. Aucun abattement n'a pu être calculé pour la ciprofloxacine qui n'a pas pu être quantifiée de manière précise dans les effluents entrants, bien que présente dans les eaux traitées. Ces abattements négatifs peuvent s'expliquer par son adsorption sur les particules des eaux usées puis sa désorption en phase aqueuse après traitement de la STEP (Verlicchi *et al.,* 2012).

Des différences sont également observées entre les deux filières de traitement. Les abattements sont supérieurs dans la filière mixte pour le diclofénac, l'aténolol et le propranolol alors qu'ils sont inférieurs pour le sulfaméthoxazole et la carbamazépine.

(iii) Analyses réalisées sur les boues :

Enfin, dans le but de compléter le bilan de masse des résidus de médicaments sur les 2 filières, des échantillons de boues ont été analysés. Une seule campagne a été réalisée jusqu'à présent, mais il est prévu de confirmer ces résultats par des campagnes supplémentaires.

La figure 74 présente les concentrations retrouvées dans les boues issues des deux filières, en sortie de filtre presse et en sortie de serres de séchage solaire.

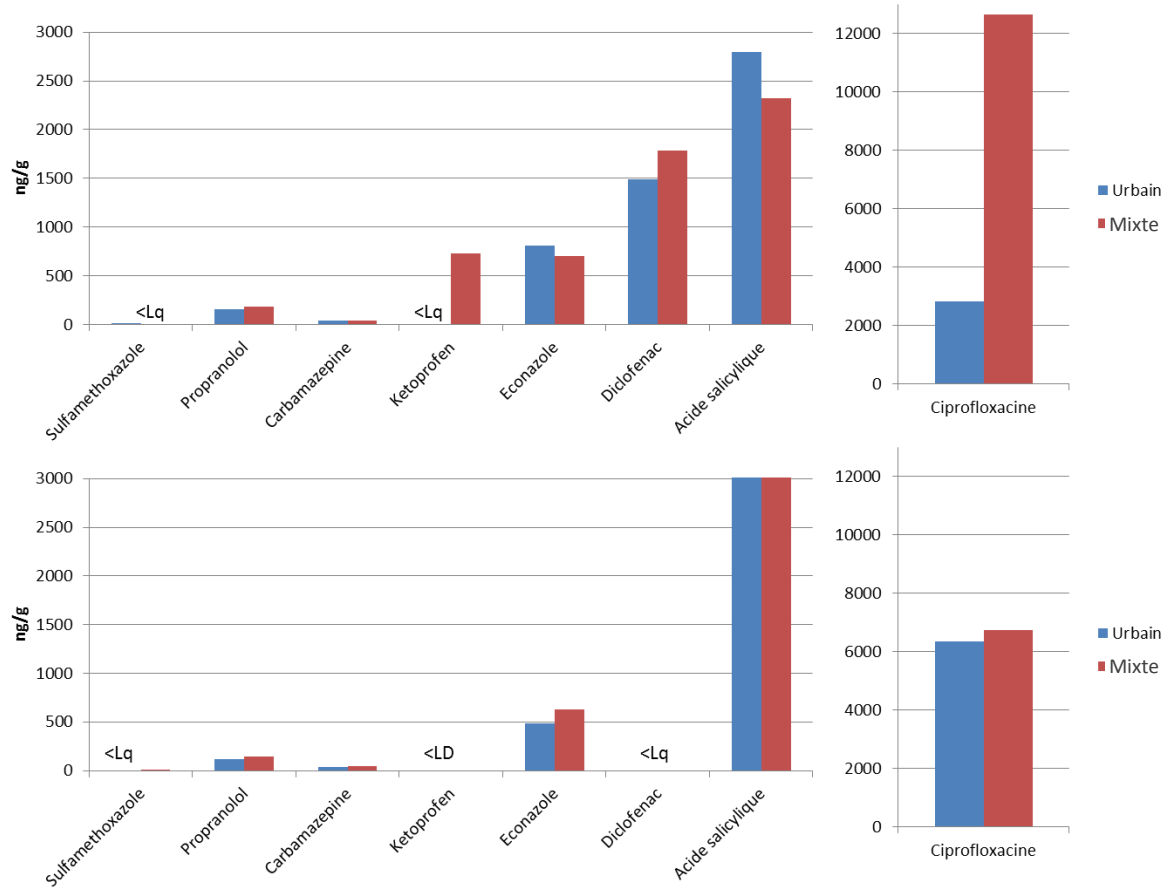


Figure 74 Concentrations dans les boues en sortie de filtre presse (en haut) et en sortie de serre (en bas), filières urbaine et mixte - juin 2015 ; 1 campagne

En ce qui concerne les boues en sortie de filtre presse, deux molécules présentent des concentrations supérieures dans la filière mixte, le kétoprofène et la ciprofloxacine, qui sont effectivement des médicaments caractéristiques de l'effluent hospitalier. D'autre part, les concentrations retrouvées en ciprofloxacine sont très élevées, supérieures à 10 µg/g, ce qui confirme sa forte affinité pour la fraction particulaire. Enfin, notons la présence d'éconazole en concentration

non négligeable, supérieure à 500 ng/g, molécule qui avait été rarement quantifiée dans la fraction dissoute des eaux usées.

L'analyse des boues après séchage conduit à deux observations : d'une part, les concentrations en certains médicaments sont plus faibles ; c'est le cas du kétoprofène, du diclofénac et de la ciprofloxacine. Et d'autre part, les différences entre filières urbaine et mixte s'atténuent.

Résultats du suivi des intégrons de résistance

La quantité d'intégrons a été suivi de mars 2012 à avril 2015 dans les effluents urbains et hospitaliers, en amont et aval des stations de traitement et représentée sur la figure 75. À partir de novembre 2014, les effluents sont mélangés (effluents mixtes entourés d'un cercle).

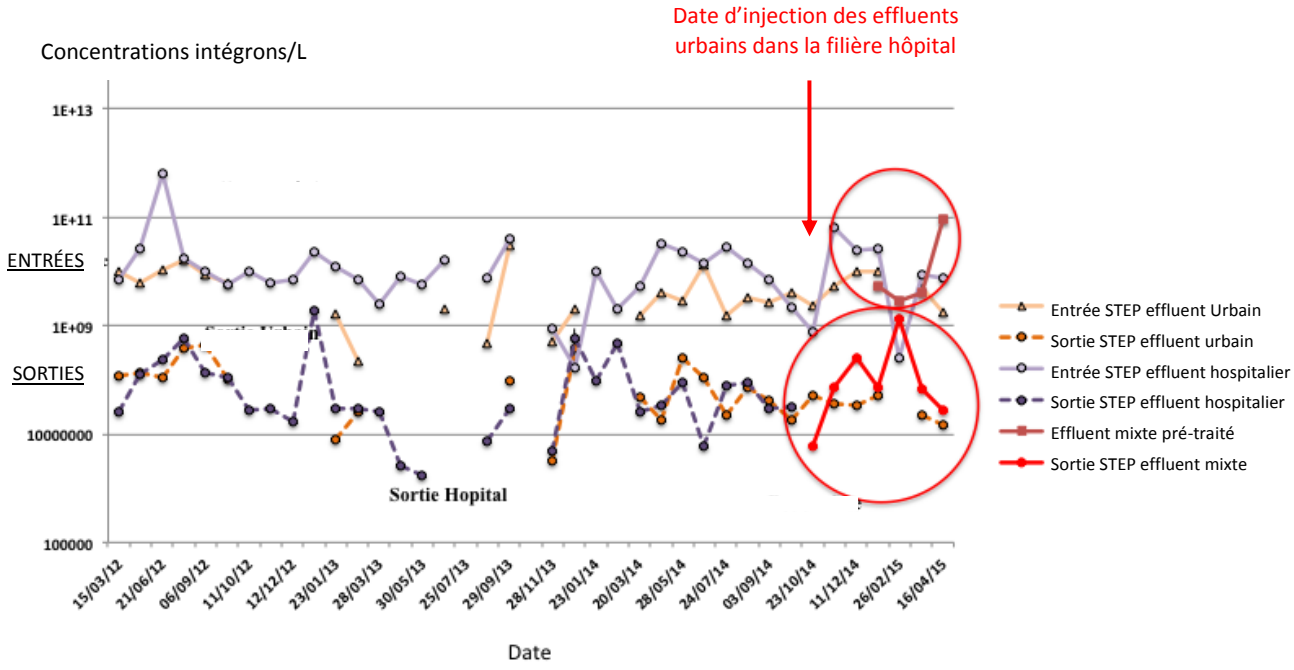


Figure 75 Evolution des concentrations d'intégrons dans les effluents durant toute la période de suivi

(i) Mesures effectuées en entrées de STEP

Il apparait que la concentration d'intégrons dans l'effluent mixte en entrée de station est globalement dans le rapport de dilution entre l'effluent urbain et hospitalier. La figure 76 décrit les évolutions des concentrations en intégrons et l'abondance relative durant la période tandis que la courbe verte représente la valeur théorique du mélange des deux effluents dans les proportions utilisées. Il apparait que celle-ci représente bien la concentration effective ou l'abondance relative du mélange et qu'elle est dans le rapport de dilution.

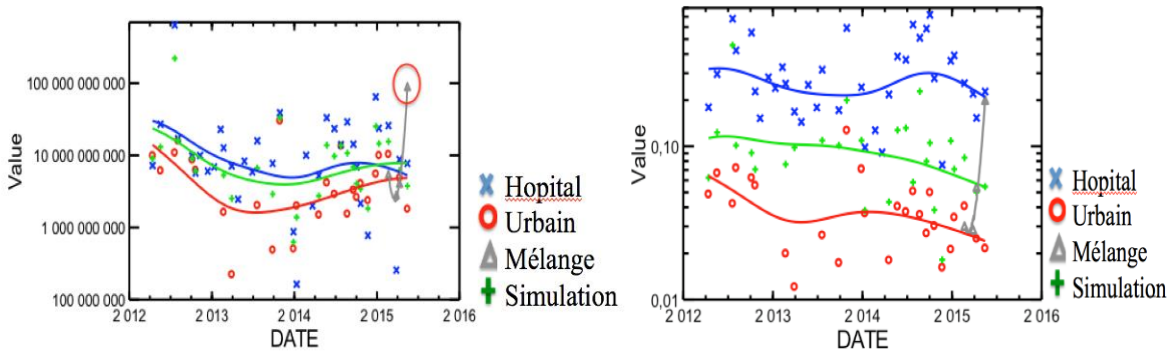


Figure 76 Lissage (trait plein) des concentrations en intégrons (à gauche – intégrons/L) et en abondance relative (à droite) en entrées de station entre février 2012 et avril 2015 - effluent hospitalier, effluent urbain, effluent mixte (=mélange), simulation de l'effluent mixte.

(ii) Mesures effectuées en sorties de STEP

De la même façon, les valeurs de sortie en concentration et abondance relative sont reportées sur la figure 77. Il apparait que le mélange a créé un enrichissement en intégrons dans l'effluent mixte de sortie de STEP, qui semble s'atténuer dans le temps pour être globalement dans le ratio de dilution prévisible.

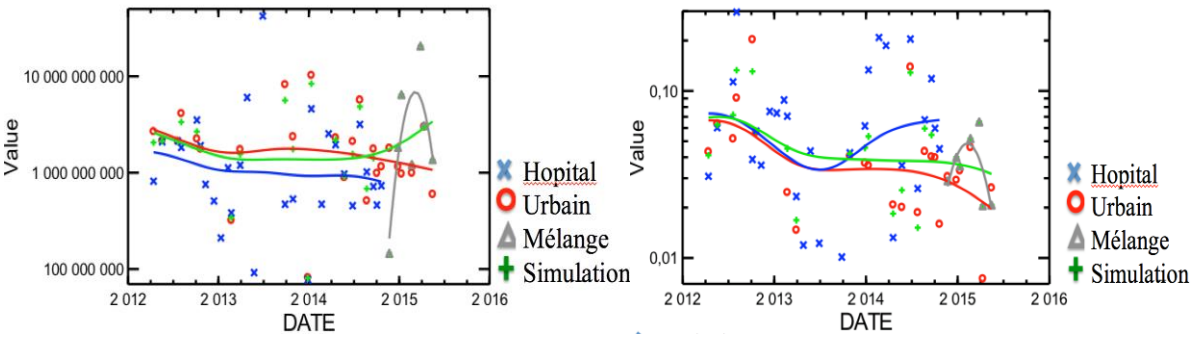


Figure 77 Lissage (trait plein) des concentrations en intégrons (à gauche – intégrons/L) et en abondance relative (à droite) en sorties de station entre février 2012 et avril 2015 - effluent hospitalier, effluent urbain, effluent mixte (=mélange), simulation de l'effluent mixte.

(iii) Mesures effectuées dans les bassins biologiques

Sachant que les microorganismes sont principalement dans les boues des bassins biologiques, l'évolution de la concentration en intégrons (figure 78) et de l'abondance relative (figure 79) a été suivie dans le bassin biologique après mélange. Bien qu'il faille considérer les différences de fonctionnement entre les 2 filières (mixte et urbain), ces concentrations et l'abondance relative ont tendance à augmenter dans le bassin biologique dans les premier temps puis à se stabiliser ou à décroitre.

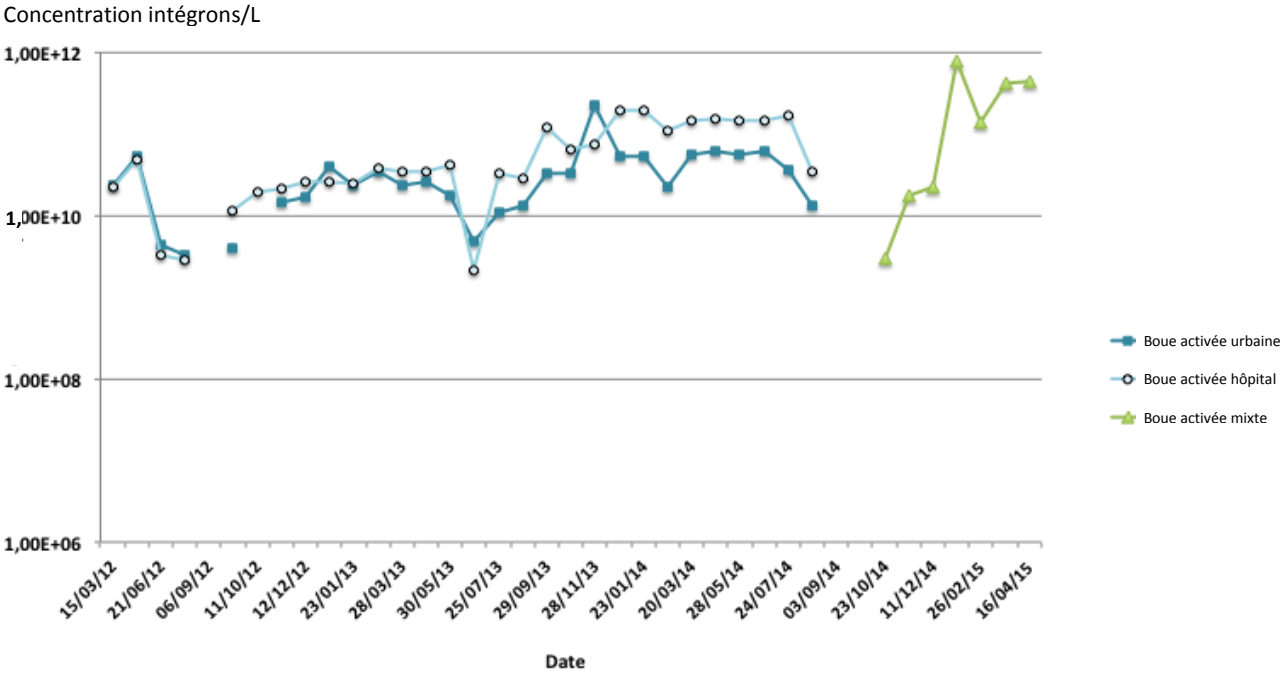


Figure 78 Évolution de la concentration en intégrons dans les boues biologiques entre mars 2012 et avril 2015

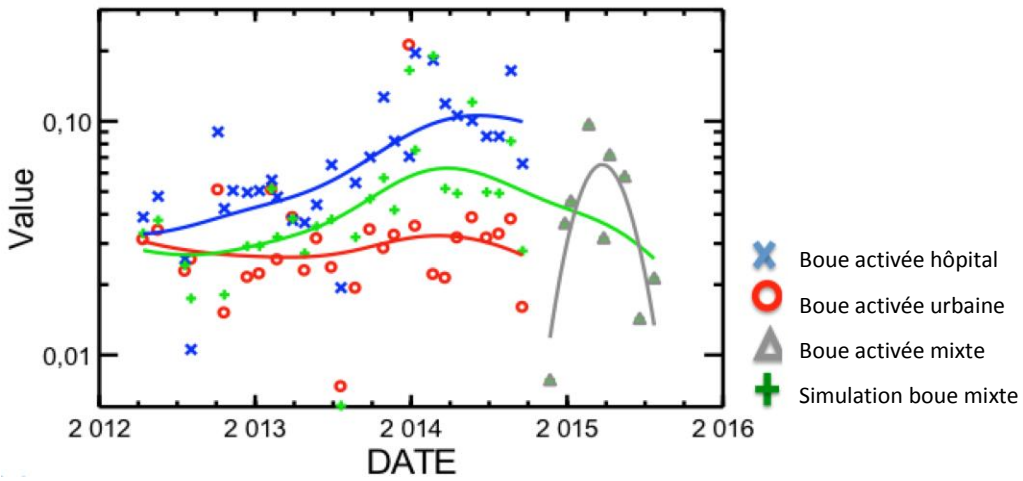


Figure 79 Évolution de l'abondance relative dans les boues biologiques entre mars 2012 et avril 2015 - Boue activée hôpital, Boue activée urbaine, boue activée mixte et simulation effluent mixte (représentant la dilution)

Résultats du suivi des *Pseudomonas aeruginosa*

La figure 80 illustre l'impact du mélange des effluents sur les eaux usées avant et après traitement.

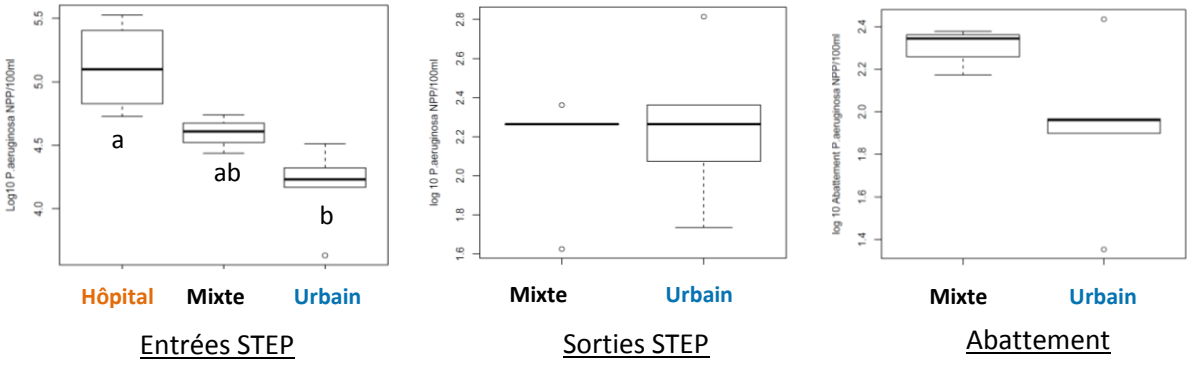


Figure 80 Boxplot de *P.aeruginosa* (log10 NPP/100mL) dans les entrées de la STEP (hôpital, mixte 1/3 hôp. 2/3 urbain, urbain), et les sorties (mixte et urbain) de novembre 2014 à avril 2015. Boxplot de l'abattement en *P.aeruginosa* (log10 NPP/100mL) dans les filières urbaines et mixte

Les dénombrements en *P.aeruginosa* dans l'effluent mixte pré-traitée sont plus élevés qu'en entrée de filière urbaine mais moins qu'en entrée de filière hospitalière (non significatif). Au niveau des eaux traitées, il n'y a pas eu de différence observée entre la filière mixte et la filière urbaine ; l'ajout de 2/3 d'effluent urbain n'a pas impacté le traitement.

Ceci a été confirmé par un abattement des *P. aeruginosa* qui semble plus élevé dans la filière mixte par rapport à la file urbaine (le temps de résidence hydraulique de l'effluent mixte pourrait expliquer cette différence). Il est à noter que malgré l'absence de différences significatives entre les filières mixte et urbaine avec cette approche, les types de souches de *P. aeruginosa* demeurent différents entre les filières. Les dangers associés aux *P. aeruginosa* de la filière hospitalière sont clairement plus importants en raison d'une plus forte occurrence de résistances aux antibiotiques. Il est également probable que ces souches aient une virulence exacerbée.

Résultats des bioessais

(i) Expérience préliminaire au laboratoire :

Des bioessais ont tout d'abord permis de mesurer les effets biologiques sur un mélange reconstitué des deux effluents dans les mêmes proportions que sur le site au moment des essais (3 % d'effluent hospitalier et 97 % d'effluent urbain).

Ce mélange d'effluents conduit à un comportement écotoxique et de perturbation de l'activité endocrinienne, non significativement différent de celui de l'effluent urbain seul, que ce soit en entrée ou en sortie de la station d'épuration (tableau XXI).

Tableau XXI Bioessais sur effluents hospitalier et urbain et sur un mélange reconstitué en laboratoire avec 3 % d'effluent hospitalier et 97 % d'effluent urbain - proportions représentatives des débits mesurés lors de la campagne de novembre 2013 – NT = non toxique.

Campagne de mesure de novembre 2013		**ENTRÉES**			**SORTIES**		
		Effluent hospitalier	Effluent urbain	Mélange reconstitué	Effluent hospitalier	Effluent urbain	Mélange reconstitué
Daphnies	(CE_{50}) (%)	9,9	78,8	70,3	NT	NT	NT
Rotifères	(CE_{20}) (%)	8	34	50	17	NT	NT
Perturbateurs endocriniens (œstrogènes) (extrait)	(ng/L Eq E2)	114	28	38	0,55	1,5	2,15

(ii) Expériences *in situ* :

Des bioessais ont ensuite été conduits sur les échantillons issus du mélange effectué *in situ* avec 1/3 d'effluent hospitalier et 2/3 d'effluent urbain à partir de novembre 2014.

Les exemples de résultats présentés en page suivante, confirmés par les observations faites lors des autres campagnes, montrent que l'écotoxicité de « l'effluent mixte pré-traité » se situe entre l'écotoxicité des effluents hospitalier et urbain d'entrées de STEP.

Ils révèlent également, qu'en sortie de STEP, l'écotoxicité de l'effluent mixte se rapproche de celle de l'effluent urbain.

Concernant les effets estrogénomimétiques, les résultats montrent que s'il reste un effet résiduel dans les eaux traitées, le niveau est très faible et comparable à ce qui est observé en sortie des filières efficaces de traitement des eaux usées sans traitement tertiaire. À ces faibles niveaux, les différences entre effluent urbain traité et effluent mixte traité ne sont pas vraiment significatives et seules certaines campagnes ont montré un effet légèrement supérieur au sein de l'effluent mixte.

Tableau XXII Bioessais sur effluents hospitalier, urbain et mixte -
effluent mixte constitué *in situ* avec 1/3 d'effluent hospitalier et 2/3 d'effluent urbain – NS = non significatif.

Campagne de mesure de novembre 2014		ENTRÉES			SORTIES	
		Effluent hospitalier	Effluent urbain	Effluent mixte pré-traité	Effluent urbain	Effluent mixte
Daphnies	(CE_{50}) (%)	20,4	> 90	/	> 90	> 90
Algues	(CE_{20}) (%)	27,2	> 80	/	> 80	> 80
Rotifères	(CE_{20}) (%)	50,2	61,6	/	> 100	> 100
Ostracodes	Inhibition croissance (%)	53,7	0	/	0	0
Essai des comètes (sur extrait)	(% tail DNA)	NS	NS	/	NS	NS
SOS Chromotest (sur extrait)	(Induc. factor)	1,4	1	/	1	1,3
Perturbateurs endocriniens (œstrogènes) (extrait)	(ng/L Eq E2)	> 300	73,0	/	4,1	1,2

Campagne de mesure de décembre 2014		ENTRÉES			SORTIES	
		Effluent hospitalier	Effluent urbain	Effluent mixte pré-traité	Effluent urbain	Effluent mixte
Daphnies	(CE_{50}) (%)	27,1	50	/	> 90	> 90
Algues	(CE_{20}) (%)	62,7	> 80	/	> 80	> 80
Rotifères	(CE_{20}) (%)	66,3	> 100	/	> 100	> 100
Ostracodes	Inhibition croissance (%)	18,9	0	/	0	0
Essai des comètes (sur extrait)	(% tail DNA)	NS	NS	/	NS	NS
SOS Chromotest (sur extrait)	(Induc. factor)	1,4	0,9	/	1,1	1,2
Perturbateurs endocriniens (œstrogènes) (extrait)	(ng/L Eq E2)	62	33	/	3,8	7,0

Campagne de mesure de janvier 2015		ENTRÉES			SORTIES	
		Effluent hospitalier	Effluent urbain	Effluent mixte pré-traité	Effluent urbain	Effluent mixte
Daphnies	(CE_{50}) (%)	31,3	> 90	52,2	> 90	> 90
Algues	(CE_{20}) (%)	34,8	> 80	76,5	> 80	> 80
Rotifères	(CE_{20}) (%)	24,7	> 100	51,3	> 100	> 100
Ostracodes	Inhibition croissance (%)	28,9	0	0	5,7	3,7
Essai des comètes (sur extrait)	(% tail DNA)	NS	NS	NS	NS	NS
SOS Chromotest (sur extrait)	(Induc. factor)	1,6	0,85	1,35	1,15	1,4
Perturbateurs endocriniens (œstrogènes) (extrait)	(ng/L Eq E2)	24	44,5	33	1,4	2,9

2-3 Examen de la conformité des boues

Un examen des boues issues de l'effluent mixte a été réalisé en juin 2015, en sortie de filtre presse, et en sortie de serre de séchage solaire.

Les analyses effectuées ont permis d'établir que **les boues issues de la filière mixte étaient conformes à la réglementation en vigueur** sur l'ensemble des paramètres physico-chimiques et microbiologiques, tout comme les boues issues de la filière urbaine.

2-4 La mise en perspective avec les résultats des pilotes de traitement Suez

Dans le cadre de l'étude des traitements supplémentaires en station d'épuration menée sur le projet TRIUMPH, des tests de performance ont été réalisés en utilisant des systèmes biologiques et chimiques alimentés à partir des effluents mixtes (50 % d'effluents hospitalier et urbain volume/volume), à l'échelle de pilotes. Ce choix avait un double objectif : conserver les apports type des micropolluants présents dans les effluents urbains (pesticides mais aussi hormones et composés pharmaceutiques) et bénéficier de l'enrichissement des composés à usage hospitalier.

Ce mélange, dont les proportions sont élevées par rapport à d'autres valeurs reportées, ne conduit pas à des modifications d'exploitation des systèmes biologiques ni rend difficile le maintien des conditions de fonctionnement des procédés.

Sur la pollution conventionnelle, l'apport de l'effluent hospitalier résulte en l'obtention des concentrations un peu plus importantes sur les matières en suspension et le carbone organique. Cette dernière se traduit, pour le mélange 50 % v/v d'effluents urbain et hospitalier, par une empreinte d'absorption UV de l'effluent hospitalier dans la zone 200-400 nm différente de celle de l'effluent domestique conventionnel. Cette empreinte spécifique semblerait en partie réfractaire aux traitements biologiques testés à l'échelle pilote (transmittances ou absorbances UV plus élevées que celles obtenues avec d'autres systèmes biologiques avec le même niveau de traitement mais alimentés par des effluents urbains). Toutefois, les performances de traitement du carbone (DCO totale, DCO filtrée) et de l'azote ($N\text{-}NH_4$) quantifiées sont de 95 %, 87 % et 99 % respectivement.

Les concentrations mesurées en micropolluants traduisent le résultat escompté du mélange de deux effluents, par la haute fréquence de quantification obtenue et les concentrations mesurées. **L'élimination de ces micropolluants par les systèmes biologiques BA et MBBR alimentés par un effluent mixte ne semble pas être affectée par la spécificité de l'effluent hospitalier** puisque que les niveaux d'abattements atteints sont comparables à ceux obtenus conventionnellement en l'absence d'effluent hospitalier.

3–Conclusions sur la pertinence du mélange des effluents hospitaliers et urbains au sein d'une station unique

Étant entendu et démontré

- que les effluents hospitaliers issus du CHAL, comparés à l'effluent urbain issu du bassin de collecte, revêtaient une certaine spécificité, avec des concentrations de micropolluants issus de l'activité de soin plus élevées, une écotoxicité plus marquée et la présence plus importante de bactéries antibiorésistantes,
- que les deux filières de la STEP mises en place, avec leurs paramètres d'exploitation spécifiques, permettaient de diminuer fortement les charges pour la majorité des micropolluants testés, la toxicité ou l'antibiorésistance mesurées par les indicateurs décris précédemment,

la réponse à l'opportunité d'un mélange des deux effluents nécessitaient de s'intéresser, préalablement à toute décision, aux points suivants *:*

1. l'épuration des eaux, estimée par les caractéristiques classiques, est-elle affectée par le mélange des deux effluents ?

2. la station telle que conçue permet-elle d'éliminer la majorité des résidus de médicaments ?

3. l'écotoxicité de l'effluent mixte traité est-elle comparable à celle d'un effluent urbain traité ?

4. Constate-t-on des phénomènes de transfert de gènes (d'antibiorésistance) entre les bactéries de l'effluent hospitalier et celle de l'effluent urbain aboutissant à une augmentation globale de l'antibiorésistance ?

5. La qualité des boues est-elle affectée ?

À ces cinq questions, le consortium a apporté les réponses suivantes :

1-Qualité des eaux rejetées au milieu

L'effluent mixte traité et rejeté dans le milieu naturel répond aux caractéristiques de rejet indiquées par la législation en vigueur. **L'effluent hospitalier n'affecte pas le traitement.** Il n'a pas été noté de modification des paramètres d'exploitation tels qu'une consommation d'oxygène ou une production de boue hors des valeurs connues. Des études menées en laboratoire ont noté une possibilité de modification de l'écosystème bactérien qui relève certainement de phénomène d'adaptation à la modification de la qualité de l'effluent.

2-Abattement des micropolluants spécifiques

Les valeurs des abattements des molécules analysées, qu'elles soient relativement importantes ou faibles, sont globalement similaires dans le traitement de l'effluent mixte que lors des traitements séparés initiaux. Cela justifie l'**inutilité de mettre en place un traitement spécifique « classique » de l'effluent hospitalier**.

Les concentrations en antibiotiques (ciprofloxacine et sulfaméthoxazole), sont supérieures en sortie de la filière mixte par rapport à la filière urbaine, en raison de la présence de l'effluent hospitalier et de la résistance reconnue à la biodégradation de ces molécules. Ce n'est en revanche pas le cas du kétoprofène (concentrations du même ordre) et du paracétamol (concentrations inférieures), alors même que ces composés présentent des concentrations supérieures dans l'effluent hospitalier entrant dans la STEP.

3-Écotoxicité

Les caractérisations de l'écotoxicité dont la perturbation de l'activité endocrinienne de l'effluent mixte traité ont montré que celles-ci ne sont pas significativement différentes de celles de l'effluent urbain traité seul et ce sur l'ensemble des essais développés dans cette étude. Il s'avère ainsi que le

traitement du mélange, dans le ratio de flux et l'exploitation de l'installation mis en place, permet un **rejet d'effluent dans les gammes d'impact d'un rejet urbain classique**.

4-Antibiorésistance

L'abattement des *P. aeruginosa* est plus élevé lors du traitement de l'effluent mixte comparé à l'abattement dans la filière urbaine, certainement dû à la différence d'exploitation des deux installations (temps de résidence différents). Il semble que les types de souches de *P. aeruginosa* soient différents entre les deux files de traitement, notamment par **une plus forte occurrence de résistance aux antibiotiques dans l'effluent mixte**. L'utilisation systématique d'un marqueur intégron confirme la charge plus importante de l'effluent hospitalier que celle de l'effluent urbain, la charge de l'effluent mixte étant dans le rapport de dilution. Le suivi de la qualité de l'effluent mixte traité montre **un certain enrichissement en termes d'abondance relative, effet qui semble s'atténuer dans le temps** pour aboutir à la même valeur que dans l'effluent urbain. Ces deux conclusions incitent à rester vigilant sur la qualité des boues mixtes produites par le traitement.

5-Boues d'épuration

Une attention particulière a été portée sur la qualité des boues issues du traitement biologique de l'effluent mixte.

Dans les boues mixtes du bassin biologique, une augmentation significative du nombre d'intégrons de résistance et de l'abondance relative a dans un premier temps été observée. Cette augmentation pourrait être due à un temps de séjour des boues dans le bassin mixte plus important mais l'analyse des flux matières ne permet pas d'éliminer l'hypothèse de transferts de gènes au sein du bassin ou de développement de flore provenant de l'effluent hospitalier. Il peut également s'agir d'un phénomène transitoire lié à l'acclimatation de la population microbienne. Il semble en effet que dans un second temps, la tendance, malgré la forte variabilité dans les résultats soit à la stabilisation voire à la diminution de l'abondance relative. Ce paramètre continue à être suivi dans le cadre de l'observatoire.

Dans les boues en sortie de filtre presse, deux molécules spécifiques des effluents hospitaliers (kétoprofène et ciprofloxacine) sont retrouvées à des concentrations importantes, notamment la ciprofloxacine dont l'affinité pour la matière particulaire est connue. L'éconazole, non détectée dans l'effluent est également retrouvé dans les boues.

En sortie de serre de séchage (boues destinées à l'épandage), les mesures effectuées révèlent des concentrations du même ordre pour les boues mixtes et boues urbaines, y compris pour la ciprofloxacine et le kétoprofène.

La persistance de ces molécules dans les boues lors des processus de stabilisation/déshydratation est fonction du type d'opération : le chaulage peut aboutir à un relargage de certaines molécules dans la phase aqueuse lié à la modification du pH, la digestion anaérobie (non utilisé actuellement sur le site) permettant la dégradation d'autres molécules (type sulfaméthoxazole).

Ces résultats montrent qu'il faut être particulièrement vigilant sur la qualité et sur le mode de traitement, stabilisation ou hygiénisation des boues issues d'un effluent mixte afin de s'acquitter d'impacts environnementaux et sanitaires potentiels qu'il reste à étudier.

Conclusions et enseignements

Les résultats de l'étude du mélange, tel que réalisé sur le site, permettent de répondre globalement à plusieurs interrogations justifiées sur les modes de gestion et de traitement des effluents hospitaliers :

- **les rejets issus des établissements de santé sont spécifiques** et, comme tout rejet de type non domestique, méritent une attention et une gestion particulières, comme cela est démontré dans toutes les études portant sur ces effluents (Pills, 2012 ; No Pills, 2015) ;

- **la question de l'impact de ces effluents** ne se limite pas aux enjeux liés aux résidus de médicaments, aux produits détergents et biocides. Il faut appréhender les établissements de santé de façon globale, en considérant l'ensemble de leurs activités et de leurs rejets potentiels (services médicaux, restauration, tour aéro-réfrigérante, blanchisserie, laboratoire, etc.) afin de pouvoir préconiser les pratiques, prétraitements et suivis nécessaires.

Trois documents utiles :

1. Guide du Ministère en charge de la Santé "Pour une bonne gestion des déchets produits par les établissements de santé et médico-sociaux" (2016)

2. Document du GT Effluents non domestiques du Graie : « La gestion des effluents d'un établissement de santé : principe de la démarche et préconisations sur le suivi des rejets » (2016)

3. Résumé du programme européen NO PILLS : recommandations à la politique (2015)

- **le traitement du mélange des effluents**, couplé à un procédé de traitement bien exploité et à une surveillance de la qualité des rejets, s'est avéré une solution acceptable dans l'état de nos connaissances, et qui n'a pas induit d'impact significativement différent que celui lié au rejet d'un effluent urbain classique. Concernant la qualité des boues, la vigilance est de mise sur les paramètres non réglementaires pouvant avoir une incidence environnementale (résidus de médicaments, détergents, gènes de résistance, etc.), dont l'étude est poursuivie dans l'observatoire ;

- **L'évaluation des ratios coût/bénéfice** menée dans le cadre des programmes européens PILLS et NO PILLS n'est globalement pas en faveur d'un traitement spécifique de l'effluent hospitalier ; les études technico-économiques ont montré que cette option n'était rentable ni d'un point de vue économique, ni d'un point de vue environnemental, notamment en considérant l'intégralité des rejets à l'échelle d'un territoire. Il est démontré qu'à l'échelle d'une agglomération possédant un centre hospitalier, la charge de résidus de médicaments liée à l'hôpital ne représente qu'environ 20 % de la charge globale de l'ensemble de l'agglomération. De plus, les soins ambulatoires et l'hospitalisation à domicile tendent à se développer sous l'impulsion du Ministère en charge de la Santé, y compris pour des traitements médicamenteux lourds, augmentant ainsi la charge provenant des rejets diffus.

➔ Les résultats de SIPIBEL, PILLS et NO PILLS ont ainsi démontré que **l'implantation d'une station d'épuration sur site hospitalier n'est pas la solution appropriée.**

Enfin, l'implantation d'opérations de traitement tertiaire (ozonation, charbon actif,…) est d'une manière générale efficace à l'encontre des molécules spécifiquement présentes dans les effluents hospitaliers. Elle relève cependant de choix politiques, économiques et sociaux (ratio coût/bénéfice) et de la mise en place d'une exploitation rigoureuse.

Modification de l'arrêté préfectoral :

Au vue de ces résultats et conclusions, le Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe a sollicité le préfet de Haute-Savoie en juillet 2015, pour demander une modification de l'arrêté préfectoral selon les dispositions suivantes :

- la possibilité de mélanger les effluents hospitaliers et urbains au sein d'une filière de traitement unique,
- une valorisation de l'ensemble des boues produites en agriculture (ou espaces verts) conformément au plan d'épandage autorisé (sauf en cas de non-conformité).

Suite à l'avis favorable du Conseil départemental de l'environnement, des risques sanitaires et technologiques (CODERST) réuni le 10 mars 2016, l'arrêté préfectoral modifié selon ces dispositions est paru en avril 2016.

V. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

1-Conclusions

1-1 Synthèse des principaux résultats

L'observatoire SIPIBEL a permis un suivi fin et novateur des effluents urbains et hospitaliers de la STEP de Bellecombe et de leurs impacts sur le milieu, à travers 40 campagnes de prélèvements menées entre février 2011 et décembre 2015 et plus de 130 paramètres mesurés.

Les résultats acquis grâce à ce suivi ont démontré que les effluents hospitaliers issus du CHAL présentaient certaines spécificités comparés à l'effluent urbain issu du bassin de collecte, avec des concentrations en résidus de médicaments plus élevées, une écotoxicité plus marquée et la présence de bactéries potentiellement « plus » antibiorésistantes.

Malgré cela, du fait de la différence de débit avec l'effluent urbain, la contribution de l'effluent hospitalier en termes de flux de résidus de médicaments et détergents entrant à la STEP de Bellecombe reste inférieure à 30 %, sauf pour les antibiotiques ciprofloxacine et vancomycine dont les flux sont en majorité apportés par l'effluent du CHAL. Ces résultats confirment ceux des études précédentes (Mullot, 2009) et notamment de programmes européens qui avaient démontré que seulement 20 % du flux de résidus de médicaments rejetés au réseau étaient issus des établissements de soin et donc que la majorité du flux provenait d'apports diffus.

Cet observatoire a également permis de mettre en évidence que les deux filières de la STEP mises en place, avec leurs paramètres d'exploitation spécifiques, permettaient de diminuer fortement la toxicité, l'antibiorésistance et les charges pour la majorité des micropolluants testés, même si des teneurs significatives en certains composés sont rejetées au milieu en raison de leurs concentrations élevées en entrée de STEP (ex : paracétamol) et/ou de leurs propriétés intrinsèques qui les rendent réfractaires au traitement (ex : diclofénac).

Les conclusions de ce suivi et de l'expérimentation d'injection d'effluent urbain dans la filière hospitalière ont conduit le Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe, appuyé par le consortium scientifique, à solliciter une modification de l'arrêté préfectoral afin de revenir à une situation classique de traitement des effluents hospitalier et urbain au sein d'une filière unique. Cette autorisation a été accordée en avril 2016, suite à l'avis favorable du Conseil départemental de l'environnement et des risques sanitaires et technologiques (CODERST).

Dans la rivière Arve, huit molécules principes actifs de médicaments ont été détectées à des fréquences supérieures à 50 % (parmi les 15 recherchées), dont seul le diclofénac présente une concentration moyenne supérieure à la Norme de Qualité Environnementale (NQE). En complément, aucun changement significatif n'a été observé depuis l'ouverture du CHAL et les mesures montrent que la contamination en résidus de médicaments est déjà présente en amont de la STEP de Bellecombe. Les quantités d'intégrons de résistance sont très faibles en amont mais aussi en aval des rejets des 3 STEPs du bassin versant étudié (stations de Bellecombe, Ocybèle et Villette). Il apparait en revanche, une plus forte prévalence des pathogènes opportunistes *Pseudomonas aeruginosa* à l'aval de ces mêmes rejets.

La nappe du Genevois contient de très faibles traces de résidus de médicaments. Seul l'antibiotique sulfaméthoxazole a été régulièrement quantifié dans les eaux de la station de Vessy (eau de l'Arve injectée dans la nappe) et des puits étudiés. Les intégrons de résistance et les *P. aeruginosa* n'ont pas été détectés dans ces mêmes eaux souterraines.

Les études et actions de recherche développées en appui sur l'observatoire ont permis des avancées importantes concernant les potentialités de modélisation des flux de résidus de médicaments, l'efficacité des traitements complémentaires par ozonation, l'étude du devenir des micropolluants au sein des boues d'épuration, la mesure de la bioaccumulation au sein de la chaîne alimentaire, les indicateurs biologiques et le développement de méthodes d'analyses.

Une enquête des perceptions des professionnels de la santé et de la gestion de l'eau, ainsi que des habitants, a été menée sur le bassin-versant franco-suisse de l'Arve aval, dans le cadre de l'étude stratégie IRMISE. Elle a permis d'enrichir l'analyse de plusieurs scénarios de gestion de l'eau et de

mettre en évidence différents leviers d'action pour réduire les rejets de résidus de médicaments dans l'environnement.

1-2 Enseignements et acquis

La genèse de la construction du projet SIPIBEL et la réalisation de campagnes de mesures en routine au sein de l'observatoire ont permis un certain nombre d'enseignements et acquis :

- sur les ingrédients nécessaires au montage d'un site pilote : opportunité d'étude grâce à la configuration particulière du site, construction d'une problématique, mobilisation d'un réseau d'acteurs du territoire, équipes de recherche, industriels et partenaires institutionnels, permettant des actions pluridisciplinaires au service des scientifiques et opérationnels ;
- le rôle d'animation territoriale autour du site pilote, qui a permis de mobiliser les acteurs de l'eau et de la santé, français et suisses, et de poursuivre cette dynamique avec l'engagement volontaire de tous, au travers notamment du projet SIPIBEL-MediATeS ;
- l'application d'un protocole d'échantillonnage adapté à la mesure des micropolluants ;
- la création d'une base de données dédiée, permettant de bancariser et valider l'ensemble des données de l'observatoire et de les mettre à disposition de l'ensemble des partenaires. Avec le soutien de l'Onema, le Graie mène en 2016 une action visant à optimiser et adapter l'outil développé afin de le partager avec d'autres porteurs de projets volontaires ;
- l'intérêt confirmé d'un observatoire, qui permet, grâce à un suivi sur plusieurs années, d'étudier les phénomènes de variabilité (en termes de concentrations, flux, toxicité, etc.) et les évolutions relatives à la nature des effluents, au système d'assainissement et à l'impact des effluents sur le milieu ;
- la validation de certains paramètres en tant qu'indicateurs (ex : la liste des 12 molécules principes actifs de médicaments suivis, les intégrons de résistance, la batterie de bioessais sur organismes appliqués en routine) et la non pertinence d'autres paramètres, qui ont été retirés de la liste (ex : le test d'Ames) ;
- les recherches menées en appui sur l'observatoire permettent notamment d'élaborer de nouveaux protocoles d'analyse répondant aux besoins de l'observatoire lui-même ;
- les résultats de SIPIBEL et le réseau d'experts scientifiques constitué autour du site pilote alimentent les réflexions du GT Effluents non domestiques du Graie, et ont permis d'aboutir à un document sur « La gestion des effluents d'un établissement de santé : principe de la démarche et préconisations sur le suivi des rejets ».

La vocation du site pilote de Bellecombe est de diffuser ces résultats et enseignements au sein de la communauté scientifique et technique.

2-Quel Observatoire pour les prochaines années ?

Le maintien de l'observatoire SIPIBEL permet d'une part, de poursuivre le suivi mené depuis 2011 avec les objectifs qui lui sont associés, et d'autre part, de développer/tester de nouveaux outils et indicateurs afin de mieux évaluer les risques relatifs aux effluents hospitaliers, et plus largement, aux résidus de médicaments, détergents, biocides et bactéries antibiorésistantes. L'augmentation du volume de données résultant de ces nouvelles campagnes de mesures, permettra en outre de réaliser une étude statistique globale, avec notamment des croisements entre les différents types de données (données chimiques, données biologiques, données d'exploitation de STEP, etc.).

2-1 Une nouvelle configuration de la STEP et des sites de prélèvement

Depuis mai 2016 et suite à la modification de l'arrêté préfectoral, les effluents hospitaliers et urbains sont désormais mélangés et traités au sein d'une station unique. Cette modification a abouti à des changements de sites de prélèvements, comme illustré dans la figure 81.

Cette nouvelle configuration permet :

- de maintenir la caractérisation distincte de l'effluent hospitalier en entrée de STEP, comme c'est le cas depuis l'ouverture du CHAL en février 2012 ;
- et d'étudier les conséquences du mélange des effluents dans ces nouvelles proportions, sur le procédé de traitement et la qualité de l'effluent rejeté au milieu.

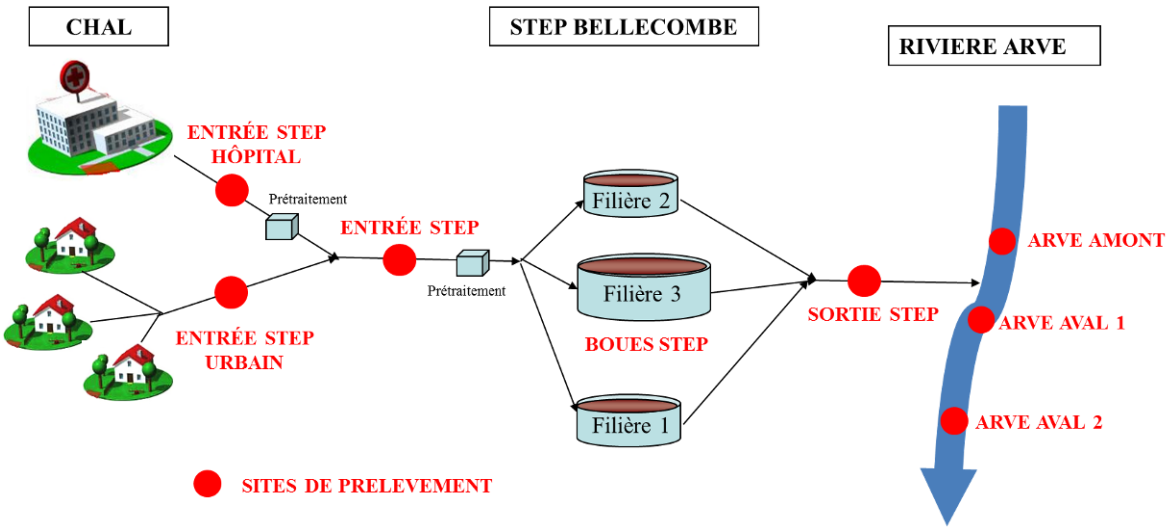


Figure 81 Configuration de la STEP de Bellecombe et des sites de prélèvement depuis mai 2016

2-2 La mise en place d'un suivi régulier des boues d'épuration

La mise en place d'un suivi des boues en sortie de filtre presse et en sortie de serre de séchage (boues destinées à l'épandage sur terres agricoles), initiée à partir d'octobre 2015, permettra :

- de compléter « le bilan matière » de la station : en étudiant le transfert des résidus de médicaments, détergents et biocides au sein des boues ;
- de compléter l'évaluation des impacts des effluents hospitaliers, résidus de médicaments, détergents et bactéries antibiorésistantes sur le milieu, à travers le suivi de paramètres physico-chimiques et d'une batterie d'indicateurs biologiques ;
- d'émettre des préconisations en termes de traitement et gestion de ces boues.

Figure 82 Serre de séchage des boues de la STEP de Bellecombe

L'épandage des boues en France en 2010
(Ministère de l'Écologie, 2014)

-15 millions de tonnes de produit brut, soit 1,5 millions de tonnes de matières séchées ;

-640 000 tonnes de matière sèche épandues sur les sols agricoles comme fertilisant (43 % du total) ;

-les épandages de boues se font sur 2 à 3 % de la surface agricole utile française ;

-cet épandage est soumis à un dispositif réglementaire, avec des mesures obligatoires et des valeurs limites sur certains polluants (dont métaux mais pas de résidus de médicaments et détergents) et des organismes pathogènes.

–les boues urbaines représentent environ 2,5 % des matières fertilisantes d'origine résiduaires épandues selon le rapport 2015 du CGEDD

2-3 L'évolution des paramètres et indicateurs suivis

La notion même d'observatoire consiste à maintenir une liste commune de paramètres suivis tout au long de l'observation, afin de mesurer les évolutions et variabilités interannuelles. Seront ainsi maintenus au sein de l'observatoire SIPIBEL, la plupart des paramètres physico-chimiques et biologiques suivis depuis 2011 : paramètres classiques, liste des 15 molécules principes actifs de médicaments sur fraction dissoute, familles de détergents, intégrons de résistance et la plupart des bioessais.

Certains paramètres, jugés moins pertinents et/ou au coût élevé par rapport à l'information apportée, ne seront néanmoins plus suivis (ex : essai des comètes sur effluents).

À l'inverse, l'observatoire SIPIBEL permettra de développer et tester de nouveaux paramètres et indicateurs :

Les résidus de médicaments

Fraction particulaire et métabolites

Un premier objectif est de mieux comprendre les rejets de résidus de médicaments, en établissant des **bilans matières complets** : les suivis actuels comportent des biais et des incertitudes systématiques qui doivent pouvoir être réduits. En effet, dans le corps humain et dès leur introduction dans les réseaux et l'environnement, les médicaments dissous en phase aqueuse ou adsorbés sur des phases minérales, subissent des processus de métabolisation, dégradations et/ou des adsorptions sur les particules solides. Il est donc nécessaire de connaître le devenir des molécules mères dans tous les compartiments environnementaux, aussi bien aqueux que solides, mais également d'identifier et suivre les produits issus des dégradations. Ceux-ci peuvent présenter des comportements environnementaux différents de leur molécule mère ou des toxicités plus importantes.

Ont donc été mis en place à partir de fin 2015 :

- la mesure des concentrations des résidus de médicaments suivis dans les fractions dissoute et particulaire ;
- la mesure des métabolites et produits de dégradation de deux composés ciblés (diclofénac et sulfaméthoxazole), dont la méthode d'analyse a été développée dans le cadre du projet SIPIBEL-RILACT

Évolution de la liste des résidus de médicaments suivis

Un second objectif est de faire évoluer la liste des résidus de médicaments suivis, afin de doser d'autres molécules pertinentes : composés traceurs de l'activité hospitalière, indicateurs de l'efficacité du traitement, molécules représentant un danger pour l'environnement, etc.

Des screening (analyse d'un large spectre de composés) seront ainsi réalisés et une réflexion sera menée avant d'envisager le suivi en routine de nouveaux composés et/ou le développement de nouvelles méthodes d'analyses.

Les détergents

Une fois appliqués, les tensioactifs entrent dans les milieux aquatiques *via* les rejets traités ou non, où ils sont souvent mesurés à des concentrations significatives, en dépit de leurs rendements d'épuration élevés (entre 85 % et >99 %). Les paramètres suivis depuis la mise en place de l'observatoire ne sont que des indicateurs globaux (composés anioniques, cationiques et non ioniques) qui ne permettent pas de faire le lien avec les produits utilisés et donc avec les risques et leviers d'action potentiels. Peu de mesures de tensioactifs ont par ailleurs été effectuées dans le monde.

Le projet SIPIBEL-RILACT permet ainsi, depuis début 2015, de suivre dans l'observatoire une liste de 16 tensioactifs et biocides de différentes classes et familles, à la fois dans les eaux usées urbaines et hospitalières.

Les indicateurs biologiques

De nouveaux indicateurs biologiques vont être développés et testés sur l'observatoire :

- des bio-essais plus sensibles (ex : essai daphnies multigénérations) ou apportant des informations complémentaires (ex : essai de perturbation de l'activité androgène) vont être ajoutés à la batterie actuelle ;
- à moyen terme, les scientifiques du projet souhaitent mettre en place un suivi biologique dynamique des effluents (biocapteurs / automates) ;
- sera également poursuivie dans le cadre de SIPIBEL-RILACT, la recherche de germes ou gènes spécifiques pouvant servir d'indicateurs, qui pourront ensuite être testés dans l'observatoire.

2-4 Des collaborations à poursuivre

Les collaborations entre les membres de SIPIBEL et les partenaires français et suisses du projet IRMISE se poursuivront au cours des prochaines années :

- des échanges d'échantillons pourront être effectués afin de tester de nouveaux indicateurs sur des typologies de sites de prélèvement variées (effluents, eau de surface, eaux souterraines) ;
- de nouvelles campagnes de mesures pourront être menées en coordination afin de maintenir un suivi du milieu à l'échelle du bassin versant et/ou étudier les phénomènes de transfert des micropolluants entre l'Arve et la nappe du Genevois.

Il est également prévu de lancer des collaborations avec les partenaires de certains projets de l'appel à projets national « Micropolluants » afin d'une part, de discuter des listes de paramètres suivis et d'autre part, d'échanger ponctuellement des échantillons pour mesurer des paramètres communs et/ou réaliser des screening (ex : analyser une large liste de médicaments et détergents sur une ou deux campagnes).

3-Quelles perspectives en termes d'études et recherches ?

Les études et recherches en appui sur le site pilote de Bellecombe se poursuivent sur les différents axes, comme présenté dans le tableau XXIII.

Tableau XXIII Études et recherches en cours sur le site pilote de Bellecombe.

AXE			
1	CONNAISSANCE ET MODELISATION DES FLUX		
	-Thèse Modélisation flux de médicaments (IRMISE) -RILACT : développement analytique métabolites médicaments -RILACT : rejets et dégradation des résidus de médicaments	INSA – Paris Sud ISA INSA	2012 -> 2016 2014 -> 2017 2015 -> 2017
2	TRAITEMENT		
	-Projet Triumph et pilotes de traitement dont 1 thèse bioessais	Suez – ISA - ENTPE	2012 -> 2016
3	RISQUES ENVIRONNEMENTAUX ET SANITAIRES		
	-Projet Persist'Env sur la persistance de médicaments/pathogènes -RILACT : évolution des effets biologiques en réseau	Poitiers-INRA-Vetagro P.Sud–ENTPE–Limoges	2012 -> 2016 2015 -> 2018
4	REDUCTION A LA SOURCE / CHANGEMENT DE PRATIQUES		
	-RILACT : étude des pratiques hospitalières -Thèse RILACT : anthropologie / changement de pratiques -Etude SIPIBEL-MediATeS : animation territoriale / sensibilisation médicaments	CHAL – ENTPE EHESP – EVS C.Tillon - Graie	2015 -> 2016 2014 -> 2017 2015 -> 2017

Le projet SIPIBEL-RILACT

Retenu dans le cadre de l'appel à projets national « Micropolluants » (ONEMA, Agences de l'Eau, Ministère de l'Environnement), le projet SIPIBEL-RILACT a permis de lancer dès fin 2014 de nouvelles actions sur :

- **le développement de méthodes d'analyses** des métabolites et produits de dégradation des médicaments : qui représente un challenge du fait de la très grande sensibilité requise et en raison de la difficulté d'identification des produits de transformation ;
- **la détection et la quantification des phénomènes de dégradation et transformation** des résidus de médicaments, détergents et biocides lors de leurs transferts dans les réseaux (en conditions aérobies dans le cas général, prise en compte des conditions anaérobies en cas de conduites de refoulement et de stockage prolongé dans les bâches de pompage, etc.) et intégrer ces transformations dans **la modélisation ;**
- **l'évolution des effets biologiques en réseau :** évaluation de la dynamique de la toxicité, de l'écotoxicité et de l'antibiorésistance des effluents au cours de leur transport dans les réseaux d'assainissement ;
- **la réduction à la source et les changements de pratiques :** par une étude des pratiques hospitalières au sein du CHAL et un volet de recherche en sociologie et anthropologie.

Autres actions

Ce dernier volet « réduction à la source et changement de pratiques », régulièrement mis en avant dans les politiques publiques, sera également développé à travers une nouvelle étude intitulée **SIPIBEL-MediATeS**, dont l'objectif est de lancer une démarche expérimentale d'animation territoriale et de sensibilisation à la problématique des médicaments dans l'eau sur le territoire et avec les partenaires français et suisses d'IRMISE. Ce projet vise à maintenir la dynamique locale autour de cette problématique, analyser l'impact de nouvelles pratiques et proposer une démarche de sensibilisation des professionnels de santé et du grand public autour des médicaments dans l'eau.

D'autres actions sont également en projets, concernant l'étude des chroniques historiques de pollution (en médicaments et détergents notamment) de la rivière Arve via des carottages sédimentaires (étude de faisabilité en cours) ou encore la recherche de traceurs de l'activité hospitalière par l'analyse des cassettes de gènes codant pour des résistances spécifiques.

Au-delà de ces actions, la finalité de SIPIBEL restera de valoriser et partager les connaissances acquises, afin de contribuer à répondre à deux problématiques opérationnelles actuelles :

- élaborer des stratégies efficaces de caractérisation, suivi et modélisation, qui évitent de multiplier les analyses et qui pourraient être déployées techniquement et réglementairement sur l'ensemble du territoire national ;
- élaborer et tester des stratégies économiquement et socialement possibles et efficaces, utilisant l'ensemble des leviers d'action, pour limiter les rejets de médicaments, détergents et biocides dans l'eau et/ou les risques associés.

ANNEXES

SOMMAIRE DES ANNEXES

Annexe 1 – Synthèse de la conférence « Eau et Santé » organisée par le GRAIE et l'ASTEE 144
Annexe 2 – Protocole de nettoyage du matériel utilisé pour les campagnes de prélèvement de l'Observatoire 145
Annexe 3 – Protocole des blancs de prélèvement 147
Annexe 4 – Publications et communications sur SIPIBEL 148
Annexe 5 – Références bibliographiques du rapport 158
Table des matières 164
Liste des figures 168
Liste des tableaux 172

ANNEXE 1 – Synthèse de la conférence « Eau et Santé » organisée par le GRAIE et l'ASTEE

Les médicaments dans le cycle urbain de l'eau : état des connaissances et stratégies de réduction

Le sujet des médicaments dans l'eau est largement médiatisé et fait souvent l'objet de messages alarmistes. A l'occasion de la fin du projet interreg franco-suisse « Irmise Arve aval » et du lancement du projet RILACT, le Graie et l'Astee ont organisé deux jours de conférences autour de cette question des médicaments dans l'eau, en particulier dans les effluents hospitaliers et urbains.

Les points abordés ont été les suivants :

- quels sont les résultats des programmes Sipibel et Irmise, en termes de suivi, d'évaluation des dangers et des risques sanitaires et écologiques, de réponses apportées par la modélisation et d'efficacité des traitements en station d'épuration ?
- quelle est la perception de cette problématique et des réponses à apporter par les professionnels de l'eau, de la santé et par les habitants du territoire ?
- quels sont les programmes de recherche en cours au niveau européen et quelles sont les expériences et réflexions pour une réduction à la source des rejets de médicaments dans l'eau ?

Il est indiscutable que l'on trouve des médicaments dans l'eau, mais aussi bien d'autres micropolluants. Il est indiscutable que nous sommes exposés aux micropolluants via l'eau, mais aussi par bien d'autres vecteurs (l'air, l'alimentation). Mais, au regard des concentrations rencontrées dans nos eaux superficielles et souterraines, nous n'avons pas à ce jour la certitude d'un risque sanitaire avéré lié à la présence des médicaments dans l'eau. Nous n'avons pas plus de preuves du risque environnemental dans les situations rencontrées actuellement sur nos territoires.

Devons-nous attendre avant d'agir ?

Non, car on en sait déjà trop pour ne rien faire ! On constate que de nombreuses avancées en termes de préservation de la qualité de notre environnement sont nées de solutions techniques à des coûts acceptables par la société. Si la réponse technique existe, nous devons l'appliquer. La réduction à la source, l'optimisation du traitement en stations d'épuration, la réduction des rejets urbains de temps de pluie et l'amélioration des connaissances sont autant de stratégies à développer de manière complémentaire, car chacune d'entre elle ne résout pas tout. Mais nous devons agir avec des moyens limités, donc établir des priorités.

Enfin, la question des perceptions des risques et des enjeux et du partage des solutions proposées avec le grand public est un autre point très important. Il est essentiel de rétablir la confiance dans l'information qui est diffusée et ainsi contrer les messages alarmistes et sensationnels ; a contrario, nous nous devons de rester vigilants quant aux risques possibles. Il est indispensable de mobiliser chacun dans la réduction des apports, sans culpabiliser qui que ce soit ; simplement agir collectivement et en conscience.

ANNEXE 2 – Protocole de nettoyage du matériel utilisé pour les campagnes de prélèvement de l'Observatoire

Ce protocole de nettoyage est appliqué entre chaque campagne de prélèvement.

A. MATÉRIEL ET PRODUITS NÉCESSAIRES

Produits nécessaires

-GIGAPUR 13 (détergent alcalin) *en bidons de 5L :* **faire une solution diluée 2,5 % avec de l'eau déminéralisée**
-GIGAPUR 14 (acide acétique dilué) *en bidons de 5L*
-Acétone
-Eau déminéralisée

Petit matériel nécessaire

-Pissettes en plastique dédiées à chacun des produits
-Brosse pour laver l'extérieur des tuyaux d'aspiration et de siphonage
-Goupillon pour laver l'intérieur des tuyaux des préleveurs et l'intérieur des flacons
-Séchoir pour faire sécher les flacons des préleveurs portatifs
-Gants,
-papier aluminium/film étirable (pour mettre sur la verrerie propre)
-scotch et ciseaux

Gros matériel nécessaire

-Hotte aspirante

B. NETTOYAGE DES FLACONS DE PRELEVEMENT/BOCAUX/VERRERIE

Ce nettoyage concerne :

=> Bombonnes verre 25 L à col large (utilisées pour recueillir les échantillons)
=> Bombonnes verre 5 L : utilisées pour le rinçage des préleveurs
=> Flacons des préleveurs portatifs
=> Bocaux en verre utilisés pour l'Arve
=> Éprouvettes graduées (1L et 0,5L) + entonnoir en verre

Pour les différents rinçages (sauf eau du robinet) des bombonnes, verser directement du produit dans l'élément à nettoyer à l'aide d'un bidon. Bien remuer ensuite et faire tourner la bombonne (environ 1 min) pour que le produit entre en contact avec toute la paroi.

1. Lavage grossier avec de l'eau du robinet- **minimum x 2 (jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de particules)**
2. Rinçage avec le produit GIGAPUR 13 dilué 2,5 %
3. Rinçage avec le produit GIGAPUR 14
4. Rincer **abondamment** avec de l'eau déminéralisée (*pour les bombonnes, plusieurs litres à chaque rinçage)* - **x2**
5. Rinçage à l'acétone : **utiliser de faibles quantités et verser dans la poubelle dédiée (éviter tout contact avec éléments plastiques – notamment bouchons)**
6. Rincer **abondamment** avec de l'eau déminéralisée (*pour les bombonnes, plusieurs litres à chaque rinçage)* – **x3 (1er rinçage sans bouchon plastique)**
   Cette étape de rinçage est capitale car si elle est mal réalisée, des traces d'acétone peuvent persister et induire des valeurs très élevées de DCO et DBO
7. Faire sécher ensuite sous hotte : *pour les bombonnes, les faire tout d'abord sécher à l'envers puis à l'endroit*

C. NETTOYAGE DU SYSTEME D'HOMOGÉNÉISATION/DISTRIBUTION

Pâle d'agitation, hélice ainsi que les tuyaux téflon de la pompe de distribution.

1. Nettoyer grossièrement à l'eau du robinet : avec une brosse et/ou un goupillon si nécessaire
2. Rinçage à la pissette avec du GIGAPUR 13 *(temps de contact de 2 min)*
3. Rinçage à la pissette avec du GIGAPUR 14 *(temps de contact de 2 min)*
4. Rincer **abondamment (plusieurs fois)** avec la pissette d'eau déminéralisée
5. Disposer l'ensemble des tuyaux, hélices et pâles sous la hotte

Pompe de distribution :
Prélever 2L d'eau déminéralisée

D. NETTOYAGE DES PRELEVEURS

Ce nettoyage concerne les différents éléments des préleveurs

Il prévoit 3 rinçages pour chaque préleveur :
-1 L d'eau du robinet
-1 L de GIGAPUR 14
-2 L d'eau déminéralisée

1. Apporter à côté du préleveur le matériel suivant : 1 pissette de GIGAPUR 13, 1 pissette de GIGAPUR 14, 1 pissette d'eau déminéralisée, 1 bombonne 5L rincée à l'eau du robinet (ou un bidon rincé) contenant au moins 3 L d'eau du robinet, du scotch, des ciseaux, une brosse, un goupillon, une bombonne en verre pour réceptionner le liquide de rinçage
2. Retirer le tuyau d'aspiration, enlever le tuyau de protection puis nettoyer l'extérieur du tuyau d'aspiration du préleveur *(la partie du tuyau trempant dans l'échantillon)* :
   -avec de l'eau et une brosse
   -puis rinçage avec le GIGAPUR 13 dilué 2,5 %
   -puis rinçage avec le GIGAPUR 14
   -et enfin rincer **abondamment** avec de l'eau déminéralisée
   Si nécessaire nettoyer aussi l'intérieur du tuyau avec un goupillon
3. Mettre le tuyau d'aspiration dans la bombonne/bidon et le scotcher pour qu'il ne bouge pas pendant le prélèvement : **faire attention à ce que le tuyau d'aspiration ne soit pas plié (il faut une grande courbure)**
4. Lancer le programme de rinçage (10 prélèvements successifs de 100 mL)
   Faire ensuite de même pour les deux autres rinçages (GIGAPUR 14 avec un ancien bidon GIGAPUR 14 ou une bombonne rincée selon le protocole de la page précédente ; eau déminéralisée avec une bombonne rincée)
5. Remettre le tuyau de protection sur le tuyau d'aspiration et redisposer ce dernier sur le point de prélèvement en prenant garde de ne pas le plier.
6. Ouvrir l'armoire du préleveur, puis retirer **délicatement** le bol en enlevant la petite pince en fer- Rincer ensuite le bol selon le même protocole que la pâle d'agitation en utilisant si besoin un goupillon et **en insistant bien sur le rinçage à l'eau déminéralisée à la fin.**
   Ne pas mettre d'acétone dans les petits tuyaux du bol.
7. Remettre **délicatement** le bol de prélèvement et refermer l'armoire du préleveur

ANNEXE 3 – Protocole des blancs de prélèvement

Des tests de « blancs de prélèvement » (mesure avant et après la chaîne d'échantillonnage) sont régulièrement effectués sur chacun des préleveurs afin de contrôler la fiabilité du protocole et valider/corriger les données récoltées :

- Des blancs de prélèvement avec de l'eau déminéralisée : permettant d'évaluer les phénomènes de contamination de l'échantillon
- Des blancs de prélèvement avec de l'échantillon réel : permettant d'évaluer les phénomènes d'adsorption des composés sur le matériel utilisé

Voici le protocole appliqué :

Matériel nécessaire

-Chaine de prélèvement utilisée dans les campagnes SIPIBEL (préleveur, pompinette, flacons…)
-Bombonne en verre 25 L
-Système d'homogénéisation (pâle d'agitation…)
-Eau déminéralisée

Nettoyage préalable du matériel

voir annexe 2

Conditions pour réaliser le blanc de prélèvement

-Pour le blanc « Eau déminéralisée » : aucune condition particulière nécessaire
-Pour le blanc « Echantillon » :
-peu importe le jour de la semaine où le prélèvement est réalisé
-peu importe les conditions météorologiques du moment que l'eau usée/l'eau de l'Arve est représentative des conditions habituelles

Protocole de réalisation des blancs

1. **Blanc « Eau déminéralisée » :** *mise en évidence de la désorption/contamination de l'échantillon*
   - Verser 20 L d'eau déminéralisée dans une bombonne en verre
   - Réaliser **un prélèvement 24h** avec le préleveur testé selon le protocole habituel (en maintenant une agitation continue de l'échantillon dans la bombonne)
   - A partir de ce prélèvement 24h, reconstituer un échantillon moyen et transvaser dans les flacons à destination des laboratoires, selon le protocole habituel
   - Transvaser l'eau déminéralisée non passée par la chaine de prélèvement dans les flacons à destination des laboratoires, en prenant garde aux contaminations
2. **Blanc « Echantillon » :** *mise en évidence des phénomènes d'adsorption des molécules*
   - Réaliser un prélèvement ponctuel (sans préleveur) de 24 L d'eau usée à tester et le verser dans une bombonne en verre
   - Réaliser **un prélèvement 3h** avec le préleveur testé selon le protocole habituel en maintenant une agitation continue de l'échantillon dans la bombonne
   - A partir de ce prélèvement 3h, reconstituer un échantillon moyen et transvaser dans les flacons à destination des laboratoires, selon le protocole habituel
   - Transvaser l'eau usée non passée par la chaine de prélèvement dans les flacons à destination des laboratoires

Paramètres à analyser

-**certains paramètres classiques** : DCO (marqueur de suivi), MES, pH, COT et phosphates ($PO4^{3-}$)

-**l'ensemble des micropolluants suivis** dans le cadre de l'observatoire SIPIBEL : métaux, médicaments, détergents, alkylphénols, AOX et COV)

ANNEXE 4 – Publications et communications sur SIPIBEL

Rapports

Téléchargeables sur ***www.sipibel.org***

- **SIPIBEL : Rapport 2011-2015**
  Synthèse des résultats de quatre années de suivi, d'études et de recherches, sur le site pilote de Bellecombe – 174 p., octobre 2016.
- **SIPIBEL : Synthèse des résultats 2011-2015**
  Quatre années de suivi, d'études et de recherches, sur le site pilote de Bellecombe – 20 p., octobre 2016.
- **Mise en évidence de solutions pour limiter les rejets polluants d'un établissement de soins**
  Étude menée au Centre Hospitalier Alpes Léman (CHAL) par Marine Laquaz (CHAL) sous la direction de Pascal Di Majo (CHAL) et Yves Perrodin (ENTPE) – 103 p., octobre 2015
- **Projet européen NO PILLS in water (2012 – juin 2015)**
  Rapport final, 134 p.
  Résumé en français, 24 p.
- **Étude stratégique IRMISE – 2015**
  Problématique et stratégie transfrontalières de maîtrise des flux de micropolluants liés à la santé et préservation de la ressource en eau sur le bassin versant de l'Arve aval
  Étude menée par le groupement Claire Tillon consulting sous maîtrise d'ouvrage du SM3A, en partenariat avec l'Etat de Genève
  Phase 1 : Connaissance du territoire et formalisation des enjeux - 82p., avril 2014
  Phase 2 : Enquête de perceptions - 56p., juillet 2014
  Phase 3 : Scénarios de gestion de l'eau - 77p., mars 2015
  Synthèse de l'étude - mars 2015 : 6p., mars 2015
- **Présentation et premiers résultats de SIPIBEL et IRMISE - 2014**
  Dossier mis à jour en juin 2014, 30p.
- **Étude bibliographique « Pratiques de consommation et de gestion des médicaments » – 2014**
  Eléments bibliographiques en lien avec la thématique des résidus de médicaments dans les eaux
  Étude menée par Agnès Bussy, Institut des Sciences Analytiques (ISA)- 43p., avril 2014
- **Modélisation du flux de micropolluants provenant des rejets de l'épuration des eaux usées - bassins du Léman et du Rhône aval – 2013**
  Étude menée par Envilab et le Centre Ecotox de Lausanne, sur mandat de la Commission Internationale pour la Protection des Eaux du Léman (CIPEL) – 76 p., décembre 2013
- **Rapport de l'état zéro du site pilote de Bellecombe (campagnes 2011-2012)**
  36 p., septembre 2013 (rapport non public)
- **Rejets de substances médicamenteuses et détergents/désinfectants sur le bassin de collecte de la Station d'épuration de Bellecombe : données de consommations, étude des perceptions et pratiques – 2013**
  Étude menée par Claire Tillon pour SIPIBEL – 24 p., juillet 2013 (rapport non public)
- **Étude de la qualité microbiologique de l'air de la station d'épuration de Bellecombe – 2013**
  Étude réalisée par Sylvie Parat, cabinet Air & Bio - 31p., juin 2013 (rapport non public)
- **Rejets de substances médicamenteuses et détergents/désinfectants sur le bassin de collecte de la Station d'épuration de Bellecombe : données de consommations, étude des perceptions et pratiques – 2013**
  Étude menée par Claire Tillon pour SIPIBEL – 24 p., juillet 2013 (rapport non public)

Thèses (achevées et en cours)

Thèses achevées

*Manuscrits ou résumés téléchargeables sur **www.sipibel.org***

BERLIOZ-BARBIER Alexandra (2015) :
« Développement de méthodologies innovantes basées sur la nano chromatographie pour l'étude de l'accumulation et de la transformation de polluants émergents chez des invertébrés aquatiques d'eau douce ». Thèse menée au sein de l'équipe TRACES de l'Institut des Sciences Analytiques (ISA) de Lyon, 420 p., 2015.

LACHASSAGNE Delphine (2014) :
« Devenir de micropolluants présents dans les boues d'épuration, du traitement à l'épandage agricole : application aux micropolluants métalliques (Cd, Cu) et organiques (médicaments) issus du traitement biologique conventionnel d'effluents urbains ou hospitaliers ». Thèse menée au sein du Groupement de Recherche Eau Sol Environnement (GRESE) de l'Université de Limoges avec le partenariat de Suez et de l'ADEME, 309 p., 2014.

ORIAS Frédéric (2015) :
« Contribution à l'évaluation des risques écotoxicologiques des effluents hospitaliers : bioconcentration, bioaccumulation et bioamplification des résidus pharmaceutiques ». Thèse menée au sein de l'équipe IPE (Impacts des Polluants sur les Ecosystèmes) du laboratoire LEHNA (Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés) de l'ENTPE de Lyon, 186 p., 2015.

WIGH Adriana (2016) :
« Evaluation de l'écotoxicité liée à des procédés de traitement innovants des eaux usées ». Thèse menée au sein de l'équipe IPE (Impacts des Polluants sur les Ecosystèmes) du laboratoire LEHNA (Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés) de l'ENTPE de Lyon.

Thèse en cours en octobre 2016 :

POUZOL Tanguy (2016) :
« Métrologie et modélisation de flux polluants en réseau d'assainissement urbain et hospitalier – indicateurs polluants généraux, détergents et médicaments ». Thèse menée depuis 2012 au sein du laboratoire DEEP de l'INSA Lyon.

Articles dans des revues internationales à comité de lecture

*Résumés accessibles sur **www.sipibel.org***

Axe 1 – Connaissance et modélisation des flux de micropolluants

Aucune publication à ce jour (plusieurs publications en cours de relecture)

Axe 2 – Procédés de traitement

Lachassagne D., Casellas M., Graveleau L., Gonzalez-ospina A., Dagot C. (2013).
Trace metallic element behaviour in regards to sludge characteristics prior to land application. Journal of Residuals Science & Technology, 10, 2, 109-115, 2013.

Wigh A., Devaux A., Brossellin V., Gonzalez-Ospina A., Domenjoud B., Aït-Aïssa S., Creusot N., Gosset A., Bazin C., Bony S. (2016)
Proposal to optimize ecotoxicological evaluation of wastewater treated by conventional biological and ozonation processes.
Environ Sci Pollut Res Int., 23,4, 3008-3017, 2016

Axe 3 – Risques écotoxicologiques, écologiques et sanitaires

Berlioz-Barbier A., Baudot R., Wiest L., Gust M., Garric J., Cren-olive C., Bulete A. (2015).
MicroQuEChERS–nanoliquid chromatography–nanospray–tandem mass spectrometry for the detection and quantification of trace pharmaceuticals in benthic invertebrates.
Alanta, 132, 796-802, 2015.

Berlioz-barbier A., Bulete A., Fabure J., Garric J., Cren-olive C., Vulliet E. (2014).
Multi-residue analysis of emerging pollutants in benthic invertebrates by modified micro-quick-easy-cheap-efficient-rugged-safe extraction and nanoliquid chromatography–nanospray–tandem mass spectrometry analysis.
Journal of Chromatography A, 1367, 16-32, 2014.

Berlioz-barbier A., Vauchez A., Wiest L., Baudot R., Vulliet E., Cren-olive C. (2013).
Multi-residue analysis of emerging pollutants in sediment using QuEChERS-based extraction followed by LC-MS/MS analysis.
Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013.

Chonova T., Keck F., Labanowski J., Montuelle J., Rimet F., Bouchez A. (2016).
Separate treatment of hospital and urban wastewaters: a real scale comparison of effluents and their effect on microbial communities.
STOTEN, 542, 965-975, 2016

Orias F., Bony S., Devaux A., Durrieu C., Aubrat M., Hombert T., Wigh A. and Perrodin Y. (2015). Tamoxifen ecotoxicity and resulting risks for aquatic ecosystems;
Chemosphere, 128,79-84

Orias F., Simon L. and Perrodin Y. (2015).
Experimental assessment of bioconcentration of ^{15}N-tamoxifène in *Pseudokirchneriella subcapitata*.
Chemosphere, 122, 251-256.

Orias F. et Perrodin Y. (2014).
Pharmaceuticals in hospital wastewater: their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluent.
Chemosphere, 115, 33-39.

Orias F. et Perrodin Y. (2013).
Characterisation of the ecotoxicity of hospital effluents: A review.
Science of the Total Environment, 454-455, 250-276.

Perrodin Y., Bazin C., Bony S., Devaux A., Bertrand-krajewski J.L., Cren C., Roch A., Brelot E. (2013). A priori assessment of ecotoxicological risks linked to building a hospital.
Chemosphere, 90, 1037-1046.

Perrodin Y., Bazin C., Orias F., Wigh A., Bastide T., Berlioz-Barbier A., Vulliet E., Wiest L. (2016). A *posteriori* assessment of ecotoxicological risks linked to building a hospital.
Chemosphere, 90, 1037-1046.

Axe 4 – Sociologie et changement de pratiques

Aucune publication à ce jour.

Articles dans des revues nationales

Dossier « Médicaments dans l'eau », revue TSM :

Lachassagne D., Casellas M., Gonzalez-Ospina A., Dagot C. (2016).
Impact du chaulage et de la digestion anaérobie sur la spéciation de 11 composés pharmaceutiques dans les boues urbaines et hospitalières.
TSM, juin 2016, 6-111, 31-43

Labanowski J., Laurent E., Chonova T., Bouchez A., Cournoyer B., Marjolet L., Marti R., Mondamert L. (2016).
Rejets d'effluents hospitaliers : évaluation de la persistance environnementale des médicaments et des bactéries pathogènes.
TSM, juin 2016, 6-111, 22-30

Gonzalez-Ospina A., Domenjoud B., Vulliet E., Kiss A., Bergé A., Bony S., Devaux A., Wigh A., Aït-Aïssa S., Baig S. (2016).
Elimination des composés pharmaceutiques en station d'épuration par traitements biologiques et ozonation tertiaire.
TSM, juin 2016, 6-111, 45-58

Tillon C., Decelle-Lamothe S., Poitau M., Mang Joubert L., Piot X. (2016).
Etude stratégique du projet Irmise : quels leviers et quels scénarios pour la réduction des rejets de résidus de médicaments dans l'eau ?
TSM, juin 2016, 6-111, 60-79

Wiest L., Baudot R., Vulliet E. (2016).
Impact des rejets de médicaments sur le milieu récepteur : résultats des projets Sipibel et Irmise.
TSM, juin 2016, 6-111, 12-21

Dossier « Médicaments en environnement », revue Techniques Hospitalières :

Brelot E., Lecomte V. (2015).
Effluents hospitaliers, stations d'épuration et risques associés : résultats des projets Sipibel et Irmise.
Revue Techniques hospitalières, novembre-décembre 2015, 754, 31-35

Brelot E., Lecomte V. (2015).
Réduire les rejets de médicaments dans l'eau.
Revue Techniques hospitalières, novembre-décembre 2015, 754, 26-30

Taillefer C. (2015).
Usages du médicament en France : le pharmacien hospitalier et les synergies entre santé publique et environnement.
Revue Techniques hospitalières, novembre-décembre 2015, 754, 36-40

Autres articles :

Brelot E., Lecomte V., Patois L. (2014).
Effluents hospitaliers et stations d'épuration urbaines : premier bilan sur le site pilote de Bellecombe.
Revue Techniques hospitalières, janvier-février 2014, 743, 31-39

Brelot E., Lecomte V., Patois L. (2013).
Le site pilote de Bellecombe (SIPIBEL) sur les effluents hospitaliers et stations d'épuration urbaines : premiers résultats du suivi.
TSM, décembre 2013, 12-108, 85-101

Labanowski J., Laurent É., Mondamert L. (2013).
La persistance environnementale de médicaments, Effluents hospitaliers et persistance environnementale de médicaments et de bactéries pathogènes.
Les cahiers de la recherche (ANSES) n°3 : Les résistances, oct. 2013

Orias F. et Perrodin Y. (2014).
Les résidus pharmaceutiques des effluents hospitaliers : quels dangers pour les écosystèmes ?
L'actualité chimique, 381, 17-23.

Communications dans des conférences internationales

Présentation du projet

Conférence Eau et Santé, « Les médicaments dans le cycle urbain de l'eau : état des connaissances et stratégies de réduction », 26-27 mars 2015, Genève-Annemasse.
Conférence organisée par le GRAIE et l'ASTEE
Conférence de restitution des résultats de Sipibel et Irmise : 10 communications et 8 posters issus des 2 projets.

Séminaire sur les rejets des établissements de soins et la qualité des milieux aquatiques, 14 novembre 2013, Commission Internationale pour la Protection des Eaux du Léman (CIPEL), Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse.
Le site pilote SIPIBEL et la gestion des rejets aqueux d'un établissement de soins.
Perrodin Y. et Di Majo. P. (conférenciers invités)

Axe 1 – Connaissance et modélisation des flux de micropolluants

10th International Urban Drainage Modelling (UDM), 21-23 September 2015, Château Mont-Sainte Anne, Canada.
Stochastic modelling of dry weather flow in an extensive sewer network using individual behaviour.
Pouzol T. (conférencier), Lévi Y., Bertrand-Krajewski J.-L.

10th International Urban Drainage Modelling (UDM), 21-23 September 2015, Château Mont-Sainte Anne, Canada.
Stochastic model of the drug path from central pharmacy deliveries to the wastewater in a hospital.
Pouzol T. (conférencier), Kopf C., Lévi Y., Bertrand-Krajewski J.-L.

European Junior Scientist Workshop (EJSW), 18-23 May 2015, Chichilianne, France.
Measurement and modelling of pharmaceuticals loads in urban and hospital sewer system.
Pouzol T. (conférencier), Lévi Y., Bertrand-Krajewski J.-L.

Axe 2 – Procédés de traitement

World Water Congress & Exhibition, September 2014, Lisbon, Portugal.
Impact of urban sludge stabilization steps on the phase distribution of 11 pharmaceutical compounds.
Lachassagne D. (conférencière), Casellas M., Gonzalez-Ospina A., Dagot C.

4th European Conference on Sludge Management, 26-27 May 2014, Izmir, Turkey.
Fate of pharmaceutical compounds in sludge from hospital wastewater treatment plant.
Lachassagne D. (conférencière), Casellas M., Gonzalez-Ospina A., Dagot C.

European Conference on Sludge Management, 6-7 September 2012, León, Spain.
Trace Metallic Element Behaviour in Regards to Sludge Characteristics Prior to Land Application.
Lachassagne D. (conférencière), Casellas M., Graveleau L., Gonzalez-Ospina A., Dagot C.

Axe 3 – Risques écotoxicologiques, écologiques et sanitaires

Climate change: scientific fundamentals and political decisions meeting, 25 November 2015, Innsbruck, Austria.
Fluctuations in periphyton community composition and biomass due to pharmaceutical compounds and environmental factors.
Chonova T. (conférencière), Keck F., Montuelle B., Rimet F., Bouchez F. (for obtaining: Prix de la France 2015, University of Innsbruck - Best research work (level Master Thesis), implemented within a French-Austrian cooperation program)

Symposium for European Freshwater Sciences 2015 « Freshwater sciences coming home », 5-10 July 2015, Geneva, Switzerland.
Fluctuations in periphyton community composition and biomass due to pharmaceutical compounds and environmental factors.
Chonova T. (conférencière), Keck F., Labanowski J., Montuelle B., Rimet F., Bouchez A.

SETAC Europe, 25th Annual Meeting, 3-7 May 2015, Barcelona, Spain.
Bioconcentration of tamoxifène in aquatic organisms (micro-algae, daphnids and fishes).
Orias F. (poster), Simon L., Perrodin Y.

Freshblood for Freshwater meeting 2015 (FBFW), University of Innsbruck, Center for Limnology in Mondsee, 14-17 April 2015, Innsbruck, Austria.
Fluctuations in periphyton community composition and biomass due to pharmaceutical compounds and environmental factors.
Chonova T. (poster), Keck F., Montuelle B., Rimet F., Bouchez A.

Séminaire : la chimie analytique au service de la santé, 18 juin 2014, Hôpitaux Universitaires de Genève, Suisse
Développement de méthodologies innovantes basées sur la nanochromatographie pour l'étude de la bioaccumulation de polluants émergents chez des organismes aquatiques d'eau douce.
Berlioz-Barbier A. (conférencière invitée)

38th International Symposium on environmental Chemistry, 17 June 2014, Lausanne, Switzerland.
Multi-residue analysis of emerging pollutants in benthic invertebrates by micro-QuEChERS extraction and NanoLC-MS/MS analysis: a new stategy to evaluate bioaccumulation.
Berlioz-Barbier A. (conférencière)

12th European Meeting on Environmental Chemistry, 7-10 December 2011, Clermont-Ferrand, France.
Impact of urban pollution on water and biofilm compositions along the Vienne river watershed.
Laurent É. (conférencier), Mondamert L., Frère J., Labanowski J.

Communications dans des conférences nationales

Présentation du projet

Journée technique Micropolluants organisée par AXELERA, 14 décembre 2015, Lyon.
Caractérisation des effluents hospitaliers et mise en perspective avec les effluents urbains : résultats du projet SIPIBEL
Wiest L. (conférencière)

Journée Eau et Connaissance de l'Agence de l'Eau RMC : contamination chimique des milieux aquatiques, 27 novembre 2015, Lyon.
Les enjeux et les solutions pour limiter les rejets liés aux activités de soin : les premiers résultats du Site Pilote de Bellecombe – SIPIBEL
Brelot E. (conférencière invitée)

Journée interrégionale de l'Ascomade sur « les micropolluants dans l'eau », 23 juin 2015, Besançon.
Action sur les résidus de médicaments : retour sur le projet SIPIBEL.
Roch A. et Lecomte V. (conférenciers invités)

Colloque EFFERVESCENCE « Environnement et résidus de médicaments. Enjeux présents et futurs : quelles réponses ? », 20-21 novembre 2014, Montpellier.
Gestion des médicaments dans la parenthèse urbaine du cycle de l'eau - SIPIBEL - le site pilote de Bellecombe.
Brelot E. (conférencière invitée)

5e conférence régionale du Graie et de la FNCCR sur la gestion des rejets d'eaux usées non domestiques au réseau d'assainissement, 14 novembre 2013, Lyon-Villeurbanne.
Le Site Pilote de Bellecombe -SIPIBEL- sur les effluents hospitaliers et stations d'épuration urbaines : pour le suivi des résidus de médicaments et de leurs impacts.
Brelot E. (conférencière invitée).

Journée de l'Office international de l'eau « Effluents d'activités de soins : gestion, raccordement aux systèmes d'assainissement urbains et traitement », 24 Octobre 2013, Paris.
« Le site pilote de Bellecombe sur les effluents hospitaliers et stations d'épuration urbaines ».
Brelot E. (conférencière invitée)

Axe 1 – Connaissance et modélisation des flux de micropolluants

Journées Doctorales en Hydrologie Urbaine, 1-3 juillet 2014, Lyon.
Métrologie et modélisation des flux de médicaments en réseaux d'assainissement urbain et hospitalier.
Pouzol T. (poster), Lévi Y., Castebrunet H., Bertrand-Krajewski J.-L.

Axe 2 – Procédés de traitement

12e Journées d'Étude des Sols, 30 juin au 4 juillet 2014, Chambéry.
Devenir de résidus de médicaments dans les sols lors de l'épandage de boues d'épuration ayant subi différents traitements.
Lachassagne D., Soubrand M. (conférencier), Casellas M., Gonzalez-Ospina A., Dagot C.

9e congrès international du GRUTTEE sur L'EAU, 29-31 octobre 2012, Aix-en-Provence.
Comportement d'éléments trace métalliques en relation avec les caractéristiques des boues avant épandage.
Lachassagne D., Casellas M. (conférencière), Graveleau L., Gonzalez-Ospina A., Dagot C.

Axe 3 – Risques écotoxicologiques, écologiques et sanitaires

Congrès SEP 2015, 31 mars 2015, Paris
Utilisation de la nanochromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse pour l'évaluation de la contamination de trois invertébrés benthiques exposés aux effluents de station d'épuration. Berlioz-Barbier A. (conférencière).

Colloque d'Ecophysiologie Animale (CEPA), 7 et 8 novembre 2013, Lyon.
Transferts trophiques des résidus pharmaceutiques issus des effluents hospitaliers : étude de la bioconcentration et de la biomagnification par marquage isotopique.
Simon L. (poster) et Perrodin Y.

Journées Informations Eaux, 25-27 Septembre 2012, Poitiers.
Détermination de la présence de médicaments dans des biofilms de rivière à l'échelle d'un bassin versant.
Laurent É. (conférencière), Mondamert L., Verzeni E., Deborde M., Frère J., Labanowski J.

ANNEXE 5 – Références bibliographiques du rapport

Al Aukidy, M., Verlicchi, P. and Voulvoulis, N. (2014) - A framework for the assessment of the environmental risk posed by pharmaceuticals originating from hospital effluents. Science of the Total Environment 493, 54-64.

Aquaref, Cemagref (2011) - Pratiques d'échantillonnage et de conditionnement en vue de la recherche de micropolluants prioritaires et émergents en assainissement collectif et individuel. Guide technique opérationnel, 85p.

ANSES (2014) - Analyse des ventes de médicaments en France en 2013, 36 p., juin 2014

ARPE PACA (2015) - Concentrations moyennes des effluents urbains entrant dans les stations d'épuration du bassin RMC pour l'année 2014 – Groupe de travail « Gestion des effluents non domestiques » de l'ARPE PACA

Bachor, R., Mielczarek, P., Rudowska, M., Silberring, J. and Szewczuk, Z. (2014) - Sensitive detection of charge derivatized peptides at the attomole level using nano-LC-ESI-MRM analysis. International Journal of Mass Spectrometry 362, 32-38.

Banzhaf, S., Krein, A. and Scheytt, T. (2013) - Using selected pharmaceutical compounds as indicators for surface water and groundwater interaction in the hyporheic zone of a low permeability riverbank. Hydrological Processes 27(20), 2892-2902.

Barnes, K.K., Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Zaugg, S.D., Meyer, M.T. and Barber, L.B. (2008) - A national reconnaissance of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States - I) Groundwater. Science of the Total Environment 402(2-3), 192-200.

Baumont S, Camard JP, Lefranc A et Franconi A. (2004) - Réutilisation des eaux usées épurées : risques sanitaires et faisabilité en Ile-de-France. Observatoire régional de santé d'Ile-de-France, Institut d'aménagement et d'urbanisme de la région Ile-de-France, France, 2004. 169pp.

Bécouze, C. (2010) - Caractérisation et estimation des flux de substances prioritaires dans les rejets urbains par temps de pluie sur deux bassins versants expérimentaux. Thèse au Laboratoire de Génie Civil et d'Ingénieurie Environnementale (LGCIE), 308 p.

Berlioz-Barbier, A., Bulete, A., Fabure, J., Garric, J., Cren-Olive, C. and Vulliet, E. (2014) - Multi-residue analysis of emerging pollutants in benthic invertebrates by modified micro-quick-easy-cheap-efficient-rugged-safe extraction and nanoliquid chromatography-nanospray-tandem mass spectrometry analysis. Journal of Chromatography A 1367, 16-32.

Berto J., Rochenbach M., Barreiros A., Corrêa S. Peluso-Silva and Radetski M. (2009) - Physico-chemical, microbiological and ecotoxicological evaluation of a septic tank/Fenton reaction combination for the treatment of hospital wastewaters. Ecotoxicology and Environmental Safety 72, 1076-1081.

Besse, J. P. and Garric, J. (2008) - Human pharmaceuticals in surface waters: Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. Toxicology letters 176(2), 104-123

Boillot, C., Bazin, C., Tissot-Guerraz, F., Droguet, J., Perraud, M., Cetre, J.C., Trepo, D. and Perrodin, Y. (2008) - Daily physicochemical, microbiological and ecotoxicological fluctuations of a hospital effluent according to technical and care activities. Science of the Total Environment 403(1-3), 113-129.

Botta, F. et Dulio, V. (2014) - Etude sur les contaminants émergents dans les eaux françaises : résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la Métropole et des DOM, rapport N°DRC-13-136939-12927A, 139 p.

Brackers De Hugo, A., Jean, J., Bony, S., Devaux, A. et Perrodin, Y. (2011) - Identification de médicaments bioaccumulables dans les effluents hospitaliers et étude de leur écotoxicité. Techniques Sciences Méthodes, 12, 61-69.

Camilleri, J., Morin, N., Miege, C., Coquery, M. and Cren-Olive, C. (2012) - Determination of the uptake and release rates of multifamilies of endocrine disruptor compounds on the polar C18 Chemcatcher. Three potential performance reference compounds to monitor polar pollutants in surface water by integrative sampling. Journal of Chromatography A 1237, 37-45.

Carlet, J. et LeCoz, P. (2015) - Tous ensemble sauvons les antibiotiques. Propositions du groupe de travail spécial pour la préservation des antibiotiques, Ministère des affaires sociales, de la santé et des droits des femmes (*social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_antibiotiques.pdf)*

Rapport CGEDD, CGAER (2015) - Les épandages sur terres agricoles des matières fertilisantes d'origine résiduaire – Mission prospective sur les modalités d'encadrement et de suivi réglementaire (*agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/cgaaer_14074_2015_rapport.pdf*)

Choubert, J.-M., Pomiès, M., Martin Ruel, S., Budzinski, H., Miège, C., Wisniewski, C. et Coquery, M. (2012) - Elimination des micropolluants par les stations d'épuration domestiques. Sciences Eaux et territoires 9, 6-13.

Clement, C.C., Aphkhazava, D., Nieves, E., Callaway, M., Olszewski, W., Rotzschke, O. and Santambrogio, L. (2013) - Protein expression profiles of human lymph and plasma mapped by 2D-DIGE and 1D SDS-PAGE coupled with nanoLC-ESI-MS/MS bottom-up proteomics. Journal of Proteomics 78, 172-187.

Coquery, M., Pomies, M., Martin-Ruel, S., Budzinski, H., Miège, C., Esperanza, M., Soulier, C. et Choubert, J.M. (2011) - Mesurer les micropolluants dans les eaux brutes et traitées - Protocoles et résultats pour l'analyse des concentrations et des flux. Techniques Sciences et Méthodes, 1 et 2, p 25-43.

Dembélé, A., Bécouze, C., Bertrand-Krajewski J.L., Cren-Olivé, C., Barillon, B. et Coquery, M. (2009) - Quantification des polluants prioritaires dans les rejets urbains de temps de pluie - Les premiers résultats du projet de recherche ESPRIT mené sur deux bassins versants. Techniques Sciences Méthodes, 4, 60-76.

Devaux, A., Pesonen, M. and Monod, G. (1997) - Alkaline comet assay in rainbow trout hepatocytes. Toxicology in Vitro 11(1-2), 71-73, 75-79

Coutu, S., Wyrsch, V., Wynn, H.K., Rossi, L. and Barry, D.A. (2013) - Temporal dynamics of antibiotics in wastewater treatment plant influent. Science of the Total Environment 458-460, 20-26.

Degrémont, C., Cachot J. (juin 2009) - La génotoxicité, Quels risques pour les milieux aquatiques. Fascicule Seine Aval, GIP Seine Aval.

Emmanuel E., Perrodin Y., Blanchard J.M.B., Keck G. and Vermande P. (2005) - Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater: a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network. Journal of Hazardous Materials, 117, 1-11.

ENVILAB AG et Centre Ecotox - Modélisation du flux de micropolluants issus des rejets des stations d'épuration dans le territoire de la CIPEL (bassins du Léman et Rhône aval). CIPEL, OFEV, 2013.

Fernández, M., Fernández, M., Laca, A., Laca, A. and Diaz, M. (2014) - Seasonal occurrence and removal of pharmaceutical products in municipal wastewaters. Journal of Environmental Chemical Engineering 2, 495-502.

Göbel, A., Thomsen, A., McArdell, C.S., Joss, A. and Giger, W. (2005) - Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment. Environment Science and Technology 39(11), 3981-9.

Gomez, M.J., Petrovic, M., Fernandez-Alba, A.R. and Barcelo, D. (2006) - Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. Journal of Chromatography A 1114(2), 224-233.

Gros, M., Petrovic, M. and Barcelo, D. (2006) - Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. Talanta 70(4), 678-690.

Groupe de travail régional Effluents non domestiques du Graie (2016) - La gestion des effluents d'un établissement de santé : principe de la démarche et préconisations sur le suivi des rejets. novembre 2016, 19 p.

Grung, M., Källqvist, T., Sakshaug, S., Skurtveit, S. and Thomas, K. V. (2008) - Environmental assessment of Norwegian priority pharmaceuticals based on the EMEA guideline. Ecotoxicology and environmental safety 71(2), 328-340.

Guerra, P., Kim, M., Shah, A., Alaee, M. and Smyth, S.A. (2014) - Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. Science of the Total Environment 473, 235-243.

Henriques, D.M., Kuemmerer, K., Mayer, F.M., Vasconcelos, T.G. and Martins, A.F. (2012) - Nonylphenol polyethoxylate in hospital wastewater: A study of the subproducts of electrocoagulation. Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering 47(3), 497-505.

Hewavitharana, A.K. (2011) - Matrix matching in liquid chromatography-mass spectrometry with stable isotope labelled internal standards-Is it necessary? Journal of Chromatography A 1218(2), 359-361.

Huerta, B., Jakimska, A., Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S. and Barcelo, D. (2013) - Analysis of multi-class pharmaceuticals in fish tissues by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1288, 63-72.

Hughes, S.R., Kay, P. and Brown, L.E. (2013) - Global Synthesis and Critical Evaluation of Pharmaceutical Data Sets Collected from River Systems. Environmental Science & Technology 47(2), 661-677.

INERIS Normes de Qualité Environnementale (NQE) et Valeurs Guides Environnementales (VGE), Portail Substances Chimiques http://www.ineris.fr/substances/fr/page/9

Jean, J., Perrodin, Y., Pivot, C., Trepo, D., Perraud, M., Droguet, J., Tissot-Guerraz, F. and Locher, F. (2012) - Identification and prioritization of bioaccumulable pharmaceutical substances discharged in hospital effluents. Journal of Environmental Management 103, 113-121.

Jugan, M.L., Lévy-Bimbot, M., Pomérance, M., Tamisier-Karolak, S., Blondeau, J.P. and Lévi, Y. (2007) - A new bioluminescent cellular assay to measure the transcriptional effects of chemicals that modulate the alpha-1 thyroid hormone receptor. Toxicology in Vitro 21(6), 1197-1205.

Jugan, M.L., Oziol, L., Bimbot, M., Huteau, V., Tamisier-Karolak, S., Blondeau, J.P. and Lévi, Y. (2009) - In vitro assessment of thyroid and estrogenic endocrine disruptors in wastewater treatment plants, rivers and drinking water supplies in the greater Paris area (France) 407(11), 3579-3587.

Karolak, S., Mullot, J.U., Fontova, A. and Lévi, Y. (2008) - Pharmaceuticals contamination assessment of French hospitals sewage waters: comparison between observed and predicted values. SETAC Europe, 18th Annual Meeting, 25-29 mai 2008, Varsovie, Pologne

Kienzler, A., Tronchère, X., Devaux, A. and Bony, S. (2012) - Assessment of RTG-W1, RTL-W1, and PLHC-1 fish cell lines for genotoxicity testing of environmental pollutants by means of a Fpg-modified comet assay. Toxicology in Vitro 26, 500-510.

Kugathas, S., Runnalls, T.J. and Sumpter, J.P. (2013) - Metabolic and reproductive effects of relatively low concentrations of beclomethasone dipropionate, a synthetic glucocorticoid, on fathead minnows. Environmental Science Technologie 47(16), 9487-95

INSEE (producteur), ADISP-CMH (diffuseur). Emploi du temps, (EDT) - 2009-2010

Leprat, P. (1999) - Les effluents liquides : caractéristiques et impacts des rejets liquides hospitaliers. Techniques Hospitalières 634, 56-57.

Lavenir, R., Jocktane, D., Laurent, F., Laurent, F., Nazaret, S. and Cournoyer, B. (2007) - Improved reliability of Pseudomonas aeruginosa PCR detection by the use of the species-specific ecfX gene target. Journal of Microbiological Methodes 70(1), 20-29.

Lavenir, R., Sanroma, M., Gibert, S., Crouzet, O., Laurent, F., Kravtsoff, J., Mazoyer, M.A. and Cournoyer, B. (2008) - Spatio-temporal analysis of infra-specific genetic variations among a Pseudomonas aeruginosa water network hospital population: invasion and selection of clonal complexes. Journal of Applied Microbiology 105(5), 1491-1501

Loos, R., Carvalho, R., Antonio, D.C., Cornero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., Paracchini, B., Ghiani, M., Lettieri, T., Blaha, L., Jarosova, B., Voorspoels, S., Servaes, K., Haglund, P., Fick, J., Lindberg, R.H., Schwesig, D. and Gawlik, B.M. (2013) - EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. Water Research 47(17), 6475-6487.

Méli Mélo – Démêlons les fils de l'eau – Projet multimédia porté par le GRAIE et Médiapro (http://www.eaumelimelo.org)

Site du Ministère de l'Écologie (2014) - L'épandage des boues de stations d'épuration urbaines et industrielles sur les sols agricoles – chiffres 2010 (http://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/lessentiel/ar/272/1122/lepandage-boues-stations-depuration-urbaines-sols.html)

Ministère des Affaires Sociales et de la Santé (2013) - Bilan annuel des activités de lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé.

Ministère des Affaires Sociales et de la Santé (2016) - Guide pratique : pour une bonne gestion des déchets produits par les établissements de santé et médico-sociaux. mars 2016, 138 p.

Mullot, J.U. (2009) - Modélisation des flux de médicaments dans les effluents hospitaliers. Thèse de la faculté de pharmacie de Chatenay-Malabry, Université Paris Sud, 2009, 334p.

Nagarnaik, P.M., Mills, M.A. and Boulanger, B. (2010) - Concentrations and mass loadings of hormones, alkylphenols, and alkylphenol ethoxylates in healthcare facility wastewaters. Chemosphere 78(8), 1056-1062.

NoPills in water (2015) – NoPills report (*http://www.no-pills.eu*).

Norme OCDE TG 487 – In vitro Mammalian cell micronucleus test

Oliveira, T.S., Murphy, M., Mendola, N., Wong, V., Carlson, D. and Waring, L. (2015) - Characterization of Pharmaceuticals and Personal Care products in hospital effluent and waste water influent/effluent by direct-injection LC-MS-MS. Science of the Total Environment 518, 459-478.

Orias F. and Perrodin Y. (2013) - Characterisation of the ecotoxicity of hospital effluents: A review. Science of the Total Environment, 454-455, 250-276.

Orias F. and Perrodin Y. (2014) - Pharmaceuticals in hospital wastewater: their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluent. Chemosphere, 115, 33-39.

Orias Frédéric, Simon Laurent and Perrodin Yves (2015) - Experimental assessment of bioconcentration of 15N-tamoxifène in Pseudokirchneriella subcapitata, Chemosphere, 122, 251-256.

Orias Frédéric, Bony S., Devaux A., Durrieu C., Aubrat M., Hombert T., Wigh A. and Perrodin Y. (2015) - Tamoxifène ecotoxicity and resulting risks for aquatic ecosystems, Chemosphere, 128, 79-84.

Ortelli, D., Edder, P., Rapin, F. et Ramseier, S. (2011) - Rapport de la Commission internationale pour la protection des eaux du Léman, Campagne 2010, pp. 65-86.

Ouillardet, P., De Bellecombe, C. and Hofnong, M. (1985) - The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: validation study with 83 compounds. Mutation Res. 147, 79-95.

Petrie, B., McAdam, E.J., Lester, J.N. and Cartmell, E. (2014) - Assessing potential modifications to the activated sludge process to improve simultaneous removal of a diverse range of micropollutants. Water Research 62, 180-192.

Petrovic, M., Sole, M., de Alda, M.J.L. and Barcelo, D. (2002) - Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: Integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. Environmental Toxicology and Chemistry 21(10), 2146-2156.

Pills (2012) – Pharmaceutical input and Elimination from local sources. Final report of the European cooperation project Pills (*http://www.pills-project.eu*).

Roig Benoît, Université de Nîmes, Intervention au séminaire CIPEL-HUG du 6 novembre 2013 sur les « Rejets des établissements de soins et qualité des milieux aquatiques »

Salgado, R., Marques, R., Noronha, J., Mexia, J., Carvalho, G., Oehmen, A. *et al.,* (2011) - Assessing the diurnal variability of pharmaceutical and personal care products in a full-scale activated sludge plant. Environmental pollution 159(10), 2359-67.

Santiago S, Becker van Slooten K, Chèvre N, Pardos M, Benninghoff C, Thybaud E, *et al.,* (2002) - Guide pour l'utilisation des tests écotoxicologiques, avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les algues vertes, appliqués aux échantillons de l'environnement. 55 pp.

Segner, H., Caroll, K., Fenske, M., Janssen, C.R., Maack, G., Pascoe, D., Schäfers, C., Vandenbergh, G.F., Watts, M. and Wenzel A. (2003) - Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates and invertebrates: report from the European IDEA project, Ecotoxicology and Environmental Safety 54, 302–314.

Slekovec, C., Plantin, J., Cholley, P., Thouverez, M., Talon, D., Bertrand, W. and Hocquet, D. (2012) - Tracking Down Antibiotic-Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolates in a Wastewater Network. PLOS One, 7, 12

Soulier, C., Gabet, V., Lemenach, K., Pardon, P., Esperanza, M., Miège, C., Choubert, J.-M., Martin-Ruel, S., Bruchet, A., Coquery, M. and Budzinski, H. (2011) - Zoom sur les substances pharmaceutiques : présence, partition, devenir en station d'épuration. Techniques Sciences et Méthodes, 1 et 2, 63-77.

Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe. Rapports annuels d'autosurveillance de la station d'épuration de Bellecombe (2012, 2013 et 2014).

Teeerlink, J., Hering, A., Higgins, C. and Drewes, J. (2012) - Variability of trace organic chemical concentrations in raw wastewater at three distinct sewershed scales. Water Research, 46, 3261-71.

Vandermeersch S. (2006) - Étude comparative de l'efficacité des traitements d'épuration des eaux usées pour l'élimination des micro-organismes pathogènes. Travail de fin d'études de l'Université Libre de Bruxelles, 81p.

Verlicchi, P., M. Al Aukidy, A. Galletti, M. Petrovic and D. Barceló. (2012) - Hospital effluent: Investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. Science of The Total Environment, 430, 109-118.

Verlicchi, P., Al Aukidy, M. and Zambello, E. (2012) - Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. Science of the Total Environment 429, 123-155.

Villegas-Navarro, A., M.R. Santiago, F.R. Perez, R.R. Torres, T.D. Abularach and J.L. Reyes (1997) - Determination of LC50 from Daphnia magan in treated industrial waste water and non-trated hospital effluents. Environment International, 23,535-540.

Vulliet, E., Wiest, L., Baudot, R. and Grenier-Loustalot, M.-F. (2008) - Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and ground-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1210(1), 84-91.

White, P.A., Rasmussen, J.B. and Blaise, C. (1996) - A semi-automated, microplate version of the SOS Chromotest for the analysis of complex environmental extracts. Mutation research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects 360(1), 51-74.

Yu, Y., Wu, L. and Chang, A.C. (2013) - Seasonal variation of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants. Science of the Total Environment 442, 310-316.

Zorita, S., Martensson, L. and Mathiasson, L. (2009) - Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. Science of the Total Environment 407(8), 2760-2770.

TABLE DES MATIÈRES

I. Introduction : historique, objectifs et structuration du site pilote de bellecombe 5

1-Contexte et objectifs _____ 7

2- Un site d'expérimentation exceptionnel _____ 8

2-1 Configuration du site pilote de Bellecombe 8

2-2 Un site étendu au territoire du bassin versant franco-suisse de l'Arve aval 10

3- Un dispositif d'observation et de recherches _____ 11

3-1 SIPIBEL est structuré en trois volets : 11

3-2 Le projet IRMISE Arve aval (2012 –> juin 2015) 11

Objectifs et résultats attendus 11

Pour ce faire, le projet comportait 4 volets 12

3-3 Le projet SIPIBEL-RILACT (novembre 2014 –> mai 2018) 12

Objectifs 12

Volets et tâches du projet : 13

4-Gouvernance et partenaires _____ 14

4-1 Acteurs mobilisés 14

Les acteurs du territoire : 14

Des laboratoires publics de recherche de renommée internationale 14

Un industriel spécialisé dans le traitement des eaux usées et potables 14

Des consultants 14

Des partenaires institutionnels engagés dès le montage du projet 15

Une structure d'animation expérimentée, véritable liant et stimulateur du projet 15

4-2 Gouvernance 15

Les membres fondateurs de SIPIBEL sont regroupés en 4 collèges 15

Les partenaires de l'observatoire 15

Les partenaires de projets 16

4-3 Budget et financements 17

5-Valorisation des résultats et ouvertures de SIPIBEL _____ 18

5-1 Sites internet 18

5-2 La conférence Eau et Santé 2015 : 19

Les médicaments dans le cycle urbain de l'eau : état des connaissances et stratégies de réduction 19

Deux journées de conférence 19

5-3 Participation à des conférences et porté à connaissance 20

5-4 Collaboration et partenariats avec d'autres projets 20

II. L'observatoire SIPIBEL-IRMISE : synthèse des résultats de quatre années de suivi.....2M

1-Le dispositif de suivi mis en place _____ 23

1-1 Objectifs du suivi 23

1-2 Sites et fréquences de prélèvement 23

Sites du territoire SIPIBEL – bassin versant de la STEP de Bellecombe 23

Caractéristiques de la station d'épuration de Bellecombe et de ses effluents 24

Sites du territoire IRMISE – bassin versant franco-suisse de l'Arve aval 28

1-3 Protocoles de prélèvement et d'échantillonnage 29

Méthodes de prélèvement 29

Homogénéisation et distribution de l'échantillon 30

Matériel utilisé et rinçages 30

Blancs de prélèvement 30

1-4 Les paramètres suivis 31

Récapitulatif des paramètres suivis 31

Les résidus de médicaments 32

Les intégrons de multirésistance 33

Les *Pseudomonas aeruginosa* 34

Les bio-essais 35

1-5 Bilan des campagnes réalisées et gestion des données 36

Bilan des campagnes réalisées 36

La base de données SIPIBEL 37
2-Caractérisation des dangers et des effets biologiques des effluents hospitaliers et urbains 38
2-1 Résultats des analyses de médicaments et détergents 39
Concentrations et flux de médicaments et détergents en entrées de STEP 39
Zoom sur les campagnes de 7 jours consécutifs 42
2-2 Résultats des analyses microbiologiques 48
Résultats du suivi des intégrons de multi-résistance 48
Résultats du suivi des *Pseudomonas aeruginosa* 49
2-3 Résultats des bio-essais 50
Variabilité des effets biologiques de l'effluent hospitalier 50
Résultats des essais d'écotoxicité 50
Résultats des mesures d'effets perturbateurs endocriniens 51
3-Traitabilité et impacts des effluents hospitaliers et urbains sur le milieu 52
3-1 Résultats des analyses de résidus de médicaments et détergents 53
Abattement des résidus de médicaments et détergents au sein de la STEP de Bellecombe 53
Comparaison des rejets des 3 stations d'épuration du bassin versant de l'Arve aval 54
Concentrations relevées dans les eaux de surface et la nappe du genevois 55
3-2 Résultats des analyses microbiologiques 60
Résultats du suivi des intégrons de multi-résistance 60
Résultats du suivi des *Pseudomonas aeruginosa* 63
3-3 Résultats des bio-essais 66
Effet du traitement de la STEP 66
Impact du rejet de la STEP sur l'Arve 67
3-4 Résultats des analyses des peuplements d'invertébrés et de diatomées dans l'Arve 70
Peuplements invertébrés 70
Peuplements diatomiques 71
III. Premiers résultats des études et recherches en appui sur le site pilote 73
Le programme de recherche du site pilote de Bellecombe 75
AXE 1 – Connaissance et modélisation des flux polluants hospitaliers et urbains 76
1-1 Objectifs scientifiques et opérationnels 76
1-2 Thèse sur la modélisation des flux de résidus de médicaments 77
Acquisition des données de vente de médicaments 77
Présentation du modèle 77
Premiers résultats 78
Conclusions et perspectives 79
1-3 Modélisation de la micropollution issue des stations d'épuration de la région lémanique 80
Molécules sélectionnées pour la modélisation 80
Modélisation des charges et concentrations dans les cours d'eau 80
Évaluation écotoxicologique 80
Scenarii modélisés 81
Conclusions 82
AXE 2 – Procédés de traitement 83
2-1 Objectifs scientifiques et opérationnels 83
2-2 Projet TRIUMPH sur le traitement des micropolluants 84
Contexte 84
Dispositif mis en place à la STEP de Bellecombe 84
Résultats des travaux sur l'efficacité de traitement 85
Évaluation de l'écotoxicité des effluents après traitement biologique et ozonation tertiaire 86
2-3 Thèse sur les micropolluants dans les boues d'épuration 89
Introduction 89
Objectifs et méthodologie 89
Résultats – détermination du comportement de sorption 90
Résultats – détermination du potentiel de désorption 91
Résultats – tests de lixiviation 92
AXE 3 - Risques écotoxicologiques et écologiques 93
3-1 Objectifs scientifiques et opérationnels 93

3-2 Thèse sur le développement de méthodologies pour l'étude de la bioaccumulation de polluants émergents chez des invertébrés aquatiques d'eau douce 94
Introduction 94
Programme de recherche 94
Conclusion 97
3-3 Thèse sur l'écotoxicité et la bioconcentration des résidus de médicaments 98
Synthèse des données disponibles sur l'écotoxicité des effluents hospitaliers 98
Caractérisation expérimentale de la bioaccumulation 98
3-4 Projet PERSIST'ENV sur la persistance environnementale de médicaments et pathogènes 100
Objectifs du projet et dispositif mis en place 100
Premiers résultats 100
Zoom sur les approches et résultats des analyses microbiologiques 101
Bilan du projet 103
3-5 Recherche d'antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa* et suivi d'un autre pathogène opportuniste : *Aeromonas caviae* 104
Suivi des *Aeromonas caviae* 104
Antibiorésistance des *P.aeruginosa* isolés des 2 filières d'eaux usées : 105
3-6 Les échantillonneurs passifs appliqués à la rivière Arve 106
Contexte 106
Méthodologie 106
Résultats 106
3-7 Étude la qualité microbiologique de l'air à la STEP de Bellecombe 108
Objet 108
Méthodologie 108
Résultats et conclusions 109
Perspectives 109
AXE 4 - Sociologie et changement des pratiques 110
4-1 Objectifs scientifiques et opérationnels 110
4-2 Étude stratégique du projet IRMISE Arve aval 111
Contexte et objectifs 111
Phase 1 : connaissance du territoire, du contexte et des enjeux 111
Phase 2 : Enquête de perception de la problématique et identification des moteurs de changement 112
Phase 3 : Proposition de scénarios 113
Conclusion : ce qu'il faut retenir 114
Perspectives 114
IV. Étude des conséquences du mélange des effluents hospitaliers et urbains au sein d'une station unique 115
1–L'arrêté préfectoral de 2009 et l'obligation de traiter séparément les effluents hospitaliers 117
2–Démarche mise en place pour répondre à la question de l'arrêté 117
2-1 Le suivi des effluents hospitaliers et urbains entre février 2012 et septembre 2014 117
2-2 L'expérimentation d'injection d'effluent urbain dans la filière hôpital 117
Description de l'expérimentation 117
Résultats des analyses de médicaments et détergents 118
Résultats du suivi des intégrons de résistance 121
Résultats du suivi des *Pseudomonas aeruginosa* 123
Résultats des bioessais 124
2-3 Examen de la conformité des boues 126
2-4 La mise en perspective avec les résultats des pilotes de traitement Suez 126
3–Conclusions sur la pertinence du mélange des effluents hospitaliers et urbains au sein d'une station unique 127
Étant entendu et démontré 127
À ces cinq questions, le consortium a apporté les réponses suivantes : 127
1-Qualité des eaux rejetées au milieu 127
2-Abattement des micropolluants spécifiques 127
3-Écotoxicité 127
4-Antibiorésistance 128

5-Boues d'épuration 128
Conclusions et enseignements 128
Modification de l'arrêté préfectoral : 129

V. Conclusions et perspectives ***131***

1-Conclusions 133
1-1 Synthèse des principaux résultats 133
1-2 Enseignements et acquis 134
2-Quel Observatoire pour les prochaines années ? 135
2-1 Une nouvelle configuration de la STEP et des sites de prélèvement 135
2-2 La mise en place d'un suivi régulier des boues d'épuration 135
2-3 L'évolution des paramètres et indicateurs suivis 136
Les résidus de médicaments 136
Les détergents 137
Les indicateurs biologiques 137
2-4 Des collaborations à poursuivre 137
3-Quelles perspectives en termes d'études et recherches ? 138
Le projet SIPIBEL-RILACT 138
Autres actions 138

Annexes ***1PM***

Sommaire des annexes *143*
Annexe 1 – synthese de la conference « Eau et Sante » organisee par le Graie et l'Astee *144*
Annexe 2 – protocole de nettoyage du materiel utilise pour les campagnes de prelevement de l'observatoire *145*
Annexe 3 – Protocole des blancs de prélèvement *147*
Annexe 4 – Publications et communications sur SIPIBEL *148*
Rapports 148
Thèses (achevées et en cours) 149
Articles dans des revues internationales à comité de lecture 150
Articles dans des revues nationales 152
Communications dans des conférences internationales 154
Communications dans des conférences nationales 156
Annexe 5 – Références bibliographiques du rapport *158*
Table des matières *164*
Liste des figures *168*
Liste des tableaux *172*

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Vue aérienne du site pilote de Bellecombe (SIPIBEL) lors de la construction du Centre Hospitalier Alpes Léman (source : Suez, 2011) et la rivière Arve. 7

Figure 2 Le site pilote de Bellecombe est situé en Haute-Savoie, à proximité de la frontière suisse.... 8

Figure 3 La station d'épuration de Bellecombe et le Centre Hospitalier Alpes Léman (source : CHAL, 2012)..... 9

Figure 4 La station d'épuration de Bellecombe comporte 3 files de traitement dont une peut être entièrement dédiée aux effluents hospitaliers (source : schéma extrait de la revue Techniques Hospitalières, déc. 13)..... 9

Figure 5 Schéma de la station de Vessy de réalimentation de la nappe du Genevois, gérée par les Services Industriels de Genève (SIG). 10

Figure 6 Territoire du projet Interreg franco-suisse IRMISE Arve aval..... 11

Figure 7 Les membres et partenaires de SIPIBEL réunis à l'occasion des réunions de comité de pilotage du projet au Centre Hospitalier Alpes Léman 14

Figure 8 Gouvernance et structuration des acteurs de SIPIBEL 16

Figure 9 Capture d'écran des sites internet de SIPIBEL et IRMISE 18

Figure 10 Conférence « Eau et Santé » 2015, 27 mars 2015, Ville-la-Grand (74) 19

Figure 11 Rencontre entre porteurs de projets organisée par le Graie le 25 mars 2015 20

Figure 12 Sites de prélèvement de l'observatoire SIPIBEL entre février 2012 et septembre 2014. 24

Figure 13 La station d'épuration de Bellecombe 25

Figure 14 Volume mensuels entrants dans les deux filières de la station d'épuration en 2013 (source : Rapports annuels d'autosurveillance 2013 de la STEP de Bellecombe) 26

Figure 15 Sites de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE 28

Figure 16 Prélèvements en sortie de la filière urbaine de la STEP de Bellecombe (à gauche) et sur l'Arve (à droite)..... 30

Figure 17 Représentation schématique d'un intégron 34

Figure 18 Méthodologie du Nombre le Plus Probable (NPP) pour les dénombrements des *Pseudomonas aeruginosa* 34

Figure 19 Procédure de validation des données 37

Figure 20 Extraits de la base de données SIPIBEL - tableau de résultats et graphique croisé dynamique..... 37

Figure 21 Zone d'étude concernée par cette partie du rapport 38

Figure 22 Concentrations et fréquences de détection en médicaments et détergents des effluents hospitaliers issus du CHAL 39

Figure 23 Flux (en g/j) en filières urbaine et hôpital des molécules dont les concentrations sont supérieures en filière hôpital 40

Figure 24: Flux en g/jour de sulfaméthoxazole en entrée des filières hôpital et urbaines de la STEP . 41

Figure 25 Concentration en ciprofloxacine dans les effluents urbains entrant à la STEP de Bellecombe au cours des 3 campagnes de 7 jours..... 43

Figure 26 Concentration en ciprofloxacine dans les effluents hospitaliers entrant à la STEP de Bellecombe au cours des 3 campagnes de 7 jours 44

Figure 27 Débits journaliers (m^3/j) et conductivité (µS/cm) des effluents urbains entrant à la STEP de Bellecombe pour les 3 campagnes de 7 jours 46

Figure 28 Concentrations moyennes journalières (ng/L) et flux journaliers (g/j) en diclofénac dans les effluents urbains entrant à la STEP de Bellecombe pour les 3 campagnes de 7 jours 47

Figure 29 Concentrations en intégrons de classe 1, en ARN16S (équivalent bactéries) et en *Pseudomonas aeruginosa* et abondance relative (ratio entre la concentration en intégrons et la concentration en ARN16S) sur les effluents hospitaliers et urbains en entrée de STEP, entre 2012 et 2015 48

Figure 30 Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* (NPP/100mL) dans les eaux usées brutes (avant traitement) des filières hospitalière et urbaines de la STEP de Bellecombe de février 2012 (ouverture de l'hôpital) à octobre 2014 49

Figure 31 Comparaison de l'écotoxicité des effluents hospitaliers et urbains avant traitement 50

Figure 32 Évolution de l'effet estrogénomimétique mesuré *in vitro* sur le modèle MELN dans les eaux d'entrée de STEP 51

Figure 33 Zone d'étude concernées par cette partie du rapport : le bassin versant de l'Arve aval. ... 52

Figure 34 Moyennes des abattements et flux de médicaments en sortie des filières urbaine et hôpital 53

Figure 35 Contribution de chaque résidu de médicament à la somme des molécules analysées dans les eaux en entrées et sorties des STEPs étudiées 55

Figure 36 Contributions au flux total (en %) des STEPs Ocybèle et Villette, de l'Arve et du Rhône 58

Figure 37 Molécules détectées dans plus de 40% des échantillons 59

Figure 38 Abondance relative sur les sites de prélèvement de l'observatoire SIPIBEL : entrées et sorties de la STEP de Bellecombe et Arve en amont, aval immédiat et aval éloigné du rejet de la STEP 60

Figure 39 Evolution des concentrations en intégrons de résistance (à droite, en intégrons/L) et de l'abondance relative (à gauche) en entrée et en sortie des 2 filières de la STEP de Bellecombe, de 2012 à juillet 2014 61

Figure 40 Evolution de l'abondance relative pour les boues hospitalières et urbaines de la STEP de Bellecombe entre février 2012 et juillet 2014 61

Figure 41 Synthèse des mesures d'intégrons (BACT) –à gauche- et d'abondance relative (RA %) – à droite 62

Figure 42 Nombre de copies d'intégrons de résistance (en log10 copies/J) dans l'Arve et le Rhône 63

Figure 43 Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* (NPP/100ml) dans les eaux usées des filières hôpital et urbaines de la STEP de Bellecombe - février 2012 à octobre 2014 63

Figure 44 Résultats des dénombrements en *P.aeruginosa* sur les sites de prélèvements des eaux de surface (en jaune) du Rhône et de l'Arve et d'eaux de nappe (en bleu) 65

Figure 45 Évolution de l'effet estrogénomimétique mesuré *in vitro* sur le modèle MELN dans les eaux traitées urbaines et de l'hôpital et les eaux de l'Arve en amont et en aval du rejet de la STEP 67

Figure 46 Modélisation des flux de micropolluants dans le bassin versant de la STEP de Bellecombe.. 76

Figure 47 Comparaison des mesures et du modèle des flux de diclofénac entrant en STEP pour la filière hôpital 78

Figure 48 Exemple de résultat du modèle hydraulique 79

Figure 49 Modélisation globale à l'échelle du Léman et du bassin de l'Arve : exemple du diclofénac, dont la concentration modélisée est comparée à un critère de qualité RQ (source : Envilab AG & Centre Ecotox pour CIPEL et OFEV, 2013) 81

Figure 50 Bassin d'aération et serre de séchage des boues de la STEP de Bellecombe 83

Figure 51 Pilotes de traitement Suez installés à la STEP de Bellecombe (source : Suez, 2012) 84

Figure 52 Efficacité des traitements biologiques seuls et avec ozonation tertiaire 85

Figure 53 Efficacité de traitement du système « Boues activées + ozonation tertiaire » obtenue avec 3 doses d'ozone transférées différentes 86

Figure 54 Description de la méthodologie de travail développée sur la file boue 89

Figure 55 Modélisation de $K_{désorption}$ en fonction des propriétés des molécules de médicaments et des caractéristiques des boues 91

Figure 56 Dispositif mis en place pour le projet Persist'Env (source : Jérôme Labanowski, IC2MP) ... 93

Figure 57 Les trois espèces sentinelles retenues pour cette étude 95

Figure 58 Vue globale de la contamination chez *Chironomus riparius* en automne (haut) et en été (bas) 96

Figure 59 Vue globale de la contamination chez *Gammarus fossarum* en automne (à gauche) et en été (à droite) 96

Figure 60 Vue globale de la contamination chez *Potamopyrgus antipodarum* en automne (à gauche) et en été (à droite) 97

Figure 61 Principe de l'estimation de la concentration en tamoxifène (et métabolites) par la mesure du ratio des isotopes stables de l'azote 98

Figure 62 Vues du site SIPIBEL et exemples des teneurs en médicaments et organismes pathogènes retrouvées dans les biofilms de la rivière Arve 100

Figure 63 Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Aeromonas caviae* (NPP/g) dans les biofilms des 2 filières (URB=urbaine, HOP=hospitalière) de février à juillet 2014 101

Figure 64 Détection PCRq des intégrons de classes 1, 2 et 3 et du marqueur humain HF183 au niveau des biofilms de l'Arve à l'amont (lointain et proche) et à l'aval (proche et lointain) du rejet de la STEP de Bellecombe d'octobre 2011 (état zéro) à juin 2014 103

Figure 65 Dénombrements des *Aeromonas caviae* (NPP/100 mL) dans les eaux usées des 2 filières de la STEP de Bellecombe 104

Figure 66 Bilan des résistances aux antibiotiques (hors résistance naturelle aux sulfamides et à la rifamycine) des souches (n=188) de *P. aeruginosa* des 2 filières avant et après traitement par la STEP de Bellecombe, et des eaux de surface de l'Arve mais isolées en amont ou aval de l'effluent de la STEP 105

Figure 67 Focus group de l'étude Stratégique IRMISE 110

Figure 68 Avis des habitants interrogés concernant les pistes de solution à envisager 112

Figure 69 Leviers d'action issus de l'étude stratégique IRMISE 114

Figure 70 Conduite d'injection d'effluent urbain dans la filière hôpital 117

Figure 71 Configuration de la STEP de Bellecombe et des sites de prélèvements à partir d'octobre 2014 118

Figure 72 Concentrations en sortie de STEP (urbain et mixte) 119

Figure 73 Abattements sur les filières urbaine et mixte de la STEP 119

Figure 74 Concentrations dans les boues en sortie de filtre presse (en haut) et en sortie de serre (en bas), filières urbaine et mixte 120

Figure 75 Evolution des concentrations d'intégrons dans les effluents durant toute la période de suivi 121

Figure 76 Lissage (trait plein) des concentrations en intégrons (à gauche – intégrons/L) et en abondance relative (à droite) en entrées de station entre février 2012 et avril 2015 121

Figure 77 Lissage (trait plein) des concentrations en intégrons (à gauche – intégrons/L) et en abondance relative (à droite) en sorties de station entre février 2012 et avril 2015 122

Figure 78 Évolution de la concentration en intégrons dans les boues biologiques entre mars 2012 et avril 2015 122

Figure 79 Évolution de l'abondance relative dans les boues biologiques entre mars 2012 et avril 2015 123

Figure 80 Boxplot de *P.aeruginosa* (log10 NPP/100mL) dans les entrées de la STEP (hôpital, mixte 1/3 hôp. 2/3 urbain, urbain), et les sorties (mixte et urbain) de novembre 2014 à avril 2015. Boxplot de l'abattement en *P.aeruginosa* (log10 NPP/100mL) dans les filières urbaines et mixte..... 123

Figure 81 Hypothèse de nouvelle configuration de la STEP de Bellecombe et des sites de prélèvement, en cas de modification de l'arrêté préfectoral 135

Figure 82 Serre de séchage des boues 136

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I Concentrations moyennes des paramètres globaux pour l'effluent hospitalier et l'effluent urbain entrant à la STEP de Bellecombe (d'après rapports d'autosurveillance 2012, 2013 et 2014), valeurs de références d'un effluent domestique et valeurs moyennes d'un effluent domestique du bassin RMC 27

Tableau II Synthèse des performances de traitement des filières urbaines et hôpital de la station d'épuration de Bellecombe entre 2012 et 2014 (d'après les rapports d'autosurveillance 2012, 2013 et 2014 de la station d'épuration de Bellecombe) 27

Tableau III Type de prélèvement sur les sites de prélèvement de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE 29

Tableau IV Paramètres suivis dans les sites de prélèvement de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE 31

Tableau V Liste des bio-essais mis en œuvre dans le cadre du programme sur le site SIPIBEL 35

Tableau VI Quelques grands chiffres de l'Observatoire SIPIBEL-IRMISE 36

Tableaux VII et VIII Concentration en paracétamol (µg/L) et en DBO5 (mg/L) dans les effluents hospitaliers et urbains entrant à la STEP de Bellecombe pour les 3 campagnes de 7 jours 45

Tableau IX Concentrations moyennes dans l'Arve, concentrations médianes mesurées dans le monde sur des eaux de surface (Hughes *et al.,* 2013), PNEC (Orias and Perrodin, 2013) et NQE/VGE (INERIS) en µg/L 56

Tableau X Concentrations moyennes dans l'Arve et dans le Rhône 57

Tableau XI Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* (NPP/100 mL) dans les eaux usées traitées de STEP connectées sur l'Arve 64

Tableau XII Comparaison de l'écotoxicité et de l'effet estrogénomimétique avant et après traitement pour les deux types d'effluents - exemple de la campagne de mesure de novembre 2013 66

Tableau XIII Résultats des campagnes de prélèvements d'invertébrés dans la rivière Arve IBGN : Indice Biologique Global Normalisé ; GFI : Groupe Faunistique Indicateur (source : Rapport Gay Environnement) 70

Tableau XIV Résultats des analyses de la flore diatomique lors des campagnes de prélèvement sur l'Arve IBD : Indice Biologique Diatomées ; IPS : Indice de polluo-sensibilité (source : Rapport Gay Environnement) 71

Tableau XV Etudes et recherches en appui sur le site pilote de Bellecombe 75

Tableau XVI Résultats des tests normalisés monospécifiques sur algues, ostracodes et rotifères sur les différents échantillons (100 % d'effluent) et le témoin ISO 87

Tableau XVII Résultats des tests sur embryon de *Danio rerio* et ses cellules et quantification des activités potentielles des perturbateurs endocriniens sur les différents échantillons (100 % d'effluent) et le témoin ISO 88

Tableau XVIII Estimation des facteurs de bioconcentration du tamoxifène et de ses métabolites par la mesure du ratio des isotopes stables de l'azote 99

Tableau XIX Résultats des analyses réalisées dans l'Arve (ng/L) 107

Tableau XX Points de mesure de l'étude 108

Tableau XXI Bioessais sur effluents hospitalier et urbain et sur un mélange reconstitué en laboratoire avec 3 % d'effluent hospitalier et 97 % d'effluent urbain 124

Tableau XXII Bioessais sur effluents hospitalier, urbain et mixte 124

Tableau XXIII Etudes et recherches en cours sur le site pilote de Bellecombe 138

SIPIBEL - Site Pilote de Bellecombe sur les effluents hospitaliers et stations d'épuration urbaines, est un observatoire animé par le GRAIE et le Syndicat des eaux des Rocailles et de Bellecombe (74), qui mobilise des acteurs du territoire, des équipes de recherche, des consultants, un industriel et des partenaires institutionnels. Il est le support de plusieurs programmes d'études et recherches, dont le projet Interreg franco-suisse IRMISE Arve aval (2012-2015) sur « l'Impact des Rejets de Micropolluants (et résidus de médicaments) Issus de Stations d'Epuration sur l'aval du bassin de l'Arve et la nappe du Genevois » et le projet SIPIBEL-RILACT (2014-2018) sur « les Risques et Leviers d'Actions relatifs aux rejets de médicaments, détergents et biocides dans les effluents hospitaliers et urbains », retenu dans le cadre de l'appel à projets national « Micropolluants ».

ACTEURS DU TERRITOIRE

ÉQUIPES DE RECHERCHE

MEMBRE INDUSTRIEL

CONSULTANTS

PARTENAIRES

ANIMATION

GROUPE DE RECHERCHE RHÔNE-ALPES SUR LES INFRASTRUCTURES ET L'EAU

www.sipibel.org