

Réunion n°2 - projet ECHIBIOTEB (ANR ECOTECH 2010)
Paris La défense – 28 septembre 2011

Présents :

Cemagref : M. Coquery, O Geffard, C. Miège, F. Serveto
Envolure : Y. Dudal
EPOC-LPTC : H. Budzinski, J. Cachot
INERIS : S. Ait-Aissa, E. Maillot-Maréchal, P. Pandard
ONEMA : S Garnaud, O Perceval
Suez Environnement : S. Besnault, A. Bruchet, S. Martin, N. Noyon
Univ Paris Sud : M Bimbot, Y Lévi, L Oziol

Compte rendu de la réunion et relevé de décision :

- **Cécile Miège doit diffuser à tous les partenaires le « rapport à 6 mois »** du projet début octobre.

- Accord de consortium : La préparation de ce document est en cours au Cemagref de Lyon. La diffusion pour relecture de cet accord de consortium par tous les partenaires du projet ECHIBIOTEB est prévue d'ici la fin de l'année 2011. La signature de l'accord de consortium par tous les partenaires sera donc finalisée dans les délais imposés, i.e. pour le 17 mars 2012. La juriste qui gère cet accord de consortium au Cemagref est Patricia Noël-Chemali.

- Afin de mettre à disposition les diaporamas de la journée, **tout le monde doit envoyer sa présentation à Cécile Miège**. L'ensemble de ces présentations sera diffusée avec le CR de la réunion, et sera déposé sur le site web en construction (accessible au consortium).

- Discussions sur la représentativité de l'échantillonnage moyenné 2h :

La question de cette représentativité est posée pour les campagnes longues de 1 mois. Les variations journalières des concentrations en micropolluants ne sont pas prises en compte actuellement. Cela peut poser problème pour la comparaison avec les biotests in vivo. L'échantillonnage intégratif permet de répondre, en partie, à cet aspect de représentativité. Mais, il serait quand même utile (notamment pour l'interprétation des résultats issus des échantillonneurs intégratifs) de faire des analyses supplémentaires chimiques ciblées sur des échantillons moyennés 24h. Idem pour les biotests in vitro et le lien avec les biotests in vivo. Autre alternative à l'échantillonnage 24h : Tester 4 échantillons moyennés 2h à répartir dans la journée.

C Miège et F Serveto (aidées de JM Choubert) réfléchissent à la faisabilité du prélèvement moyen 24h et à **une manipe sur le sujet de la représentativité des échantillons 2h** ; elles échangent avec les partenaires avant de décider de la marche à suivre. Cette manipe doit être organisée pour la prochaine campagne longue à Bernières sur mer.

- Pour la prochaine campagne longue à Bernière sur mer, et en fonction des résultats de la première campagne, prévoir **un système d'agitation dans les aquarium des échantillonneurs intégratifs**. Voir si possible de transposer l'agitation du système de calibration des POCIS en laboratoire + modifier la disposition des POCIS. A réfléchir / murir par Cécile Miège, Romain Jacquet, Hélène Budzinski. Attention à garder en plus la configuration de la campagne 1, pour rester comparable entre la campagne 1 et 2 sur Bernières sur mer.

- Avant la prochaine campagne longue à Bernière sur mer, prévoir de **faire venir un spécialiste pour vérifier le système électrique**. A organiser par F Serveto avec l'exploitant et le responsable de l'électricité sur la région (Mr Legrand). Voir si intéressant de prévoir un

groupe électrogène en relais pour la prochaine expérimentation. Ou encore, demander un apport électrique à EDF (suggestion d'O Geffard hors réunion).

- C Miège et F Serveto doivent voir si possible de faire des **échantillonnages supplémentaires pour les biotests in vitro lors des prochaines campagnes longues** (à J14 et J28 en plus de J0). Ceci ne représente pas de contraintes lourdes pour les laboratoires mettant en œuvre ces biotests, mais la contrainte est plus lourde pour le Cemagref qui réalise l'échantillonnage ponctuel et prépare les extraits communs.

- Consignes générales à suivre lors des prochaines campagnes :

- Attention aux personnes sur le terrain à **bien coder les POCIS et SPMD avec PRC et sans PRC**, de façon à éviter les « mauvaises surprises » sur les résultats des biotests in vitro et des analyses chimiques ciblées.
- Compte tenu du faible volume d'extrait d'échantillonneur intégratif prévu pour les biotests in vitro (contrainte de place sur le terrain), il faudra **pré-cibler le type de biotest in vitro à réaliser sur les extraits d'échantillonneurs intégratifs**, en fonction des résultats préalables sur les échantillons d'eau.
- Pour les **biotests in vitro**, il faudrait (quand c'est possible) faire **des triplicats d'échantillonneurs intégratifs** lors des prochaines campagnes (au moins quand il y a la place disponible, par exemple dans le cas d'exposition directement dans le canal de la station).
- Attention à bien **mesurer le débit dans les aquarium** des échantillonneurs intégratifs.
- Attention à **réaliser les biotests in vivo en laboratoire sur les boues non tamisées et non débarrassées des copeaux**. On choisit de ne pas modifier le produit reçu, on garde les copeaux (même si effet de dilution) car c'est le produit épandu.
- Attention à **réaliser les biotests in vivo en laboratoire sur les eaux filtrées** (GFF Whatman 0,7 µm calciné).

- **D'ici la fin de l'année** et pour préparer la prochaine campagne longue de Bernières sur mer (repoussée à mars 2012), **chacun doit faire** le point sur ses premiers résultats, sous la forme d'**un mini rapport à envoyer, via les responsables de tâche, à C Miège**. Il s'agit, en particulier, des résultats :

- de mesure d'accumulation de micropolluants dans les POCIS (Hélène Budzinski),
- de biologie in vivo et in vitro, sur eaux et sur extraits POCIS et SPMD (Selim Ait-Aissa, Jérôme Cachot, Olivier Geffard, Y Levi, Pascal Pandard).

Dans ce mini rapport, faire ressortir dans les conclusions : les questions en suspend et donner un avis sur « prêts ou non pour réaliser la prochaine campagne », et si non pourquoi.

- A propos des tests préliminaires pour biotests in vitro (Sélim Aït-Aïssa) :

- Il reste à **finaliser l'interprétation des résultats sur un aspect plus quantitatif**. Il faudra donner une valeur d'équivalent toxique dans l'échantillon de départ. L'extraction liquide/liquide donne des faux positif (pour les blancs).
- **Décider si utile ou non de tester/comparer un protocole SPE méthanol et SPE méthanol/dichlorométhane**, pour la prochaine campagne de Bernières sur mer.
- **Manipes test NALGENE** en cours pour la démarche EDA (planifiée entre EPOC-LPTC et l'INERIS, réalisée fin 2011, début 2012).

- A propos des tests préliminaires pour le Microtox appliqué aux boues (J Cachot) :

- De façon à pouvoir comparer le test Microtox avec les biotests in vitro, il faudrait **tester le Microtox sur des extraits organiques préparés pour les biotest in vitro**.

- Par ailleurs, il est décidé en séance de **réaliser le test Microtox sur boues fraîches** (selon préconisation d'utilisation du test). Pour information, Hélène Budzinski mentionne un projet qui a permis de montrer que les résultats sur boues lyophilisées sont plus homogènes que sur boues fraîches.
- **Tester le Microtox sur les éluviats de boue de P Pandard** (pour comparaison). A organiser par J Cachot et P Pandard.
- F Serveto doit re-**préciser à P Pandard et J Cachot le planning d'arrivée des échantillons frais** dans leurs laboratoires.

- Screening par **GC-2D-MS(TOF)** : Prévoir que **des screening devront être réalisés lors de la démarche EDA**, dans un 2^{ème} temps.

- Rappel de ce qui a été décidé sur la **démarche EDA** : La sélection des échantillons sur lesquels il faudra réaliser la démarche EDA ne peut se faire qu'à posteriori. Cela concerne les échantillons d'eaux, boues et extraits d'échantillonneurs pour lesquels une bioactivité aura été détectée dans un premier temps. Donc, dans un premier temps, nous avons prévu le stockage (au LPTC, dans du nalgène) des échantillons des campagnes ECHIBIOTEB mettant en jeu des pilotes. Pour les autres campagnes (hors pilote), on pourra organiser de nouvelles campagnes d'échantillonnage après sélection des sites présentant un intérêt.

- Les **boues** prélevées lors des précédentes campagnes sont actuellement **stockées congelées au Cirsee**. Cécile Miège doit décider, en concertation avec les personnes concernées de ce qu'on en fait (où les stocker, comment les préparer –broyage, séchage - et puis les répartir ?).

- Les **questions restées en suspens** : Il faut organiser les échanges pour que des décisions soient prises sur :

- Le choix de protocoles pour l'extraction des échantillonneurs (POCIS et SPMD pour les analyses chimiques ciblées réalisées au CIRSEE, SPMD pour les screening chimiques réalisés au CIRSEE, SPMD pour les biotests in vitro, SPMD pour la démarche EDA). **C Miège organise les échanges pour décider sur les SPMD, et H Budzinski sur les POCIS.**
- Choix de protocoles pour l'extraction des boues pour les biotests in vitro, **S Aït Aïssa organise les échanges pour décider.**
- Organisation des tests MOD in situ **Yves Dudal organise les échanges nécessaires.**

- Les **tests MOD**, compte-rendu de la discussion téléphonique entre Cécile Miège et Yves Dudal (du 3 octobre) :

- Les tests pourront être réalisés **sur le Cu**,
- Envulure est intéressé à **développer le test sur différentes molécules fluorescentes du projet ECHIBIOTEB** (représentatives des grandes familles de composés). Ce développement sera réalisé tout au long du projet, et pas uniquement la première année. Pour ne pas perdre les bénéfices des premières campagnes, et tester sur toutes les molécules pour tous les échantillons, ceux-ci seront conservés congelés.
- Initialement le test n'était prévu que sur les échantillons des campagnes longues. Pour peaufiner le développement du test, le Cemagref doit envoyer **aussi les échantillons des campagnes courtes.**
- Les informations sur les **concentrations en carbone organique dissous** sont primordiales pour interpréter le test.
- Envulure envisage la possibilité d'**un dépôt de brevet** sur ce test.

- **Prochaine réunion** avec tout le consortium : à planifier pour **fin mai** 2012. Cécile Miège propose un « doodle » pour fixer la date début janvier 2012.