



HAL
open science

Caractérisation du potentiel toxique des eaux urbaines par bioessais – Cas de l’agglomération parisienne

R. Moilleron, C. Morin, L. Paulic, A. Marconi, V. Rocher, R. Mailler, Adèle
Bressy, L. Garrigue-Antar

► To cite this version:

R. Moilleron, C. Morin, L. Paulic, A. Marconi, V. Rocher, et al.. Caractérisation du potentiel toxique des eaux urbaines par bioessais – Cas de l’agglomération parisienne. TSM. Techniques Sciences Méthodes – Génie urbain, génie rural, 2020, 12, pp.175-194. 10.36904/tsm/201912175 . hal-02935113

HAL Id: hal-02935113

<https://hal.science/hal-02935113>

Submitted on 10 Sep 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L’archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d’enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

1 **CARACTERISATION DU POTENTIEL TOXIQUE DES EAUX URBAINES PAR BIOESSAIS - CAS DE**
2 **L'AGGLOMERATION PARISIENNE**
3 **CHARACTERIZATION OF THE TOXIC POTENTIAL OF URBAN WATER BY BIOASSAYS - CASE OF**
4 **THE PARIS CONURBATION**

5 **Moilleron Régis^{1*}, Morin Christophe¹, Paulic Laurent², Marconi Anthony², Rocher Vincent³, Mailler**
6 **Romain³, Bressy Adèle⁴, Garrigue-Antar Laure¹**

7 ¹ Leesu, 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil Cedex

8 ² Tame-Water (ex TRONICO VigiCell), 3 Rue Jean Jaurès, 85000 La Roche-sur-Yon

9 ³ SIAAP – Direction Innovation Environnement, 92700 Colombes

10 ⁴ Leesu, 6-8 avenue Blaise Pascal, Champs sur Marne, 77455 Marne-la-Vallée Cedex 2

11 *moilleron@u-pec.fr, 01 82 39 21 24

12 **CATEGORIE DE L'ARTICLE** : Retour d'expérience

13 **FORMAT DE L'ARTICLE** : Article scientifique

14

15 **Résumé**

16 Dans un cadre réglementaire, la qualité d'une eau est souvent évaluée en comparant des concentrations de
17 substances individuelles à des seuils comme, par exemple, les normes de qualité environnementale. Cette
18 approche, bien que robuste, présente certaines limites. La seule information sur la présence de
19 contaminants ne suffit pas à quantifier l'impact ou le potentiel toxique de ces eaux ; l'information reste
20 « individuelle » à l'échelle de substances, pour lesquelles suffisamment de données écotoxicologiques
21 existent, sans permettre d'évaluer l'effet cocktail qui pourrait en résulter. Les bioessais sont des méthodes
22 globales et intégrées qui fournissent des informations sur le potentiel toxique de l'échantillon considéré voire
23 sur la toxicité spécifique de certains groupes de substances. Notre démarche a donc consisté à suivre le
24 potentiel toxique de différents échantillons d'eaux urbaines (effluent hospitalier, eaux usées à l'exutoire de
25 deux sous-bassins de la ville de Paris, eaux usées en entrée de station d'épuration et eau épurée,
26 déversoirs d'orage) en utilisant trois panels : Toxicité générale (8 bioessais sur algues, bactéries,
27 champignons et cellules humaines), Génotoxicité (3 bioessais sur bactéries et cellules humaines),
28 Perturbation endocrinienne (6 bioessais sur cellules humaines). Les résultats montrent que les déversoirs
29 d'orage apportent un excès de toxicité au milieu récepteur. Sur l'ensemble des émissaires, toutes les
30 dimensions de la toxicité ont, à un moment ou un autre, été observées. La comparaison entre entrée et
31 sortie de station d'épuration semblerait indiquer que l'abattement des paramètres physico-chimiques ne se
32 retrouve pas pour les indicateurs de la toxicité. Cependant, des études complémentaires sur ce type
33 d'échantillons sont nécessaires pour confirmer ou non cette première tendance.

34 **Mots-clés** : Bioessais, eaux usées urbaines, génotoxicité, toxicité, perturbateurs endocriniens

35 **Abstract**

36 *In a regulatory framework, water quality is often assessed by comparing concentrations of individual*
37 *substances with thresholds such as environmental quality standards. This approach, although robust,*
38 *presents some limitations. Information on the presence of contaminants alone is not sufficient to quantify the*
39 *impact or toxic potential of these waters; the information remains "individual" at the level of substances for*
40 *which sufficient ecotoxicological data exist, without allowing the potential cocktail effect to be assessed.*
41 *Bioassays are global and integrated methods that provide information on the toxic potential of the sample*
42 *under consideration and even on the specific toxicity of certain groups of substances. Our approach*
43 *therefore consisted in monitoring the toxic potential of various urban water samples (hospital effluent,*
44 *wastewater at the outlet of two sub-basins of the City of Paris, wastewater at the inlet of a wastewater*
45 *treatment plant and treated water, combined sewer overflows) using three panels: General toxicity (8*
46 *bioassays on algae, bacteria, fungi and human cells), Genotoxicity (3 bioassays on bacteria and human*
47 *cells), Endocrine disruption (6 bioassays on human cells). The results show that combined sewer overflows*
48 *bring excess toxicity to the receiving environment. Indeed, all the dimensions of toxicity have, at one time or*
49 *another, been observed in the emissaries as a whole. The comparison between the inlet and outlet of*
50 *wastewater treatment plants seems to indicate that the reduction found for the physico-chemical parameters*
51 *is not observed for toxicity indicators. However, further studies on these types of samples are required to*
52 *confirm, or not, this trend.*

53 **Keywords**: Bioassays, urban wastewater, genotoxicity, toxicity, endocrine disruptors

54

55 Introduction

56 Depuis l'implémentation de la Directive cadre sur l'eau ou DCE (European Commission, 2000) pour prévenir
57 et réduire la pollution des eaux de surface, les concentrations dans le milieu sont comparées aux Normes de
58 Qualité Environnementale (NQE). Les NQE sont utilisées pour évaluer (i) l'état chimique, qui concerne les
59 substances « prioritaires » et « dangereuses prioritaires » de la DCE et (ii) l'état chimique dans l'état
60 écologique, qui concerne les polluants spécifiques de l'état écologique (PSEE) de la DCE. Dans ce contexte,
61 au niveau européen, 53 substances définissent le bon état chimique et environ une trentaine de substances
62 contribuent à l'état écologique des eaux de surface. Des informations pertinentes sont nécessaires pour
63 évaluer la qualité des eaux de surface : niveaux de contamination par les substances prioritaires mais aussi
64 potentiel toxique que cette contamination génère.

65 Les approches par mesures physico-chimiques traditionnelles, bien que robustes, montrent leurs limites car
66 trop souvent cantonnées aux espèces imposées par la réglementation et ne considérant pas les métabolites.
67 De plus, la seule information sur la présence de contaminants ne suffit pas à quantifier l'impact ou le
68 potentiel toxique de ces eaux ; elle reste « individuelle » à l'échelle de chaque substance sans permettre
69 d'évaluer l'effet cocktail qui pourrait en résulter. Aussi, il est nécessaire d'évaluer la toxicité ou le potentiel
70 toxique via des tests adaptés intégratifs, devant être suffisamment sensibles pour « répondre » à des
71 concentrations proches des NQE, voire en dessous de ce seuil, et fournir des éléments en termes de
72 potentiel toxique « global » (Wernersson et al., 2015). En particulier, les bioessais représentent une avancée
73 dans la surveillance de la qualité de l'eau dans l'environnement (Jarošová et al., 2014 ; Brack et al., 2015 ;
74 Brack et al., 2019). Les méthodes basées sur le suivi des effets biologiques (bioessais *in vitro*, *in vivo* et
75 biomarqueurs) sont des approches pertinentes, efficaces et complémentaires des analyses physico-
76 chimiques (Leusch et al., 2014 ; Nelson et al. 2007 ; Tang et al. 2014 ; Prasse et al., 2015 ; Wernersson et
77 al. 2015).

78 Les bioessais ont été régulièrement utilisés afin d'évaluer la toxicité des rejets de station de traitement des
79 eaux usées (STEU). Loos et al. (2013) ont analysé dans les effluents de 75 STEU européennes 156
80 substances polaires organiques et évalué l'activité œstrogénique ainsi que la toxicité aiguë mettant en
81 évidence une toxicité significative de certains effluents. Cargouët et al. (2004) ont de même suivi le potentiel
82 œstrogénique des eaux usées brutes, des eaux traitées en sortie de station de traitement des eaux usées
83 (STEU) et dans le milieu récepteur. Aït-Aïssa et al. (2017) rapportent que les sources principales de potentiel
84 de perturbation endocrinienne sont les eaux usées et que celui-ci est fortement éliminé par les procédés de
85 traitements. Cependant, il persiste un transfert des composés œstrogéniques vers le milieu naturel par les
86 STEU qui pourrait être réduit par la mise en place de traitements tertiaires. Du Pasquier et al. (2015) ont par
87 exemple montré l'existence de variabilité temporelle du potentiel de perturbation endocrinienne en entrée et
88 en sortie d'une unité de traitement tertiaire par charbon actif.

89 Toutefois, les études utilisant les bioessais ne permettent généralement pas d'identifier l'origine de la toxicité
90 mais conduisent à la caractérisation de celle-ci. Pour comprendre l'origine de la toxicité observée, une étude
91 plus en amont dans le cycle de l'eau, au niveau des rejets urbains, par temps sec (rejets de station
92 d'épuration) comme par temps de pluie (déversoirs d'orages traités ou non, rejets de station d'épuration en
93 configuration « pluie », etc.) permettrait d'identifier l'origine des apports toxiques au milieu récepteur et
94 d'orienter des mesures préventives. Il nous a semblé également pertinent de remonter encore plus à l'amont

95 du cycle en s'attachant à suivre l'évolution du potentiel toxique des eaux urbaines résiduares de leur
96 génération au niveau des particuliers comme à celui des industriels raccordés, à leur rejet vers le milieu
97 récepteur après traitement. Cette approche est complémentaire de celle proposée dans le cadre du
98 diagnostic amont préconisé dans la note technique du 12 août 2016¹ qui se concentre sur la recherche de
99 96 substances (Lagarrigue et al., 2018 ; Moilleron et al. 2019). La démarche retenue dans le cadre de cette
100 étude, dite « par matrice », se rapproche de celle de l'Évaluation des Risques Écotoxicologiques ou
101 approche ÉRÉ (Boillot, 2008) qui consiste à évaluer l'impact sur les écosystèmes d'un mélange. Cette
102 démarche s'appliquant au milieu urbain et non au milieu récepteur est originale surtout à l'échelle de
103 l'agglomération parisienne. Nous nous sommes appuyés sur la plateforme de services en bioessais
104 cellulaires *in vitro* de Tame-Water, partenaire de cette action, qui étudie une diversité d'effets (létaux, sub-
105 létaux, marqueurs spécifiques, etc.) sur plusieurs organismes (algues, bactéries, champignons et cellules
106 humaines). En effet, relever un seul type d'effet sur un seul organisme peut conduire à nombre de faux
107 négatifs, dans la mesure où la toxicité mesurée peut ne pas s'exprimer dans les conditions de réalisation
108 (temps d'exposition, paramètre mesuré) d'un bioessai donné (Charissou et al., 2006 ; Connon et al., 2012). Il
109 en est de même pour l'organisme modèle qui peut s'avérer pas ou peu sensible à une toxicité donnée. *In*
110 *fine* notre objectif est de présenter les limites et performances des bioessais pour évaluer l'impact des
111 polluants émergents sur le vivant par leur application systématique à différents types d'eau rencontrés en
112 milieu urbain.

113

114 **2. Matériels et méthodes**

115 Les bioessais sélectionnés permettent de mettre en évidence la présence de polluants de différentes
116 origines pouvant induire des effets les plus variés possibles sur des organismes cibles pertinents pour en
117 évaluer l'impact. Pour cela, trois panels de bioessais thématiques et fonctionnels ont été choisis : toxicité
118 générale, génotoxicité, perturbation endocrinienne. L'ensemble des bioessais a été appliqué à un large
119 spectre d'eaux rencontrées en milieu urbain afin d'évaluer leur performance et déterminer si certains d'entre
120 eux pourraient s'avérer plus pertinents que d'autres en fonction du contexte. La durée d'exposition des
121 bioessais varie d'un test à l'autre pour prendre en compte la réponse biologique de l'organisme ciblé. La
122 stratégie adoptée est de type "Whole Effluent Testing" dans laquelle les eaux sont filtrées à 0,22 µm afin
123 d'éliminer les microorganismes présents dans l'échantillon brut. Les tests sont réalisés dans une gamme de
124 pH compris entre 5,5 à 8 et celui-ci peut être ajusté le cas échéant. Chaque bioessai a été réalisé en
125 triplicat. Le tableau 1 présente les campagnes d'échantillonnage et le tableau 2 les éléments
126 méthodologiques relatifs aux bioessais.

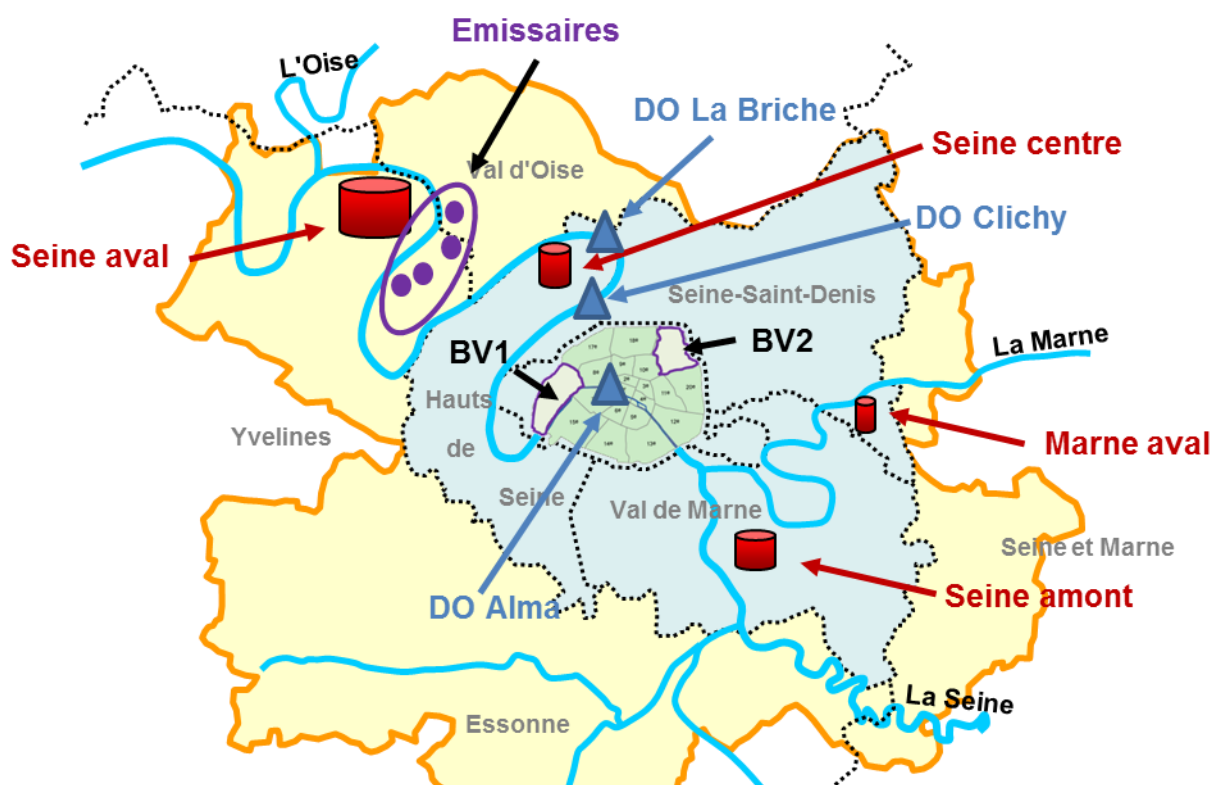
127 **2.1 Sites d'études**

128 Quarante échantillons ont été collectés à l'échelle de l'agglomération parisienne par les équipes techniques
129 de la ville de Paris et du SIAAP (Figure 1). Ces échantillons concernent un hôpital parisien (HOP, n=1), les
130 exutoires de deux bassins versants (BV) situés dans les 16^e (BV1, n=3) et 19^e (BV2, n=3) arrondissements
131 de Paris, les principaux émissaires (EM, n=11) du SIAAP pour les eaux résiduares urbaines (tous situés à

¹ Note technique du 12/08/16 relative à la recherche de micropolluants dans les eaux brutes et dans les eaux usées traitées de stations de traitement des eaux usées et à leur réduction (BO du MEEM n° 2016/15 du 25 août 2016)

132 l'Ouest de Paris), trois déversoirs d'orage (DO, n=5) de La Briche, Clichy et Alma, et, enfin, les eaux usées
133 en entrée des STEU (ENT_STEU, n=11) de Seine Amont (SAM), Marne Aval (MAV) et Seine Centre (SEC)
134 ainsi que les eaux traitées (SOR_STEU, n=6) de Seine Centre et Seine Aval (SAV). Les deux BV parisiens
135 concernent des zones densément urbanisées du centre de Paris sans grande différence d'activités, même si
136 le BV1 correspond à un quartier plus aisé que le BV2. Les DO assurent l'évacuation des eaux unitaires
137 (mélange d'eaux usées et d'eaux pluviales) excédentaires vers la Seine lors d'événements pluvieux
138 importants. Ceux de Clichy et La Briche représentent plus de 80 % des volumes totaux déversés par les DO
139 du SIAAP.

140 Les échantillons ont été collectés à l'aide de préleveurs automatiques asservis au débit de mi-2015 à mi-
141 2017 (Tableau 1). En dehors des DO, toutes les campagnes ont été réalisées par temps sec. Les quatre
142 événements échantillonnés pour les DO correspondent à des hauteurs de pluie comprises entre 5 et 15 mm.
143 Les prélèvements sont conservés dans des bouteilles en verre ambré à 4°C pendant au maximum 24 h
144 avant la réalisation des bioessais. Les paramètres physico-chimiques classiques ont été mesurés et ont
145 validé la représentativité des échantillons pour chaque type d'eau (Zedek 2016).



146
147 **Figure 1. Localisation des sites d'échantillonnage**
148

149 **Tableau 1. Campagnes d'échantillonnage des différents types d'eaux suivies en milieu urbain**
150

151 2.2 Panel de toxicité générale

152 L'objectif du panel de toxicité générale est d'évaluer la présence d'éléments induisant une toxicité de manière
153 générale, non spécifique et quelle qu'elle soit, sur des organismes cibles variés tels que des bactéries, des
154 algues vertes, des mycètes et des cellules humaines représentant une grande partie de la diversité d'un milieu

155 récepteur. Quel que soit l'organisme cible, la toxicité générale est évaluée au travers de la mesure de sa
156 croissance ou de sa viabilité (cytotoxicité). Les différents bioessais de toxicité générale, réalisés sur 3 types
157 d'organismes (bactéries, algues et mycètes), utilisent la même approche d'analyse de leur croissance par
158 turbidimétrie, en mesurant l'absorbance à 600 ou 750 nm avec un spectrophotomètre. L'absorbance mesurée
159 étant proportionnelle au nombre de cellules présentes dans la suspension test, une relation peut être établie
160 entre le nombre de cellules et la présence de polluants modifiant (accélération ou diminution) cette croissance
161 cellulaire. La mesure de la viabilité cellulaire mise en œuvre sur les cellules humaines est réalisée par
162 ATPmétrie, reflet des cellules fonctionnelles en solution.

163 Les bioessais bactériens sont réalisés sur 2 souches Gram négatives type *Escherichia coli* sélectionnées sur
164 la base d'antibiogrammes et résistances différentiels : l'une est normale et l'autre sensible. La souche
165 normale a une paroi résistante aux antibiotiques (Ruiz et al., 2005). *A contrario*, la souche sensible possède
166 une membrane externe défectueuse et perméable, donc plus sensible à certains détergents et antibiotiques
167 ciblant les enzymes de la biosynthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne (Ruiz et al., 2005). Le
168 contraste éventuel entre les réponses de ces souches permet de graduer et nuancer les niveaux de toxicité.

169 Les bioessais sur les algues vertes de la famille des protistes Chlorophytum utilisent deux souches de l'espèce
170 *Chlamydomonas reinhardtii* (souches sauvage et mutée) qui se différencient par leur sensibilité aux polluants
171 environnementaux en raison d'une mutation affectant la paroi cellulaire. La perturbation (augmentation ou
172 diminution) de la multiplication cellulaire est un marqueur non spécifique répondant à de nombreux polluants
173 (comme des métaux lourds, herbicides, HAP, alkylphénols...). Un effet mesuré sur cet organisme
174 photosynthétique peut mettre en évidence un impact plus général sur l'ensemble de l'écosystème aquatique
175 (Kumar et al., 2014). De plus, la forte conservation des photosystèmes des algues et des plantes supérieures
176 est également intéressante dans l'évaluation de l'impact de substances toxiques chez les végétaux non
177 aquatiques (Juneau et al., 2002 ; Prasad et al., 1998).

178 Les bioessais sur les mycètes (levures) sont basés sur 2 souches de *Saccharomyces cerevisiae*, l'une sauvage
179 et l'autre mutante, où les gènes de 7 transporteurs ABC et 2 facteurs de transcription ont été supprimés. Grâce
180 à ces suppressions génétiques multiples, cette souche présente une hypersensibilité à un grand nombre de
181 médicaments comme des antibiotiques, des antiseptiques voire des anticancéreux (Rogers et al., 2001). Un
182 test utilisant la souche de champignon filamenteux ascomycète *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*),
183 sensible à de multiples fongicides, est aussi effectué (Ghaffary et al., 2012).

184 La toxicité générale mesurée sur la lignée de cellules humaines (cellules mononucléées du sang périphérique,
185 PBMC) utilise une approche indirecte qui mesure la quantité d'ATP présente dans les cellules métaboliquement
186 actives et, par conséquent, le nombre de cellules viables dans la culture.

187

188 **2.3 Panel génotoxicité**

189 Le panel génotoxicité a été conçu pour détecter la présence de molécules capables d'induire soit directement,
190 soit indirectement, des dommages génétiques à des organismes exposés. Un bioessai est réalisé sur des
191 bactéries (souche *E.coli* RecA de la réponse SOS) et deux sur des cellules eucaryotes (cellules
192 d'adénocarcinome intestinal humain), métabolisant efficacement les bisphénols A et F (Audebert et al., 2011) et
193 des cellules d'adénocarcinome rénal humain, faiblement métabolisantes pour les bisphénols A, F et HAP

194 (Audebert et al., 2010). Deux cibles sont donc utilisées pour mettre en évidence les agents
195 génotoxiques/mutagènes, puisqu'un résultat sur un seul type cellulaire n'est pas suffisant pour conclure sur la
196 présence potentielle de molécules génotoxiques dans un échantillon. La génotoxicité a été mesurée par le test
197 H2AX sur les cellules humaines. Les cassures double-brin de l'ADN induisent la phosphorylation de l'histone
198 H2AX sur la sérine 139. Ce taux de phosphorylation de l'histone γ -H2AX reflète l'impact génotoxique (Rogakou
199 et al., 1998). La détection de ces cassures de l'ADN double-brin qui sont caractérisées par le rapport H2AX
200 phosphorylée/ADN total, est ainsi 20 à 50 fois plus sensible que le test comètes (Sharma et al., 2012). D'autre
201 part, dans le bioessai bactérien, des bactéries de souche *Escherichia coli* portant un plasmide dans lequel a été
202 fusionné un promoteur connu pour être activé par des agents génotoxiques (promoteur RecA de la réponse
203 SOS) avec le gène rapporteur luxCDABE de *Vibrio fischeri*, sont utilisées afin de mettre en évidence l'activation
204 de la signalisation de réparation des dommages à l'ADN grâce à la production de bioluminescence (Rosen et
205 al., 2000).

206
207 **Tableau 2. Éléments méthodologiques relatifs aux différents bioessais réalisés**
208

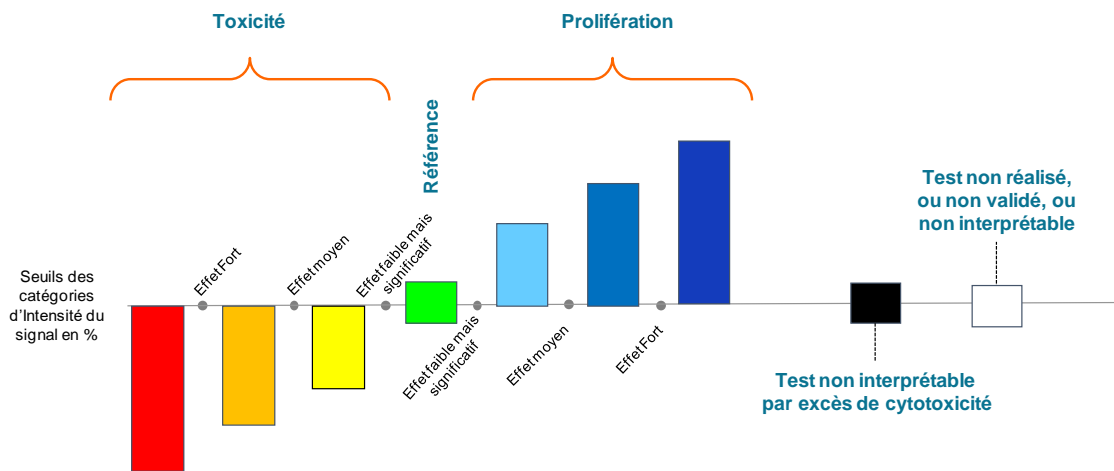
209 **2.4 Panel perturbateurs endocriniens**

210 La présence dans les échantillons de molécules capables d'induire des effets perturbateurs endocriniens a été
211 évaluée en utilisant des lignées cellulaires modifiées exprimant un gène rapporteur induisant une luminescence
212 sous contrôle d'un récepteur humain des œstrogènes (ER α), des androgènes (AR) ou des hormones
213 thyroïdiennes (TR). Les cellules MELN correspondent à des cellules d'adénocarcinome de sein humain
214 transfectées avec le gène de réponse aux œstrogènes (ERE- β Glob-Luc-SVNeo) pour la détection des
215 œstrogènes agonistes (Balaguer et al., 1999 ; Berckmans et al., 2007). Les cellules PALM sont obtenues par
216 transfection de cellules d'adénocarcinome de prostate humain avec le gène du récepteur aux androgènes
217 humain et du gène de la luciférase pour la détection des androgènes agonistes (Escande A., 2009). La lignée
218 HG5LN-TR est obtenue par transfection de cellules avec le plasmide rapporteur Gal4RE5-bGlob-Luc-SVNeo et
219 le récepteur thyroïdien afin de permettre la détection d'agonistes thyroïdiens dans les échantillons (Grimaldi et
220 al., 2015). Ces mesures quantitatives de la perturbation endocrinienne cible (ER α , AR ou TR) sont pondérées
221 par des mesures de viabilité cellulaire. Il est important de signaler que les tests antagonistes ne sont
222 interprétables qu'à partir du moment où aucun effet agoniste n'est observable.

224 **2.5 Exploitation des bioessais**

225 Chaque bioessai possède ses propres seuils, qui dépendent des caractéristiques de la réponse (prolifération ou
226 toxicité). Ces seuils ont été déterminés en s'appuyant sur la robustesse statistique et les caractéristiques des
227 réponses des modèles (Figure 2). Le passage d'une catégorie à une autre est spécifique à chaque test du
228 panel. Les indicateurs de prolifération sont présents dans les tests impliquant une potentielle multiplication
229 cellulaire et reflètent le fait que les eaux testées peuvent fournir soit des nutriments soit d'autres substances
230 favorisant la prolifération par rapport au contrôle. Les catégories orange et rouge correspondent à une toxicité,
231 générale ou spécifique avérée en fonction du panel. La barre jaune correspond à des réponses certes
232 statistiquement significatives mais toutefois modérées (inférieures à 20 % de réponse au-delà des variations de

233 la référence en vert). La couleur noire est utilisée dans les cas où la mortalité cellulaire empêche d'évaluer les
234 réponses des tests de toxicité spécifique (perturbateurs endocriniens ou génotoxicité, par exemple).



235

236 **Figure 2. Code couleur utilisé dans l'interprétation des réponses des bioessais des panels utilisés (d'après Tame-**
237 **Water)**

238

239 3. Résultats et discussion

240 L'ensemble des résultats des bioessais sont regroupés sous forme de « heatmap » : Figure 3 pour les
241 échantillons issus de HOP, BV et EM, Figure 4 pour les échantillons ENT_STEU et SOR_STEU et, enfin,
242 Figure 5 pour les échantillons appariés de la STEU de Seine centre, c'est-à-dire pour lesquels ENT_STEU
243 et SOR_STEU ont été prélevés le même jour, et les DO.

244 3.1 Toxicité générale

245 3.1.1 Bioessais sur souches bactériennes (sauvage et sensible)

246 L'ensemble des échantillons (HOP, BV, EM, DO et ENT_STEU) présentent globalement une toxicité très
247 marquée et comparable sur les 2 souches de bactéries, qu'elles soient normales ou perméables. Les
248 échantillons prélevés en sortie de STEU (SOR_STEU) apparaissent peut-être légèrement moins affectés
249 que les échantillons ENT_STEU sur les bactéries normales, mais la toxicité demeure élevée sur les
250 bactéries sensibles. La modification génétique rendant leur paroi défectueuse, elle ne les protège plus aussi
251 bien contre certaines substances dont certains antibiotiques, détergents, colorants...ce qui leur confère une
252 sensibilité non spécifique vis-à-vis de ces substances (Ruiz et al., 2005). Ce test peut donc permettre de
253 conclure sur la présence de telles substances dans ces échantillons, notamment des antibiotiques ainsi que
254 des détergents, fréquemment trouvés dans ces types d'eaux urbaines.

255 3.1.2 Bioessais sur algue verte (sauvage et sensible)

256 Dans ce test, comme pour le précédent, l'organisme muté utilisé présente une paroi cellulaire déficiente, et
257 est donc plus sensible à la présence de micropolluants (éléments traces métalliques, herbicides, HAP,
258 alkyphénols, etc.), qui peuvent avoir un effet délétère sur l'activité photosynthétique. Les résultats obtenus
259 sont moins homogènes que pour les bioessais sur souches bactériennes ; les différents échantillons, selon
260 leurs origines induisent des effets plus variés sur la souche à paroi normale. La souche sensible est
261 quasiment toujours affectée plus négativement lorsqu'elle a été utilisée. Sur la base des réponses observées

262 sur la souche à paroi normale, trois typologies de réponses peuvent être identifiées : un premier groupe
263 constitué de HOP et BV, induisant un effet marqué très fort et négatif, un deuxième groupe avec un effet
264 marqué très fort et positif, et très homogène (DO), un troisième comprenant des réponses variées (positives
265 et négatives selon les dates des prélèvements) pour les échantillons EM et ENT_STEU et SOR_STEU.

266 Ces résultats révèlent : (i) le caractère particulièrement homogène des DO en termes de profil de toxicité, qui
267 induisent systématiquement un impact toxique (pouvant être attribué à des contaminants comme des
268 éléments traces métalliques) ou prolifératif (associé à la présence de nutriments) (Kumar et al., 2014), (ii) la
269 variabilité des profils des EM, ENT_STEU et SOR_STEU, (iii) sur les échantillons prélevés le même jour
270 pour ENT_STEU et SOR_STEU, l'absence d'amélioration de la qualité après la STEU, (iv) un faible effet
271 discriminant du bioessai sur souche sensible (mutante), indiquant un effet toxique systématique sur toutes
272 les eaux, (v) une spécificité accrue avec les algues sauvages, si on considère d'une part l'effet positif
273 observé sur la croissance de cet organisme comme résultant de la présence de contaminants, par exemple
274 métalliques, ou d'éléments trophiques, et d'autre part l'effet négatif dû à des substances toxiques pour cette
275 souche représentative à la fois des organismes végétaux aquatiques et non aquatiques. Pour compléter les
276 résultats sur les DO, il serait intéressant d'en cerner l'impact sur le milieu récepteur en appliquant les
277 bioessais en rivière en amont et en aval d'un DO durant un événement.

278 3.1.3 Bioessais mycètes (*S.tritici*, *S. cerevisiae*)

279 Les profils obtenus pour les différents échantillons révèlent beaucoup moins d'effets délétères sur ces
280 organismes eucaryotes que sur les algues sauf de façon marginale (HOP, BV). On retrouve dans une
281 moindre mesure les groupes précédemment évoqués en 3.1.2. Les échantillons provenant des DO se
282 distinguent là-encore des autres pour les deux types de mycètes (*S tritici* et *S cerevisiae* normale, en
283 provoquant leur prolifération), ce qui témoigne de la présence de facteurs contaminants trophiques. La
284 souche de *S cerevisiae* mutante, de par ses caractéristiques génétiques, est notablement plus sensible que
285 la souche sauvage, comme en témoignent les résultats obtenus avec l'ensemble des prélèvements, qui
286 montrent de façon quasi uniforme un potentiel toxique d'intensité moyenne à forte. Ces résultats sont
287 cohérents avec le fait que *S tritici* est connu pour être sensible à de nombreux composés. Concernant les
288 seuls échantillons appariés (ENT_STEU et SOR_STEU) de Seine centre, l'abattement apparaît très limité
289 sur *S cerevisiae*, et sélectif pour *S tritici*, puisque l'échantillon SOR_STEU induit une prolifération. Un ou
290 plusieurs composés qui inhibaient auparavant la prolifération sont maintenant absents au profit d'autres
291 composés à effet pro-prolifératif. En entrée de STEU, les eaux usées brutes contiennent à la fois des
292 espèces toxiques et des nutriments, l'effet toxique prenant le pas sur l'effet prolifératif. En sortie de STEU,
293 les eaux traitées contiennent moins de contaminants, éliminés par les différents traitements mis en œuvre
294 dans la STEU (Deshayes, 2015 ; Zedek, 2016) favorisant la prolifération des mycètes.

295 3.1.4 Bioessai sur cellules humaines (PBMC)

296 Les échantillons présentent des effets faibles à moyens sur les PBMC, et ceux-ci peuvent être soit
297 cytotoxiques ou, au contraire, induire leur prolifération. De façon surprenante, les effets globalement
298 toxiques à très toxiques des DO ne sont pas retrouvés sur les PBMC. Concernant les échantillons d'entrée
299 et sortie appariés (ENT_STEU et SOR_STEU), deux types d'effets sont observés. D'une part, ceux-ci ont un
300 effet modérément toxique qui n'est pas abattu dans le rejet pour les prélèvements du 10/10/17, ou induisent
301 une prolifération importante témoignant de la présence de facteurs de croissance/hormonaux, qui se

302 trouvent significativement réduits dans les rejets (06/02/17). Dans l'ensemble, les effets toxiques semblent
303 très atténués, ce qui montre que ce test n'est pas très sensible mais permet néanmoins de mettre en
304 évidence la présence de facteurs de croissance cellulaire spécifiques des cellules humaines.

305 **3.2 Génotoxicité**

306 Ce panel est réalisé sur des bactéries et des lignées humaines. L'ensemble des résultats obtenus soulignent
307 que les échantillons montrent une génotoxicité globalement marginale, sauf l'échantillon HOP, au potentiel
308 un peu plus élevé que les autres prélèvements sur la lignée humaine au métabolisme normal. Dans le cadre
309 du projet MICROPOLIS Indicateurs, mené sur le territoire du Syndicat des Bouillides (dans les Alpes
310 Maritimes), Penru et al. (2017) ont mesuré la génotoxicité des eaux usées en différents points du réseau de
311 collecte jusqu'à la sortie de la STEU des Bouillides faisant apparaître eux-aussi un gradient de potentiel
312 génotoxique décroissant de l'amont à l'aval du réseau.

313 **3.3 Perturbation endocrinienne**

314 Dans ce panel, trois types d'agonistes hormonaux sont recherchés : œstrogéniques, androgéniques et
315 thyroïdiens en utilisant des lignées humaines génétiquement modifiées pour la mise en évidence de l'effet
316 supposé. L'ensemble des échantillons testés fait globalement apparaître une activité agoniste très forte
317 d'hormones œstrogéniques. Les activités les moins élevées sont obtenues dans les échantillons
318 SOR_STEU. Concernant les échantillons d'entrée et sortie appariés (ENT_STEU et SOR_STEU), on note
319 un abattement de quasiment la moitié de l'activité (campagne du 10/10/17) contre environ 15 % pour la
320 campagne du 06/02/17. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Du Pasquier et al. (2018), qui montrent
321 que l'abattement du potentiel endocrinien est total dans la majorité des cas après l'étape de traitement
322 biologique mais qui mentionnent des abattements ponctuellement médiocres, d'environ 40 %, probablement
323 dépendants de la composition de l'effluent considéré. Il est cependant difficile de tirer des conclusions
324 définitives sur un nombre réduit de prélèvements appariés, limite mentionnée du fait d'une variabilité du
325 potentiel endocrinien selon les dates de prélèvement (Du Pasquier et al, 2018). De même, Penru et al.
326 (2017) rapportent que l'activité œstrogénique peut présenter des niveaux élevés en entrée de STEU, abattus
327 à plus de 90 % en sortie du traitement tertiaire par ozonation.

328 En ce qui concerne les tests mettant en évidence les effets œstrogéniques antagonistes, du fait de la
329 dominance large de l'effet agoniste dans la quasi-totalité des échantillons quelle que soit leur origine, il n'est
330 pas possible de les quantifier avec précision. Dans ce cas, seule une appréciation qualitative peut être
331 attribuée au test indiquant la présence ou non d'une activité antagoniste. Les deux autres tests, agonistes
332 comme antagonistes androgène/thyroïdien, sont quant à eux globalement non significatifs, sauf cas isolés
333 pour BV, EM, ENT_STEU, et dans des prélèvements relativement contaminés (HOP, DO), ceux-ci
334 demeurant toutefois modestes par rapport aux niveaux observés dans le test agoniste œstrogène. D'une
335 manière générale, les profils d'activités montrent une graduation depuis le réseau d'eaux usées vers la
336 STEU puis vers le milieu naturel.

337

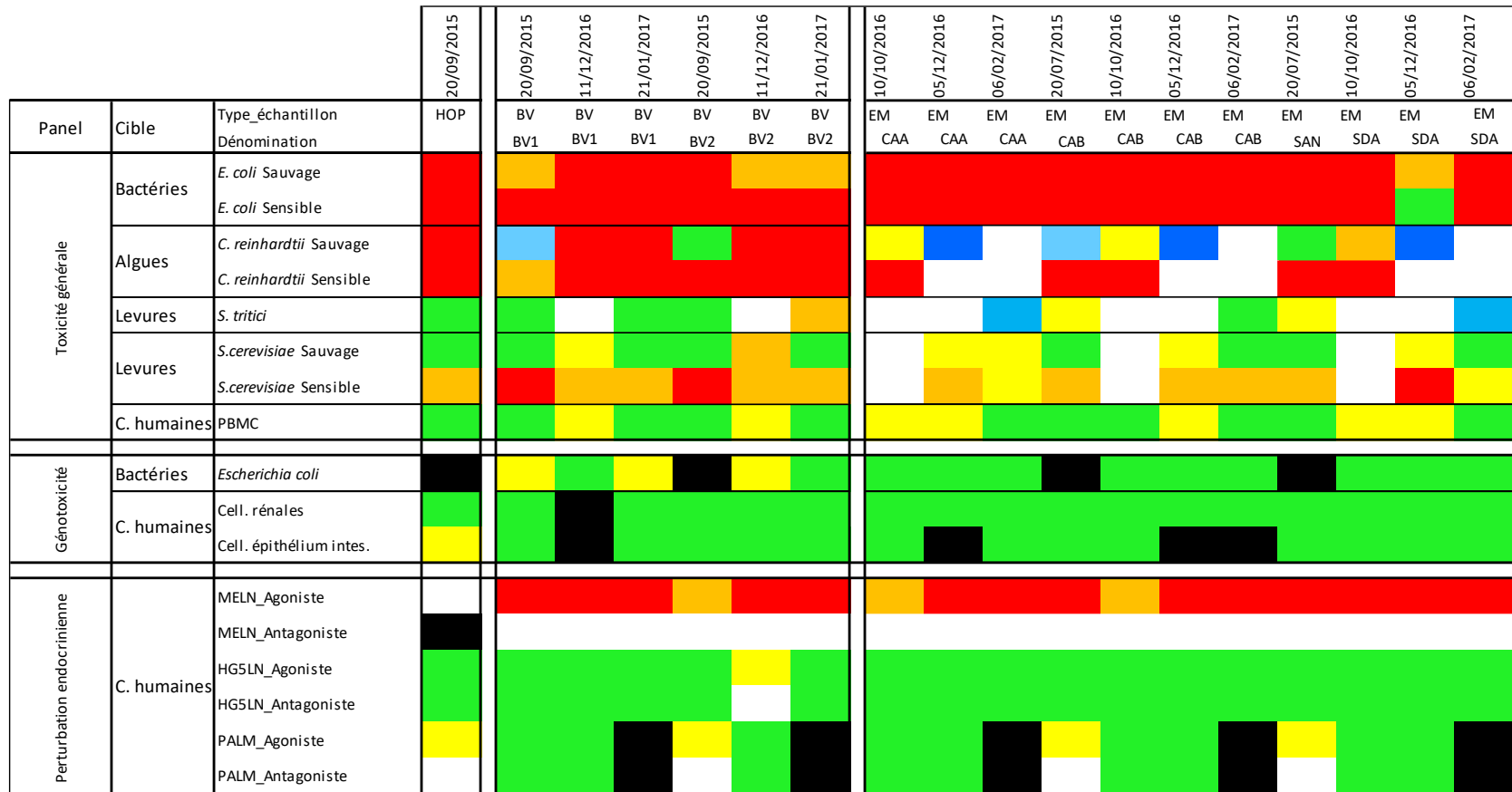


Figure 3. « Heatmap » des potentiels toxiques observés sur les échantillons prélevés en hôpital, à l'exutoire des bassins versants et dans les émissaires

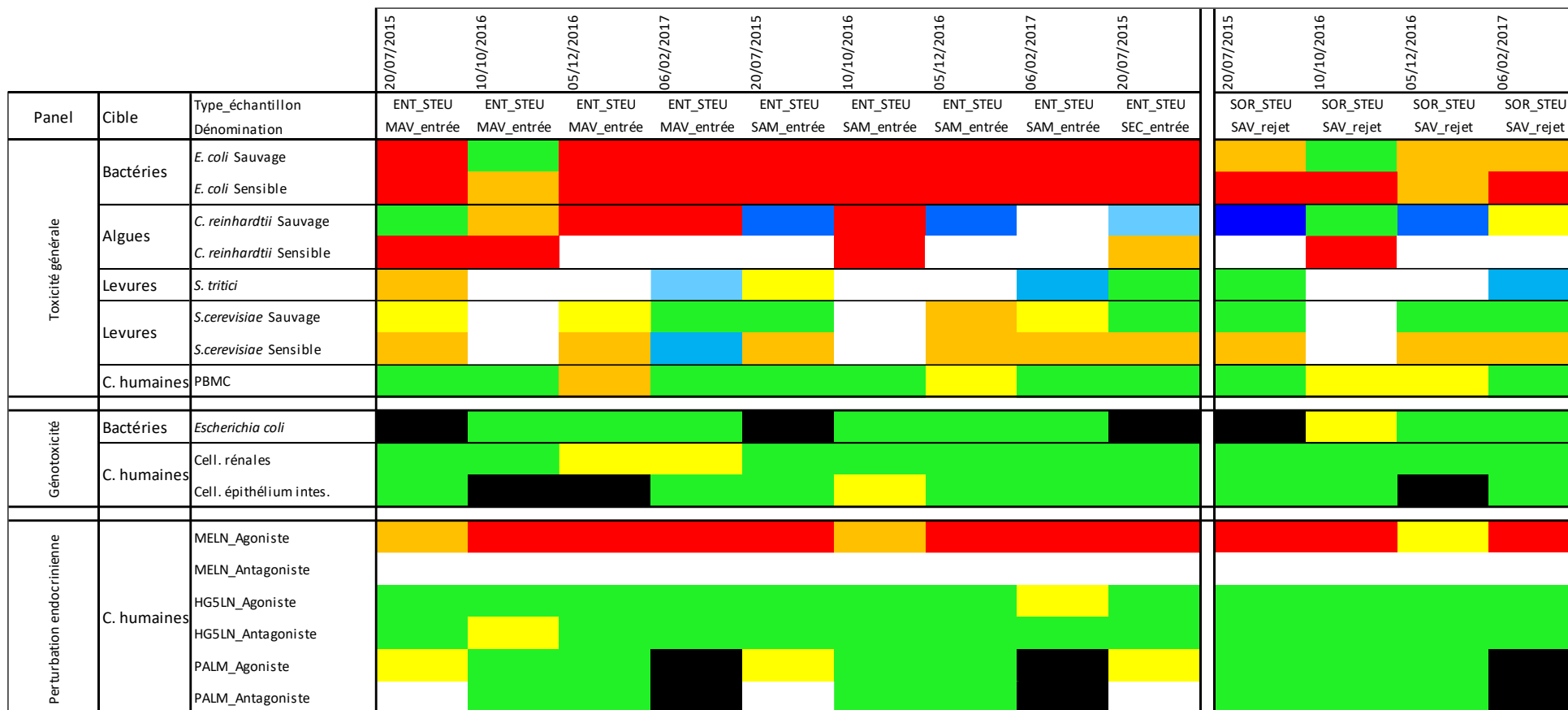


Figure 4. « Heatmap » des potentiels toxiques observés en entrée et sortie des principales STEU de l'agglomération parisienne

342

343

344

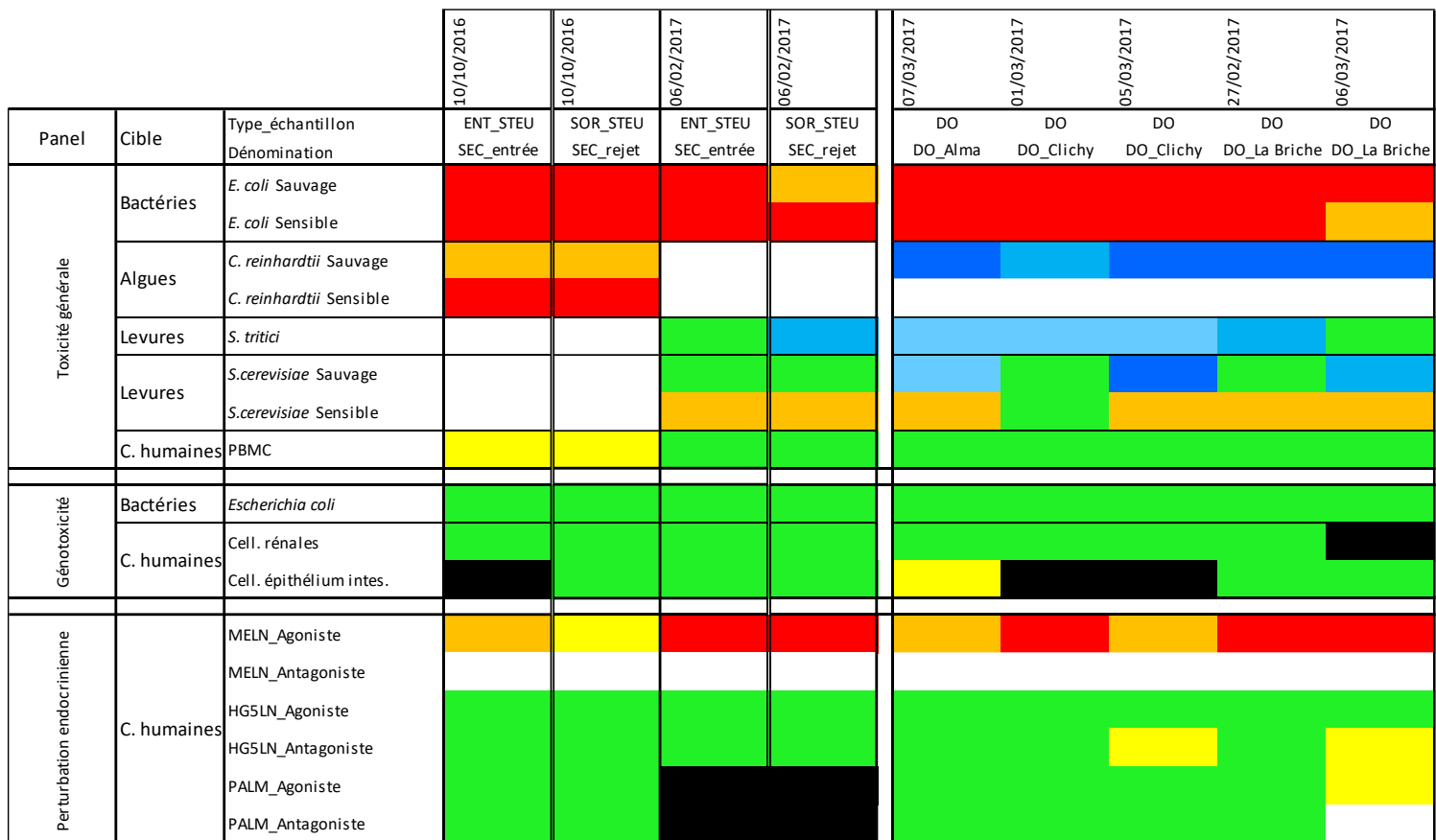


Figure 5. « Heatmap » des potentiels toxiques observés en entrée et sortie de la STEU de Seine centre et sur les déversoirs d'orage

345

346

347

348

349

350 **Conclusion**

351 Notre étude montre que l'approche par panels de bioessais sur des organismes multiples est pertinente pour
352 évaluer l'impact toxique des polluants émergents présents dans différents types d'effluents urbains. Nos
353 résultats permettent d'effectuer un classement des sites étudiés en fonction des réponses biologiques
354 obtenues dans les différents panels, plaçant les effluents des STEU Marne aval et Seine amont largement
355 devant ceux de la STEU Seine centre en termes d'impacts toxiques, tous panels confondus. De même, les
356 déversoirs d'orage apportent un excès de toxicité au milieu récepteur, et les BV présentent des toxicités
357 importantes mais variables, probablement liées aux activités qui y sont menées. Enfin, nos résultats
358 indiquent que l'abattement obtenu pour les paramètres physico-chimiques ne semble pas être retrouvé pour
359 les indicateurs de la toxicité, au moins pour les deux échantillons appariés entrée/sortie étudiés issus de la
360 STEU de Seine centre, ce qui reste à confirmer, ou non, sur un plus grand nombre d'échantillons ou avec
361 d'autres bioessais.

362 Nos résultats permettent également d'atteindre l'objectif d'identifier les bioessais les plus informatifs pour les
363 eaux urbaines : dans le panel Toxicité générale, les tests sur la bactérie sauvage et mutée, l'algue verte
364 sauvage et mutée, le champignon filamenteux et les cellules sanguines humaines apparaissent les plus
365 pertinents pour donner une idée globale du potentiel toxique de l'échantillon au travers d'un choix
366 d'organismes représentatifs et suffisants. Le panel Génotoxicité réagissant de manière faible dans son
367 ensemble, il pourrait se limiter au test bactérien. Cependant, utiliser un seul type d'essai est sujet à générer
368 de faux négatifs (Magdeburg et al, 2014). Enfin, le panel Perturbation endocrinienne peut se suffire de la
369 recherche d'agonistes/antagonistes œstrogéniques, puisque les tests androgènes et thyroïdiens ne
370 répondent que très faiblement ou pas du tout, ce qui témoigne soit d'une sensibilité ou d'une spécificité
371 insuffisante de ces tests à leur présence, masquée par d'autres contaminants, soit d'une absence ou de la
372 rareté de ces composés dans la plupart des prélèvements. Le test œstrogénique agoniste, en englobant des
373 effets agonistes et antagonistes divers, peut refléter plus généralement un potentiel perturbateur
374 endocrinien.

375 Il n'y a pas eu la volonté de relier le potentiel toxique observé à la composition chimique de l'échantillon.
376 Zgheib (2009) a montré qu'il était difficile de quantifier l'ensemble des contaminants présents dans un
377 échantillon. La variété et les actions des polluants d'intérêt dépassent largement le cadre des contaminants
378 historiques bien connus tels que les pesticides, HAP, PCB, etc. (Williams et al., 2009). En effet,
379 l'élargissement de la liste des contaminants suivis réalisé par Zgheib (2009) a clairement mis en évidence
380 que les contaminants les plus observés (en fréquence d'observation et/ou concentration) n'étaient pas
381 forcément ceux retenus par la DCE. De plus, il avait été volontairement décidé de ne pas intégrer dans cette
382 liste les produits pharmaceutiques et produits de soins corporels alors qu'il est établi que les eaux
383 résiduelles urbaines véhiculent un large éventail de perturbateurs endocriniens provenant de ces utilisations
384 (Deshayes, 2015 ; Zedek, 2016). Ainsi, il a été démontré que certains de ces composés, tels que les
385 hormones stéroïdiennes naturelles et/ou de synthèse, peuvent contribuer de façon significative à la toxicité
386 des effluents urbains (Cargouët et al., 2004). Un degré de complexité supplémentaire est introduit par
387 l'existence de produits de transformation des médicaments, pour lesquels l'absence d'information, rend la
388 détection et l'évaluation toxicologique impossibles, et dont la toxicité peut excéder celle de la molécule
389 parent (Laurencé et al., 2019). La présence potentielle de l'ensemble de ces composés en cocktail dans les

390 prélèvements souligne la nécessité d'en réaliser l'évaluation écotoxicologique en lien avec le potentiel
391 toxique et la composition chimique (screening non ciblé). Ceci permettrait notamment d'obtenir des données
392 sur les effets cocktails qui sont, à ce jour, peu étudiés dans les conditions environnementales. Cette
393 approche plus globale sera appliquée à des prélèvements issus des mêmes sites et constituera l'un des
394 objectifs de la phase 5 du programme OPUR.

395 **Remerciements**

396 Les travaux présentés ont été réalisés dans le cadre de la 4^e phase du programme Observatoire des
397 polluants urbains en Île-de-France (OPUR, financé par l'AESN, le SIAAP, la Ville de Paris, les CD 92, 93 et
398 94) et du programme Cosmet'eau (Changements de pratiques dans les produits cosmétiques : des lanceurs
399 d'alerte aux impacts sur le milieu aquatique, financé par l'AFB et l'AESN).

400

401 **Bibliographie**

402 AÏT-AÏSSA S., MAILLOT-MARÉCHAL E., CREUSOT N., GARDIA-PARÈGE C., BUDZINSKI H. (2017) :
403 *Synthèse opérationnelle présentant la détection de composés perturbateurs endocriniens et dioxin-like à*
404 *l'aide de bioessais in vitro dans les eaux usées, pluviales et naturelles*. Projet REGARD (réduction et gestion
405 des micropolluants sur la métropole bordelaise), 8 p.

406 AUDEBERT M., RIU A., JACQUES C., HILLENWECK A., JAMIN E L., ZALKO D., CRAVEDI J. P. (2010) : «
407 Use of the γ H2AX assay for assessing the genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in human cell
408 lines. » *Toxicology letters*; 199(2): 182-192.

409 AUDEBERT M., DOLO L., PERDU E., CRAVEDI J. P., ZALKO D. (2011) : « Use of the γ H2AX assay for
410 assessing the genotoxicity of bisphenol A and bisphenol F in human cell lines. » *Archives of toxicology*;
411 85(11): 1463-1473.

412 BALAGUER P., FRANÇOIS F., COMUNALE F., FENET H., BOUSSIOUX A. M., PONS M., NICOLAS J.-C.,
413 CASELLAS C. (1999) : « Reporter cell lines to study the estrogenic effects of xenoestrogens. » *Science of*
414 *the Total Environment*; 233(1-3): 47-56.

415 BERCKMANS P., LEPPENS H., VANGENECHTEN C., WITTERS H. (2007) : « Screening of endocrine
416 disrupting chemicals with MELN cells, an ER-transactivation assay combined with cytotoxicity assessment. »
417 *Toxicology in vitro*; 21(7): 1262–1267.

418 BOILLOT C. (2008) : *Évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans*
419 *les milieux aquatiques. Contribution à l'amélioration de la phase « caractérisation des effets »* [thèse]. INSA,
420 Lyon. 298 p.

421 BRACK W., ALTENBURGER R., SCHÜÜRMAN G., KRAUSS M., LÓPEZ HERRÁEZ D., VAN GILS J.,
422 SLOBODNIK J., MUNTHE J., MANFRED GAWLIK B., VAN WEZEL A., SCHRIKS M., HOLLENDER J., ERIK
423 TOLLEFSEN K., MEKENYAN O., DIMITROV S., BUNKE D., COUSINS I., POSTHUMA L., VAN den BRINK
424 P.J., LÓPEZ DE ALDA M., BARCELÓ D., FAUST M., KORTENKAMP A., SCRIMSHAW M., IGNATOVA S.,
425 ENGELEN G., MASSMANN G., LEMKINE G., TEODOROVIC I., WALZ K.H., DULIO V., JONKER M.T.O.,
426 JÄGER F., CHIPMAN K., FALCIANI F., LISKA I., ROOKE D., ZHANG X., HOLLERT H., VRANA B.,
427 HILSCHEROVA K., KRAMER K., NEUMANN S., HAMMERBACHER R., BACKHAUS T., MACK J., SEGNER

428 H., ESCHER B., DE ARAGÃO UMBUZEIRO G. (2015) : « The SOLUTIONS project: Challenges and
429 responses for present and future emerging pollutants in land and water resources management. » *Science*
430 *of the Total Environment*; 503-504: 22-31.

431 BRACK W., AIT AISSA S., BACKHAUS T., DULIO V., ESCHER B. FAUST M., HILSCHEROVA K.,
432 HOLLENDER J., HOLLERT H., MULLER C., MUNTHE J., POSTHUMA L., SEILER T-B., SLOBODNIK J.,
433 TEODOROVIC I., TINDALL A., DE ARAGAO UMBUZEIRO G., ZHANG X., ALTENBURGER R. (2019) : «
434 Effect-based methods are key. The European Collaborative Project SOLUTIONS recommends integrating
435 effect-based methods for diagnosis and monitoring of water quality. » *Environmental Sciences Europe*; 31(1):
436 10.

437 CARGOUËT M, PERDIZ D, MOUATASSIM-SOUALI A, TAMISIER-KAROLAK S, LEVI Y. (2004) .
438 « Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). » *Science of the Total*
439 *Environment*; 324(1-3): 55-66.

440 CHARISSOU A.-M., JOURDAIN M.-J., PANDAR P., POULSEN V., DEVILLERS J., FERARD J.-F., BISPO A.
441 (2006) : « Démarche optimale de sélection de batterie de bioessais pour l'évaluation écotoxicologique des
442 milieux complexes. Synthèse bibliographique » *Techniques Sciences Méthodes* 5: 101-110.

443 CONNON R.E., GEIST J., WERNER I. (2012) : « Effect-Based tools for monitoring and predicting the
444 ecotoxicological effects of chemicals in the aquatic environment » *Sensors*; 12(9) : 12741-12771.

445 DU PASQUIER D., LEMKINE G., MEYNEROL K., SAUVIGNET P., BORSATO J., GONCALVES A.,
446 ROCHER V. (2015) « Intérêt de la mesure biologique dans le suivi des performances de traitement des
447 polluants «émérgents» en eaux résiduelles municipales ». *Techniques Sciences Méthodes*; 10:, 33-42.

448 DU PASQUIER D., GUERIN-RECHDAOUI S., AZIMI S., FERAUDET A., LEMKINE G., ROCHER V. (2018) :
449 *Évolution de la perturbation endocrinienne des eaux usées lors de leur traitement en STEP – Utilisation des*
450 *modèles WATCHFROG, in Innover dans les pratiques de monitoring et d'exploitation des stations*
451 *d'épuration - Enseignements scientifiques et techniques tirés de la phase I du programme MOCOPÉE*
452 (2014-2017), 117-127.

453 DESHAYES S. (2015) : « *Identification des sources de phtalates et d'alkylphénols (polluants émergents) en*
454 *milieu urbain et compréhension des processus d'élimination, [thèse]. Université Paris-Est, Créteil. 252 p.*

455 EUROPEAN COMMISSION (2000) : *Directive n° 2000/60/CE du 23/10/00 établissant un cadre pour une*
456 *politique communautaire dans le domaine de l'eau. JO-EU L 327: 1-72.*

457 ESCANDE A., SERVANT N., RABENOELINA F., AUZOU G., KLOOSTERBOER H., CAVAILLÈS V.,
458 BALAGUER P., Maudelonde, T. (2009) : « Regulation of activities of steroid hormone receptors by tibolone
459 and its primary metabolites » *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*; 116(1-2): 8-14.

460 GHAFARY S. M. T., FARIS J. D., FRIESEN T. L., VISSER R. G., VAN DER Lee T. A., ROBERT O., KEMA
461 G. H. (2012) : « New broad-spectrum resistance to septoria tritici blotch derived from synthetic hexaploid
462 wheat. » *Theoretical and Applied Genetics*; 124(1): 125-142.

463 GRIMALDI M., BOULAHTOUF A., DELFOSSE V., THOUENNON E., BOURGUET W., BALAGUER P.
464 (2015) : « Reporter cell lines for the characterization of the interactions between human nuclear receptors
465 and endocrine disruptors. » *Frontiers in endocrinology*; 6: 62.

466 JAROŠOVÁ B., BLÁHA L., GIESY J.P., HILSCEROVÁ K. (2014) : « What level of estrogenic activity
467 determined by in vitro assays in municipal waste waters can be considered as safe? » *Environ.Int.* 64: 98-
468 109.

469 JUNEAU P., EL BERDEY A., POPOVIC R. (2002) : « PAM fluorometry in the determination of the sensitivity
470 of *Chlorella vulgaris*, *Selenastrum capricornutum*, and *Chlamydomonas reinhardtii* to copper » *Archives of*
471 *environmental contamination and toxicology*; 42(2): 155-164.

472 KUMAR K. S., DAHMS H. U., LEE J. S., KIM H. C., LEE W. C., SHIN K. H. (2014) : « Algal photosynthetic
473 responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence. » *Ecotoxicology and*
474 *environmental safety*; 104: 51-71.

475 LAGARRIGUE C., BRELOT E., NOURY D., SERVETO F., VAN PAASSEN P., WEPIERRE N. (2018) :
476 « Réduction à la source des micropolluants sur le bassin Rhône-Méditerranée : stratégie, enseignements et
477 perspectives. » *Techniques Sciences Méthodes* 6: 59–70.

478 LAURENCÉ C., ZEGHBIB N., RIVARD M., LEHRI-BOUFALA S., LACHAISE I., BARAU C., LE CORVOISIER
479 P., MARTENS T., GARRIGUE-ANTAR L., MORIN C. (2019) : « A new human pyridinium metabolite of
480 furosemide, inhibitor of mitochondrial complex I, is a candidate inducer of neurodegeneration. » *Biochem*
481 *Pharmacol.*;160:14-23

482 LEUSCH F. D. L., KHAN S. J., LAINGAM S., PROCHAZKA E., FROSCIO S., TRINH T., CHAPMAN H. F.,
483 HUMPAGE A. (2014): « Assessment of the application of bioanalytical tools as surrogate measure of
484 chemical contaminants in recycled water » *Water Research*; 49: 300-315.

485 LOOS, R., CARVALHO R., ANTÓNIO D. C., COMERO S., LOCORO G., TAVAZZI S., PARACCHINI B.,
486 GHIANI M., LETTIERI T., BLAHA L., JAROSOVA B., VOORSPOELS S., SERVAES K., HAGLUND P., FICK
487 J., LINDBERG R. H., SCHWESIG D., GAWLIK B. M. (2013): « EU-wide monitoring survey on emerging polar
488 organic contaminants in wastewater treatment plant effluents ». *Water Research*; 47(17): 6475-6487.

489 MAGDEBURG A., STALTER D., SCHLUSENER M, TERNEST, OEHLMANN J. (2014): « Evaluating the
490 efficiency of advanced wastewater treatment: Target analysis of organic contaminants and (geno-)toxicity
491 assessment tell a different story » *Water Research*; 50: 35-47.

492 MOILLERON R., BERGE A., DESHAYES S., ROCHER V., EUDES V., BRESSY A. (2019) : « Importance des
493 émissions d'origine domestique dans les réseaux d'assainissement urbains : cas des alkylphénols, phtalates
494 et parabènes dans l'agglomération parisienne ». *Techniques Sciences Méthodes*; 5: 75-88.

495 NELSON J., BISHAY F., VAN RIIDSELAAR A., IKONOMOU M., LAW F. C. (2007). « The use of in vitro
496 bioassays to quantify endocrine disrupting chemicals in municipal wastewater treatment plant effluents ».
497 *Science of the Total Environment*; 374(1): 80-90.

498 PENRU Y., GUILLON A., AÏT AISSA S., COUTEAU J. (2017) : *Caractérisation de la toxicité des eaux usées*
499 *à Sophia Antipolis*. Projet MICROPOLIS Indicateurs : Livrable N°01, 66 p.

500 PRASAD M. N. V., DREJ K., SKAWIŃSKA A., STRAŁKA K. (1998) : « Toxicity of cadmium and copper in
501 *Chlamydomonas reinhardtii* wild-type (WT 2137) and cell wall deficient mutant strain (CW 15). » *Bulletin of*

502 *environmental contamination and toxicology*; 60(2): 306-311.

503 PRASSE C., STALTER D., SCHULTE-OEHLMANN U., OEHLMANN J., TERNES T. A. (2015) : « Spoilt for
504 choice: a critical review on the chemical and biological assessment of current wastewater treatment
505 technologies. » *Water research*; 87: 237-270.

506 ROGAKOU E. P., PILCH D. R., ORR A. H., IVANOVA V. S., BONNER W. M. (1998) : « DNA double-stranded
507 breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139. » *Journal of biological chemistry*; 273(10):
508 5858-5868.

509 ROGERS B., DECOTTIGNIES A., KOLACZKOWSKI M., CARVAJAL E., BALZI E., GOFFEAU A. (2001) : «
510 The pleiotropic drug ABC transporters from *Saccharomyces cerevisiae*. » *Journal of molecular microbiology
511 and biotechnology*; 3(2): 207-214.

512 ROSEN R., DAVIDOV Y., LAROSSA R. A., BELKIN S. (2000) : « Microbial sensors of ultraviolet radiation
513 based on recA': lux fusions. » *Applied biochemistry and biotechnology*; 89(2-3): 151-160.

514 RUIZ N., FALCONE B., KAHNE D., SILHAVY T. J. (2005) : « Chemical conditionality: A genetic strategy to
515 probe organelle assembly. » *Cell*; 121(2): 307-317.

516 SHARMA A., SINGH K., ALMASAN A. (2012) : « Histone H2AX phosphorylation: a marker for DNA
517 damage.» In *DNA repair protocols* (pp. 613-626). Humana Press, Totowa, NJ.

518 TANG J. Y. M., BUSETTI F., CHARROIS J. W. A. ESCHER B. I. (2014) : « Which chemicals drive biological
519 effects in wastewater and recycled water? » *Water Research* 60: 289-299.

520 WERNERSSON A.-S., CARERE M., MAGGI C., TUSIL P., SOLDAN P., JAMES A., SANCHEZ W., DULIO V.,
521 BROEG K., REIFFERSCHIED G., BUCHINGER S., MAAS H., VAN DER GRINTEN E., O'TOOLE S., AUSILI
522 A., MANFRA L., MARZIALI L., POLESELLO S., LACCHETTI I., MANCINI L., LILJA K., LINDEROTH M.,
523 LUNDEBERG T., FJÄLLBORG B., PORSBRING T., LARSSON D.J., BENGTSOON-PALME J., FÖRLIN L.,
524 KIENLE C., KUNZ P., VERMEIRSSSEN E., WERNER I., ROBINSON C.D., LYONS B., KATSIADAKI I.,
525 WHALLEY C., den HAAN K., MESSIAEN M., CLAYTON H., LETTIERI T., CARVALHO R.N., GAWLIK B.M.,
526 HOLLERT H., DI PAOLO C., BRACK W., KAMMANN U., KASE R. (2015) : « The European technical report
527 on aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive. » *Environmental Sciences
528 Europe*, 27(7): 11 p. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0039-4>

529 WILLIAMS ES, PANKO J, PAUSTENBACH DJ. (2009): « The European Union's REACH regulation: a review
530 of its history and requirements. » *Crit Rev Toxicol*; 39(7): 553-75.

531 ZEDEK S. (2016) : *Dynamique de polluants émergents (parabènes, triclosan et triclocarban) dans le
532 continuum eaux grises - milieu récepteur* [thèse]. Université Paris-Est, Créteil. 244 p.

533 ZGHEIB S. (2009) : *Flux et sources des polluants prioritaires dans les eaux urbaines en lien avec l'usage du
534 territoire* [thèse], École nationale des ponts et chaussées, 349 p.

535

536 Tableaux

537
538 Tableau 1. Campagnes d'échantillonnage des différents types d'eaux suivies en milieu urbain

Échantillon	Site	Dates de prélèvement			
Hôpital (HOP)		20/09/2015			
Bassins versants (BV)	16 ^e arrondissement (BV1)	20/09/2015	11/12/2016	21/01/2017	
	19 ^e arrondissement (BV2)				
Emissaires (EM)	Sèvres Achères Nanterre (SAN)	20/07/2015			
	Clichy Achères Bezons (CAB)				
	Saint-Denis Achères (SDA)		10/10/2016	05/12/2016	06/02/2017
	Clichy Achères Argenteuil (CAA)				
Déversoirs d'orage (DO)	La Briche (LB)	27/02/2017	06/03/2017		
	Clichy (CL)	01/03/2017	05/03/2017		
	Alma (AL)			07/03/2017	
Entrée STEU (ENT_STEU)	Seine amont (SAM)	20/07/2015	10/10/2016	05/12/2016	06/02/2017
	Marne Aval (MAV)				
	Seine Centre (SEC)				
Rejet STEU (SOR_STEU)	Seine aval (SAV)	20/07/2015	10/10/2016	05/12/2017	06/02/2017
	Seine Centre (SEC)				

539

540

541

542 **Tableau 2. Éléments méthodologiques relatifs aux différents bioessais réalisés**

543

Panel	Organisme	Témoin positif	Durée	Effet mesuré	Mesure
Toxicité générale	Bactérie <i>E. coli</i> sauvage	Ampicilline	7 h	Croissance	Absorbance à 600 nm
	Bactérie <i>E. coli</i> sensible	Ampicilline	7 h	Croissance	Absorbance à 600 nm
	Levure <i>S. tritici</i>	Cadmium	7 j	Croissance	Absorbance à 600 nm
	Algue <i>C. reinhardtii</i> sauvage	Diuron	48 h	Croissance	Absorbance à 600 nm
	Algue <i>C. reinhardtii</i> sensible	Diuron	48 h	Croissance	Absorbance à 600 nm
	Levure <i>S. cerevisiae</i> sauvage	Cadmium	24 h	Croissance	Absorbance à 600 nm
	Levure <i>S. cerevisiae</i> sensible	Cadmium	24 h	Croissance	Absorbance à 600 nm
	Cellules humaines PBMC	Cadmium	24 h	Viabilité	Luminescence
Génotoxicité	Cellules LS174T Cellules intestinales	Benzo[a]pyrène	72 h	Phosphorylation de l'histone H2AX	Fluorescence
	Cellules ACHn Cellules rénales	Etoposide	72 h	Phosphorylation de l'histone H2AX	Fluorescence
	Bactérie <i>E. Coli</i>	Acide nalidixique	3 h	Expression du gène recA	Luminescence
Perturbation endocrinienne	Cellules MELN	17β-œstradiol	18 h	Activation du récepteur humain α aux oestrogènes (ERα) (agoniste/antagoniste)	Luminescence
	Cellules PALM	R1881 (méthyltriénolone)	18 h	Activation du récepteur humain aux androgènes (AR) (agoniste/antagoniste)	Luminescence
	Cellules HG5LN-TR	T3 (triiodothyronine)	18 h	Activation du récepteur humain aux stéroïdes thyroïdiens (TR) (agoniste/antagoniste)	Luminescence

544

545