

BIOCAPTEURS GÉNÉTIQUES

DÉTECTER ET ANTICIPER LES PROLIFÉRATIONS TOXIQUES DANS L'EAU

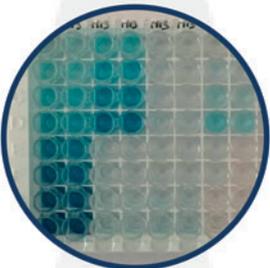
Résultats et recommandations 3h après réception des échantillons



POTENTIEL TOXIQUE



**CYANOBACTERIES
MICROALGUES**



TECHNOLOGIES BREVETÉES

Microbia Environnement

Obs. Océanologique—Avenue Pierre Fabre—66650 BANYULS SUR MER

04 68 88 73 25

contact@microbiaenvironnement.com



Analyse de l'eau

Quelle place pour les biocapteurs ?

Par *Jacques Olivier Baruch*

Abstract

WATER ANALYSIS WHAT PLACE FOR BIOSENSORS?

What is the situation with using living organisms to detect or measure any water toxicity? Are biosensors or bioassays still viewed as a solution of the future, or rather as a hope without any tomorrow?

Où en est l'utilisation des organismes vivants pour détecter ou mesurer l'éventuelle toxicité d'une eau ? Les biocapteurs ou les bioessais sont-ils encore vus comme une solution d'avenir ou un espoir sans lendemain ?

Le secteur d'analyse des eaux par des organismes vivants n'a cessé de se transformer depuis notre dernier article sur le sujet (novembre 2018). « *Il s'organise* », se réjouit Laurent Viviani, cofondateur de Biomae et participant au contrat stratégique de la filière Eau, qui a été signé début 2019 pour deux ans entre le Gouvernement et Antoine Frérot, Président du Comité Stratégique de la Filière Eau. Celui-ci comporte un volet de biosurveillance.

Les groupes de travail se multiplient comme celui sur les bioessais piloté par l'INERIS et l'OFB dans le cadre de la possible révision de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Les formations envers les utilisateurs que sont les ingénieurs des bureaux d'études aussi. Le prochain, organisé par l'Ineris se tiendra les 11 et 12 juin à Verneuil-en Halatte, dans l'Oise. « *Un colloque sur la biosurveillance est prévu également en septembre prochain au Ministère de la transition écologique dans le cadre de l'implémentation du*

contrat du CSF Eau, précise Laurent Viviani. Et un guide technique devrait être édité pour la police de l'eau et les gestionnaires d'infrastructures pour pallier une certaine méconnaissance des bénéfices que peuvent apporter les outils de bio-surveillance dans le suivi de l'impact des rejets des acteurs de l'eau au sens large ».

DES PROJETS DE RECHERCHE DIVERSIFIÉS

Bactéries, crustacés, algues ou poissons... depuis plusieurs années, chacun pousse sa solution. Que ce soient des biocapteurs proprement dit qui résultent du couplage d'électronique avec un capteur dont l'élément sensible repose sur du matériel biologique, ou des bioessais basés sur une méthode analytique qui repose toujours sur un organisme vivant. « Dans ce cas, nous n'étudions pas les symptômes comme le font les biocapteurs, explique Dorothée Muñoz-Gestin, responsable activités de Tame Water (anciennement Tronico Vigicell), mais les modifications profondes des organismes ». Questions produits et techniques, depuis 16 mois, certains espoirs ont cependant été déçus. Ainsi le prototype de Bioguard a été abandonné. La poursuite du développement est actuellement en veille. Pourtant, avec Bioguard, la DBO₅ était mesurée en 3 heures et non 5 jours. Mais il faut préparer les bactéries 10 heures avant, ce qui n'est pas facile dans les



© Tame Water

Insitox 1 de Tame Water est destiné aux eaux peu chargées. Il utilise 3 souches bactériennes, *Aliivibrio fisheri*, *Vibrio harveyi* et *Photobacterium leiognati*, dont la santé est évaluée par bioluminescence. Si au moins deux des trois souches donnent un signal défavorable, le risque de toxicité est élevé et il faut pousser plus loin les analyses.

stations d'épuration où les exploitants évoluent toujours dans l'urgence, le personnel exploitant se faisant de plus en plus rare. La mesure peut être préparée de façon automatique de la veille pour le lendemain, ce qui permet une mesure DBO₅ par jour pour l'exploitant.

Tame Water a quant à lui élaboré deux bioessais terrain Insitox 1 et 2. Insitox 1, destiné aux eaux peu chargées, est commercialisé depuis 1 an. Il utilise 3 souches bactériennes, *Aliivibrio fisheri*, *Vibrio harveyi* et *Photobacterium leiognati*, dont la santé est évaluée par bioluminescence. Si au moins deux des trois souches donnent un signal défavorable, le risque de toxicité est élevé et il faut pousser plus loin les analyses. Le second produit, Insitox 2, est destiné aux eaux chargées en entrée et en sortie de station d'épuration. Il repose sur un ensemble de 5 à 10 souches bactériennes qui sont sélectionnées selon le milieu à analyser afin de s'adapter au client. Elles sont analysées quant à elles par fluorescence. « Les rejets de stations d'épuration de différents industriels n'ont rien à voir, explique Dorothée Muñoz-Gestin. Il faut sélectionner des souches bien adaptées à chaque type de rejet ». Comme pour Insitox 1, les bactéries sont vendues lyophilisées et reprennent vie quand on leur ajoute de l'eau. Étant commercialisable depuis le 1^{er} janvier de cette année, il est actuellement testé en tant que pilote par certains clients et une demande de brevet est en cours.

DES PROJETS QUI S'AFFINENT PEU À PEU

Pour d'autres fabricants, les 16 mois écoulés ont été l'occasion d'améliorer les produits existants. Bionef a intégré dans son DTox II une unité de préparation de l'échantillon, et nourrit ses petites puces d'eau (crustacés ubiquistes) par des algues fixées que fournit l'entreprise, sans que le client n'ait besoin de cultiver les algues en parallèle. Après, pour



© Bionef

Bionef a intégré dans son DTox II une unité de préparation de l'échantillon, et nourrit ses petites puces d'eau (crustacés ubiquistes) par des algues fixées que fournit l'entreprise, sans que le client n'ait besoin de cultiver les algues en parallèle.



© ER Ingénierie

Vue du Gymnotox[®] biodétecteur de contrôle en continu de la qualité de l'eau.



© Cifec

Cifec a adapté son Truitosem pour être utilisé sur des eaux chlorées afin de protéger l'alimentation en eau potable des établissements sensibles..

son système à poissons (vairon, barbu de Sumatra, bouvière, menée à grosse-tête, selon les gammes de températures locales), le TOXprotect TP64 II, Bionef a intégré en option une unité de déchloration pour les suivis d'eau potable et une détection de fausse alarme. Le TOXcontrol iTOX Bionef demeure le seul appareil en ligne basé sur une mesure de laboratoire normalisée, le μ TOX; liée à la variation de luminescence naturelle de la bactérie *Vibrio Fisherii*, en fonction de la toxicité de l'eau. Le système exécute régulièrement un contrôle positif et un blanc comme la mesure de laboratoire normalisée.

De son côté, Cifec continue le développement de son biocapteur Truitosem, basé sur le mouvement de poissons, qui équipe déjà une centaine de stations de traitement d'eau potable pour la surveillance de la ressource en eau brute. Celui-ci a été adapté pour être utilisable aussi sur des eaux chlorées, afin de protéger l'alimentation en eau potable des établissements sensibles. Une nouvelle version permet aussi la sécurisation du rejet, dans le milieu naturel, des eaux usées traitées de stations d'épuration.

La Néerlandaise AquaDect a transformé son logiciel de traitement et de visualisation des données de son Musselmonitor constitué de moules d'eau douce (*Dreissena polymorpha* et *Unio pictorum*) ou marines (*Mytilus edulis*) afin de répondre à la tendance de multiplication des biocapteurs sur un même site. Le Musselmonitor est de plus aujourd'hui équipé d'un système de mesure de température, paramètre qui influence sur le comportement des moules.

Watchfrog réalise des tests normés (NF T90-716 1 et 2) pour mesurer, par fluorescence, les effets perturbateurs endocriniens sur des larves d'amphibiens ou de poissons. La FrogBox® est ainsi une solution de biosurveillance sur site qui permet une mesure en continu. Récemment lauréat du Concours Innovation ADEME avec le projet PACQUE, Watchfrog souhaite proposer une manière innovante de piloter l'analyse chimique des eaux de surface par la réalisation de bioessais afin d'identifier les sources de contaminations qui ont un impact sur les organismes aquatiques.

Autre développement, les biocapteurs génétiques proposés par Microbia Environnement permettent la détection

génétique rapide, précoce et ciblée des proliférations de microorganismes vivants et actifs dans l'eau. Grâce à la mesure directe des ARN ribosomiques, molécules produites uniquement par les cellules vivantes et actives, il est possible de tracer les tendances de proliférations et d'obtenir une véritable « météo » du risque toxique. En eau douce, avec les cyanobactéries toxigènes, comme en eau de mer, avec les micro algues toxiques, cette nouvelle génération de biocapteur permet d'anticiper le risque toxique lié à ces microorganismes que ce soit dans les eaux de baignades, les eaux de consommation humaine (EDCH) ou l'aquaculture.

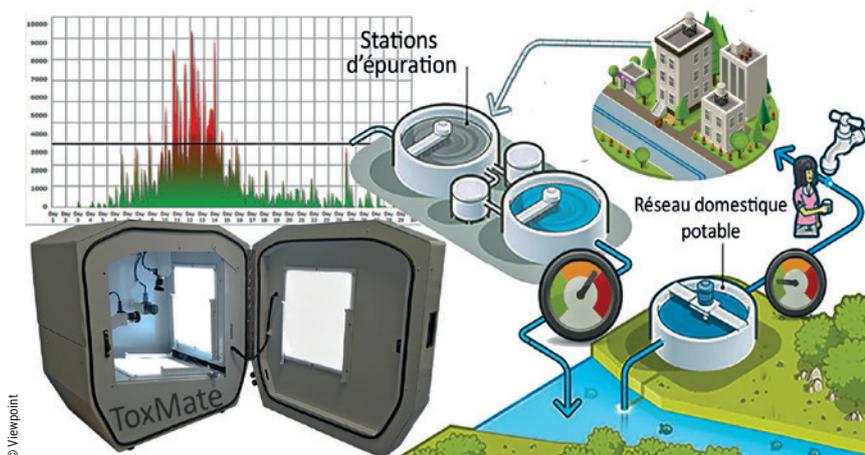
Les biocapteurs génétiques proposés par Microbia Environnement permettent de protéger les usagers et de préserver l'activité économique des sites de baignade à forte traction touristique ou des EDCH. Plus rapides et efficaces que les méthodes traditionnelles, avec des résultats trois heures après réception de l'échantillon au laboratoire de Microbia Environnement, il s'agit d'une nouvelle approche non plus de gestion mais d'anticipation du risque toxique lié à la production de toxines par certaines cyanobactéries comme, par exemple, *Microcystis*. Ces technologies innovantes sont dédiées à un suivi haute fréquence de l'activité des microorganismes ciblés génétiquement. Elles donnent un temps d'avance aux gestionnaires qui peuvent par exemple, limiter la fermeture des sites de baignade dans



© Watchfrog

La FrogBox® de Watchfrog est une solution de biosurveillance sur site qui permet une mesure en continu de l'activité endocrinienne.

ToxMate: Biosurveillance en continu



© Viewpoint

ToxMate, développé par Viewpoint, est une station de biosurveillance des effluents sur site et en continu permettant de mesurer en temps réel la qualité toxique des eaux et de créer une alerte instantanée en cas de charge en micropolluants.

le temps, ou encore, arrêter le pompage d'une eau contaminée vers l'alimentation d'un bassin d'eau potable ou à usage agricole.

Au cours de l'été 2019, ce dispositif a été utilisé dans le cadre de la surveillance de plans d'eau en Occitanie et en Nouvelle Aquitaine. Intégrés dans l'arbre décisionnel de gestion des eaux agricoles et de baignade comme système d'alerte précoce, ils ont permis de suivre en temps quasi réel l'évolution des populations actives de cyanobactéries toxigènes choisies dans l'eau, et de mettre en œuvre des actions dès le départ de proliférations pour une mise en sécurité rapide et pertinente des sites.

La réactivité et la sensibilité des biocapteurs génétiques sont des atouts de choix pour aider à une gestion durable et intelligente des sites aquatiques et anticiper les risques sanitaires. Dans un contexte de changements climatiques, ils offrent une nouvelle voie d'adaptation aux modifications de saisonnalité et d'intensité des proliférations de cyanobactéries ou autres microalgues.

Depuis l'été dernier, le biocapteur Node d'Enoveo (racheté par Hydreka en juillet dernier), s'est aussi amélioré. Cette technologie utilise les bactéries indigènes comme indicateurs de la qualité de l'eau. Basé sur le principe des piles à combustible microbien, Node est en mesure de mesurer la charge organique (ou DBO₅) sur site et en temps réel. « Le chiffre 5 de la mesure de DBO₅ veut

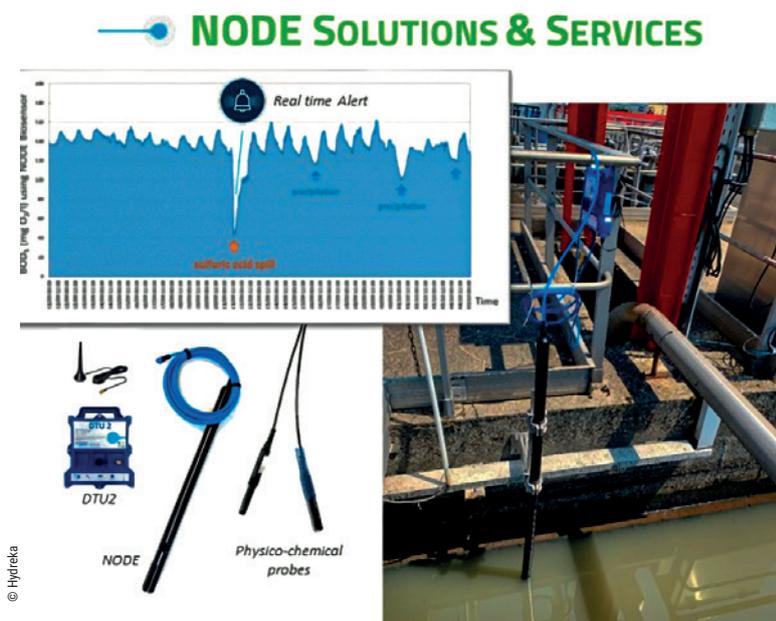
maintenant dire mesure en 5 minutes et non plus 5 jours », s'amuse Olivier Sibourg, responsable Node Solutions et Services chez Hydreka. Cette technologie autonome en énergie et certifiée ETV par le LNE et le BRGM ouvre de nouvelles perspectives dans le pilotage en temps réel. En associant d'autres sondes physico-chimiques, l'approche biocapteur s'est mutée, chez Hydreka, en approche multiparamétrique. Dans ce contexte, le concept Node Solutions et Services implique un ensemble de prestations comprenant des capteurs autonomes en énergie et communicants.



© DR

Vue d'une efflorescence de cyanobactéries. Les biocapteurs génétiques proposés par Microbia Environnement permettent la détection génétique rapide, précoce et ciblée des proliférations de microorganismes vivants et actifs dans l'eau.

L'interprétation simultanée des données générées se fait sur site au sein d'un automate autonome (DTU2A). Ainsi avec cette approche, on passe de la mesure d'un paramètre à la gestion d'une information en temps réel, voire d'une aide à la décision. Il est dorénavant possible d'asservir un process épuratoire en fonction de la qualité de l'effluent entrant en temps réel. Autre exemple, NODE Solutions et Services peut piloter un préleveur automatique en lien avec la détection d'un événement et de sortir de la contrainte du bilan 24 h « L'approche multiparamétrique permet des prélèvements ciblés et la solution informe le client par SMS, mail ou autre qu'un événement (pollution choc toxique, variation de charge) a été détecté et qu'un prélèvement vient d'être réalisé » explique Olivier Sibourg. Le concept a été validé par des tests avec la Métropole de Lyon dans le cadre du projet MADS (Maîtrise et Anticipation de la formation Du Sulfure d'hydrogène) et la station d'épuration de St-Fons, dans la banlieue sud de Lyon pour la DBO₅. C'est aussi sur l'écostation de St-Fons gérée par la Saur qu'est installé et testé le nouveau ToxMate de Viewpoint. Il s'agit d'une station de biosurveillance connectée qui analyse sur site et en continu, la qualité toxique des eaux traitées, permettant d'avertir en temps réel les gestionnaires des eaux en cas d'anomalies dues à une charge en micropolluants. Face à la multiplication des substances



Le biocapteur Node d'Enoveo-Hydreka, autonome en énergie et certifié ETV par le LNE et le BRGM, ouvre de nouvelles perspectives dans le pilotage en temps réel. En associant d'autres sondes physico-chimiques, l'approche biocapteur s'est mutée, chez Hydreka, en approche multiparamétrique.

présentes dans l'eau, leurs recombinaisons, leurs mélanges et les variations observées sur un pas de temps court (heure, journée), le ToxMate permet d'apporter des éléments d'informations complémentaires aux analyses physico-chimiques existantes. Ainsi, en analysant l'activité de bio-indicateurs aquatiques tels que des crustacés, des sangsues ou des escargots exposés au flux d'eau à analyser, le ToxMate est apte à alerter en quelques minutes de la présence de substances nocives

pour la santé ou pour l'environnement. Par des méthodes élaborées d'analyse de l'activité de ces organismes, la technologie ToxMate fournit en continu un indicateur de la qualité de l'eau et crée une alerte graduée en quelques minutes en cas de présence de micropolluants. Cette technologie est issue d'une étroite collaboration initiée en 2014 avec le laboratoire d'écotoxicologie de l'Inrae-Lyon (ex Irstea). Le champ d'application du ToxMate est varié et des déploiements ont été réalisés avec succès sur des sites

tels que stations d'épuration urbaines, ou en évaluation d'abatement de traitement tertiaire. D'autres mises en œuvre sont en cours dans le cadre d'un projet co-financé par l'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse afin de tester cette technologie sur des types d'industries consommatrices d'eau (chimie, teinturerie, traitements de surface et agro-alimentaire). Viewpoint est lauréate d'un projet européen (SME Instrument) qui a pour but d'industrialiser la technologie et de répondre au marché de la biosurveillance des eaux traitées sur une échelle européenne.

Cette aide à la décision ne peut se faire sans de multiples analyses et données recueillies aussi bien en laboratoire que sur le terrain. Biomae, qui propose ses gammes engagés comme organisme sentinelle selon la norme Afnor XP T90-721, a ainsi normalisé l'année dernière la bioaccumulation de ses petites crevettes non invasives. À l'aide d'un référentiel contenant 250 micropolluants, la société est capable d'interpréter les niveaux de biodisponibilité après avoir analysé, par spectrométrie de masse des gammes exposés directement pendant plusieurs jours dans le milieu récepteur. L'entreprise de Château-Gaillard (Ain) est aussi en mesure de proposer des bioessais d'écotoxicité intégrateurs qui permettent, en analysant certains biomarqueurs sur les gammes, de connaître le niveau d'impact écotoxicologique des micropolluants présents dans le milieu récepteur ou le milieu naturel. « Un biomarqueur, c'est en quelque sorte une signature biologique

VERS LA CRÉATION D'UN SYNDICAT FRANÇAIS DES ACTEURS DE LA BIOSURVEILLANCE DE L'EAU ET DES MILIEUX AQUATIQUES

En mai 2018, la Filière de l'eau a été labellisée « filière d'Excellence » par le Conseil National de l'Industrie. Cette labellisation a entraîné la signature d'un contrat entre le Comité Stratégique de la Filière, présidé et co-présidé par Veolia, Suez, et les Ministères de l'économie et de la Transition Ecologique et Solidaire en janvier 2019. Ce contrat mentionne l'objectif de créer une filière française de la biosurveillance pour mieux détecter et traiter les micropolluants. Plusieurs actions ont été définies pour atteindre cet objectif d'ici la fin de l'année dont la création d'un Syndicat professionnel français des acteurs de la biosurveillance de l'eau et des milieux aquatiques. Ce syndicat aura pour objectif de démocratiser l'utilisation des mesures de biosurveillance dans le suivi de la qualité de l'eau et des milieux aquatiques en regroupant les acteurs

qui conçoivent, ou proposent, des mesures de biosurveillance aux acteurs de l'eau.

Il regroupera les concepteurs, agrégateurs et prescripteurs de solutions de mesure au sein de deux Collèges, le premier regroupant les sociétés qui proposent, conçoivent ou offrent des solutions de biosurveillance et le second les institutionnels tels que le MTES, l'OFB, les Agences de l'eau, l'INERIS, l'AFNOR, le LNE, l'INRAE, France Water Team, etc.

Le lancement officiel, initialement prévu le 2 avril prochain dans le cadre du Forum des Eco-Entreprises organisé par le PEXE à Paris, interviendra finalement courant mai en fonction de la normalisation ou non de la situation sanitaire actuelle.

Contact : Laurent Viviani - Laurent.viviani@biomae.fr



© Biomae

Biomae, qui propose ses gammars encagés comme organisme sentinelle selon la norme Afnor XP T90-721, a normalisé l'an dernier la bioaccumulation de ses petites crevettes non invasives. À l'aide d'un référentiel contenant 250 micropolluants, la société est capable d'interpréter les niveaux de biodisponibilité après avoir analysé, par spectrométrie de masse, des gammars exposés directement pendant plusieurs jours dans le milieu récepteur.

précoce de l'impact des micropolluants sur les gammars, déclare Laurent Viviani. Ces bioessais d'écotoxicité seront normalisés AFNOR courant 2020 ».

DES PROJETS DE RECHERCHE QUI SE POURSUIVENT

Et puis il y a des produits encore au stade de recherche. Ils ne sont donc pas

encore sur le marché. « Depuis l'été dernier nous avons repris la conception de la nouvelle version de notre Gymnotox, prévient Nicolas Vaudois, chez Aqua MS. Les derniers mois ont permis de mettre au point un nouveau système de chauffe non agressif de l'eau ». Il leur reste encore quelques mois de travail avec la société ER Ingénierie pour assembler l'ensemble et tester le nouveau biocapteur basé sur un poisson électrogène, l'Apteronotus albifrons de l'ordre des Gymnotiformes. L'objectif consiste à populariser les biocapteurs en ligne comme cela se fait pour les mesures physico-chimiques, mais le marché n'est pas encore prêt à cela. Pour l'instant, les essais sont réalisés hebdomadairement.

QUELLE PLACE POUR LES BIOCAPTEURS ?

L'ensemble du secteur est donc en pleine progression. Jusqu'où ira-t-elle ? Les biocapteurs sont-ils en passe de devenir une solution complète ? Beaucoup de fabricants sont mitigés. « Les systèmes biologiques sont une très bonne réponse au besoin de surveillance globale d'un milieu, car ces solutions reposent sur l'analyse d'un organisme biologique dans son environnement vitae, déclare Nicolas Vaudois. Il est sensible à tous les paramètres constituant ce milieu et donc même à ceux que nous n'aurions pas envisagés. En revanche, ces biodétecteurs ne permettent pas de quantifier sur une échelle graduée une concentration d'un élément chimique tel que le ferait un analyseur optique, électrochimique, etc. Mais ils sont capables de détecter les variations de qualité de leur environnement, ce que le capteur ne fait que sur un seul paramètre à la fois ».

Pour Dorothee Muñoz-Gestin, « les bioessais peuvent avoir un rôle seuls pour étudier l'impact de la toxicité chimique sur le vivant, mais l'application majoritaire est avant tout d'être une aide à la décision pour du pilotage de process, en complémentarité des outils physico-chimiques ».

Reste que la chimie, si elle arrive à détecter quelques 900 polluants, ne parvient pas à juger de leurs interactions, que ce soit une exaltation ou une annulation des effets. Seuls les outils de biosurveillance permettent de prendre en compte l'effet cocktail des micropolluants sur le vivant. ●



La nouvelle référence en instrumentation



Analyseur portable LDO pour Liquides ou Gas

- # High Purity Water
- # Feed Water
- # Steam & Condensate
- # Pharma
- # Drinking Water
- # Pool and Sanitary Water
- # Waste Water & Effluents
- # Particule Sizing
- # Zeta Potential



Hydrocarbures Aromatiques - Chlore - Acid Nucleic - Hydrocarbon dissous - Protéine - H2S - Turbidité - Phénol



Analyseur Colorimétrique en ligne pour détermination de Silice, Phosphate, Chlore, Aluminium, Ammoniac,...



Analyseurs en ligne LDO pour Liquides ou Gas, à simple ou double capteur



Conductivité Spécifique, Cationique et Cationique Dégaissée



Hydrogène - Chlore - Cyanure - Ozone - Chlorures, Hydrazine, en ligne et portable

TRACE Analysis, La mesure de l'expérience

TRACE Analysis, 548 Chemin de Simandre, 38850 PALADRU France - +33 971 24 86 89 - contact@trace-analysis.com - trace-analysis.com