



Campagne nationale de mesure de l'occurrence de composés émergents dans les eaux destinées à la consommation humaine

Acides haloacétiques - chlorates - phtalates

Rouxiella chamberiensis

Campagne 2016-2017

Demande : Programme de travail des laboratoires : 2013-2014

Saisine 2016-SA-0301

RAPPORT d'appui scientifique et technique

Juillet 2020¹

¹Annule et remplace le rapport de Juin 2020

Mots clés

Eaux destinées à la consommation humaine - Contaminants émergents - Acides haloacétiques - Chlorates - Phtalates - *Rouxiella chamberiensis* - Campagne d'occurrence - France

Drinking water – Emerging pollutants – Haloacetic acids – Phthalates - *Rouxiella chamberiensis* - Occurrence - France

Préambule

Les valeurs réglementaires ou les valeurs guides citées dans ce rapport correspondant à un état de l'art de la bibliographie scientifique et réglementaire identifiée à la date de parution de ce rapport. Elles sont utilisées à titre d'élément de positionnement des résultats et la mise en regard des résultats et des valeurs ainsi identifiées ne constitue pas une évaluation de risque sanitaire de l'agence.

Présentation des intervenants

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mr Christophe ROSIN – Adjoint chef d'unité chimie des eaux – Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Contribution scientifique

Mme Cristina BACH – Ingénieur Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Virginie BOITEUX – Ingénieur Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mr Thierry CHESNOT – Adjoint chef d'unité microbiologie des eaux Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Marie-Christelle CLAVOS – Technicienne Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Adeline COLIN – Technicienne Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mr Xavier DAUCHY – Chef d'unité chimie des eaux - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Stéphanie ETIENNE – Ingénieur Microbiologie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Alexandra GARNIER – Technicienne Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mr Benoit GASSILLOUD – Chef d'unité microbiologie des eaux - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Jessica HEMARD – Technicienne Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Caroline HOLLARD – Technicienne Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mr Jean-François MUNOZ – Directeur LHN – Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Christelle PALLEZ – Ingénieur Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Laure PASQUINI – Ingénieur Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mr Jean-Sébastien PY – Ingénieur Chimie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Mme Emmanuelle RION – Ingénieur Microbiologie - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

Secrétariat administratif

Mme Sophie MARCHAL-MAUER – Documentaliste – Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Anses

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES À L'AGENCE

/

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Synthèse.....	6
Sigles et abréviations	8
Liste des tableaux.....	9
Liste des figures	9
1. Contexte, objet et modalités de réalisation des travaux.....	10
1.1. Contexte et objet de la demande.....	10
1.2. Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	11
1.2.1. Paramètres analysés	11
1.2.2. Plan d'échantillonnage.....	11
2. Résultats.....	13
2.1. Acides haloacétiques.....	13
2.1.1. Structures et propriétés chimiques	13
2.1.2. Origines et usages	13
2.1.3. Valeurs réglementaires et valeurs guide dans l'EDCH.....	15
2.1.4. Méthodes d'analyses (état de l'art).....	15
2.1.5. Résultats	16
2.1.6. Analyses de confirmation.....	21
2.2. Chlorates	21
2.2.1. Structures et propriétés chimiques	21
2.2.2. Origines et usages	22
2.2.3. Valeurs réglementaires et valeurs guides dans les EDCH.....	22
2.2.4. Méthodes d'analyses	22
2.2.5. Résultats	23
2.2.6. Analyses de confirmation.....	25
2.3. Phtalates et adipates.....	27
2.3.1. Structures et propriétés chimiques	27
2.3.2. Origines et usages	29
2.3.3. Valeurs réglementaires et valeurs guides dans les EDCH.....	29
2.3.4. Méthode d'analyses	30
2.3.4.1. Standards et réactifs.....	30
2.3.4.2. Procédure d'échantillonnage et blancs terrain.....	30
2.3.4.3. Préparation des échantillons	31
2.3.4.3.1. Eau brute.....	31
2.3.4.3.2. Eau traitée	31
2.3.4.4. Conditions opératoires.....	31
2.3.4.5. Performances analytiques	34
2.3.4.6. Contrôle qualité	34
2.3.4.7. Validation des résultats	34
2.3.5. Résultats	35
2.4. Rouxiella Chamberiensis.....	38
2.4.1. Etat de l'art.....	38
2.4.2. Caractéristiques spécifiques	38

2.4.3. Occurrence de <i>R. chamberiensis</i> dans l'environnement.....	39
2.4.4. Méthodes utilisées pour la détection et l'identification de <i>R. chamberiensis</i> dans les échantillons d'eaux	40
2.4.4.1. Méthode de détection moléculaire utilisée.....	40
2.4.4.2. Méthode de culture utilisée.....	41
2.4.4.3. Méthode de caractérisation des <i>R. chamberiensis</i> décelées dans les échantillons d'eau.....	42
2.4.5. Résultats	42
3. Conclusions	43
4. Remerciements	45
5. Bibliographie.....	46
5.1. Publications.....	46
5.2. Normes	48
5.3. Législation et réglementation.....	49
ANNEXES	50
Annexe 1 : Lettre de la demande	51
Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport	52

Synthèse

Dans le cadre de son mandat de laboratoire national de référence pour les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH), le Laboratoire d'Hydrologie de Nancy de l'Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation-environnement-travail (Anses) a recherché différents contaminants émergents au cours de la période 2015-2016 dans les EDCH.

Ce rapport décrit les résultats obtenus pour les analyses de dix phtalates dont l'adipate d'éthylhexyle (DEHA), neuf acides haloacétiques, les chlorates et la recherche de *Rouxiella chamberiensis*. En collaboration avec les Agences régionales de santé et le Ministère chargé de la santé, le LHN a organisé sur l'ensemble des départements métropolitains et d'outre-mer une campagne d'échantillonnage représentant, au regard des débits considérés, environ 20% de la population consommatrice d'EDCH.

Pour atteindre ce seuil représentatif, environ 300 couples d'échantillons (eaux brutes / eau traitée) ont été analysés, 2/3 des échantillons étant des eaux produites à partir d'eaux d'origine souterraine et 1/3 des eaux produites à partir d'eaux d'origine superficielle.

S'agissant des acides haloacétiques (HAA) : Plus de 90 % des ressources analysées ne renferment aucun acide haloacétique à une concentration supérieure à la limite de quantification de 5 µg/L. Les résultats mettent en évidence pour les eaux traitées des teneurs individuelles variant de moins de 5 µg/L à 44 µg/L avec moins de 1 % des échantillons présentant un dépassement de la valeur paramétrique fixée dans la future directive européenne EDCH en cours de publication (60 µg/L pour la somme de 5 HAA : acide monochloro acétique, dichloro acétique, trichloro acétique, acide monobromo acétique et dibromoacétique). Les eaux traitées d'origine superficielle présentent des fréquences de quantification plus importantes et les formes dihalocétiques sont prédominantes. Les espèces monohalogénées l'acide chloracétique (MCAA) et l'acide bromoacétique (MBAA) n'ont jamais été quantifiées. Sur les échantillons d'eau présentant des teneurs en carbone organique total (COT) et en trihalométhanes (THM) élevées, les teneurs en acides haloacétiques sont également plus élevées. De nouveaux échantillonnages réalisés sur les sites présentant les concentrations les plus élevées confirment généralement les teneurs observées lors des premières analyses.

S'agissant des chlorates : 85 % des échantillons d'eaux brutes et 50 % des échantillons d'eaux traitées ne présentent pas de concentration en chlorates supérieure à la limite de quantification de 10 µg/L. Dans les eaux traitées, les teneurs s'étalent de moins de 10 µg/L à 1 039 µg/L. 3.5 % des eaux traitées dépasse la valeur de 250 µg/L (valeur paramétrique de la future directive européenne EDCH, en cours de publication) et moins de 1 % dépassent la valeur de 700 µg/L (valeur paramétrique prévue si l'eau fait l'objet d'un traitement de désinfection pouvant générer des ions chlorate). Les valeurs supérieures à 200 µg/L ont fait l'objet d'analyses de reconrôles. Au regard des faibles valeurs retrouvées dans les ressources en eau et de l'hétérogénéité des résultats obtenus lors de la campagne de confirmation, une origine liée à des impuretés de solutions d'hypochlorite constitue une origine probable de contamination de l'eau traitée, en l'absence de traitement au bioxyde de chlore.

S'agissant des phtalates : Cette campagne montre que les phtalates et le DEHA sont rarement présents dans l'eau brute et dans l'eau traitée en France. Dans l'eau brute, le phtalate de diéthyle (DEP) est le composé prédominant avec une concentration maximale observée de 410 ng/L. En revanche, le phtalate de dibutyle (DBP) est la molécule la plus fréquemment détectée dans les échantillons d'eau traitée avec une concentration maximale de 1 300 ng/L. Le phtalate d'éthylhexyle (DEHP), qui est un phtalate identifié comme très présent dans l'environnement, n'est détecté que dans un seul échantillon d'eau brute à 810 ng/L. Cette valeur de concentration ne dépasse pas les limites de concentration des recommandations (ou normes) internationales. Les fréquences de détection observées au cours de cette campagne sont généralement plus faibles que celles observées dans

d'autres études. Cette différence pourrait s'expliquer par les limites de quantification plus élevées. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour élucider l'origine des phtalates dans certains échantillons d'eau brute et d'eau traitée. Les sources possibles de phtalates et d'adipates pourraient être des matériaux utilisés pour le traitement et/ou le transport et le stockage de l'eau jusqu'au point de distribution.

S'agissant de *Rouxiella Chamberiensis* : 554 échantillons ont été analysés, dont **529** (48% issus d'eaux brutes et 52 % d'eaux traitées) sont négatifs en *Rouxiella Chamberiensis*. **25 échantillons** d'eau (96% issus d'eaux brutes et 4% d'eaux traitées) présentent une séquence génomique détectable par la méthode PCR, validée et confirmée par le séquençage et l'alignement.

Ces différents résultats nous permettent aujourd'hui d'attester que la circulation de cette bactérie dans des eaux de surface est faible et que si l'eau est potentiellement un vecteur, elle ne constitue pas, à ce jour, la source principale de cette bactérie.

Sigles et abréviations

Anses : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire Alimentation-Environnement-Travail

ARS : Agence Régionale de Santé

CAP : Captage

EB : Eau brute

EDCH : Eau destinée à la consommation humaine

ESO : Eau souterraine

ESU : Eau superficielle

ET : Eau traitée

HAA : Acides HaloAcétiques

HAA5 : Somme des 5 HAA suivants : MCAA, DCAA, TCAA, MBAA et DBAA

HAA9 : Somme des 9 HAA analysés : acide monochloroacétique (MCAA), dichloroacétique (DCAA) et trichloroacétique (TCAA), l'acide monobromo acétique (MBAA) et dibromo acétique (DBAA), l'acide bromo(chloro)acétique (BCAA), l'acide bromo(dichloro)acétique (BDCAA), l'acide dibromo(chloro)acétique (DBCAA) et l'acide tribromoacétique (TBAA)

HPLC-MSMS : Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem

IC 2D MS : Chromatographie ionique en 2 dimensions couplée à un spectromètre de masse

LD : Limite de détection

LHN : Laboratoire d'Hydrologie de Nancy

LQ : Limite de quantification

MCA : Mélange de captages

OEHHA : Office of Environmental Health Hazard Assessment

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

SPD : Sous produit de désinfection

SPE : Extraction sur phase solide

Traces : valeurs comprises entre limite de détection et limite de quantification, le résultat est confirmé qualitativement mais le résultat ne peut être quantifié

THM4 : Somme des 4 Trihalométhanes suivants : chloroforme, chlorodibromométhane, bromodichlorométhane et bromoforme.

TTP : Sortie d'installation de traitement

UDI : Unité de distribution

US-EPA : Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis

WHO : World Health Organisation

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste des paramètres recherchés, nombre d'échantillons analysés et de résultats disponibles	11
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des acides haloacétiques bromés et/ou chlorés	13
Tableau 3 : Méthodes de production industrielle des acides haloacétiques	14
Tableau 4 : Usages des acides haloacétiques	14
Tableau 5 : Statistiques descriptives avec seulement les résultats > limite de quantification.....	16
Tableau 6 : Matrice de corrélation entre les HAA, les THM et le COT	20
Tableau 7: Occurrence moyennes des HAA (échantillons positifs) dans les eaux de consommation de différents pays ...	21
Tableau 8 : Résultats de la campagne de confirmation	21
Tableau 9 : Propriétés physico-chimiques des chlorates	21
Tableau 10 : Conditions opératoires de l'analyse des chlorates par Chromatographie ionique	23
Tableau 11 : Statistiques descriptives avec seulement les résultats > limite de quantification.....	25
Tableau 12 : Propriétés physico-chimiques des phtalates et adipates étudiés (Cao 2010, Organisation for Economic Co-operation and Development 2000).....	28
Tableau 13 : Exemples des principaux usages des phtalates.....	29
Tableau 14 : Conditions opératoires de la méthode d'analyse en LC-MS/MS utilisée dans la présente étude.....	32
Tableau 15 : Paramètres de masse optimisés pour les molécules ciblées	33
Tableau 16 : Résumé des résultats obtenus dans les échantillons d'eaux brutes et d'eaux traitées	36
Tableau 17 : Mélange réactionnel utilisé pour la PCR	40
Tableau 18 : Programme d'un cycle de PCR	41

Liste des figures

Figure 1 : Répartition des ressources en eaux échantillonnées par typologie du point de prélèvement et origine de l'eau	12
Figure 2 : Fréquences des différents acides haloacétiques dans les eaux brutes, par classe de concentration	17
Figure 3 : Fréquences des différents acides haloacétiques dans les eaux traitées, par classe de concentration.....	17
Figure 4 : Distribution des échantillons d'eaux traitées par classe de concentration de la somme des neuf HAA, en fonction de l'origine de l'eau	18
Figure 5 : Distribution des échantillons d'eau par classe de concentration pour la somme des 9 HAA, en fonction de la typologie du point de prélèvement	19
Figure 6 : Moyennes et médianes HAA5 en fonction des classes de concentrations COT et THM4 (eaux traitées)	19
Figure 7 : Distribution de la présence des chlorates par classe de concentration et en fonction du type d'eau.....	24
Figure 8 : Distribution des échantillons d'eaux traitées par classe de concentration des chlorates en fonction de l'origine de l'eau	24
Figure 9 : Distribution des échantillons d'eau par classe de concentration des chlorates en fonction de la typologie du point de prélèvement.....	25
Figure 10 : Résultats des analyses initiales et des analyses de confirmation (sites > 200 µg/L)	26
Figure 11 : Structure générale des phtalates (R et R' sont des groupes alkyle ou aryle identiques ou différents).....	27
Figure 12 : Structure générale des adipates (R et R' sont des groupes alkyle ou aryle identiques ou différents).....	27
Figure 13 : Procédure d'échantillonnage pour l'eau traitée	30
Figure 14 : Diagramme décisionnel pour la validation des résultats	35
Figure 15 : Classification des <i>R. chamberiensis</i> selon Cabut (2015).....	38
Figure 16 : Photographie de <i>R. chamberiensis</i> (Cabut 2015)	39

1. Contexte, objet et modalités de réalisation des travaux

1.1. Contexte et objet de la demande

Dans le cadre de ses missions de référence, le Laboratoire d'Hydrologie de Nancy (LHN) de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail (Anses) contribue à renforcer la connaissance de la qualité sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) au travers de campagnes nationales d'occurrence sur des substances émergentes. Ces substances, pour la plupart, ne sont pas réglementées et ne disposent pas de limite de qualité, elles ne sont donc pas recherchées dans le contrôle sanitaire des EDCH. Ces campagnes permettent ainsi de disposer de données d'occurrence pour l'évaluation de l'exposition de l'homme à ces substances via les EDCH.

La liste des substances recherchées a été élaborée par le LHN en concertation avec la Direction générale de la santé (DGS) et les instances d'expertises au sein de l'Anses et elle tient compte des problématiques spécifiques aux EDCH :

- La présence dans les ressources en eau de contaminants chimiques,
- Les interactions et la production de sous-produits liés à la désinfection de l'eau,
- La migration et les interactions à partir des matériaux au contact de l'eau.

Ces campagnes nationales d'occurrence couvrent l'ensemble du territoire national avec les Départements et Régions d'Outre-Mer et sont conduites en collaboration avec les Agences régionales de santé (ARS) et la Direction générale de la santé. La stratégie d'échantillonnage reposait sur les objectifs suivants :

- obtenir une couverture nationale avec des prélèvements réalisés dans chaque département,
- être représentatif d'une proportion importante du débit national (20 à 25%) en réalisant un prélèvement sur l'ouvrage de plus fort débit de chaque département,
- intégrer un point d'intérêt, pour chaque famille de substances, proposé par les ARS et retenu en fonction de la vulnérabilité des sites,
- ajouter un point de prélèvement choisi aléatoirement dans chaque département afin de ne pas se focaliser exclusivement sur des sites vulnérables ou d'intérêt.

Les analyses portent sur la ressource d'eau brute et sur l'eau traitée.

Le LHN a développé des méthodes d'analyses en appliquant des référentiels de validation issus de la norme NF T 90-210 ou du guide SANTE/12682/2019 (EUROPEAN COMMISSION 2020). Certaines de ces méthodes sont mises à disposition des laboratoires agréés pour le contrôle sanitaire de l'eau sur le site de l'Anses (Anses 2019b) dans la perspective d'une éventuelle intégration dans la réglementation du contrôle sanitaire, ou en appui d'études régionales comme les plans régionaux santé-environnement. Par ailleurs, pour les paramètres non couverts par les Organismes de Circuits Inter Laboratoires, le LHN organise des exercices inter-laboratoires à destination de l'ensemble des opérateurs de l'analyse des eaux de consommation humaine (des laboratoires du contrôle sanitaire des eaux, des distributeurs d'eau, ...).

Les précédentes campagnes nationales d'occurrence de substances émergentes dans les EDCH ont été publiées : médicaments humains et vétérinaires en 2011 (Anses 2011b) ; composés alkyls perfluorés (Anses 2011a), perchlorates et nitrosamines en 2013 (Anses 2013) ; haloacétonitriles, trihalométhanes iodés, halocétones, chloropicrine, alkylphénols, bisphénols en 2018 (Anses 2018a) ; chrome hexavalent et chrome total en 2019 (Anses 2019a).

1.2. Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

1.2.1. Paramètres analysés

Cette étude a porté sur 3 familles de molécules chimiques et 1 bactérie pathogène opportuniste. Le Tableau 1 donne le détail des paramètres étudiés, et les nombres d'échantillons analysés et de résultats disponibles. La liste détaillée des composés analysés et les limites de quantification associées sont détaillées dans le rapport.

Le choix des composés chimiques analysés est issu des travaux de hiérarchisation menés en préparation des campagnes nationales dans les EDCH. Le paramètre chlorate a été ajouté à la demande de la Direction Générale de la Santé dans un contexte d'évolution réglementaire (révision de la directive EDCH) et suite à des interrogations du secteur agroalimentaire, alors que la recherche de la bactérie *Rouxiella Chamberiensis* est liée à une alerte sanitaire récente et au besoin de disposer de données d'occurrence environnementale. Outre les données issues de la littérature scientifique et les précédentes campagnes nationales, des requêtes sur différentes bases de données (Sise-Eaux d'alimentation, ADES) ont permis d'affiner la liste des composés d'intérêt.

Tableau 1 : Liste des paramètres recherchés, nombre d'échantillons analysés et de résultats disponibles

Familles chimiques / Micro-organismes	Nombre de paramètres	Nombre d'échantillons analysés	Nombre de résultats disponibles
Paramètres chimiques			
Acides haloacétiques	9	563	4854
Phtalates et adipate	10	549	5490
Substances inorganiques : chlorates	1	563	563
Paramètres microbiologiques			
Paramètre bactérien pathogène :	1	554	559
- <i>Rouxiella chamberiensis</i>			

1.2.2. Plan d'échantillonnage

Tous les départements ont pu faire l'objet d'un échantillonnage grâce à une étroite collaboration avec les ARS. Cette étude a été conduite sur près de 300 sites, pour lesquels les couples eau brute/eau traitée ont été analysés, équitablement répartis sur le territoire français et alimentant environ 20 % de la population. Pour chaque département, les prélèvements suivants ont été réalisés :

- Les gros débits (GD) sont les ressources fournissant le plus gros débit de chaque département,
- Les points aléatoires (AL) sont des ressources issues d'un tirage aléatoire sur chaque département,
- Les points d'intérêt (PI) sont des sites choisis par les ARS qui présentent un intérêt particulier, selon les modalités suivantes :

- **Pour les acides haloacétiques :**

Sont retenus les points de prélèvements susceptibles de présenter des teneurs en sous-produits de désinfection (SPD) élevées, les eaux traitées dont la teneur en carbone organique total (COT) est supérieure à 2mg/L ou dont la teneur en trihalométhanes (THM) est supérieure à 20 µg/L.

- **Pour les phtalates et adipates:**

Sont retenus des captages influencés par des rejets industriels (plastiques, cosmétiques).

○ Pour les Chlorates et *Rouxiella chamberiensis* :

Ces paramètres constituent des paramètres additionnels non prévus initialement lors de l'élaboration du plan de campagne. Aucun échantillonnage spécifique n'a donc été réalisé et les échantillons des PI HAA ont été utilisés pour ces deux paramètres.

Conformément à la stratégie d'échantillonnage, 2/3 de ces échantillons d'eau sont d'origine souterraine et 1/3 d'origine superficielle. Les modalités de mise en œuvre de cette campagne sont détaillées dans les instructions DGS/EA4-2011-229 et DGS/EA4-2013-229.

La Figure 1 représente la répartition des prélèvements en ressource par typologie du point de prélèvements et par origine de l'eau pour les différents paramètres.

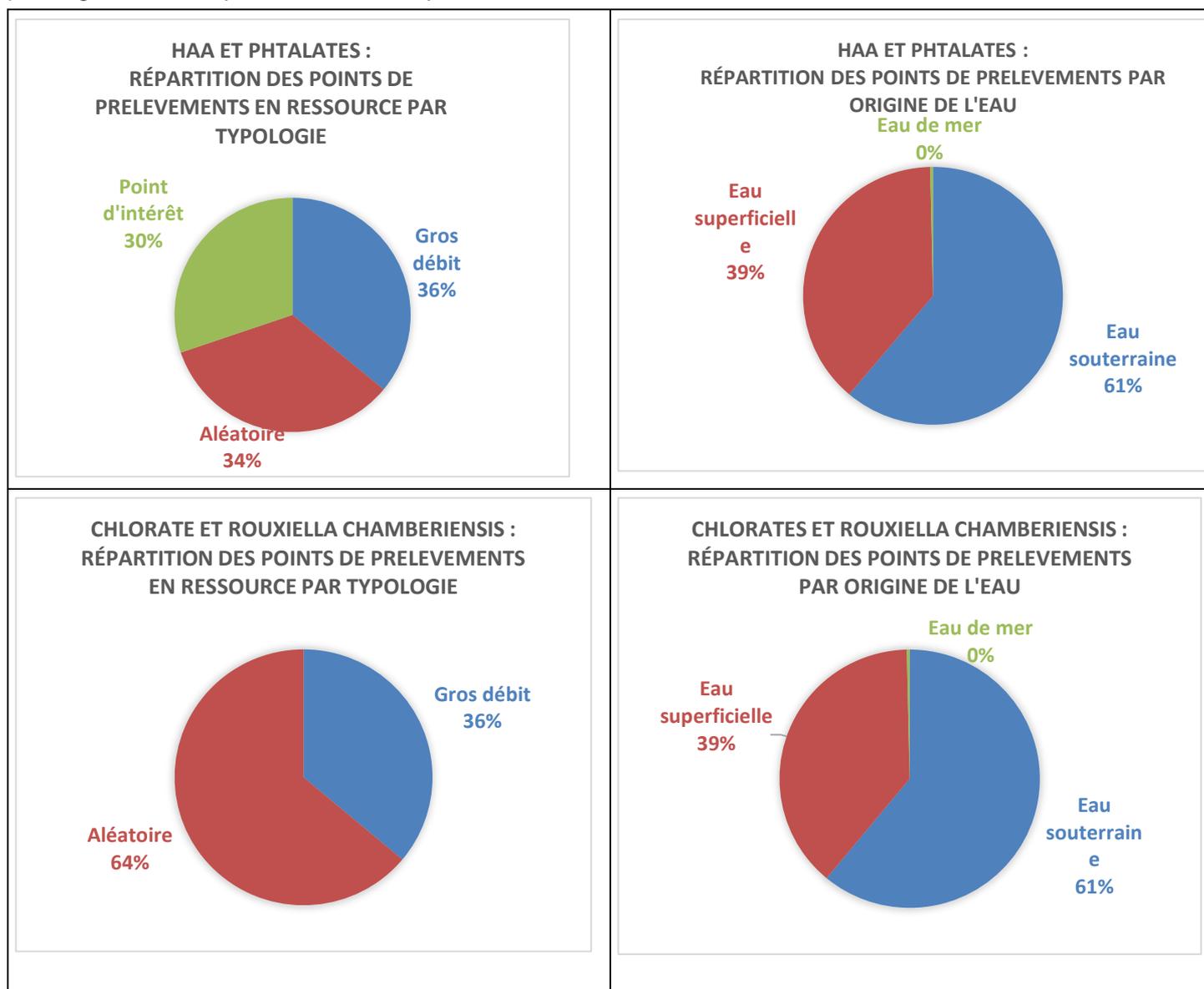


Figure 1 : Répartition des ressources en eaux échantillonnées par typologie du point de prélèvement et origine de l'eau

2. Résultats

2.1. Acides haloacétiques

2.1.1. Structures et propriétés chimiques

Les acides haloacétiques (HAA) sont des acides carboxyliques ayant comme structure de base celle de l'acide acétique où un ou plusieurs atomes d'hydrogène ont été substitués par des atomes de la famille des halogènes (Tableau 2). Ce sont des substances de faible masse molaire, hydrophiles et non volatiles.

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des acides haloacétiques bromés et/ou chlorés

Molécules	Acide chloroacétique	Acide dichloroacétique	Acide trichloroacétique	Acide bromoacétique	Acide tribromoacétique	Acide bromochloroacétique	Acide chlorodibromoacétique	Acide bromodichloroacétique	Acide dibromoacétique
N° CAS	79-11-8	79-43-6	76-03-9	79-08-3	75-96-7	5589-96-8	5278-95-5	71133-14-7	631-64-1
Acronyme	MCAA	DCAA	TCAA	MBAA	TBAA	BCAA	CDBAA	BDCAA	DBAA
Formule brute	C ₂ H ₃ ClO ₂	C ₂ H ₂ Cl ₂ O ₂	C ₂ HCl ₃ O ₂	C ₂ H ₃ BrO ₂	C ₂ HBr ₃ O ₂	C ₂ H ₂ BrClO ₂	C ₂ HBr ₂ ClO ₂	C ₂ HBrCl ₂ O ₂	C ₂ H ₂ Br ₂ O ₂
Formule développée									
Masse molaire (g/mol)	94,494	128,936	163,378	138,948	296,74	173,39	252,286	207,832	217,844
Constante de Henry	9.26X10 ⁻⁹	8.38X10 ⁻⁹	1.35X10 ^{-8*}	6.52X10 ⁻⁹	3.34X10 ⁻⁹	2,2X10 ⁻⁸	2.6X10 ⁻⁹	7.9X10 ^{-9*}	4.42X10 ⁻⁹
Tension de vapeur (mmHg)	6.50X10 ⁻²	1,79X10 ^{-1*}	6.0X10 ⁻²	1,19X10 ⁻¹	2.8X10 ^{-4*}	1,4X10 ^{-1*}	5.2X10 ^{-3*}	3.6X10 ^{-2*}	2.3X10 ^{-2*}
Pt ébullition (°C)	189,3	194	195,5	208	245	210-212	264*	235*	232-234
Pt fusion (°C)	63	13,5	57,5	49	129-135	27,5	68,1*	48*	48
Densité	1,328	1,563	1,62	1,93		1,9848	2.7*	2,3*	
Solubilité dans l'eau (mg/L à 25°C)	8.58X10 ⁵	1X10 ⁶	5.4X10 ⁴	1,75X10 ⁶	2.0X10 ⁵	2,5X10 ^{5*}	2.4X10 ^{3*}	4.9X10 ^{3*}	2.11X10 ⁶
pKa	2,87	1,26	0,51	2,89	0,72	1,4*	0,03*	0,03*	1,48
log Kow	0,22	0,92	1,33*	0,41	1,71*	0,61*	1,62*	1,53*	0,7*
log Koc	0,079*	0,278*	0,437*	0,079*		1,9*			0,278*

* Données prédictes

Sources : PubChem, Chemspider, Toxnet.

2.1.2. Origines et usages

Les acides haloacétiques sont des sous-produits de désinfection issus de réactions chimiques entre le chlore utilisé pour désinfecter l'eau et la matière organique ainsi que les ions bromures présents naturellement dans l'eau. Cette matière organique peut être mesurée grâce au COT qui peut ainsi constituer un indicateur intéressant des précurseurs des acides haloacétiques.

De nombreux facteurs interviennent dans la formation des acides haloacétiques : les caractéristiques de l'eau brute, la filière de traitement et le réseau de distribution. Une augmentation du pH par exemple conduit à la diminution de la formation d'HAA. Certains paramètres ont également une influence qui diffère selon l'HAA considéré : les HAA dihalogénés ont tendance à être dégradés lorsque la température augmente tandis que les concentrations en HAA trihalogénés restent constantes (Singer et al. 2002). Les microorganismes ont tendance à dégrader les acides mono- et dihalogénés mais pas les acides trihalogénés (Baribeau et al. 2006).

Les acides haloacétiques présentent généralement une cinétique de formation en cloche dans les réseaux de distribution : tout d'abord il y a une formation lente dans le réseau, puis leur concentration diminue. Cette diminution peut être due à différents paramètres : la biodégradation et l'instabilité chimique de ces molécules (Baribeau et al. 2006). Cette cinétique est importante puisque de nombreuses études ont mis en évidence l'existence d'une corrélation entre la concentration en THM et la concentration en HAA, proposant ainsi des modèles mathématiques permettant d'avoir une estimation des niveaux de concentrations en HAA à partir des données de concentrations des THM. S'il existe bien une forte corrélation entre ces deux groupes de sous-

produits de désinfection au niveau des stations de traitement de l'eau, celle-ci semble diminuer dans le réseau de distribution. Ceci s'explique par la différence dans les cinétiques des THM et des HAA. En effet, différentes études indiquent que les THM, *a contrario* des HAA, ont tendance à augmenter dans les systèmes de distribution (Mouly et al. 2009).

Ces molécules peuvent également être produites à des fins industrielles (Tableau 3) pour servir ensuite à des fins thérapeutiques, dans les laboratoires comme réactifs, comme intermédiaire dans la synthèse de différentes substances chimiques, dans l'industrie du textile ou du plastique, ou encore comme conservateurs alimentaires ou pesticide (Tableau 4). Cette liste non exhaustive constitue autant de sources de rejets possibles d'acides haloacétiques dans l'environnement.

Tableau 3 : Méthodes de production industrielle des acides haloacétiques

Molécule	Méthodes de production
MCAA	<ul style="list-style-type: none"> Chloration de l'acide acétique en présence d'anhydride acétique, de phosphore ou de soufre Hydrolyse du 1,1,2-trichloroéthylène par l'acide sulfurique
DCAA	<ul style="list-style-type: none"> Chloration de l'acide acétique en présence d'iode Hydrolyse du chlorure de dichloroacétyle
TCAA	<ul style="list-style-type: none"> Chloration de l'acide acétique Oxydation hydrolytique du tétrachloroéthène Oxydation par le peroxyde d'hydrogène du chloral
MBAA	<ul style="list-style-type: none"> Hydrolyse du bromure de bromoacetyl obtenu par la réaction de Hell-Volhard-Zelinski

Tableau 4 : Usages des acides haloacétiques

Molécule	Usages
MCAA	<ul style="list-style-type: none"> Herbicide Conservateur Bactériostatique Intermédiaire chimique dans la production de : carboxyméthylcellulose, chloroacetate d'éthyle, glycine, caféine de synthèse, sarcosine, acide thioglycolique, éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), ibuprofène, acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique, vitamine A, teintures indigo ...
DCAA	<ul style="list-style-type: none"> Fongicide et virucide Désinfectant, astringent topique Intermédiaire dans la production d'acide glyoxylique, sulfomanides, acides dialkoxy et diaroxy ... Thérapeutique : agent cautérisant, traitement de l'acidose lactique congénitale ...
TCAA	<ul style="list-style-type: none"> Anciennement dans les produits pesticides Réactif pour la détection de l'albumine Solvant dans l'industrie du plastique Auxiliaire dans la finition textile Additif pour améliorer les propriétés à haute pression des huiles lubrifiantes minérales Thérapeutique : Agent cautérisant, caustique, traitement des kératoses et dermatoses actiniques, cicatrices d'acné ...
MBAA	<ul style="list-style-type: none"> Intermédiaire de réaction, ou réactif de départ dans la synthèse de pesticides Anciennement comme conservateur alimentaire
TBAA	<ul style="list-style-type: none"> Catalyseur, agent de bromation

2.1.3. Valeurs réglementaires et valeurs guide dans l'EDCH

A l'heure actuelle, il n'existe pas de limite de qualité en France ou dans l'Union Européenne réglementant la concentration en acides haloacétiques dans l'EDCH. Toutefois plusieurs organisations et agences étrangères ou internationales ont déjà établi des valeurs guides. Certains organismes d'évaluation des risques sanitaires nord-américains ont fixé des normes pour les HAA5 (soit MCAA, DCAA, TCAA, MBAA et DBAA) : 60 µg/L pour l'US EPA (1998) et le NYSDOH (2015), 80 µg/L pour Santé Canada (2008b).

La future directive européenne relative à la qualité des EDCH, en cours de publication, fixe une limite de qualité de 60 µg/L pour la somme des cinq composés suivants : l'acide chloroacétique (MCAA), l'acide dichloroacétique (DCAA), l'acide trichloroacétique (TCAA), l'acide bromoacétique (MBAA) et l'acide dibromoacétique (DBAA).

2.1.4. Méthodes d'analyses (état de l'art)

Les acides haloacétiques font l'objet d'une méthode d'analyse normalisée (NF EN ISO 23631) couvrant seulement six des neuf composés et basée sur une chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide-liquide et dérivation.

Au 1^{er} août 2019, on recensait 7 laboratoires agréés pour l'analyse du MCAA dans les EDCH. Même si à ce jour, les laboratoires ne dosent pas l'ensemble des neuf HAA, le niveau de performance requis dans la future directive européenne (incertitude de la mesure : 50 % de la limite de qualité) ne devrait pas poser de difficultés techniques majeures.

Les limites de quantification des HAA dépendent de la méthode mise en œuvre, elles sont généralement de l'ordre 0,1 µg/L pour la méthode normalisée et de quelques µg/L pour les méthodes par chromatographie ionique.

Les incertitudes intra-laboratoires, pour les laboratoires agréés pour le contrôle sanitaire des eaux, sont de l'ordre de 30%.

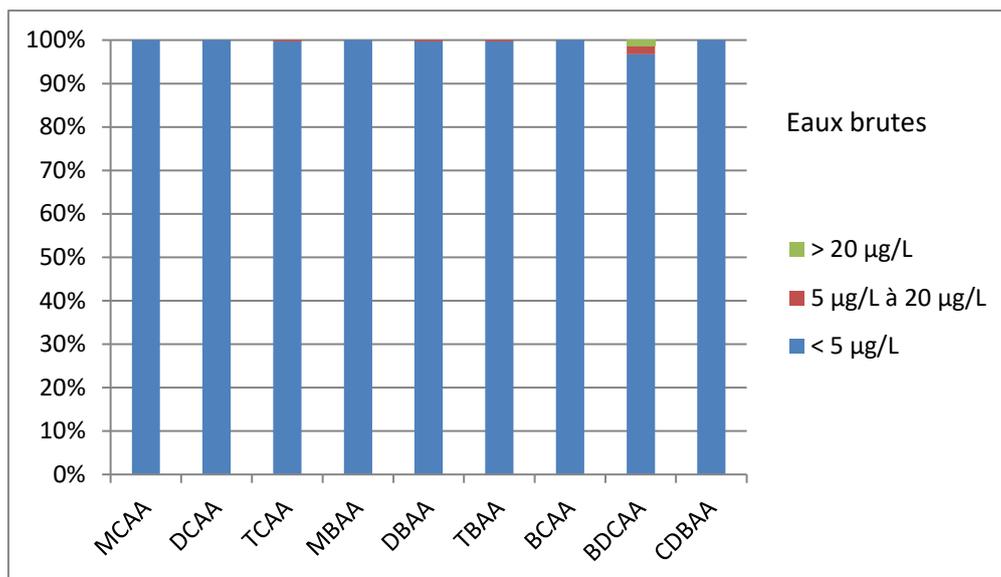
La méthode d'analyse utilisée au LHN est basée sur une chromatographie ionique couplée à un spectromètre de masse. L'ensemble des conditions opératoires est disponible sur le site internet de l'Anses (Anses 2018b). Les limites de quantification sont de 5 µg/L pour les neuf molécules recherchées et les incertitudes intralaboratoires de 20%.

2.1.5. Résultats

Le Tableau 5 et les Figures 2 et 3 présentent la répartition des concentrations des différents HAA dans les échantillons d'eau brute et d'eau traitée.

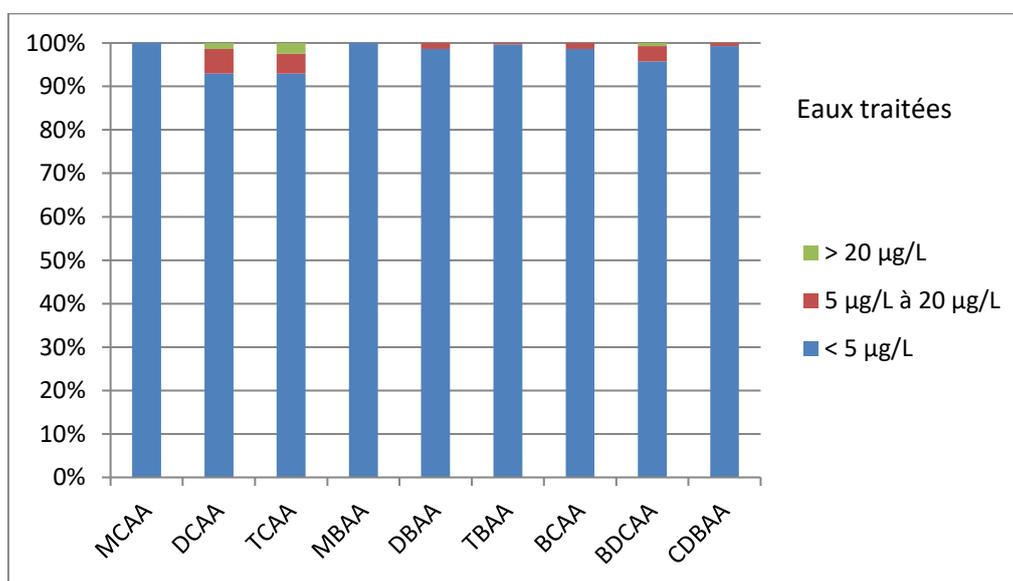
Tableau 5 : Statistiques descriptives avec seulement les résultats > limite de quantification

Paramètre	Origine	Nombre de valeurs	moyenne (µg/L)	médiane (µg/L)	percentile 75 (µg/L)	percentile 95 (µg/L)	Valeur max (µg/L)
BCAA	CAP	0					
BCAA	MCA	0					
BCAA	TTP	4	6,2	5,9	7,2	8,0	8,0
BCAA	UDI	0					
BDCAA	CAP	8	17,3	15,0	22,0	43,9	43,9
BDCAA	MCA	1	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
BDCAA	TTP	12	10,4	7,1	12,9	27,2	27,2
BDCAA	UDI	0					
CDBAA	CAP	0					
CDBAA	MCA	0					
CDBAA	TTP	2	7,5	7,5	8,9	8,9	8,9
CDBAA	UDI	0					
DBAA	CAP	1	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
DBAA	MCA	0					
DBAA	TTP	3	7,8	8,5	8,6	8,6	8,6
DBAA	UDI	1	5,4	5,4	5,4	5,4	5,4
DCAA	CAP	0					
DCAA	MCA	0					
DCAA	TTP	20	13,8	11,1	18,6	30,9	36,4
DCAA	UDI	0					
MBAA	CAP	0					
MBAA	MCA	0					
MBAA	TTP	0					
MBAA	UDI	0					
MCAA	CAP	0					
MCAA	MCA	0					
MCAA	TTP	0					
MCAA	UDI	0					
TBAA	CAP	1	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7
TBAA	MCA	0					
TBAA	TTP	1	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
TBAA	UDI	0					
TCAA	CAP	1	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7
TCAA	MCA	0					
TCAA	TTP	0					
TCAA	UDI	20	15,1	10,0	21,7	37,0	38,9



Concentration	MCAA	DCAA	TCAA	MBAA	DBAA	TBAA	BCAA	BDCAA	CDBAA
< 5 µg/L	278	278	277	278	277	277	278	269	278
5 µg/L à 20 µg/L	0	0	1	0	1	1	0	5	0
> 20 µg/L	0	0	0	0	0	0	0	4	0

Figure 2 : Fréquences des différents acides haloacétiques dans les eaux brutes, par classe de concentration



Concentration	MCAA	DCAA	TCAA	MBAA	DBAA	TBAA	BCAA	BDCAA	CDBAA
< 5 µg/L	285	265	265	285	281	284	281	273	283
5 µg/L à 20 µg/L	0	16	13	0	4	1	4	10	2
> 20 µg/L	0	4	7	0	0	0	0	2	0

Figure 3 : Fréquences des différents acides haloacétiques dans les eaux traitées, par classe de concentration

On constate, assez logiquement, que les eaux traitées présentent des fréquences de quantification et valeurs maximales en HAA supérieures aux eaux brutes.

Sur les 278 ressources analysées, 12 présentent des concentrations en au moins un acide haloacétique supérieure à la limite de quantification, principalement du BDCAA (9 échantillons sur 12). La plupart de ces échantillons positifs sont des eaux d'origine souterraine (9 échantillons sur 12) et les résultats positifs peuvent être liés à des chlorations à la crépine en amont du point de prélèvement de l'échantillon d'eau. La valeur maximale rencontrée est de 44 µg/L de BDCAA pour une ressource d'origine souterraine. Cette valeur est néanmoins à interpréter avec précaution puisque l'eau traitée correspondante présente des résultats inférieurs à la limite de quantification et l'analyse de confirmation réalisée sur un nouveau prélèvement d'eau a mis en évidence des résultats inférieurs à la limite de quantification (voir §2.1.6). Le MCAA, MBAA, DCAA, CDBAA et BCAA n'ont jamais été quantifiés dans les ressources.

Sur les 285 échantillons d'eaux traitées analysées, 44 présentent des concentrations en au moins un acide haloacétique supérieure à la limite de quantification, principalement en raison de teneurs positives en BDCAA, DCAA et TCAA. La plupart de ces échantillons positifs sont des eaux d'origine superficielle (29 échantillons sur 44) et les échantillons présentant des concentrations cumulées supérieures à 30 µg/L (6 échantillons) ont tous une origine superficielle. La valeur maximale rencontrée est de 39 µg/L de BDCAA pour une eau traitée d'origine superficielle. Concernant les concentrations cumulées, un seul échantillon dépasse la valeur de 80 µg/L, il s'agit d'un point d'intérêt d'origine superficielle et deux échantillons (points d'intérêt d'origine superficielle) présentent un dépassement de la valeur fixée dans la future directive EDCH pour la somme des 5 HAA (60 µg/L).

Par ailleurs, on peut constater que, dans les eaux traitées, les acides trihalogénés sont les plus abondants, suivis des dihalogénés. Les acides monohalogénés n'ont jamais été retrouvés dans le cadre de cette campagne.

Sur les 5 molécules réglementées par l'US-EPA et Santé Canada, les 2 acides monohalogénés MBAA et MCAA n'ont jamais été quantifiés. Au contraire, les espèces BDCAA et CDBAA, qui ne font pas partie de la liste des 5 HAA, sont assez fréquemment quantifiées dans les eaux traitées.

On peut constater que les eaux traitées ayant pour origine des eaux de surface ont tendance à contenir plus d'acides haloacétiques que les eaux traitées d'origine souterraine (Figure 4), probablement en raison de teneurs en matière organique plus élevées.

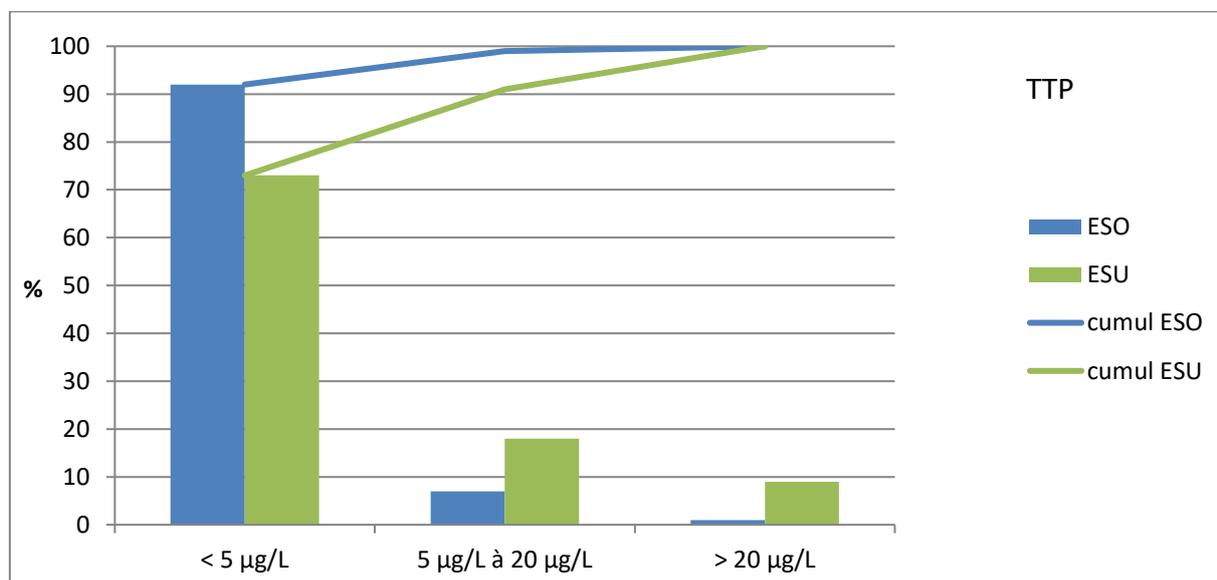


Figure 4 : Distribution des échantillons d'eaux traitées par classe de concentration de la somme des neuf HAA, en fonction de l'origine de l'eau

La Figure 5 représente la répartition des teneurs en HAA 9 en fonction des modalités de sélection des sites. On peut noter que les points d'intérêt présentent une fréquence de résultats supérieurs à la limite de quantification plus élevée (30 % de résultats positifs) que les gros débits et points aléatoires (10 % de résultats positifs).

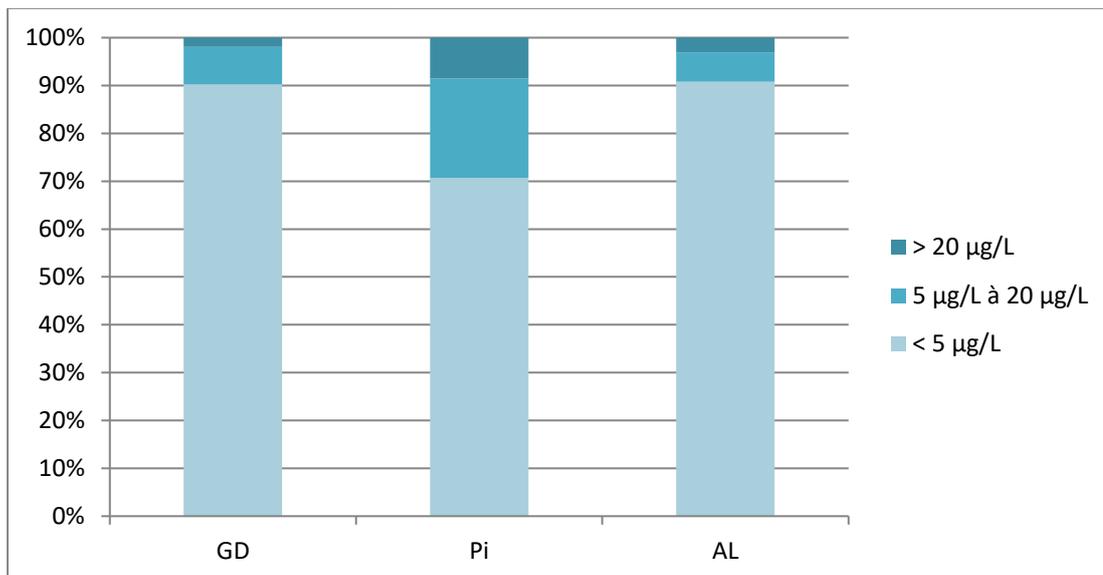


Figure 5 : Distribution des échantillons d'eau par classe de concentration pour la somme des 9 HAA, en fonction de la typologie du point de prélèvement

Les analyses de COT et THM n'ayant pu être réalisées simultanément dans le cadre de cette campagne, il a été décidé d'associer à nos résultats de HAA les valeurs moyennes de THM (pour 4 molécules) et COT, issues de la base de données Sise-Eaux d'alimentation pour chaque point de prélèvement. Au total, sur les 285 échantillons d'eaux traitées analysés, 141 résultats pour les THM4 et 138 pour le COT ont ainsi pu être appariés. On constate (Figure 6) que les concentrations en HAA5 augmentent lorsque les concentrations en COT et THM4 augmentent, en particulier lorsque les teneurs en THM4 sont supérieures à 20 µg/L ou les teneurs en COT supérieures à la référence de qualité de 2 mg/L.

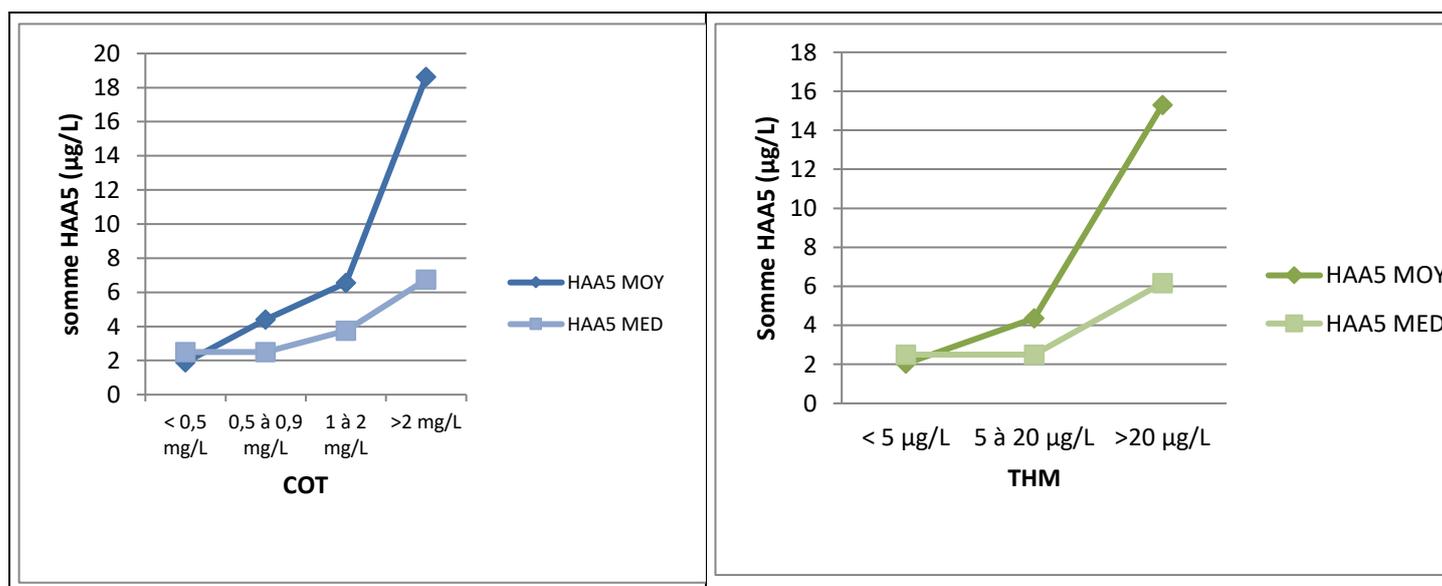


Figure 6 : Moyennes et médianes HAA5 en fonction des classes de concentrations COT et THM4 (eaux traitées)

Le Tableau 6 présente la matrice de corrélation entre les différents paramètres. Outre les corrélations intrinsèques aux paramètres d'une même famille, il est observé :

- Une corrélation positive entre COT, THM4 (0,46) et HAA (0,38) ;
- Une corrélation positive entre les espèces chlorées de THM et d'HAA (exemple bromoforme/DBAA (0,7), chloroforme/TCAA (0,61)) et une corrélation inverse entre les espèces bromées et chlorées (exemple bromoforme/DCAA (-0,21), chloroforme/DBAA (-0,24)) illustrant l'impact de la présence de bromures sur la spéciation des différents sous-produits de désinfection.

Tableau 6 : Matrice de corrélation entre les HAA, les THM et le COT

	MCAA	DCAA	TCAA	MBAA	DBAA	TBAA	BCAA	BDCAA	CDBAA	CLF	BRF	DCLMBR	DBRMCL	COT	HAA5	HAA9	THM4
MCAA	1,00																
DCAA	0,35	1,00															
TCAA	0,30	0,92	1,00														
MBAA	-0,01	-0,04	-0,04	1,00													
DBAA	-0,08	-0,25	-0,25	-0,06	1,00												
TBAA	-0,01	-0,02	-0,05	-0,01	0,06	1,00											
BCAA	0,42	0,32	0,22	-0,04	0,02	0,10	1,00										
BDCAA	-0,04	-0,11	-0,08	-0,03	0,00	-0,04	-0,08	1,00									
CDBAA	-0,02	-0,08	-0,05	-0,01	0,05	-0,02	-0,07	-0,06	1,00								
CLF	0,10	0,54	0,61	-0,05	-0,24	0,05	0,09	-0,13	-0,09	1,00							
BRF	-0,06	-0,21	-0,17	0,08	0,70	-0,02	-0,03	0,14	0,03	-0,18	1,00						
DCLMBR	0,08	0,21	0,20	-0,02	0,14	0,15	0,32	-0,06	-0,08	0,35	0,28	1,00					
DBRMCL	-0,03	-0,12	-0,09	0,00	0,41	0,04	0,17	0,02	-0,05	0,00	0,67	0,76	1,00				
COT	0,26	0,35	0,34	0,01	0,09	0,09	0,35	-0,05	-0,01	0,36	0,10	0,39	0,24	1,00			
HAA5	0,35	0,97	0,98	-0,03	-0,13	-0,03	0,29	-0,10	-0,06	0,57	-0,11	0,23	-0,05	0,38	1,00		
HAA9	0,36	0,90	0,91	-0,04	-0,11	0,01	0,35	0,21	0,09	0,49	-0,06	0,22	-0,03	0,38	0,93	1,00	
THM4	0,06	0,30	0,35	-0,01	0,22	0,04	0,21	-0,04	-0,07	0,65	0,46	0,82	0,74	0,46	0,37	0,35	1,00

Il convient de noter que le site présentant une teneur en HAA9 supérieure à 80 µg/L présente également une teneur en COT supérieure à la référence de qualité. Une étude de Arora et al. (1997) réalisée aux Etats-Unis sur plus de 100 stations de traitement de l'eau entre 1989 et 1991 a démontré une absence de corrélation entre la concentration en COT dans les eaux brutes et la concentration en HAA5 dans les eaux traitées. Cependant une corrélation a été observée entre la concentration en HAA5 et la concentration en COT dans les eaux en sortie de station de traitement, comme dans le cas de notre étude.

Comme indiqué précédemment, aucun échantillon ne présente de concentration en MCAA, DCAA et TCAA supérieure aux valeurs guides de l'OMS, et seuls deux échantillons contiennent des concentrations en HAA supérieures aux valeurs guides de l'US-EPA. Ces derniers proviennent tous les deux d'eaux traitées ayant pour origine une eau superficielle. Les concentrations en THM sont conformes aux limites de qualité pour ces deux échantillons (100 µg/L pour THM4) mais sont toutes deux supérieures au 80^{ème} percentile des concentrations.

Concernant les EDCH, des données d'occurrence de plusieurs pays toutes issues d'études multi-sites ont pu être compilées (Tableau 7).

Tableau 7: Occurrence moyennes des HAA (échantillons positifs) dans les eaux de consommation de différents pays

(Arora et al. 1997, Baribeau et al. 2006, USEPA 1998, Hoffman et al. 2008, Santé Canada 2008b, Shoaf et al. 2007, Singer et al. 2002)

	[MCAA]	[DCAA]	[TCAA]	[MBAA]	[DBAA]	[TBAA]	[BCAA]	[BDCAA]	[CDBAA]	[HAA5]	[HAA9]
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L							
Canada	2,20	21,7	42,5	0,63	0,64					69,6	53,2
Espagne	3,95	5,44	4,34		3,75		2,47	4,11		12,9	28,5
Grèce	14,4	8,62	9,79	0,25	0,63		2,06	2,60		33,6	
Royaume-Uni	1,04	6,08	5,47	0,51	0,83	0,35	2,38	1,29	0,54	13,9	18,5
Etats-Unis	1,23	12,6	8,47	1,10	1,07		1,19	1,15	0,77	30,6	33,3

Ces données peuvent être comparées aux données d'occurrence issues de cette campagne nationale, même si des précautions d'interprétation doivent être prises en raison de limites de quantification différentes d'une étude à l'autre et de valeurs moyennes calculés sur les seuls résultats positifs. Il est néanmoins possible de relever que le DCAA et le TCAA sont généralement les HAA majoritaires tout comme dans cette campagne nationale. La somme moyenne des HAA9 dans le cadre de la présente campagne est de 18 µg/L (moyenne sur les 44 résultats positifs). Elle est légèrement inférieure à celles relevées dans les autres études.

2.1.6. Analyses de confirmation

Dans le cadre de cette campagne, il a été proposé aux ARS de confirmer les résultats pour les sites présentant des teneurs cumulées en HAA9 supérieures à 40 µg/L. Sur les 5 sites concernés, 4 ont pu faire l'objet de nouvelles analyses dont les résultats sont présentés dans le tableau 7. Trois des 4 sites présentent des concentrations convergentes avec les mêmes espèces en présence et des teneurs cumulées du même ordre de grandeur.

Tableau 8 : Résultats de la campagne de confirmation

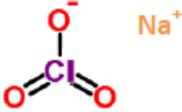
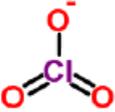
Date de prélèvement	Site	Concentrations en µg/L									Somme des 9 HAA (µg/L)
		MCAA	MBAA	DCA A	BCA A	DBA A	TCA A	BDCA A	CDBA A	TBA A	
07/03/2016	Site 1	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	44	< 5	< 5	44
02/07/2018		< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
04/01/2016	Site 2	< 5	< 5	20	< 5	< 5	24	< 5	< 5	< 5	44
11/07/2018		< 5	< 5	15	11	< 5	17	12	< 5	< 5	55
06/04/2016	Site 3	< 5	< 5	25	< 5	< 5	35	< 5	< 5	< 5	60
11/07/2018		< 5	< 5	16	< 5	< 5	28	< 5	< 5	< 5	44
18/02/2016	Site 4	< 5	< 5	25	< 5	< 5	26	< 5	N.M	< 5	51
10/07/2018		< 5	< 5	16	< 5	< 5	15	< 5	< 5	< 5	31

2.2. Chlorates

2.2.1. Structures et propriétés chimiques

L'ion chlorate est un anion inorganique pouvant former des sels très solubles, notamment le chlorate de sodium (Tableau 9), qui se présentent sous la forme de cristaux incolores et inodores.

Tableau 9 : Propriétés physico-chimiques des chlorates

Nom	Chlorate de sodium	Ion chlorate
Numéro CAS	7775-09-9	14866-68-3
Formule brute	Na ⁺ , ClO ₃ ⁻	ClO ₃ ⁻
Formule développée		
Masse molaire (g/mol)	106,40	83,45
Point de fusion	248°C	
Point d'ébullition	300°C	
Densité (g/cm ³)	2,5	
Solubilité dans l'eau	1000 g/L à 25°C	

2.2.2. Origines et usages

Les chlorates sont utilisés comme agents oxydants dans l'industrie du blanchiment, de la tannerie ainsi que dans la fabrication d'allumettes, d'explosifs, des colorants et pour la synthèse du bioxyde de chlore. Ils possèdent également des propriétés herbicides et leur usage a été interdit en Europe en tant que désherbant agricole en 2008 (Mastrocicco et al. 2017, USEPA 2016).

Les apports principaux en chlorates dans les eaux de distribution sont liés à la génération de sous-produits de désinfection lors du traitement par du bioxyde de chlore ou à des impuretés apportées par les solutions d'hypochlorite (Alfredo et al. 2015). Le bioxyde de chlore est un désinfectant chloré qui peut être employé en substitution du chlore dans les usines de traitement, car il est réputé générer moins de sous-produits de désinfection toxiques et possède des caractéristiques organoleptiques moins prononcées (World Health Organization 2016). Cependant, la désinfection au bioxyde de chlore est susceptible d'être à l'origine d'autres sous-produits tels que les ions chlorite et les ions chlorate qui peuvent également constituer un risque pour la santé.

Très réactif, le bioxyde de chlore doit être produit sur place. Il se dismute rapidement en ions chlorite qui vont à leur tour réagir avec le chlore libre conduisant à la formation d'ions chlorate. Des études ont estimé que 70% de la dose de bioxyde de chlore se transforme en ions chlorite et 10% en ions chlorate (Santé Canada 2008a).

Les ions chlorate sont également retrouvés dans les solutions d'hypochlorite qui ne satisfont pas aux normes de qualité et/ou qui ne sont pas entreposées de façon appropriée (Santé Canada 2008a). Les ions chlorate peuvent à leur tour se dégrader en présence d'ozone et former des ions perchlorate (ClO₄⁻).

En raison de leur grande stabilité dans l'eau et de l'absence de traitement d'élimination simple et efficace, il convient de limiter au maximum la production d'ions chlorate dans les stations de traitement d'eau potable.

2.2.3. Valeurs réglementaires et valeurs guides dans les EDCH

La future directive européenne relative aux EDCH, en cours de publication, propose une valeur paramétrique de 0,25 mg/L réhaussée à 0,7 mg/L en cas de traitement de désinfection susceptible de générer du chlorate (bioxyde de chlore notamment). La valeur guide provisoire établie par l'OMS est de 0,7 mg/L (World Health Organization 2017). Santé Canada a établi une recommandation à 1 mg/L (Santé Canada 2008a).

2.2.4. Méthodes d'analyses

Le dosage de l'ion chlorate fait l'objet d'une méthode d'analyse normalisée (NF EN ISO 10304-4) par chromatographie ionique avec une détection conductimétrique. Au 1er août 2019, 18 laboratoires étaient agréés pour l'analyse de l'ion chlorate dans les EDCH avec une limite de quantification médiane de 0,1 mg/L. La future

directive européenne prévoit une incertitude maximale de la mesure équivalente à 40 % de la valeur paramétrique.

La méthode utilisée dans le cadre de cette campagne d'analyse est basée sur cette norme.

La solution commerciale de chlorate à 1 000 µg/mL a été fournie par VWR. Cette solution est utilisée pour la préparation de la gamme d'étalonnage. La solution servant pour les contrôles intra séries est également une solution de chlorate à 1 000 µg/mL fournie par CHEMLAB. La gamme d'étalonnage et les contrôles intra-séries sont préparées dans de l'eau d'Evian.

Les échantillons sont prélevés dans des tubes en verre blanc de 40 mL. Ces échantillons sont ensuite expédiés dans des emballages réfrigérés et arrivent au laboratoire dans les 24 à 48H pour être ensuite analysés.

Tableau 10 : Conditions opératoires de l'analyse des chlorates par Chromatographie ionique

Etapes	Conditions opératoires
Prélèvement	Tube verre blanc 40 mL
Conservation	4 °C
Analyse	Chromatographie ionique ICS 5000+ (Thermo) avec pré colonne AG 24 2 mm et colonne AS24 2 mm. Température colonne : 10°C Gradient KOH : 1 min : 11 mM, 2 min : 12 mM, 17.7 min : 28 mM, 30 min : 40 mM, 40 min : 50 mM, 50 min : 60 mM, 60 min : 70 mM, 70 min : 80 mM, 80 min : 90 mM, 90 min : 100 mM Suppresseur ASRS 2 mm Débit : 0.28 mL/min Volume injecté : 100 µL
Contrôle qualité	QC 5 µg/L et QC 75 µg/L

La méthode analytique a été validée suivant la norme NF T 90-210 (Qualité de l'eau – Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire) dans deux types de matrice (eau de surface et eau souterraine).

La limite de quantification est de 10 µg/L et l'incertitude élargie pour cette méthode est de 20 % à 100 µg/L.

S'agissant d'un paramètre additionnel, non prévu initialement dans la campagne, avec de nombreux intervenants pour effectuer les prélèvements, il n'a pas été possible pour des raisons logistiques de prévoir une stabilisation optimale des échantillons telle que décrite dans l'avis 2017-SA-0190 (Anses 2017) (dégazage pour les échantillons traités au bioxyde de chlore puis passage en milieu alcalin). Les résultats sont donc susceptibles d'être légèrement surévalués pour les stations de traitement utilisant du bioxyde de chlore et, pour ces cas particuliers, probablement d'avantage représentatifs des teneurs retrouvées dans le réseau plutôt qu'en sortie de station de traitement.

2.2.5. Résultats

85 % des échantillons d'eaux brutes et plus de 50 % des échantillons d'eaux traitées ne présentent pas de concentrations en chlorates supérieures à la limite de quantification de 10 µg/L. Les teneurs observées dans les échantillons d'eaux traitées (Figure 7) varient de 10 µg/L à 1 039 µg/L et 97 % des échantillons d'eaux traitées présentent des teneurs en ion chlorate inférieures à 300 µg/L. Moins de 1 % des échantillons d'eaux traitées dépassent la valeur de 700 µg/L et 3,5 % dépassent la valeur de 250 µg/L.

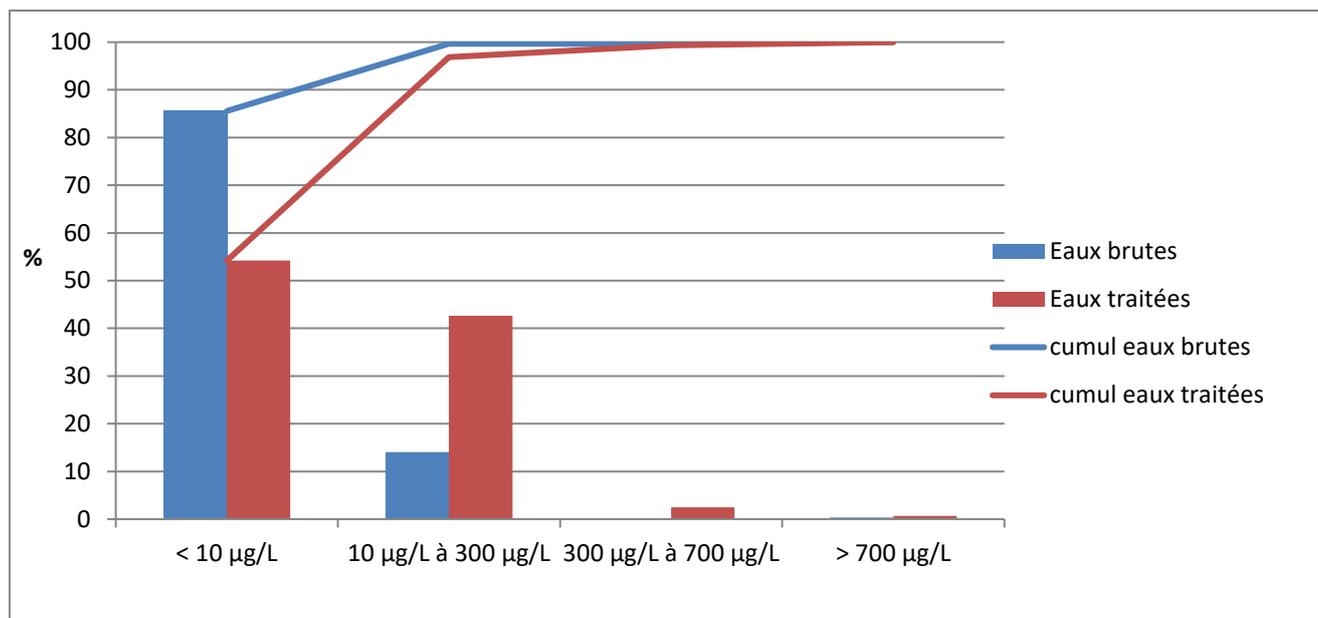


Figure 7 : Distribution de la présence des chlorates par classe de concentration et en fonction du type d'eau

L'origine de l'eau (souterraine ou superficielle) et les critères de sélection des points de prélèvement (gros débits/ aléatoire) ne semblent pas influencer les fréquences de quantification dans les eaux traitées (Figures 8 et 9).

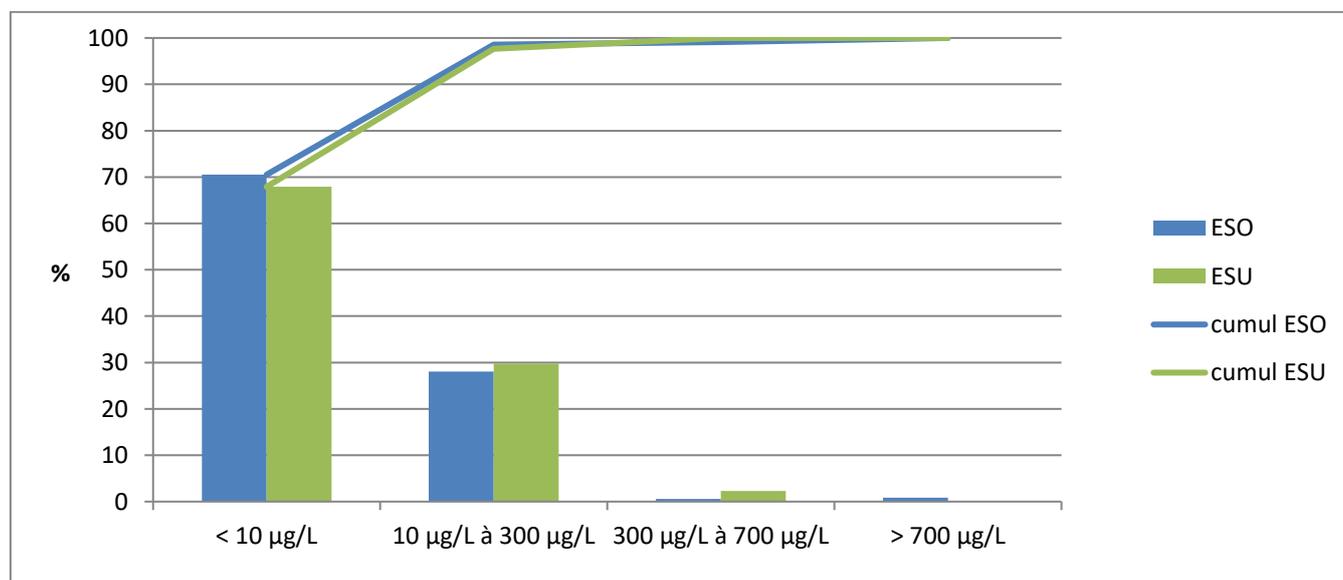


Figure 8 : Distribution des échantillons d'eaux traitées par classe de concentration des chlorates en fonction de l'origine de l'eau

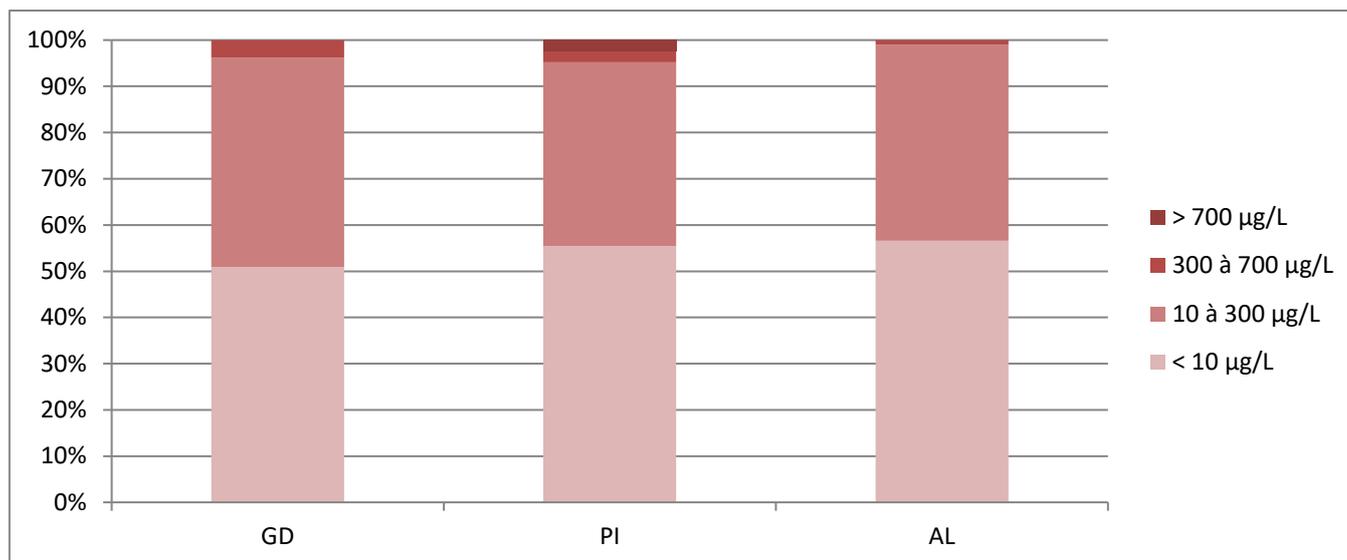


Figure 9 : Distribution des échantillons d'eau par classe de concentration des chlorates en fonction de la typologie du point de prélèvement

Le Tableau 11 représente la répartition des résultats positifs en chlorates en fonction des points de prélèvements.

Tableau 11 : Statistiques descriptives avec seulement les résultats > limite de quantification

Origine	Nombre de valeurs	moyenne (µg/L)	médiane (µg/L)	percentile 75 (µg/L)	percentile 95 (µg/L)	Valeur max (µg/L)
CAP	37	70,4	33,6	70,3	155,2	941
MCA	3	97,4	77,1	166,8	166,8	167
TTP	131	119,4	68,3	139,7	520,9	1039

Les teneurs mesurées sont assez semblables à celles mesurées dans d'autres pays. Ainsi, les valeurs mesurées sur huit eaux traitées au bioxyde de chlore, au Canada s'étalent de 30 à 310 µg/L en hiver et 80 à 590 µg/L en été (Santé Canada 2008a). En Espagne, sur 332 eaux destinées à la consommation humaine désinfectées avec des solutions d'hypochlorite, les résultats observés varient de 2 à 4 340 µg/L avec une valeur médiane de 119 µg/L (Garcia-Villanova et al. 2010). Dans son étude sur les contaminants non réglementés UCMR3 (USEPA 2016), l'US-EPA a réalisé plus de 62 000 analyses de chlorate sur des eaux de distribution : 17 % des échantillons présentaient des teneurs supérieures à la valeur de référence préconisée de 210 µg/L et 3 % étaient supérieures à 630 µg/L.

2.2.6. Analyses de confirmation

Dans le cadre de cette campagne, il a été proposé aux ARS de confirmer les résultats pour les échantillons d'eaux traitées présentant des teneurs en chlorate supérieures à 200 µg/L. Sur les 19 sites concernés, 14 ont pu faire l'objet de nouvelles analyses dont les résultats sont représentés sur la Figure 10. Seuls 5 de ces 14 sites ré-analysés présentent des concentrations convergentes avec des teneurs du même ordre de grandeur. Seuls 2 de ces 14 sites présentent des résultats positifs sur la ressource correspondante. Les fortes divergences relevées entre première analyse et analyse de confirmation peuvent être liées au délai important entre analyse et recontrôle, ainsi qu'à la qualité des solutions d'hypochlorite utilisées et à leurs conditions de stockage.

Sur les 14 sites ré-analysés, 2 sites font l'objet de traitement au bioxyde de chlore et sur ces 2 sites, un seul a une concentration assez élevée en chlorates (de l'ordre de 500 µg/L).

Sur les 14 sites ayant fait l'objet d'analyses de confirmation, les ions bromate et perchlorate ont également été recherchés mais n'ont pas mis en évidence de présence systématique de ces oxyanions : 2 échantillons sur 14 présentent, en plus d'un dépassement de la limite de qualité en chlorate, un dépassement de la limite de qualité en bromate, et 1 échantillon présente un résultat positif en perchlorate (2 µg/L).

Il est reconnu que la formation d'ions chlorate dans une solution d'hypochlorite dépend des conditions d'entreposage ainsi que du pH, de la température, de la concentration de la solution et de la présence de métaux de transition (Pisarenko et al. 2010, Stanford et al. 2011). Ainsi Garcia-Villanova et al. (2010) ont analysé 39 solutions d'hypochlorite de sodium et de calcium et ont mis en évidence des teneurs en chlorates de 0,76 g/L à 19 g/L. La norme NF EN 901 prévoit quant à elle une teneur maximale en chlorate dans les solutions d'hypochlorite de sodium de 5,4 % de chlore libre (au moment de la livraison). Dans son étude UCMR3, l'US-EPA (USEPA 2016) a relevé des fréquences de dépassement de la valeur de référence (210 µg/L) en chlorates plus importantes lorsque les eaux sont traitées avec des solutions d'hypochlorite (12%) ou pour les eaux traitées au bioxyde de chlore (19 % de dépassement) ; les plus petites installations présentent généralement des teneurs plus élevées en chlorate.

Pour interpréter plus finement ces résultats, il conviendrait de réaliser pour ces sites des analyses sur les solutions d'hypochlorite.

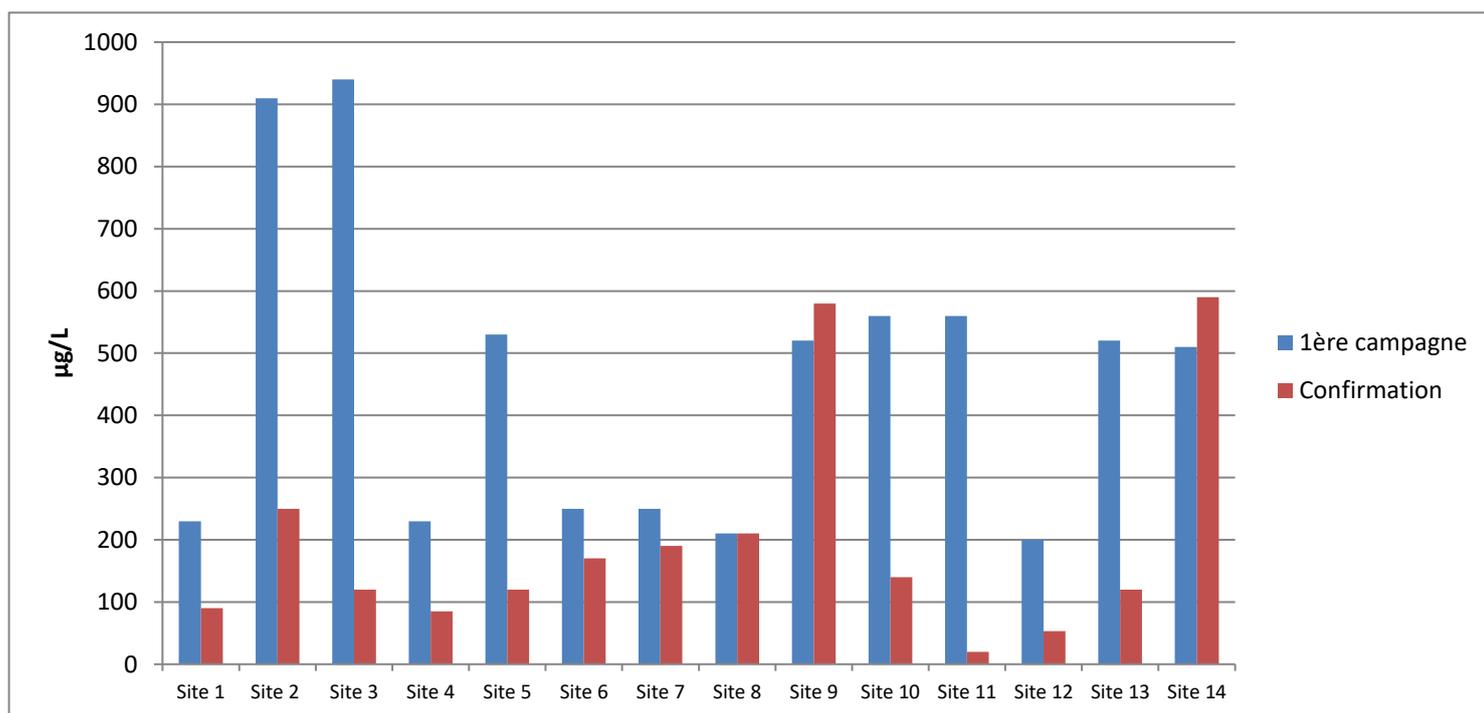


Figure 10 : Résultats des analyses initiales et des analyses de confirmation (sites > 200 µg/L)

2.3. Phtalates et adipates

2.3.1. Structures et propriétés chimiques

Les phtalates sont des esters de l'acide phtalique (Figure 11), utilisés depuis 50 ans et dont la production mondiale tourne autour de 3 millions de tonnes par an (Peijnenburg et al. 2006). Les phtalates se divisent en deux groupes : les phtalates à masse molaire élevée qui possèdent entre 7 et 13 atomes de carbone sur leur chaîne alkyle principale et les phtalates à basse masse molaire possédant de 3 à 6 atomes de carbone sur leur chaîne principale. Dans ce dernier groupe, on trouve entre autres, le phtalate de di-2-éthylhexyle (DEHP), le phtalate de dibutyle (DBP) et le phtalate de butyle et de benzyle (BBP) (Réseau Coopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement 2015).

Les esters d'adipate sont des esters d'alcool et d'acide adipique (Figure 12) qui appartiennent, comme les phtalates, aux additifs utilisés pour conférer des propriétés spécifiques aux plastiques.

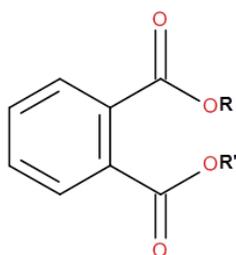


Figure 11 : Structure générale des phtalates (R et R' sont des groupes alkyle ou aryle identiques ou différents)

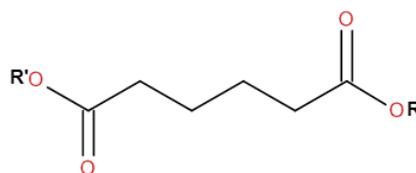


Figure 12 : Structure générale des adipates (R et R' sont des groupes alkyle ou aryle identiques ou différents)

Les phtalates sont des composés relativement volatils. Leur solubilité dans l'eau décroît lorsque leur masse molaire augmente avec la longueur des chaînes aryle ou alkyle. Par conséquent, leur coefficient de partage octanol/eau augmente parallèlement. Les principales propriétés des phtalates et adipates étudiés sont résumées dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Propriétés physico-chimiques des phtalates et adipates étudiés
(Cao 2010, Organisation for Economic Co-operation and Development 2000).

Molécule	Phtalate de diméthyle	Phtalate de diéthyle	Phtalate de dibutyle	Phtalate de benzylbutyle	Phtalate de disobutyle	Phtalate de dicyclohexyle	Phtalate de dihexyle	Phtalate d'éthylhexyle	Adipate d'éthylhexyle	Phtalate de dioctyle
Acronyme	DMP	DEP	DBP	BBP	DIBP	DCHP	DHP	DEHP	DEHA	DOP
CAS	131-11-3	84-66-2	84-74-2	85-68-7	84-69-5	84-61-7	84-75-3	117-81-7	103-23-1	117-84-0
Formule brute	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	C ₁₉ H ₂₀ O ₄	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
Masse Molaire (Da)	194,184	222,237	278,344	312,360	278,344	330,418	334,450	390,556	370,566	390,556
Densité (g/mL)	1.191	1.232	1.043	1.119	1.039	1.383	1.011	0.985	0.927	0.985
Point de fusion (°C)	2	-40.5	-35	<-35	-37	66	-27.4	-47	-67.8	-25
Point d'ébullition (°C)	282	295	340	370	327	222 à 228 (0.5kPa)	350	384	417	390
Tension de vapeur (Pa) à 25°C	0,263	6,48 × 10 ⁻²	4,73 × 10 ⁻³	2,49 × 10 ⁻³	4,73 × 10 ⁻³	13,3 (150°C)	3,45 × 10 ⁻⁴	2,52 × 10 ⁻⁵	1,1 × 10 ⁻⁴ (20°C)	2,52 × 10 ⁻⁵
Solubilité dans l'eau (mg/L) à 25°C	5220	591	4.27	4.70	4.27	4.0	0.159	2,49 × 10 ⁻³	< 5,00 × 10 ⁻³	2,49 × 10 ⁻³
Log K octanol – eau à 25°C	1,61	2,54	4,27	4,70	4,27	3 - 4	6,00	7,73	>6,11 à 8,39	7,73

2.3.2. Origines et usages

Les phtalates et adipates sont des composés d'origine anthropique utilisés dans une large gamme d'applications industrielles (Tableau 13).

Tableau 13 : Exemples des principaux usages des phtalates

Molécule	Exemples d'usages
DMP	<ul style="list-style-type: none"> • Déodorants
DEP	<ul style="list-style-type: none"> • Parfumeries, déodorants, produits cosmétiques pour les cheveux et le corps, savons
DIBP	<ul style="list-style-type: none"> • Parfumeries, déodorants, produits cosmétiques pour les cheveux, vernis à ongles • Insecticides
BBP	<ul style="list-style-type: none"> • Parfumeries • Adhésifs et colles • Produits pour l'automobile • Revêtements
DCHP	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratoires de recherche
DEHP	<ul style="list-style-type: none"> • Parfumeries • Films plastiques • Contenants pour la nourriture • Poches pour produits sanguins • Cathéters
DOP	<ul style="list-style-type: none"> • Produits flexibles à base de matière plastique

Le DEHP et le phtalate de diisononyle (DINP) sont employés comme plastifiants dans l'industrie des polymères, plus particulièrement dans la fabrication du polychlorure de vinyle (PVC). Le PVC a des nombreuses applications : par exemple, il entre dans la composition des certains films destinés à l'emballage alimentaire, dans les revêtements des câbles et sols, dans la fabrication des joints et raccords, dans les textiles, dans des dispositifs médicaux, etc.

Les phtalates à basse masse molaire, tels que le BBP et le DBP, sont ajoutés comme solvants dans les produits des soins et sont utilisés comme plastifiants pour la production des laques, encres, vernis et colles (Hauser et al. 2005).

Les adipates, et plus particulièrement l'adipate de di-2-éthylhexyle (DEHA), sont présents dans les films en PVC qui sont utilisés pour l'emballage des aliments (Fasano et al. 2012).

2.3.3. Valeurs réglementaires et valeurs guides dans les EDCH

A ce jour, les réglementations européenne et nationale ne prévoient pas de valeur réglementaire pour les phtalates et les adipates dans les EDCH.

L'Union européenne a établi des Normes de Qualité Environnementale (NQE) dans les domaines de l'eau douce et de l'eau de mer pour les substances prioritaires et autres polluants. La moyenne annuelle pour le DEHP ne doit pas dépasser 1,3 µg/L.

L'OMS a fixé le seuil maximal pour le DEHP à 6 µg/L pour l'eau potable. Aux États-Unis, la "Food and Drug Administration" (FDA) exige une concentration maximale de 8 µg/L de DEHP dans les eaux embouteillées, il s'agit de la même valeur établie par l' "Environmental Protection Agency" (US-EPA) pour l'eau potable (Net et al. 2015). En Australie, au Japon et en Nouvelle-Zélande, la concentration limite du DEHP est fixée respectivement à 9, 100 et 10 µg/L dans l'eau potable (Net et al. 2015). Aucune limite n'a

été établie pour d'autres phtalates ou les adipates. Cependant, le DBP, le BBP, le DIBP, ainsi que le DEHP sont inclus dans l'annexe XIV de la réglementation REACH et classifiés comme des substances extrêmement préoccupantes (Ventrice et al. 2013).

2.3.4. Méthode d'analyses

2.3.4.1. Standards et réactifs

Une solution commerciale avec un mélange des 9 phtalates et l'adipate à 1 000 mg/L dans le méthanol (MeOH) a été obtenue auprès de ACSD (Trappes, France). Les solutions commerciales du phtalate de benzylbutyle - d₄ et de l'adipate d'ethylhexyle - d₄, à 100 mg/L dans le cyclohexane et l'acétone respectivement ont été fournies par Dr. Ehresntorfer via LCG Standards (Molsheim, France). Le phtalate de dihexyl - ¹³C₂ à 100 mg/L dans le nonane et produit par Cambridge Isotope Laboratories a été obtenu par LCG Standards (Molsheim, France). Les autres étalons deutérés (DMP-d₄, DEP-d₄, DBP-d₄, DCHP-d₄, DEHP-d₄, DOP-d₄) à une concentration de 100 mg/L dans le MeOH ont été fournis par Techlab (St Julien-les-Metz, France). Le MeOH, l'eau et l'acide formique 99% (FA) utilisés pour la préparation des solutions et pour l'analyse sont de qualité ULC-MS ont été fournis par Biosolve (Dieppe, France).

Pour s'affranchir des contaminations, l'utilisation de plastique a été évitée. Les flacons volumétriques ont été lavés plusieurs fois avec du solvant (MeOH) et la verrerie non volumétrique a subi un traitement thermique à 500°C pendant 4h avant utilisation. Avant son utilisation, la verrerie était lavée plusieurs fois avec du solvant afin de minimiser les contaminations. Les solvants et la verrerie de laboratoire ont été exclusivement utilisés pour l'analyse des phtalates et des adipates.

2.3.4.2. Procédure d'échantillonnage et blancs terrain

Pendant la campagne de prélèvement, un blanc terrain a été effectué pour chaque échantillon en utilisant de l'eau embouteillée exempte des molécules étudiées. Le blanc terrain est destiné à vérifier l'absence ou la présence de contamination liée aux conditions de prélèvement (matériaux (flacons, tuyauterie, entonnoirs), préleveurs ou conditions ambiantes pendant le prélèvement).

Un blanc terrain et deux échantillons ont été collectés pour chaque point de prélèvement, en utilisant des flacons en verre ambré de 40 mL (calcinés 4 heures à 500°C).

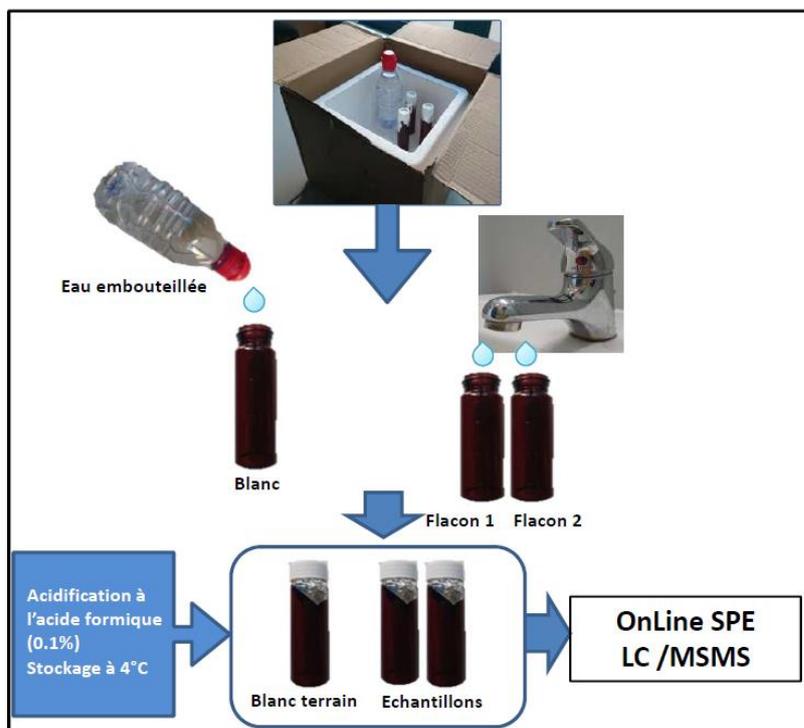


Figure 13 : Procédure d'échantillonnage pour l'eau traitée

L'échantillonnage a consisté à verser tout d'abord l'eau embouteillée fournie dans le flacon de prélèvement, en la faisant transiter, le cas échéant, par l'équipement d'échantillonnage (seau, ...), ceci afin d'obtenir le blanc terrain. Ensuite, deux échantillons du point de prélèvement ont été collectés dans deux autres flacons (flacons 1 et 2), rincés préalablement avec l'eau à analyser. Après prélèvement, les cols des flacons ont été enveloppés avec de l'aluminium et bouchés. Cette procédure est représentée dans la Figure 13. Les échantillons sont arrivés au laboratoire dans les 24 à 48 h et ont été immédiatement acidifiés (0,1% FA).

L'analyse des composés a été réalisée sur les blancs terrain et les échantillons d'eaux des flacons 1. Lorsque les échantillons du flacon 1 étaient positifs, une deuxième analyse a été effectuée sur les échantillons du flacon 2, afin de confirmer la présence des composés. Les concentrations des blancs terrain ont également été comparées aux résultats des échantillons associés pour éviter les faux positifs. Pour interpréter ces différents résultats, les règles suivantes ont été appliquées :

- i) Si la concentration d'un des composés trouvés dans le blanc terrain est supérieure à la LQ, les résultats de l'échantillon associé ne peuvent pas être validés. Ce résultat doit être considéré comme une information indicative d'une contamination potentielle au moment du prélèvement, l'échantillonnage et l'analyse devant être répétés.
- ii) Les concentrations des composés trouvés dans les échantillons doivent être toujours supérieures à la LQ. Les termes, tels que « traces », « détection » ou « présence » (signifiant un résultat entre la limite de détection (LD) et de quantification (LQ)), ne sont pas employés dans cette étude.

2.3.4.3. Préparation des échantillons

2.3.4.3.1. *Eau brute*

Les eaux brutes ont été systématiquement centrifugées pour éliminer les solides en suspension ainsi que leurs blancs terrains afin d'évaluer la contamination éventuellement apportée par cette étape supplémentaire. 3 mL de chaque échantillon acidifié (0,1% FA) ont été dopés avec les étalons marqués (200 ou 500 ng/L selon les analytes). Les échantillons dopés ont été centrifugés (4000 tr / min, 4°C) pendant 2 minutes. Ensuite, 1,5 mL du surnageant a été transféré dans un flacon pour l'injection.

2.3.4.3.2. *Eau traitée*

Les eaux traitées avec leurs blancs terrains (1,5 mL) ont été dopées avec les étalons marqués à 200 ou 500 ng/L selon les composés et ensuite analysées.

2.3.4.4. Conditions opératoires

La méthode d'analyse est basée sur l'extraction en phase solide (SPE) « on-line » montée sur un système de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) en suivant la procédure auparavant publiée (Schreiber et al. 2011). L'instrument d'analyse est composé d'un quadripôle avec un piège à ions QTRAP 5500 (Sciex, Framingham, MA, USA) couplé à un chromatographe en phase liquide (UFLC- XR, Shimadzu, Columbia, MD, USA) constitué de trois pompes LC-20AD (A, B, et C) et un échantillonneur automatique PAL CTC (Eksigent, Dublin, CA, USA). Les conditions opératoires de la méthode sont présentées dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Conditions opératoires de la méthode d'analyse en LC-MS/MS utilisée dans la présente étude

Etape	Conditions opératoires
Filtration phases mobiles	<p><i>Phase mobile A (eau - 0,1% FA) et B (MeOH - 0,1% FA):</i> colonne Hypersyl GOLD, 100 x 2,1 mm, 3 µm (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, États-Unis)</p> <p><i>Phase mobile C (eau - 0,1% FA):</i> Colonne Hypersyl GOLD, 50 x 2,1 mm, 3 µm (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, États-Unis)</p>
Extraction "online"	<p><i>Colonne SPE :</i> Hypersyl GOLD SPE, 20 x 2,1 mm, 12 µm (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, États-Unis)</p> <p><i>Volume injection :</i> 1 000 µL échantillon acidifié (0,1% FA)</p> <p><i>Débit et temps de chargement :</i> 700 µL/min, 4 min avec phase mobile C</p>
Analyse	<p><i>Colonne :</i> XterraC18, 100 x 2,1 mm, 3,5 µm (Waters, Milford, Massachusetts, États-Unis)</p> <p><i>Température :</i> 40°C</p> <p><i>Séparation chromatographique avec phases mobiles A et B :</i> 0 min, 50% de B ; 12 min, 80% de B; 12,1 min et pendant 2 min, 98% B, 18,1 min et pendant 2 min, 50% B</p> <p><i>Débit :</i> 300 µL/min</p> <p><i>Ionisation :</i> ESI +</p> <p><i>Paramètres MS :</i> "ion spray voltage", 5500 V; température de la source, 400°C; "curtain gas flow", 35 unités arbitraires (au); " ion source gas 1", 40 au; "ion source gas 2", 50 au. Les paramètres optimisés pour chaque molécule sont présentés dans le Tableau 13.</p>
Contrôle qualité	QC 1 (entre 80 et 800 ng/L) et QC 2 (entre 120 et 1200 ng/L)

FA : acide formique ; MeOH : Méthanol

Tableau 15 : Paramètres de masse optimisés pour les molécules ciblées

Molécule (IS)	LQ (ng/L)	TR(min)	Transitions	DP (V)	CE (V)	CXP (V)
DMP (DMP-d ₄)	50	2,94	195 > 77* 195 > 92 199 > 167	16 16 51	43 59 11	4 4 12
DEP (DEP-d ₄)	150	5,47	223 > 149* 223 > 177 227 > 153	76 76 36	25 15 21	12 12 8
DBP (DBP-d ₄)	500	12,21	279 > 149* 279 > 205 283 > 153	121 121 106	25 11 23	16 14 14
BBP (BBP-d ₄)	50	12,41	313 > 91* 313 > 149 317 > 91	131 131 126	57 17 51	8 10 4
DIBP (DBP-d ₄)	150	12,53	279 > 149* 279 > 205 283 > 153	121 121 106	25 11 23	16 14 14
DCHP (DCHP-d ₄)	50	14,73	331 > 149* 331 > 167 335 > 153	71 71 171	41 19 31	16 22 24
DHP (DHP- ² C ₁₃)	50	15,19	335 > 149* 335 > 233 339 > 149	111 111 116	25 13 15	16 8 8
DEHP (DEHP-d ₄)	500	15,85	391 > 167* 391 > 279 395 > 283	136 136 126	21 13 15	20 22 26
DEHA (DEHA-d ₄)	500	15,87	371 > 129* 371 > 101 395 > 265	186 186 176	23 43 25	10 10 10
DOP (DOP-d ₄)	150	16,06	391 > 261* 391 > 149 395 > 283	161 161 1	13 27 13	22 16 16

*Transition de quantification; TR: temps de rétention; DP: "declustering potential" ; CE: "collision energy" ; CXP: "collision cell exit potential" ; IS : Etalon interne associé

2.3.4.5. Performances analytiques

La méthode analytique a été validée suivant la norme NF T90-210 (*Qualité de l'eau – Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire*) dans deux types de matrices (eau superficielle et eau traitée).

Le domaine de linéarité de la méthode a été vérifié par étalonnage interne dans l'eau minérale acidifiée (0,1% FA). L'étalonnage interne a été réalisé en ajoutant les analogues marqués des analytes à une concentration de 200 ou 500 ng/L selon la molécule. La droite d'étalonnage a été ajustée en mode quadratique avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,98 pour toutes les molécules étudiées.

Les limites de quantification (LQ) de la méthode ont été fixées sur la base d'un rapport signal sur bruit de 10 pour les molécules non détectées dans les blancs analytiques. Pour les molécules présentes dans les blancs (DIBP, DBP, et DEHP), leurs LQ ont été calculées sur la base d'un rapport signal sur bruit de 20 afin de s'affranchir de cette contamination récurrente. Les LQ obtenues par composé sont présentées dans le Tableau 15.

L'exactitude de la méthode d'analyse a été évaluée en dopant chacune des matrices à trois concentrations : LQ, niveau moyen et niveau élevé. Les moyennes des rendements ont été calculées en analysant deux échantillons dopés le même jour pendant 5 jours consécutifs. Les rendements moyens variaient de 94 à 111% pour les trois niveaux étudiés dans l'eau brute. Pour l'eau traitée, les rendements obtenus sont compris entre 90 et 114% pour les 3 niveaux étudiés. En ce qui concerne l'exactitude, l'écart-type relatif (RSD) se situe entre 4 - 24% pour l'eau brute et entre 4 - 18% pour l'eau traitée. Ces résultats sont en accord avec une tolérance maximale de 30%.

2.3.4.6. Contrôle qualité

Pour chaque série analytique, des blancs analytiques ont été systématiquement analysés afin de surveiller une éventuelle pollution de l'instrument ou éviter des phénomènes de contaminations croisées. Les blancs analytiques ont été préparés en utilisant de l'eau minérale acidifiée (0,1% FA).

La fiabilité des résultats a été vérifiée en utilisant des contrôles inter- et intra-échantillons qui ont été systématiquement effectués pour chaque série analytique.

Les contrôles intra-série ont été réalisés à deux niveaux de concentration correspondant au quatrième (QC 1) et au sixième (QC 2) point de la gamme d'étalonnage. Les séries analytiques ont été validées lorsque le biais entre la concentration expérimentale et la concentration théorique était $\leq 20\%$.

Les contrôles inter-série ont consisté à doper un échantillon d'eau brute et un d'eau traitée pour chaque département. La concentration du dopage correspondait au quatrième point de la gamme d'étalonnage.

2.3.4.7. Validation des résultats

Pour chaque série analytique, les résultats obtenus sur chaque échantillon ont été validés en suivant l'arbre décisionnel ci-dessous :

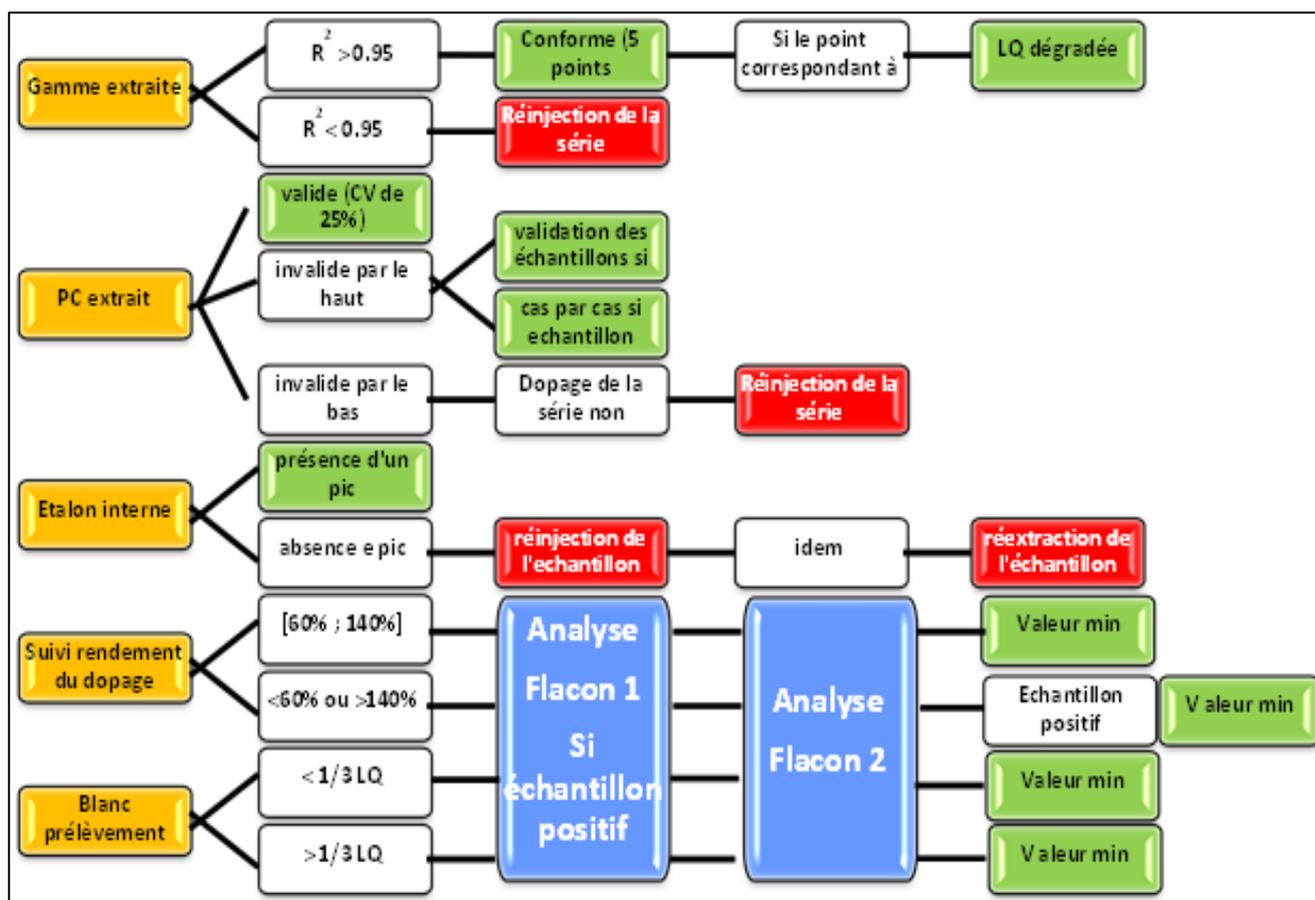


Figure 14 : Diagramme décisionnel pour la validation des résultats

2.3.5. Résultats

Un résumé des résultats obtenus pour les échantillons d’eaux brutes et d’eaux traitées est présenté dans le Tableau 16, en fonction des molécules et des types d’eaux.

L’étude portait sur des réseaux d’eau potable alimentés par des eaux souterraines et superficielles. Compte tenu de la stratégie d’échantillonnage mise en place, les échantillons d’eau d’origine souterraine étaient majoritaires, représentant 58 % des 271 échantillons d’eaux brutes prélevés.

Concernant les échantillons d’eau brute, aucun composé n’a été détecté dans 261 échantillons (96%) d’eau brute et au moins un composé a été quantifié à une concentration supérieure à la LQ dans seulement 10 échantillons (4 %). Le DEP a été le plus souvent quantifié avec des concentrations allant de 260 à 410 ng/L. Le DIBP a été observé dans deux échantillons à une concentration maximale de 1650 ng/L. Le BBP a été observé dans deux échantillons à 52 et 520ng/L. Le DBP et le DEHP ont été détectés individuellement dans deux échantillons différents à des concentrations maximales de 770 et 810 ng/L, respectivement. Le DMP, le DCHP, le DHP, le DEHA et le DOP n’ont jamais été détectés. La fréquence de détection était presque équivalente entre l’eau de surface (2,3%) et l’eau d’origine souterraine (2,7%).

Tableau 16 : Résumé des résultats obtenus dans les échantillons d'eaux brutes et d'eaux traitées

Molécules	Type d'eau	Origine de l'eau	N	N > LQ	Maximum (ng/L)	Moyenne (ng/L)	Fréquence de détection
DEP	Eau brute	ESU	114	3	410	320	2%
		ESO	157	1	320	320	
	Eau traitée	ESU	89	1	260	260	1,1%
		ESO EMI	166 28	0 0	<150 <150	<150 <150	
DBP	Eau brute	ESU	114	1	770	770	0,4%
		ESO	157	0	<500	<500	
	Eau traitée	ESU	89	1	950	950	1,2%
		ESO EMI	166 28	1 1	1300 1100	1300 1100	
DIBP	Eau brute	ESU	114	1	1650	1650	0,8%
		ESO	157	1	660	660	
	Eau traitée	ESU	89	1	1300	1300	0,4%
		ESO EMI	166 28	0 0	<500 <500	<500 <500	
BBP	Eau brute	ESU	114	0	<50	<50	0,7%
		ESO	157	2	520	286	
	Eau traitée	ESU	89	0	<50	<50	0%
		ESO EMI	166 28	0 0	<50 <50	<50 <50	
DEHP	Eau brute	ESU	114	1	810	810	0,4%
		ESO	157	0	<500	<500	
	Eau traitée	ESU	89	0	<500	<500	0%
		ESO EMI	166 28	0 0	<500 <500	<500 <500	

N: nombre d'échantillons; **LQ**: limite de quantification; **ESU**: eau superficielle; **ESO**: eau souterraine; **EMI**: mélange d'eau superficielle et eau souterraine

En ce qui concerne les eaux traitées, les échantillons ont été prélevés en distribution et représentaient donc la qualité de l'eau au robinet du consommateur, plusieurs heures après son traitement à la station d'eau potable. Dans cette étude, 283 différents réseaux d'eau potable ont été analysés : 166 alimentés par des ressources souterraines, 89 alimentés par des ressources superficielles et 28 alimentés par un mélange d'eau provenant de diverses origines (Tableau 16).

Dans 279 échantillons d'eau traitée (98%), aucun composé n'a été observé. Dans seulement 4 échantillons (1%), au moins un composé a été quantifié. Le DBP a été le plus détecté (3 échantillons différents) à une concentration maximale de 1 300 ng/L. Le DEP n'a été observé que dans un échantillon à une concentration de 260 ng/L. Le DIBP et le DBP ont été observés simultanément dans seulement un échantillon à 1300 et 950 ng/L, respectivement.

En terme de fréquence de détection dans les échantillons d'eau brute, le phtalate le plus détecté était le DEP (2%), suivi du DIBP (0,8%) (Tableau 16). Le DEP et le DIBP sont largement utilisés dans les parfums, les jouets, les encres et les vernis à ongles parmi d'autres produits de soin, ce qui expliquerait leur présence dans l'environnement (Hauser et al. 2005). Contrairement aux précédents études (Hu et al. 2013, Lee et al. 2019), le DBP et le DEHP ont été observés dans un seul échantillon. En ce qui concerne l'eau traitée, le DBP était le phtalate le plus fréquemment détecté, ce qui est en accord avec les études précédentes (Domínguez-Morueco et al. 2014, Kong et al. 2017, Zhang et al. 2019). Le DBP est l'un des esters de phtalates les plus fréquemment produits et utilisés après le DEHP. Malgré cela, le DEHP n'a été observé dans aucun échantillon d'eau traitée (Tableau 16), contrairement aux observations dans d'autres études (Hu et al. 2013, Lee et al. 2019). En général, pour les autres molécules analysées, les fréquences de détection observées dans l'eau brute et l'eau traitée au cours de cette campagne sont plus faibles que celles des autres études (Hu et al. 2013, Kong et al. 2017, Lee et al. 2019, Liou et al. 2014, Zhang et al. 2019). Ces différences sont liées aux LQ plus faibles et à la soustraction des blancs appliqués dans ces autres études.

L'analyse des plastifiants, tels que les phtalates et les adipates, est particulièrement difficile en raison du risque de contamination pendant le processus d'échantillonnage et d'analyse. Les blancs terrain et analytiques doivent être surveillés en permanence afin de produire des résultats fiables. Les concentrations des blancs peuvent être soustraites des concentrations de l'échantillon seulement si leurs mesures sont répétables. De plus, les LQ doivent être calculées afin d'intégrer le risque de contamination.

2.4. Rouxiella Chamberiensis

2.4.1. Etat de l'art

En décembre 2013, trois nourrissons décèdent à l'hôpital de Chambéry. Une analyse effectuée par une unité de l'Institut Pasteur (CIBU) a mis en évidence la présence d'une bactérie d'un genre nouveau dans les poches de nutrition administrées par voie parentérale (Institut Pasteur 2015). L'équipe de l'Institut Pasteur a, en 2015, caractérisé cette nouvelle souche qui a été dénommée *Rouxiella chamberiensis*. Les chercheurs de cette équipe ont séquencé entièrement le génome de cette bactérie, démontrant ainsi qu'il s'agissait d'une nouvelle espèce bactérienne. Ils ont étudié par ailleurs ses caractéristiques physiques et métaboliques. L'arbre phylogénétique construit après alignement de séquences génomiques de cette nouvelle espèce par rapport aux autres bactéries met en évidence une appartenance de *R. chamberiensis* au groupe des entérobactéries, proche des genres *Ewingella*, *Rahnella*, *Yersinia* ou encore *Serratia* (Le Flèche-Mateos et al. 2015). Il est présenté ci-dessous pour information.

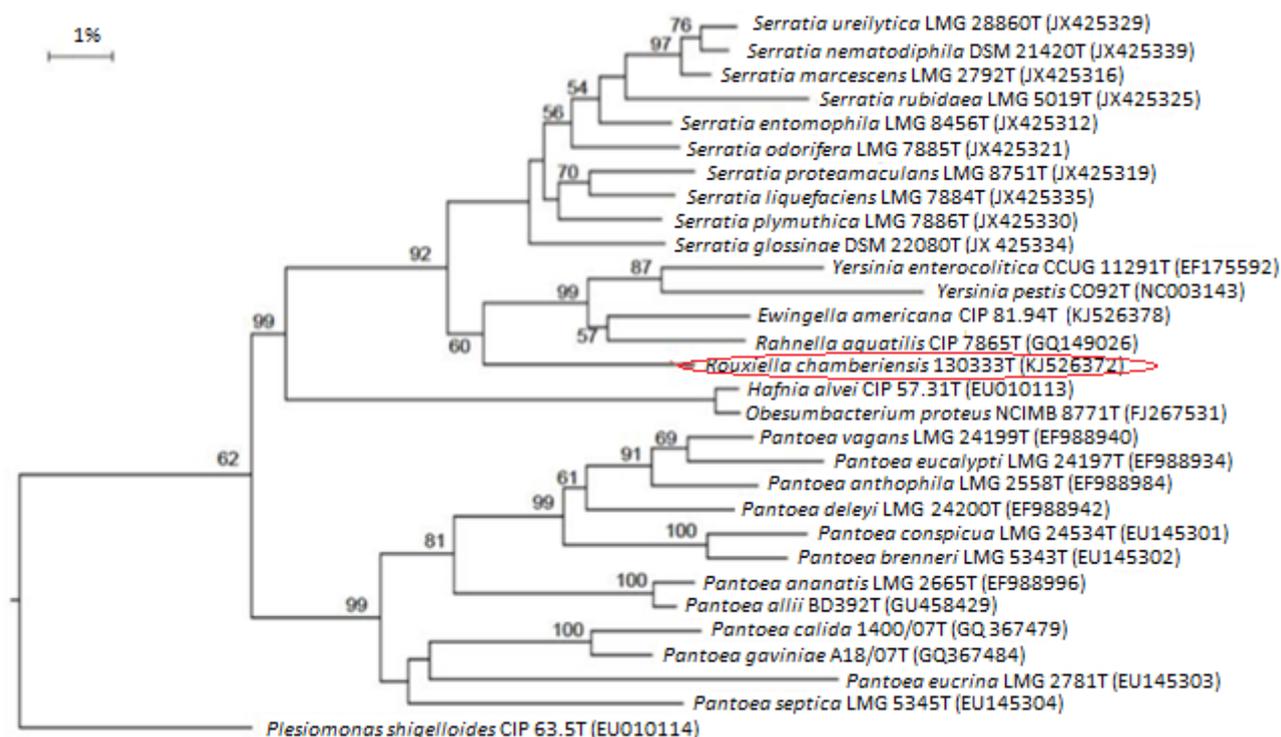


Figure 15 : Classification des *R. chamberiensis* selon Cabut (2015)

2.4.2. Caractéristiques spécifiques

Le genre *Rouxiella* a été défini en 2015 et ne comprend que très peu d'espèces décrites à ce jour. *R. chamberiensis* est une entérobactérie qui possède certaines caractéristiques physiques et métaboliques remarquables. Cette bactérie Gram négatif présente une forme en bâtonnet et mesure entre 0,5 et 0,7 μm de largeur et entre 1,8 et 2 μm de longueur.

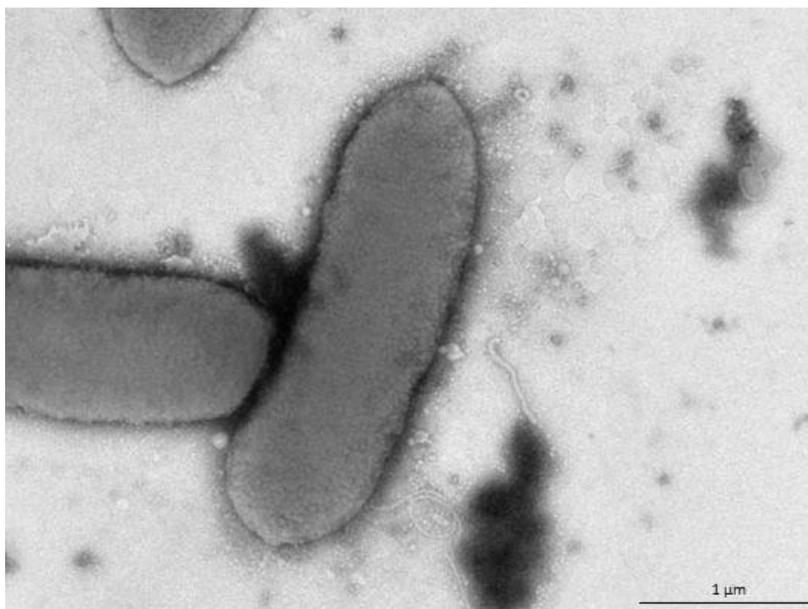


Figure 16 : Photographie de *R. chamberiensis* (Cabut 2015)

R. chamberiensis ne possède pas de flagelle et n'est donc pas mobile. Lors d'un ensemencement sur boîte de Pétri, elle forme des colonies circulaires, de couleur jaune citron, mais ne produit pas de spores. Cette bactérie est capable de se multiplier à une température comprise entre 4°C et 30°C mais elle va cesser sa croissance aux alentours de 37°C (Le Flèche-Mateos et al. 2015). *R. chamberiensis* a également des caractéristiques métaboliques propres à son espèce. En effet, elle possède une certaine tolérance au chlorure de sodium qui est comprise entre 0 et 7%, avec une préférence de 0,5% dans son milieu pour ce composé. Au niveau de son type respiratoire, *R. chamberiensis* est aérobie-anaérobie facultative. Elle ne possède pas d'oxydase, mais elle est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène car elle dispose d'une catalase. Elle est susceptible de former des acides à partir de L-arabinose, de L-rhamnose, de salicine, de D-xylose, d'inositol ou encore de mélibiose, mais elle est incapable de réduire les nitrates en nitrites, ou de former du sulfure d'hydrogène ou de l'indole.

2.4.3. Occurrence de *R. chamberiensis* dans l'environnement

Etant donné la découverte récente de *R. chamberiensis*, il existe à ce jour peu de données disponibles concernant l'occurrence et la circulation de cette bactérie dans l'environnement. En 2015, une souche isolée d'une tourbière et d'un espace marécageux a été provisoirement identifiée comme étant *Rouxiella* sp. à l'aide du séquençage du gène *rrs* codant les ARN ribosomique 16S (Kügler et al. 2015). Plus récemment, Le Flèche-Matéos et al. (2017) ont isolé quatre souches provenant du même site de prélèvement décrit ci-dessus, et ont identifié deux nouvelles espèces de *Rouxiella* : *Rouxiella badensis* et *Rouxiella silvae*. Ces deux espèces sont rattachées au genre *Rouxiella*, car elles possèdent des gènes *rrs* très proches de celui de *R. chamberiensis*.

Compte de tenu du faible nombre de données sur la circulation de cette bactérie dans les milieux hydriques environnementaux, il a été initié une étude visant à déterminer si *R. chamberiensis* pouvait être retrouvée dans des eaux captées pour produire de l'eau destinée à la consommation humaine

2.4.4. Méthodes utilisées pour la détection et l'identification de *R. chamberiensis* dans les échantillons d'eaux

La recherche de cette bactérie dans les échantillons d'eau a nécessité préalablement de mettre en place des méthodes de détection et d'identification adaptées à l'analyse d'échantillons hydriques. Globalement la stratégie analytique adoptée pour la détection de cette bactérie est celle classiquement utilisée pour la recherche de différentes entérobactéries dans les eaux au laboratoire. Elle consiste à effectuer dans un premier temps la recherche de traces de fragments génomiques spécifiques de ces bactéries à l'aide de méthodes PCR en temps réel après concentration de l'eau sur un microfiltre d'ester de cellulose de 0,45µm et incubation de ce dernier dans un milieu de culture pendant une période et un temps déterminé. Les échantillons retrouvés positifs sont dès lors analysés à nouveau de manière à isoler les bactéries en vue d'effectuer une caractérisation des espèces présentes dans l'échantillon d'eau à l'aide de techniques de séquençage ou de spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight).

Dans ce cadre et préalablement à la recherche de cette bactérie dans les eaux, il a été nécessaire (i) d'adapter des outils moléculaires type PCR en temps réel pour l'analyse d'échantillons hydriques, (ii) de mettre en place une stratégie d'isolement sur milieu de culture adapté, (iii) de mettre en place des outils de caractérisation des souches isolées par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Ces méthodes sont présentées ci-dessous.

2.4.4.1. Méthode de détection moléculaire utilisée

La détection du génome de *R. chamberiensis* a été opérée par PCR en temps réel après extraction du génome des bactéries à l'aide d'un système sur colonne de silice QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini kit adapté pour l'analyse de volume réactionnel de 1mL. Pour la détection moléculaire, il a été employé une méthode de PCR en temps réel publiée par l'Institut Pasteur (Le Flèche-Mateos et al. 2015) et qui vise à amplifier un fragment génomique d'une taille de 275 paires de bases (pb). Une validation de la méthode et son adaptation au domaine hydrique a été opérée à l'aide d'un thermocycleur de type Rotor Gene Q (QIAGEN), à partir d'une gamme d'ADN issue d'une solution mère de *R. chamberiensis* fourni par l'Institut Pasteur. Les critères de validation utilisés ont été les suivants : une efficacité de PCR de 95%, une pente de la courbe de dilution logarithmique de l'ADN de -3,43 et un R² de 0,99. Le seuil de quantification de la PCR a été déterminé à 10 copies/µl. Les paramètres retenus concernant la préparation des mélanges réactionnels et des conditions d'amplifications sont répertoriés dans le Tableau 17 et le Tableau 18.

Tableau 17 : Mélange réactionnel utilisé pour la PCR

Elément	Concentration	Quantité (en µl)
H2O		8,43
Quantitect probe PCR (QIAGEN) (5x)	1x	12,50
Amorce Forward	10 µM	0,63
Amorce Reverse	10 µM	0,63
Sonde TaqMan	10 µM	0,31

Volume réactionnel total : 22,5 µl

Volume d'ADN à analyser : 2,5 µl

Tableau 18 : Programme d'un cycle de PCR

Nature de l'étape	Paramètres		
Dénaturation initiale et activation de la polymérase	95°C	10 minutes	1 fois
Amplification	95°C	15 secondes	50 fois
Hybridation et élongation	57°C*	1 minute	
	40°C	1 minute	1 fois

* Mesure de la fluorescence.

Le Ct seuil est placé à 0,02.

2.4.4.2. Méthode de culture utilisée

Il a été démontré, au cours d'une étude préalable réalisée au laboratoire, que *R. chamberiensis* pouvait survivre et se multiplier à des températures de conservation de 4°C sur un milieu de culture non sélectif (PCA) après 120h d'incubation. Ces résultats ont été déterminés par dénombrement de bactéries sur les filtres déposés sur une gélose non sélective. A l'inverse, il a été constaté qu'à des températures proches de 36°C, aucune croissance n'était observée et donc qu'il ne fallait pas employer cette condition pour la recherche de ce germe dans les eaux. Une plage de températures optimales a été déterminée entre 18°C et 30°C. Concernant la durée d'incubation un délai d'incubation de 48h à 72h permet la détection de cette bactérie dans cette gamme de température.

De manière à retenir les conditions de culture utilisées préalablement à la détection moléculaire, différentes études comparatives ont été organisées à partir de concentrations faibles de *R. chamberiensis* (20 UFC et 200 UFC pour 100 ml), inoculées dans deux types d'eaux distincts (eau du réseau définie sous le terme « eau propre » et eau de surface définie sous le terme « eau chargée »), représentatives des eaux analysées dans le cadre de la campagne. L'emploi d'un milieu de culture sous forme liquide (bouillon nutritif non sélectif), dans lequel la membrane de filtration peut être complètement immergée a été favorisé. Les mesures ont été opérées à l'aide des outils de biologie moléculaire (PCR en temps réel) décrit ci-dessus sur des prises d'essai de 1mL. A partir des valeurs de quantification obtenues, il a été possible de déterminer pour les eaux propres que les valeurs étaient améliorées lors d'une incubation des filtres à 30°C pour les deux concentrations bactériennes testées (20 UFC et 200 UFC pour 100 ml). En revanche pour les eaux chargées, il a été observé une différence inverse très certainement due à la présence d'un grand nombre de bactéries autres qui provoquent une interférence dans la détection des bactéries ciblées à ces températures plus élevées. De manière à limiter l'impact de ces interférences, notamment lorsqu'il est analysé des eaux prélevées dans des captages d'eaux brutes, il a été décidé d'utiliser la capacité des *R. chamberiensis* à survivre et à se multiplier à des températures inférieures à 10°C. Différents essais ont ainsi de nouveau été réalisés sur les mêmes types d'eaux et les mêmes gammes de concentrations, avec une incubation des filtres dans un bouillon non sélectif dans un premier temps à 4°C pendant 120h, suivi d'une incubation à 30°C pendant 48h. Les résultats obtenus ont mis en évidence une nette amélioration des quantités relatives mesurées dans les « eaux chargées » quelles que soient les concentrations de bactéries testées (20 UFC et 200 UFC pour 100 ml) lors d'une incubation préalable à 4°C pendant 120h. Pour les eaux propres, ce dernier protocole apporte peu d'amélioration par rapport à une incubation des filtres à 30°C. En résumé, suite à ces différentes études, il a été décidé pour la recherche de *R. chamberiensis* dans les eaux, de retenir le protocole qui consiste à effectuer une détection par PCR en temps réel d'une séquence spécifique de *R. chamberiensis*, après concentration de 100 ml d'eau, filtré sur une membrane en ester de cellulose dont les pores ont un diamètre de 0,45 µm. Le filtre est incubé préalablement dans un bouillon peptoné à 4°C au moins pendant 120h suivi d'une incubation à 30°C pendant 48h.

2.4.4.3. Méthode de caractérisation des *R. chamberiensis* décelées dans les échantillons d'eau

Deux méthodes visant à caractériser les souches en circulation ont été retenues dans le cadre de ce travail. La première est axée sur la caractérisation génomique (Séquençage) et la seconde sur une caractérisation protéique (Spectrométrie de masse MALDI-TOF). Le séquençage génomique a été utilisé afin de caractériser le génome des bactéries isolées et confirmer les produits de PCR décelés dans le milieu de culture liquide utilisé pour l'analyse des échantillons. Les produits amplifiés ont été purifiés avec le kit *QIAmp PCR purification* (Qiagen), puis envoyés chez la société Biofidal pour un séquençage de type Sanger. La recherche d'homologies a été réalisée avec le logiciel BLAST du National Center for Biotechnology Information (NCBI), et les alignements des séquences des espèces identifiées ont été effectués avec le logiciel seaview 4. Concernant la caractérisation par spectrométrie de masse MALDI-TOF, il a été utilisé un spectromètre de masse Bruker de type microflex avec une base de données enrichie en spectres de référence élaborée au laboratoire. Les analyses ont été validées à l'aide d'une matrice HCCA (α -Cyano-4-HydroxyCinnamic acide). Pour les isolements, deux milieux de culture ont été employés, un milieu gélosé non sélectif de type PCA et un milieu sélectif chromogénique pour entérobactéries.

2.4.5. Résultats

554 échantillons d'eau ont été analysés avec la méthode de détection décrite ci-dessus. 52% des échantillons d'eau sont des eaux traitées et 48% sont des eaux brutes. Il n'a pas été retrouvé de séquence génomique de *R. chamberiensis* dans 529 échantillons analysés (95,5%). Il a été possible de déceler la présence de fragment génomique par PCR en temps réel dans 25 échantillons (4,5%). Le séquençage des produits de PCR amplifiés a confirmé la présence des fragments génomiques ciblés. Parmi les échantillons d'eau retrouvés positifs, 96% proviennent d'eaux brutes et 4% d'eaux traitées.

Parmi les échantillons d'eau retrouvés positifs :

- 88% sont des échantillons d'eau brute d'origine superficielle
- 8% sont des échantillons d'eau brute d'origine souterraine
- 4% sont des échantillons d'eau traitée d'origine superficielle
- Aucun échantillon d'eau traitée d'origine souterraine

Il est important de préciser qu'à partir des échantillons retrouvés positifs, il n'a pas été possible d'isoler de bactéries *R. chamberiensis* et de caractériser les espèces en circulation soit par un séquençage de gènes plus exhaustifs soit par spectrométrie de masse MALDI-TOF. En l'absence d'une caractérisation précise et fiable, il est relativement difficile d'attester la présence et la circulation de bactéries viables dans les échantillons d'eaux analysés.

3. Conclusions

Ces travaux portant sur 9 acides haloacétiques, 10 phtalates, l'ion chlorate et la bactérie *Rouxiella Chamberiensis* avaient pour objectif de dresser un état des lieux de l'exposition de la population à ces polluants et bactérie émergents. Couvrant près de 300 couples eaux brutes/eaux traitées dans l'ensemble des départements français et environ 20% de la population consommatrice d'EDCH, ces travaux ont permis de collecter plus de 11 000 résultats d'analyses.

- **S'agissant des acides haloacétiques :**

Plus de 90 % des ressources analysées ne renferment aucun acide haloacétique à une concentration supérieure à la limite de quantification (< 5 µg/L). Les résultats mettent en évidence des teneurs pour les eaux traitées variant de moins de 5 µg/L à 44 µg/L avec moins de 1 % des échantillons présentant un dépassement de la valeur proposée par la future directive européenne relative aux EDCH, en cours de publication, pour la somme de 5 HAA. Les eaux traitées d'origine superficielle présentent des fréquences de quantification plus importantes et les formes dihalocétiques sont prédominantes. Les espèces monohalogénées (MCAA, MBAA) n'ont jamais été quantifiées. Sur les échantillons d'eau présentant des teneurs en COT et en THM élevées, les teneurs en acides haloacétiques sont également plus élevées. Les rééchantillonnages réalisés sur les sites les plus positifs confirment généralement les teneurs observées lors des premières analyses.

- **S'agissant des chlorates :**

85 % des échantillons d'eaux brutes et 50 % des échantillons d'eaux traitées ne présentent pas de concentration en chlorates supérieure à la limite de quantification (10 µg/L). Dans les eaux traitées, les teneurs s'étalent de moins de 10 µg/L à 1 039 µg/L. Moins de 1 % des eaux traitées dépasse la valeur de 700 µg/L et 3,5 % dépassent la valeur de 250 µg/L (valeurs fixées dans la future directive européenne relative aux EDCH, en cours de publication). Les valeurs supérieures à 200 µg/L ont fait l'objet d'analyses de reconrôles. Au regard des faibles valeurs retrouvées dans les ressources en eau et l'hétérogénéité des résultats obtenus lors de la campagne de confirmation, une origine liée à des impuretés de solutions d'hypochlorite constitue une origine probable de contamination de l'eau traitée, en l'absence de traitement au bioxyde de chlore.

- **S'agissant des phtalates :**

Cette campagne montre que les phtalates et le DEHA sont rarement présents dans l'eau brute et dans l'eau traitée en France. Dans l'eau brute, le DEP est le composé prédominant à une concentration maximale de 410 ng/L. En revanche, le DBP est la molécule la plus fréquemment détectée dans les échantillons d'eau traitée avec une concentration maximale de 1 300 ng/L. Le DEHP, qui est le phtalate le plus répandu, est détecté dans un seul échantillon d'eau brute à 810 ng/L. Cette valeur de concentration ne dépasse pas les limites de concentration des recommandations ou normes internationales. Les fréquences de détection observées au cours de cette campagne sont généralement plus faibles que celles observées dans d'autres études. Cette différence pourrait s'expliquer par les limites de quantification plus élevées. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour élucider l'origine des phtalates dans certains échantillons d'eau brute et d'eau traitée. Les sources possibles de phtalates et d'adipates pourraient être des matériaux utilisés pour le traitement et/ou le transport et le stockage de l'eau jusqu'au point de distribution.

- **S'agissant de *Rouxiella Chamberiensis* :**

Au cours de cette campagne d'analyse, il a été retrouvé des traces de génomes de *Rouxiella Chamberiensis* décelées par PCR et confirmées par séquençage, dans 4,5% des échantillons d'eau analysés, majoritairement dans des eaux de surface. Ces différents résultats démontrent que la circulation de cette bactérie dans les milieux hydriques concerne principalement l'eau de surface.

Date de validation du rapport : Juillet 2020

4. Remerciements

Les auteurs remercient particulièrement la Direction Générale de la Santé (bureau de la qualité des eaux) pour son soutien financier ainsi que les Agences Régionales de Santé qui se sont impliquées dans le choix des sites de prélèvement et la collecte des échantillons d'eau.

5. Bibliographie

5.1. Publications

- Alfredo, K., B. Stanford, J. A. Roberson, and A. Eaton. 2015. "Chlorate Challenges for Water Systems." *Journal - AWWA* 107 (4):E187-E196. doi: <https://doi.org/10.5942/jawwa.2015.107.0036>.
- Anses. 2011a. Campagne nationale d'occurrence des composés alkyls perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine Maisons-Alfort: Anses, 120 p.
- Anses. 2011b. Rapport sur la campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine - Ressources en eaux brutes et eaux traitées Maisons-Alfort: Anses, 36 p.
- Anses. 2013. Campagne nationale d'occurrence de polluants émergents dans les eaux destinées à la consommation humaine - Tome I : Perchlorate-Nitrosamines. Maisons-Alfort: Anses, 56 p.
- Anses. 2017. Fiabilité des analyses en chlorites réalisées après un pré-traitement à l'éthylène-diamine dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH). Maisons-Alfort: Anses, 25 p.
- Anses. 2018a. Campagne nationale de mesures de l'occurrence de polluants émergents dans les eaux destinées à la consommation humaine : Haloacétonitriles, Trihalométhanes iodés, Halocétones, Chloropicrine Alkylphénols, Bisphénols. Maisons-Alfort: Anses, 72 p.
- Anses. 2018b. Méthode d'analyse des acides haloacétiques dans les eaux. Maisons-Alfort: Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation de l'Environnement et du Travail, 21 p.
- Anses. 2019a. Campagnes nationales de mesures de l'occurrence de chrome hexavalent et chrome total dans les eaux destinées à la consommation humaine. Maisons-Alfort: Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation de l'Environnement et du Travail, 41 p.
- Anses. 2019b. Méthodes d'analyse des laboratoires nationaux de référence de l'Anses. Anses. En ligne 15 novembre 2019.
- Arora, H., M. W. LeChevallier, and K. L. Dixon. 1997. "DBP occurrence survey." *Journal - AWWA* 89 (6):60-68. doi: <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.1997.tb08242.x>.
- Baribeau, H., L. Boulos, H. Haileselassie, G. Crozes, P. C. Singer, C. Nichols, and S. A. Schlesinger. 2006. Formation and decay of disinfection by-products in the distribution system. Denver: Awwa Research Foundation, 360 p.
- Cabut, S. 2015. Nourrissons de Chambéry : la bactérie (probablement) responsable identifiée. Le Monde. En ligne <https://www.lemonde.fr/sciences/article/2015/03/17/nourrissons-de-chambery-la-bacterie-probablement-responsable-identifiee_4595235_1650684.html>, consulté le 25 février 2020.
- Cao, X. L. 2010. "Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9 (1):21-43. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00093.x>.
- Domínguez-Morueco, N., S. González-Alonso, and Y. Valcárcel. 2014. "Phthalate occurrence in rivers and tap water from central Spain." *Science of The Total Environment* 500-501:139-146. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.098>.
- EUROPEAN COMMISSION. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. En ligne <https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2019-12682.pdf>.
- Fasano, E., F. Bono-Blay, T. Cirillo, P. Montuori, and S. Lacorte. 2012. "Migration of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and di(2-ethylhexyl)adipate from food packaging." *Food Control* 27 (1):132-138. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.03.005>.
- García-Villanova, R. J., M. V. Oliveira Dantas Leite, J. M. Hernández Hierro, S. de Castro Alfageme, and C. García Hernández. 2010. "Occurrence of bromate, chlorite and chlorate in drinking waters

- disinfected with hypochlorite reagents. Tracing their origins." *Science of The Total Environment* 408 (12):2616-2620. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.011>.
- Hauser, R., and A. M. Calafat. 2005. "Phthalates and human health." *Occupational and Environmental Medicine* 62 (11):806. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/oem.2004.017590>.
- Hoffman, C. S., P. Mendola, D. A. Savitz, A. H. Herring, D. Loomis, K. E. Hartmann, P. C. Singer, H. S. Weinberg, and A. F. Olshan. 2008. "Drinking Water Disinfection By-Product Exposure and Fetal Growth." *Epidemiology* 19 (5):729-737. doi: <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181812bd4>.
- Hu, X., W. Shi, S. Wei, X. Zhang, J. Feng, G. Hu, S. Chen, J. P. Giesy, and H. Yu. 2013. "Occurrence and Potential Causes of Androgenic Activities in Source and Drinking Water in China." *Environmental Science & Technology* 47 (18):10591-10600. doi: <https://doi.org/10.1021/es401464p>.
- Institut Pasteur. 2015. Nourrissons de Chambéry – Rouxiella chamberiensis, nouvelle bactérie identifiée par l'Institut Pasteur, officiellement reconnue. En ligne <<https://www.pasteur.fr/fr/nourrissons-chambery-rouxiella-chamberiensis-nouvelle-bacterie-identifiee-institut-pasteur>>, consulté le 16 mars 2015.
- Kong, Y., J. Shen, Z. Chen, J. Kang, T. Li, X. Wu, X. Z. Kong, and L. Fan. 2017. "Profiles and risk assessment of phthalate acid esters (PAEs) in drinking water sources and treatment plants, East China." *Environmental Science and Pollution Research* 24 (30):23646-23657. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-017-9783-x>.
- Kügler, J. H., C. Muhle-Goll, S. H. Hansen, A. R. Völp, F. Kirschhöfer, B. Köhl, G. Brenner-Weiss, B. Luy, C. Syltatk, and R. Hausmann. 2015. "Glycolipids produced by Rouxiella sp. DSM 100043 and isolation of the biosurfactants via foam-fractionation." *AMB Express* 5 (1):82. doi: <https://doi.org/10.1186/s13568-015-0167-7>.
- Le Flèche-Matéos, A., J. H. Kugler, S. H. Hansen, C. Syltatk, R. Hausmann, F. Lomprez, M. Vandebogaert, J. C. Manuguerra, and P. A. D. Grimont. 2017. "Rouxiella badensis sp. nov. and Rouxiella silvae sp. nov. isolated from peat bog soil and emendation description of the genus Rouxiella." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 67 (5):1255-1259. doi: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001794>.
- Le Flèche-Mateos, A., M. Levast, F. Lomprez, Y. Arnoux, C. Andonian, M. Perraud, V. Vincent, M. Ar Gouilh, J. M. Thiberge, M. Vandebogaert, L. Diancourt, V. Caro, A. M. Burguiere, and J. C. Manuguerra. 2015. "Rouxiella chamberiensis gen. nov., sp. nov., a member of the family Enterobacteriaceae isolated from parenteral nutrition bags." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 65 (Pt 6):1812-8. doi: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000179>.
- Lee, Y. M., J. E. Lee, W. Choe, T. Kim, J. Y. Lee, Y. Kho, K. Choi, and K. D. Zoh. 2019. "Distribution of phthalate esters in air, water, sediments, and fish in the Asan Lake of Korea." *Environment International* 126:635-643. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.02.059>.
- Liou, S. H., G. C. C. Yang, C. L. Wang, and Y. H. Chiu. 2014. "Monitoring of PAEMs and beta-agonists in urine for a small group of experimental subjects and PAEs and beta-agonists in drinking water consumed by the same subjects." *Journal of Hazardous Materials* 277:169-179. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.02.024>.
- Mastrocicco, M., D. Di Giuseppe, F. Vincenzi, N. Colombani, and G. Castaldelli. 2017. "Chlorate origin and fate in shallow groundwater below agricultural landscapes." *Environmental Pollution* 231:1453-1462. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.007>.
- Mouly, D., E. Joulin, C. Rosin, P. Beaudeau, A. Zeghnoun, A. Olszewski Ortar, and J. F. Munoz. 2009. Les sous-produits de chloration dans l'eau destinée à la consommation humaine en France. Paris: Institut de Veille Sanitaire, 76 p.
- Net, S., S. Rabodonirina, R. B. Sghaier, D. Dumoulin, C. Chbib, I. Tlili, and B. Ouddane. 2015. "Distribution of phthalates, pesticides and drug residues in the dissolved, particulate and sedimentary phases from transboundary rivers (France–Belgium)." *Science of The Total Environment* 521-522:152-159. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.087>.

- Organisation for Economic Co-operation and Development. 2000. SIDS Initial assessment report for SIAM 10 : Bis(2-ethylhexyl)adipate (DEHA): UNEP Publications, 78 p.
- Peijnenburg, W. J. G. M., and J. Struijs. 2006. "Occurrence of phthalate esters in the environment of the Netherlands." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63 (2):204-215. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.07.023>.
- Pisarenko, A. N., B. D. Stanford, O. Quiñones, G. E. Pacey, G. Gordon, and S. A. Snyder. 2010. "Rapid analysis of perchlorate, chlorate and bromate ions in concentrated sodium hypochlorite solutions." *Analytica Chimica Acta* 659 (1):216-223. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.061>.
- Réseau Coopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement. 2015. Substances émergentes, polluants émergents dans les déchets : Le cas des phtalates. Villeurbanne: RECORD, 137 p.
- Santé Canada. 2008a. Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique – Le chlorite et le chlorate. Ottawa (Ontario): Bureau de l'eau de l'air et des changements climatiques Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs Santé Canada, 51 p.
- Santé Canada. 2008b. Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique – les acides haloacétiques. Ottawa (Ontario): Bureau de l'eau de l'air et des changements climatiques Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs Santé Canada, 99 p.
- Schreiber, A., F. Fu, O. Yang, E. Wan, L. Gu, and Y. LeBlanc. 2011. Increasing Selectivity and Confidence in Detection when Analyzing Phthalates by LC-MS/MS: AB Sciex, 6 p.
- Shoaf, David R., and Philip C. Singer. 2007. "An analysis of monitoring data for the Stage 1 Disinfectants/Disinfection Byproducts Rule." *Journal - AWWA* 99 (10):69-80. doi: <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.2007.tb08058.x>.
- Singer, Philip C., Howard S. Weinberg, and Katherine Brophy. 2002. Relative Dominance of Haloacetic Acids and Trihalomethanes in Treated Drinking Water. Washington: American Water Works Association. 298 p.
- Stanford, B. D., A. N. Pisarenko, S. A. Snyder, and G. Gordon. 2011. "Perchlorate, bromate, and chlorate in hypochlorite solutions: Guidelines for utilities." *Journal - AWWA* 103 (6):71-83. doi: <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.2011.tb11474.x>.
- USEPA. 1998. "National Primary Drinking Water Regulations, Disinfectants and Disinfection Byproducts; Final Rule." *Federal Register* 63 (241):69389-69476.
- USEPA. 2016. Six-Year Review 3 Technical Support Document for Chlorate. Washington, DC: United State Environmental Protection Agency Office of Water, 110 p.
- Ventrice, P., D. Ventrice, E. Russo, and G. De Sarro. 2013. "Phthalates: European regulation, chemistry, pharmacokinetic and related toxicity." *Environmental Toxicology and Pharmacology* 36 (1):88-96. doi: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.03.014>.
- World Health Organization. 2016. Chlorine Dioxide, Chlorite and Chlorate in Drinking-water : Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva (Switzerland): World Health Organization, 24 p.
- World Health Organization. 2017. Guidelines for drinking-water quality, 4th edition, incorporating the 1st addendum. Geneva (Switzerland). 631 p.
- Zhang, Z., C. Zhang, Z. Huang, X. H. Yi, H. Zeng, M. Zhang, and M. Huang. 2019. "Residue levels and spatial distribution of phthalate acid esters in water and sediment from urban lakes of Guangzhou, China." *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 54 (2):127-135. doi: <https://doi.org/10.1080/10934529.2018.1530539>.

5.2. Normes

NF T 90-210 (novembre 2018) - Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire. AFNOR (indice de classement T90-210)

NF EN ISO 23631 (juin 2006) - Qualité de l'eau - Dosage du dalapon, de l'acide trichloroacétique et d'acides haloacétiques sélectionnés - Méthode par chromatographie en phase gazeuse (détection GC-DCE et/ou GC/SM) après extraction liquide-liquide et dérivatisation. AFNOR (indice de classement T90-182)

NF EN ISO 10304-4 (juin 1999) - Qualité de l'eau - Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide - Partie 4 : dosage des ions chlorate, chlorure et chlorite dans des eaux faiblement contaminées. AFNOR (indice de classement T90-049)

NF EN 901 (juillet 2013) Produits chimiques utilisés pour le traitement de l'eau destinée à la consommation humaine - Hypochlorite de sodium. AFNOR (indice de classement T94-302)

5.3. Législation et réglementation

EUROPEAN COMMISSION. 2020. SANTE/12682/2019 : Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. En ligne < https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2019-12682.pdf >

MINISTERE DU TRAVAIL DE L'EMPLOI ET DE LA SANTE. Instruction DGS/EA4 n°2011-229 du 14 juin 2011 relative aux campagnes nationales de mesures du chlorure de vinyle monomère et des alkylphénols, nitrosamines, acides haloacétiques, haloacétonitriles, trihalométhanes iodés dans les eaux destinées à la consommation humaine.

MINISTERE DES SOLIDARITES ET DE LA SANTE. 2013. Instruction DGS/EA4 n°2013/229 du 6 juin 2013 relative aux campagnes nationales de mesures de paramètres émergents et microbiologiques.

Révision de la directive européenne relative à la qualité des EDCH (accord politique : <https://data.consilium.europa.eu/doc/document/ST-6060-2020-INIT/en/pdf> , en cours de publication)

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de la demande



Ministère des affaires sociales et de la santé

Direction générale de la santé

Sous-direction « Prévention des risques
liés à l'environnement et à l'alimentation »
Bureau « Qualité des eaux »

Personnes chargées du dossier :
Nathalie FRANQUES
mél : nathalie.franques@sante.gouv.fr
Béatrice JÉDOR
mél : beatrice.jedor@sante.gouv.fr
Bérengère LEDUNOIS
mél : berengere.ledunois@sante.gouv.fr
tél. : 01 40 56 50 85
fax : 01 40 56 50 56

La ministre des affaires sociales et de la santé

à

Mesdames et messieurs les Directeurs
Généraux des Agences régionales de santé
(ARS)

Copie :
Mesdames et messieurs les Préfets de région et
de département

INSTRUCTION N° DGS/EA4/2013/229 du 6 juin 2013 relative aux campagnes nationales de mesures de paramètres émergents et microbiologiques dans les eaux conditionnées et de mesures du chrome total, du chrome hexavalent et des phtalates dans les eaux fournies par un réseau de distribution public

Date d'application : immédiate
Classement thématique : santé environnementale

Validée par le CNP le 7 juin 2013 - Visa CNP 2013-132

Publiée au BO : non

Déposée sur le site circulaire.legifrance.gouv.fr : non

Résumé :

La présente instruction a pour principaux objectifs de :

- présenter les modalités de mise en œuvre des campagnes réalisées par le laboratoire d'hydrologie de Nancy (LHN) de l'Agence nationale de sécurité sanitaire (Anses) en 2013 et 2014 concernant la recherche :
 - du chrome total, du chrome hexavalent et des phtalates dans les eaux brutes et les eaux fournies par un réseau de distribution public,
 - de différents paramètres émergents et microbiologiques dans les eaux conditionnées ;
- préciser le rôle des Agences régionales de santé dans le cadre de ces campagnes.

