

# Restitution stage 2025

*Le Défi Clé Water Occitanie (WOC) est un programme financé par la Région Occitanie et porté par l'Université de Montpellier. Le réseau de recherche du Défi Clé WOC est le résultat d'une entente entre le Centre International UNESCO de l'Eau ICIREWARD de Montpellier et le GIS Eau Toulouse.*

*L'objectif du Défi Clé Water Occitanie est d'étudier les solutions locales de réusages de l'eau et leur pertinence au regard des enjeux du cycle de l'eau. Il soutient des projets de recherches interdisciplinaires en s'appuyant sur des projets à plusieurs échelles, associant une approche multi-acteurs au travers d'un réseau de six territoires « Living Labs » en Occitanie.*

*Au sein du Défi Clé WOC, un Living Lab correspond à un territoire où se rassemblent des chercheurs et des acteurs locaux afin de faire émerger des questions liées aux réusages de l'eau pertinentes dans ces territoires. Ce processus d'identification des problématiques et de co-construction des questions de recherches permet d'étudier les options de réusages et leur pertinence avec des stages de Master, dans un contexte de raréfaction de cette ressource. Chaque Living Lab explore différentes questions autour des options de réusages au regard d'une thématique spécifique à chaque territoire.*

*Cette courte fiche a pour but de servir de support de communication auprès des financeurs, des partenaires des autres Living Labs du Défi Clé, ou d'autres partenaires potentiels pour des collaborations futures au-delà du Défi Clé*


## Stage 2025 sur le Living Lab Toulouse

### Titre du stage : « Influence des oligochètes sur la communauté microbienne et les pathogènes humains dans les filtres plantés (filtrOCampus) »

**Période de stage :** du 17/02/2025 au 03/08/2025

**Encadrement :** Magali GERINO, Alexandre LACOU, Nathalie PARTHUISOT, Christian FAUCHER (CRBE – CNRS)

#### Présentation de l'étudiant-e :

<p>RAWAT Leïna M2 Biodiversité, Ecologie, Evolution – Ecosystèmes &amp; Anthropisation Université Toulouse III - Paul Sabatier</p>	
--	---

#### Objectif du stage :

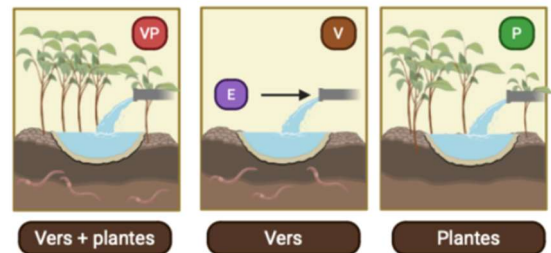
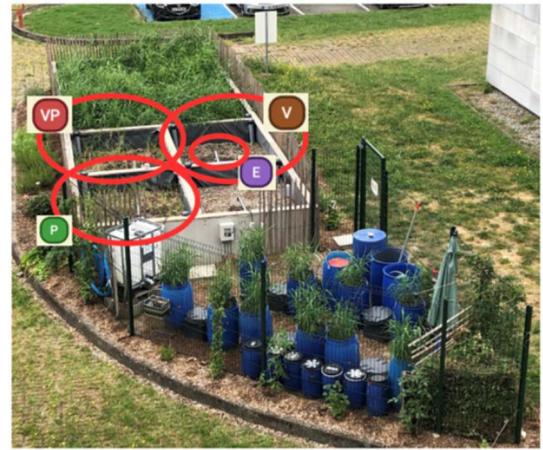
Ce stage a pour objectif d'étudier les performances épuratoires de filtres plantés bioaugmentés par l'action de vers de terre au regard de pathogènes indicateurs. Ceux-ci sont visés par une norme européenne encadrant la réutilisation des eaux usées et leur élimination ainsi que la qualité de l'eau sont analysées en présence ou absence de vers sur le plan microbiologique, physico-chimique et biomoléculaire, avant et après filtration par le système de lombrifiltre.

#### Principaux résultats et conclusions :

De manière générale, le système épuratoire fonctionne et permet d'épurer jusqu'à 90% des pathogènes indicateurs (bactéries, protozoaires, virus) malgré le fait que les concentrations post-filtration et les abattements observés ne permettent pas la réutilisation des eaux usées d'après les standards établis par la loi (arrêté du

18/12/2023). De plus, aucune différence significative n'a été observée entre les performances des installations avec et sans vers, un phénomène pouvant être expliqué par divers facteurs externes (mortalité accrue des vers, colonisations spontanées du témoin, variations météorologiques, alimentation en eaux usées variable...). Malgré un fort effet de la temporalité sur l'efficacité de l'installation, les performances restent stables au cours du temps et en dépit des variations météorologiques.

Le cadre européen est strict car il établit des concentrations seuils particulièrement faibles pour la réutilisation des eaux usées, par principe de précaution. Mais concernant la réglementation de rejet dans l'environnement, les filtres plantés bioaugmentés fournissent des performances tout à fait réglementaires sur le plan physico-chimique, seul aspect visé par la loi. Les lombrifiltres représentent donc une solution prometteuse de pré-traitement des eaux avant leur rejet dans l'environnement, d'autant plus qu'ils permettent l'épuration microbiologique, un aspect généralement négligé dans le cadre légal.



### Description de la méthodologie :

- **Physico-chimie** : une sonde est utilisée pour le recueil des paramètres physico-chimique au moment du prélèvement des échantillons (eau, terre, fécès de vers), qui sont ensuite filtrés sur une rampe de filtration et analysés (azote total dissous et particulaire, demande biologique en oxygène, demande chimique en oxygène)
- **Microbiologie** : les protocoles donnés par les normes ISO sont suivis pour *E. coli* (indicateur bactérien-ISO 9308), *C. perfringens* (indicateur protozoaire – ISO 14189), Coliphages somatiques (indicateur viral – ISO 10705)
- **Biologie moléculaire** : de l'ADN est extrait des échantillons solides (sol et fécès) puis stocké pour analyses métagénomiques
- **Traitement de données** : analyses statistiques grâce au logiciel R (ANOVA, PERMANOVA, ACC, ACP, NMDS, Tests de corrélation...)

### Description des résultats et discussion :

Il n'a pas été possible de discriminer significativement les performances épuratoires des filtres plantés contenant des vers ou sans vers, mais une épuration significative au regard des pathogènes indicateurs et des paramètres physico-chimiques a été observée. Le facteur temporel (évolution dans le temps) a le plus d'effet sur les performances de l'installation, notamment car les semaines de prélèvements se sont étalées sur 8 semaines entre le printemps et l'été. Le temps est corrélé positivement à l'augmentation des températures ce qui favorise le développement des pathogènes qui ont quand même été épurés à environ 90% par le système. Si ces performances ne sont pas réglementaires sur le plan microbiologique pour considérer une réutilisation en arrosage de cultures (arrêté du 18/12/2023), elles sont pourtant en accord avec la réglementation pour les rejets dans l'environnement en vigueur. Effectivement, les rejets ne sont contrôlés que sur le plan physico-chimique, ce qui est largement validé par filtrOCampus (99% d'abattement), mais les pathogènes ne sont pas visés dans les normes. Cette étude permet donc de mettre en lumière la dynamique microbiologique des eaux usées dans les systèmes de filtration et souligne l'importance de l'inclusion et de l'étude des pathogènes dans les futurs projets de recherche et les nouvelles réglementations. La norme européenne a pris l'initiative de les inclure dans ses directives, mais les seuils choisis ne reflètent pas la réalité de la composition des eaux usées classiques qui ne pourrait presque jamais être réutilisée. Ce projet a donc permis de mettre en pratique la

nouvelle réglementation et de paver la voie pour d'autres études sur la microbiologie des eaux usées afin d'adapter la réglementation à la réalité du rejet et de la réutilisation de ces eaux.

#### **Difficultés rencontrées :**

Une surmortalité des vers a été observée au long des prélèvements (conditions météorologiques, colmatage et noyage) ce qui a pu affecter l'observation de différences entre pilote avec ou sans vers. De plus, l'alimentation en eaux usées provenant d'un bâtiment pédagogique a été inconstante (ponts, vacances scolaires) ce qui a pu altérer les performances et a réduit le nombre de semaine d'échantillonnage. De plus la sonde de terrain (physico-chimie) pouvait parfois dysfonctionner.

#### **Perspectives et recommandations (clés d'avancement technique dans la réflexion autour des réusages de l'eau) :**

Il serait intéressant de rallonger le nombre de semaines d'échantillonnage et de faire une étude sur différentes saisons pour observer les performances au cours de l'année (longévité, variations météorologiques, saisonnalité). Concernant les indicateurs donnés dans la norme, ils sont critiquables puisqu'ils ont été choisis comme indicateurs d'autres pathogènes humains pour leur facilité de culture en laboratoire. Mais d'autres pathogènes pourraient être étudiés additionnellement (protozoaires, entérovirus) : les indicateurs ne sont pas toujours représentatifs des pathogènes qu'ils sont censés représenter et cela limite l'interprétation quant à la qualité microbiologique obtenue. De plus, les seuils très stricts établis par la norme ne sont pas adaptés à ce type d'eaux usées, il serait donc intéressant d'étudier le risque microbiologique suite à la lombrifiltration sur une réutilisation basée sur des seuils moins stricts.

## Schémas et illustrations supplémentaires :

2 pages maximum, orientation portrait ou paysage.

**Tableau 2 :** Usages possibles suivant le niveau de qualité des eaux usées (modifié d'après l'arrêté du 18/12/2023)

Niveau de qualité sanitaire des eaux usées traitées	Type d'usage
<b>A</b>	Toutes les cultures vivrières consommées crues dont la partie comestible est en contact direct avec l'eau usée traitée et les plantes racines consommées crues
<b>B</b>	Cultures vivrières consommées crues dont la partie comestible est cultivée en surface et n'est pas en contact direct avec l'eau usée traitée, cultures vivrières transformées et cultures non vivrières y compris servant à l'alimentation des animaux producteurs de lait ou de viande (hors fourrage frais, pâturage, cultures industrielles, cultures énergétiques et cultures semencières )
<b>C</b>	Fourrage frais et pâturage
<b>D</b>	Cultures industrielles, cultures énergétiques et cultures semencières

**Tableau 3:** Paramètres et niveaux de qualité (modifié à partir de l'arrêté du 18/12/2023)

Paramètres	Niveau de qualité sanitaire des eaux usées			
	A	B	C	D
<b>Paramètres physico-chimiques</b>				
Matières en suspension (mg/L)	≤ 10	-	-	-
DBO5 (mg/L)	≤ 10	-	-	-
Turbidité (NTU)	≤ 5	-	-	-
<b>Paramètres microbiologiques</b>				
<i>E. coli</i> (UFC/100mL)	≤ 10	≤ 100	≤ 1000	≤ 10 000
<i>C. perfringens</i> (UFC/100mL)	≤ 10	≤ 100	≤ 1000	≤ 1 0000
Coliphages somatiques (UFP/100mL)	≤ 10	≤ 100	≤ 1000	≤ 1 0000

**Tableau 4:** Paramètres microbiologiques et abattements requis pour validation des performances de l'installation (modifié à partir de l'arrêté du 18/12/2023)

Paramètres	Niveau de qualité sanitaire des eaux usées			
	A	B	C	D
<i>E. coli</i> (UFC/100mL)	≥ 5	≥ 3	≥ 2	≥ 2
<i>C. perfringens</i> (UFC/100mL)	≥ 4 pour les spores ≥ 5 pour les formes végétatives	≥ 3	≥ 2	≥ 2
Coliphages somatiques (UFP/100mL)	≥ 5	≥ 3	≥ 2	≥ 2