Concours d'Innovation – Croissance

Thématique Eau & Biodiversité

Projet PACQUE : Pilotage de l'Analyse Chimique de la QUalité de l'Eau

LABORATOIRE WATCHFROG

Coût du projet : 711 768 €
Demande d'aide : **320 296 €**

Durée du projet : 24 mois
02/09/2019 → 31/08/2021

Pourquoi la biosurveillance ?

- **Identifier les sources de polluants les plus impactantes sur le vivant**
- **Piloter et évaluer l'apport des actions correctives**

Seuls les tests biologiques permettent de mesurer les effets de l'ensemble des polluants chimiques sur le vivant.
Il n'existe pas de liste des perturbateurs : ils sont trop divers et peuvent agir en mélange (effets cocktails).

Pourquoi mesurer la perturbation hormonale ?

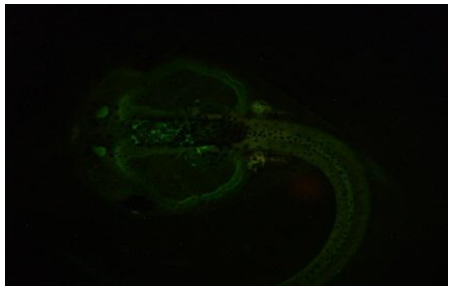
Micropolluants : effets négatifs sur le vivant → Perturbation de l'équilibre hormonal

L'équilibre hormonal est le baromètre du bon état physiologique du vivant !

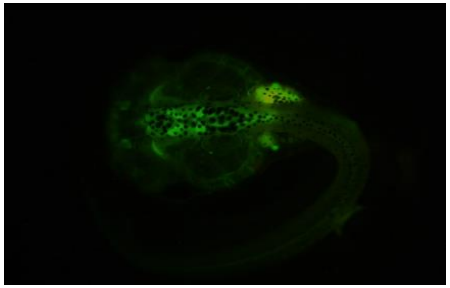
Comment ça marche ?

Effet des polluants = variation de fluorescence des larves

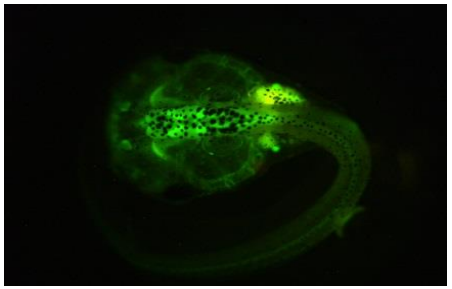
Têtard éteint par un polluant

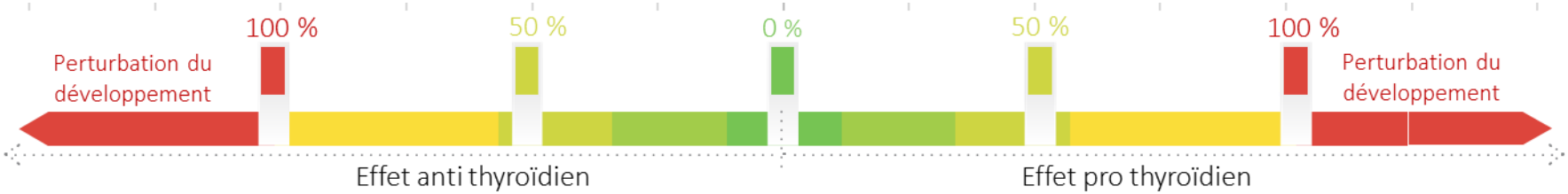


Têtard témoin



Têtard allumé par un polluant

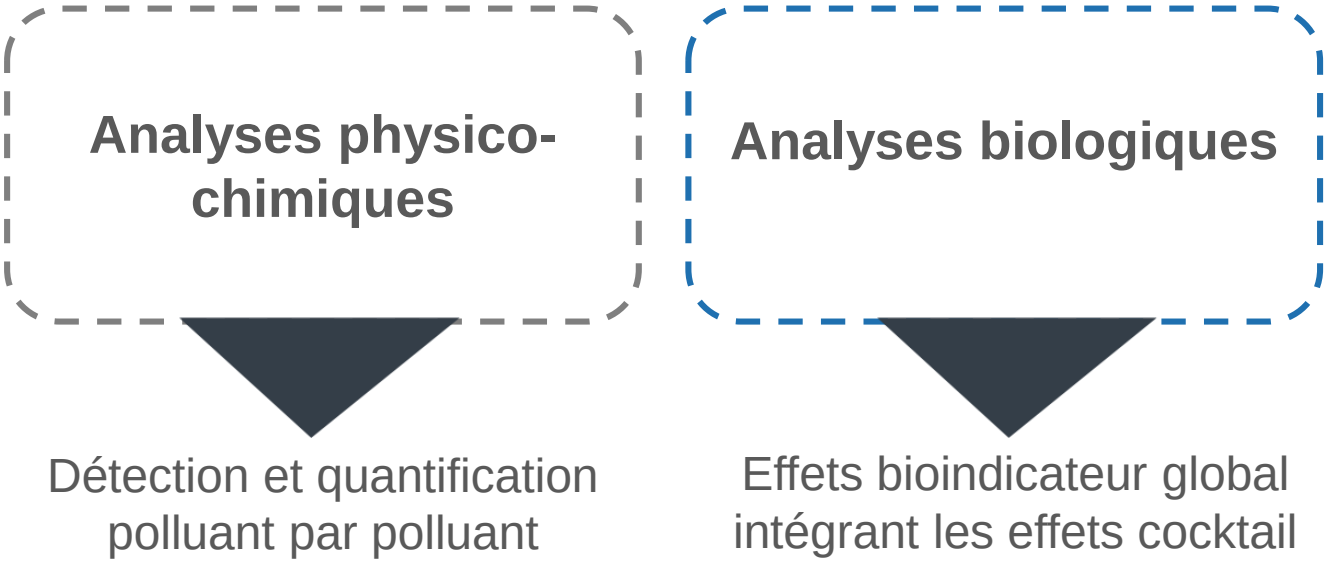




L'intensité du signal fluorescent est proportionnelle à l'effet perturbateur de l'échantillon d'eau.

Tests normés : AFNOR XP90-716-1 et XP90-716-2

Problématique



Réconcilier les mesures d'effets avec la présence des polluants

Absence des **bioessais** dans les stratégies de suivi de la qualité de l'eau.
Identification des substances responsables des pollutions des eaux de surface fastidieuse et onéreuse (analyse chimique).

Obstacles à l'intégration dans les programmes de surveillance :

- Évolution règlementaire en cours (Contrat de filière Eau, Directive Cadre sur l'Eau),
- Interprétation des données issues de bioessais par les opérateurs et experts de l'Eau.

Résumé du projet

LABORATOIRE WATCHFROG

Labellisation Pôle DREAM

Objectifs

Piloter l'analyse statistique des pics analytiques issus de l'empreinte chimique pour **identifier les espèces chimiques** les plus spécifiques des **effets néfastes** mesurés par les **bioessais**.

Développement d'une méthode commercialisable : **méthode ID-TOX-H2O ou « Identification of Drivers of TOXicity in Water »**.

COÛTS

Intitulé de la tache	Nombre d'homme. mois	Salaires chargés non environnés	Frais connexes forfaitaires	Sous-traitance	Contribution amortissements	Frais de missions	Autres coûts (achats, etc.)	**TOTAL** (en € HT)
TOTAL (en € HT)	75,20	408 908 €	81 782 €	147 060 €	3 319 €	4 200 €	66 500 €	**711 768 €**

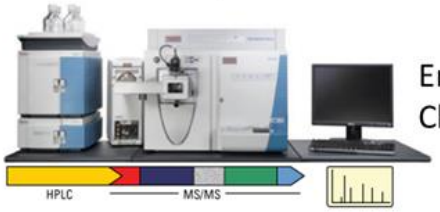
Durée

24 mois

De Septembre 2019 à Août 2021

Preuve de concept : bassin de l'Oudon

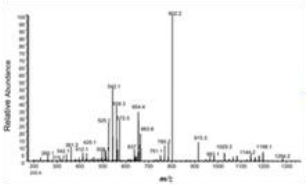
Prélèvements représentatifs de la cartographie du bassin ou des variations hydrologiques/temporelles



Empreinte Chimique

Evaluation de l'impact sur le vivant

Hiérarchisation des échantillons



Tri des pics analytiques spécifiques des effets observés

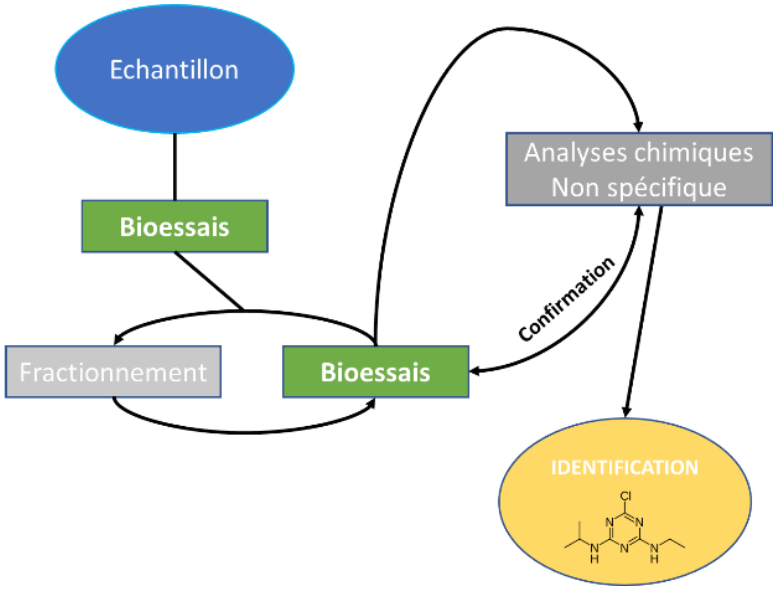
8 micropolluants identifiés comme spécifiques des échantillons les plus impactant

Etapes stratégiques :

1) Définir le plan de prélèvement.
2) Construire les outils statistiques.
3) Comparaison des données biologiques avec les pics analytiques.

Etat de l'art

Méthode EDA ou Effect Directed Analysis (Analyse Dirigée par l'Effet) :
Utilisée uniquement en R&D et non commercialisée.



Principe de l'EDA

1) **Fractionnement** des échantillons présentant une activité biologique.
2) **Identification** des molécules par spectrométrie de masse.
3) Test de chaque molécule identifiée pour vérifier son **activité biologique**.

LIMITES

- Echantillon d'eau + solvant → composés organiques uniquement.
- Effet cocktail non pris en compte.
- Coût très élevé (analyse chimique).

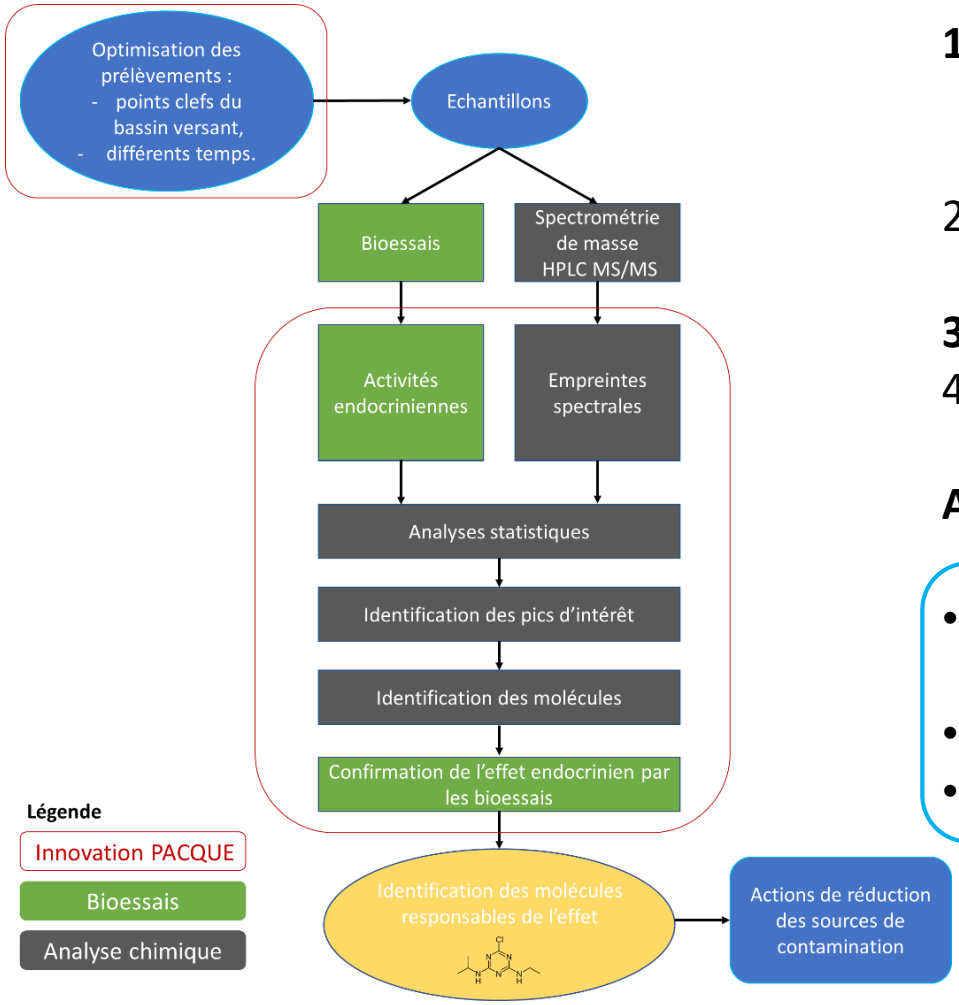
Solution et SWOT

Développement de la **méthode ID-TOX-H2O** permettant de fournir un raccourci pour l'identification des facteurs de toxicité aquatique dans les eaux de surface.

FORCES	FAIBLESSES
• **Pas besoin de fractionnement** • **Identification de substances inconnues** • **Prix (moitié de l'EDA)** • **Temps (plus rapide que l'EDA)** • **Méthode plus informative que l'EDA** • **S'appuyer sur l'expertise chimique pour interpréter les résultats des bioessais**	• **Nécessite de nombreux échantillons pour la puissance statistique** • **Nécessite un protocole d'analyse statistique robuste** • **Repose sur une sous-traitance analytique**
OPPORTUNITES	**MENACES**
• Identification des substances toxiques critiques permettant de prioritiser les efforts • Relier substances toxiques et sources de pollution (cartographie) • Inclusion des bioessais dans la réglementation (DCE, …)	• Convaincre les utilisateurs finaux d'utiliser la technologie • Evolution trop lente de la réglementation

Innovation : méthode ID-TOX-H2O

Identification rapide et économique des substances responsable de la pollution de l'eau



1) **Prélèvement** des échantillons :
   - Profil chronologique
   - Profil topographique
2) Tests de l'activité endocrinienne + empreintes spectrales.
3) **Analyses statistiques.**
4) Identification des substances.

AVANTAGES

- Echantillon d'eau → composés organiques et inorganiques.
- Effet cocktail pris en compte.
- Coût inférieur de moitié / EDA.

Concurrence

Briques technologiques / Acteurs	Sociétés réalisant des bioessais	Sociétés spécialisées dans l'analyse chimique	Laboratoires de recherche publique réalisant de l'EDA	PACQUE à T0	PACQUE au terme du projet
Déterminer les activités endocriniennes présentes dans les échantillons					
Déterminer la composition chimique des échantillons				Sous traitance	Sous traitance
Déterminer les molécules responsables des activités endocriniennes sur la base des compositions chimiques (coût élevé)				Déjà réalisé dans un cadre RetD (projet Solutions)	Déjà réalisé dans un cadre RetD (projet Solutions)
Réaliser une empreinte spectrale des échantillons				Sous traitance	Sous traitance
Utiliser une approche statistique identifiant les pics responsables des activités endocriniennes					
Déterminer les molécules responsables des activités endocriniennes sur la base des empreintes spectrales (coût acceptable)					
Optimiser le plan de prélèvement pour diminuer le coût de l'identification des molécules responsables					
Proposer une offre commerciale pour déterminer les molécules responsables des activités endocriniennes selon une méthode industrialisée à un cout optimisé					

Présentation des briques technologiques, des différents acteurs du secteur et des développements qui résulteront du projet PACQUE.

Verrous

Risque identifié	Mesures préventives mises en place
Les échantillons prélevés ne permettent pas d'obtenir la puissance statistique nécessaire (trop peu nombreux ou certains niveaux d'activité endocrinienne faiblement représentés).	Prélever plus d'échantillons que théoriquement nécessaire lors de l'étape initiale de prélèvement.
Manque de robustesse de l'analyse statistique.	Les résultats des tests biologiques ne seront par seulement exprimés en tant qu'actifs/inactifs mais de manière quantitative. Plusieurs experts seront consultés (Sous-traitant analytique, nos collaborateurs académiques du projet Solutions...).
Les molécules identifiées ne sont pas disponibles commercialement pour l'étape de confimation de leur activité biologique.	Nous intégrons au budget la synthèse de 50% des molécules.
La réglementation actuelle ne promouvoit pas ce type d'approches.	L'ajout des stratégies basées sur des bioessais est attendu dans la révision 2019 de la directive cadre sur l'eau.
Sous-traitance	Le choix des prestataires sera sécurisé (qualité, satisfaction-clients, fiabilité, respect des délais...). Un contrat bilatérale sera institué et d'un point de vue opérationnel un responsable de la sous-traitance sera désigné dans une démarche globale de collaboration.

Tableau de contingence du projet PACQUE

Marché

Tests Laboratoire Watchfrog

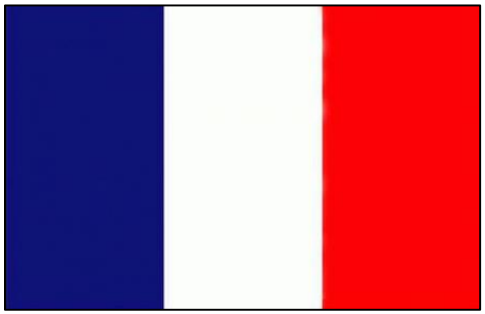
- Test axe oestrogénique
- Test axe androgénique
- Test axe thyroïdien
- FrogBox®
- **METHODE ID-TOX-H20**

Clients actuels

- Industrie cosmétique
- Industrie chimique
- Agglomérations
- Agences de l'eau
- Autres

Clients cibles projet

- Syndicats mixtes ouverts
- Syndicat mixtes fermés
- EPTB



Modèle d'affaire et projections financières

Hypothèse d'une offre **ID-TOX-H20** sur 10 points de prélèvements : **26 140 €**

Prestation de service de diagnostic de la qualité de l'eau

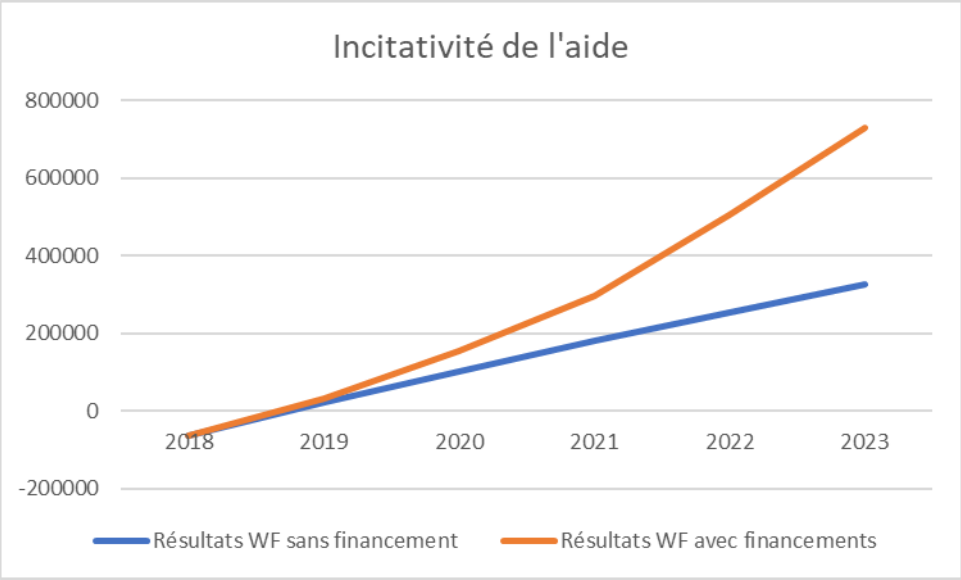
Vente directe / Distribution sous accord commercial / Transfert de technologie

Estimation basée sur **3200 clients** potentiels en France répartis :

- Syndicats mixtes fermés,
- Syndicats mixtes ouverts,
- EPTB ou Etablissement Public Territorial de Bassin.

	2021	2022	2023	2024	2025
% marché	0,1	0,3	0,6	1,6	3,2
Nombre d'unités vendues	3	10	20	50	100
TOTAL CA	**104 560,00 €**	**261 400,00 €**	**522 800,00 €**	**1 307 000,00 €**	**2 614 000,00 €**

Incitativité de l'aide et leviers



1) Libérer la capacité d'investissement de l'entreprise.
2) Soutenir la croissance du Laboratoire.
3) Accélérer l'accession à un nouveau marché.

Levier économique

Emploi

2019 : + 1 technicien en début de projet
2023 : + 1 technicien
2024 : + 1 technicien
2025 : + 2 techniciens
Activité pour nos sous-traitants (Prélèvements et analyse chimique)

5 Embauches

Déroulement du projet

Terrain d'expérimentation: SIAAP

Démarrage du projet : **Septembre 2019**

Semestres	S1						S2						S3						S4					
Mois	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Stratégie de prélèvement et d'analyse		J																						
Prélèvements																								
Déterminer l'activité endocrinienne des échantillons prélevés																								
Déterminer l'empreinte spectrale des échantillons prélevés																								
Identifier les pics (molécules) associés aux activités endocriniennes détectées																								
Développement d'un outil statistique intégrable à la méthode PACQUE																								
Regrouper les connaissances existantes sur l'effets des molécules identifiées														J										
Confirmer l'activité des molécules identifiées																			J					
Déterminer l'activité des mélanges de molécules identifiées																						J		
Réaliser un référentiel et une cartographie																								
Commercialisation d'une offre d'analyse pilotée par l'effet																								

Gantt du projet PACQUE. *NB : Les étapes marquées d'un J comportent un jalon décisionnel.*

Equipe PROJET

Barbara ROBIN
Adjointe de Direction Scientifique
Management de projet et vulgarisation scientifique.

David DU PASQUIER
Chercheur sénior
Spécialiste de la recherche sur l'endocrinologie des amphibiens et de la conduite de projet scientifique.

Andrew TINDALL
Chercheur sénior
Spécialiste du développement de tests alternatifs et des projets collaboratifs publics-privés.

?

Technicien R&D
Qualifié dans les tests *in vivo*, si possible en éco-toxicologie.
Conduite des tests de perturbation endocrinienne du projet.

Budget Projet

Montant Total du Projet	Montant de l'Aide
711 768 €	320 296 €

1) Modalités de financement sur les différentes phases

	Coût total	Fonds propres Laboratoire Watchfrog	Aide Concours Innovation
Lot 1 et 2	411 299 €	211 299 €	200 000 €
Lot 3	262 972 €	180 172 €	82 800 €
Lot 4	37 496 €	0 €	37 496 €

2) Modalités de financement de la phase de déploiement commercial

	2021	2022	2023
Chiffre d'affaire	1 751 302 €	2 276 692 €	2 959 700 €
Vente de la méthode ID-TOX-H2O	104 560 €	261 400 €	522 800 €

Livrable du projet

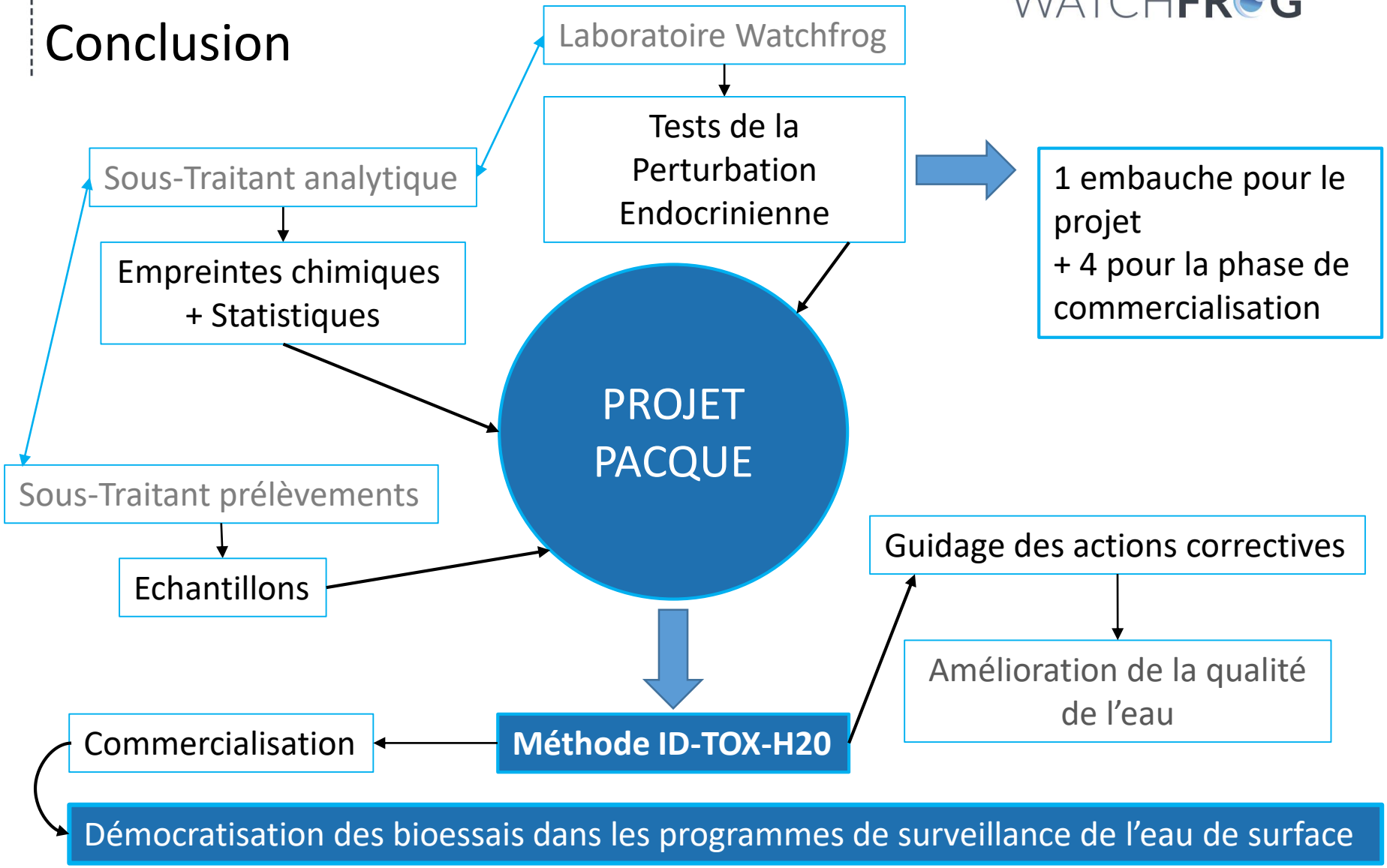
Première offre packagée d'analyses pilotée par l'effet : **méthode ID-TOX-H20**

- Volet prélèvement.
- Volet bio-essais.
- Volet analytique.
- Interprétation des données pour la mise en place d'action correctives.

Descriptif de l'offre :

- Domaines d'application de la méthode ID-TOX-H2O.
- Principe d'élaboration du plan de prélèvement.
- Outil statistique du tri de l'empreinte chimique.
- Identification des polluants spécifiques des pollutions les plus sévères.
- Articulation vers les solutions de traitements et / ou d'élimination des rejets.

Conclusion


Laboratoire Watchfrog
Tests de la Perturbation Endocrinienne
1 embauche pour le projet
+ 4 pour la phase de commercialisation
Sous-Traitant analytique
Empreintes chimiques + Statistiques
PROJET PACQUE
Sous-Traitant prélèvements
Echantillons
Guidage des actions correctives
Amélioration de la qualité de l'eau
Commercialisation
Méthode ID-TOX-H20
Démocratisation des bioessais dans les programmes de surveillance de l'eau de surface

LABORATOIRE

WATCHFROG

Gregory LEMKINE
Directeur Général

Barbara ROBIN
Adjointe de Direction Scientifique

David DU PASQUIER & Andrew TINDALL
Chercheurs