

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire
Département : Biologie

Thème :

Evaluation de l'effet génotoxique par le test *d'Allium cepa* des éventuels perturbateurs endocriniens présents dans les eaux usées de la station de Guelma

Présenté par :

- Lakhal Samira
- Maghlout Chiraz
- Merzougui Rebiha

Devant le jury composé de :

Président	M ^r . Benouareth Djamel Eddine	Prof	Université de Guelma
Examinatrice	M ^{me} . Ayed Hayette	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur	M ^{me} . Merabet Rym	M.A.A	Université de Guelma
Co-encadreur	M ^{me} . Khallef Messaouda	M.C.A	Université de Guelma

Remerciement

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude, avant tout à Dieu le tout puissant qui nous a donné la patience, le courage et la force pour mener à bien ce modeste travail.

Louanges à ALLAH.

*Nous tenons particulièrement et chaleureusement à remercier notre encadrant **Mme MERABET Rym**, Pour sa confiance, ses encouragements et conseils tout au long de la réalisation de ce travail. Pour son soutien, patience, gentillesse et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de notre profonde gratitude. Ce travail n'aurait pas été le même sans votre encadrement.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à **Mme KHALLEF Messaouda**, qui nous a accordé l'honneur de diriger et de Co-encadrer ce travail. Merci à sa disponibilité, sa gentillesse, ses judicieux conseils, ses aides et ses orientations efficaces.*

*Nous voudrions également remercier vivement **Pr. BENOUARETH Djamel Eddine**. De nous avoir honoré de sa présence et d'avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire. Nous sommes sûres que ses critiques et orientations nous seront très utiles.*

*Nos remerciements les plus vifs s'adressent également à **Mme AYED Hayette**, pour avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail. Votre présence va valoriser, de manière certaine, la présente étude.*

Nos remerciements vont aussi à toutes les techniciennes de laboratoires pour leur gentillesse et leur disponibilité tout au long de la période du travail.

Nous n'oublions pas de remercier profondément toute l'équipe de la station d'épuration de Guelma pour leur aide.

Nos remerciements vont enfin à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère Bakhouche Salima

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour toi, tes sacrifices innombrables et ton dévouement firent pour moi un encouragement. Tu as guetté mes pas, et m'as couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Puisse Dieu, tout puissant te combler de santé, de bonheur et te procurer une longue vie.

A mon très cher père Zouhír

Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu m'as porté depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de tes vœux tant formulés, le fruit de tes innombrables sacrifices, bien que je ne te en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, t'accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne te déçoive.

A mon très cher frère Choukri

Mon ange gardien et mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A ma petite sœur Lirine Loudjaine

Une petite? Non une grande dédicace à ma petite sœur de cœur que j'aime plus que tout, ma confidente, mon épaule, ma voix, mon avenir, mon p'tit bout, ma perle rare. Ma petite sœur tu es tout pour moi, Je t'aime.

A tous les membres de ma famille

A mes partenaires Hanane et Marwa

À MES AMIS DE TOUJOURS : Amira, Soumia, Ikram et Selma

En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de réussite, bonheur, santé et de prospérité.

À mes professeurs de l'Université de Guelma

A toute la promotion de Master BMC (2019-2020)

CHIRAZ

Dédicace

Louanges à Dieu,

Le tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail

À ma chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et Ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À mon cher père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Tous les deux vous résumez bien le mot parents qu'il serait superflu d'y ajouter quelque chose. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi et ai réalisé aujourd'hui l'un de vos rêves.

À mes très chers frères ABDERRAHIM et Azzedine

Pour leur appui et leur encouragement permanents, et leur soutien moral et leur extrême serviabilité.

À ma chère sœur Zahra

Tu es pour moi une belle sœur, grand merci pour ton encouragement, aide et soutien.

À tous mes oncles et tantes

Sans oublier mes grands-parents.

À tous mes cousins et cousines

À tous les membres de ma famille, petits et grands

À celles avec qui j'ai partagé le stress, l'inquiétude et surtout les bons moments de ce travail.

Mes partenaires et mes chères amies : Marwa et Chiraz

Qui ont toujours été là pour aider et m'encourager.

À tous les enseignant (e)s qui ont participé à ma formation depuis la première année primaire jusqu'à maintenant.

À tout le personnel du département de *SNV et de la biologie* et à toute la promotion de 2^{ème} année master *BMC*

À mes chères amies : SELMA ET FAYZA.

REBIHA

Dédicace

Louanges à Dieu,

Le tout puissant, qui m'a permis d'arriver à achever ce modeste travail que *Je dédie* :

À Ma mère

Qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

À Mon père

Qui m'a toujours encouragé, conseillé et soutenu.

Ce modeste travail est le résultat de longues années de son sacrifice pour m'aider à avancer dans la vie.

À l'âme de mon frère

Qui a épuisé sa vie et sa jeunesse pour nous. Mon frère qui sans lui je ne serais pas arrivé jusqu'ici.

À Mes sœurs

Source de tendresse et d'amour qui m'ont soutenu durant tout le chemin.

Aux enfants Abdelaziz, Abderazak, Sami.

À tout le reste de la famille

À Mes partenaires Hanane et Chiraz

Qui ont toujours été là pour m'encourager et me pousser vers le chemin de la réussite.

À tous les enseignant (e)s qui ont participé à ma formation depuis la première année primaire jusqu'à maintenant.

À toute la promotion de Master 2 BMC.

À mes chères amies : Selma, Fayza

SAMIRA

Sommaire

Résumés	
Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Liste des photos	III
Liste des abréviations	IV

Synthèse bibliographique

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I: Les eaux usées

1. Définition d'une eau usée	3
2. Origine des eaux usées.....	3
2.1. Les eaux domestiques.....	3
2.2. Les eaux industrielles	4
2.3. Les eaux usées agricoles	4
2.4. Les eaux pluviales	4
3. Composition des eaux usées	5
3.1. Microorganismes	5
3.1.1. Les virus	5
3.1.2. Les bactéries	6
3.1.3. Les protozoaires.....	6
3.1.4. Les helminthes	6
3.2. Les matières en suspension (MES)	7
3.3. Micropolluants organiques et non organiques	7
3.3.1. Eléments traces	7
3.3.2. Eléments toxiques organiques	7
3.4. Les substances nutritives.....	7
4. Caractéristiques des eaux usées	8

4.1. Les paramètres physiques.....	8
4.1.1. La température	8
4.1.2. La turbidité	8
4.2. Les paramètres chimiques	8
4.2.1. Potentiel Hydrogène	8
4.2.2. La conductivité	8
4.2.3. La demande biologique en oxygène (DBO ₅).....	8
4.2.4. La demande Chimique en Oxygène.....	9
4.2.5. La biodégradabilité	9
5. Traitement des eaux usées	9
5.1. Les prétraitements	9
5.1.1. Le dégrillage	9
5.1.2. Le dessablage.....	10
5.1.3. Dégraissage-Déshuilage	10
5.2. Traitement primaire.....	10
5.2.1. La décantation (processus physique).....	10
5.2.2. La flottation (processus physique).....	10
5.2.3. Coagulation - Flocculation (voie physico-chimique).....	11
5.3. Le traitement secondaire (biologique).....	11
5.3.1. Les traitements aérobies	11
5.3.2. Traitements anaérobies	12
5.4. Le traitement tertiaire	12
5.4.1. La désinfection	12
5.4.2. Les traitements de finition	13
5.4.3. Le traitement sur charbon actif.....	13
Chapitre II : Les perturbateurs endocriniens	
1. Le système endocrinien	14

2.1.	Définition	14
2.2.	Mode d'action	14
2.3.	Les hormones	15
3.	Les perturbateurs endocriniens	15
3.1.	Définition	15
3.2.	Découverte des PEs	15
3.3.	L'origine des PE.....	17
3.4.	Mécanisme d'action des PEs.....	17
3.4.1.	Effets hormono-mimétiques	17
3.4.2.	Effets antagonistes	18
3.4.3.	Effets directs sur les hormones.....	18
4.	Les différentes PEs	19
4.1.	Le bisphénol A	19
4.2.	Les dioxines.....	19
4.3.	Les Parabens.....	19
4.4.	Les phtalates.....	20
4.5.	Les pesticides	20
4.5.	Les phytoestrogènes	20
4.6.	Les PCB.....	21
5.	Les effets des perturbateurs endocriniens	21
5.1.	Effets sur la reproduction	21
5.2.	Effets sur les maladies métaboliques	22
5.3.	Effets sur la thyroïde et le système nerveux.....	22
5.4.	Effets sur la cancérogénèse	22
5.5.	Effets toxiques.....	23
Chapitre III : Tests de génotoxicité		
1.	Définition de la génotoxicité.....	24

2.	Les tests de génotoxicité	25
2.1.	Test d'Ames	26
2.2.	Test du micronoyau	26
2.3.	Échange de chromatides sœurs	27
2.4.	Test de comète.....	28
2.5.	Test d'aberration chromosomique.....	29
3.	Test d' <i>Allium cepa</i>	30
3.1.	Description	30
3.2.	Position taxonomique et caractéristiques génétiques	30
3.3.	Les différents paramètres analysés par le test d' <i>Allium cepa</i>	31
3.3.1.	La forme des racines.....	31
3.3.2.	Indice mitotique.....	31
3.3.3.	Les aberrations chromosomiques	31
3.3.4.	Les anomalies nucléaires	31
3.3.5.	Micronoyau.....	32
3.3.6.	Autres anomalies	32

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1.	Présentation de la région d'étude.....	33
2.	Description de la zone d'étude (STEP de Guelma)	34
2.1.	Présentation et localisation.....	34
2.2.	Principe et fonctionnement du système de traitement.....	35
2.3.	Prélèvement des eaux	35
3.	Test de génotoxicité (test d' <i>Allium cepa</i>)	36
3.1.	Matériel biologique	36
3.2.	La technique	36
3.2.1.	La culture des bulbes	36

3.2.2. La fixation des extrémités racinaires 37

3.2.3. La coloration des extrémités racinaires 39

3.2.4. L'observation macroscopique..... 39

3.2.5. L'observation microscopique 39

Résultats et discussion

1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire..... 41

1.1. Longueur des racines après 24 heures..... 41

1.2. Longueur des racines après 48 et 72 heures..... 42

Conclusion..... 48

Références bibliographiques.....49

Annexe60

Résumés

Résumé

Les eaux usées sont de plus en plus responsables de l'introduction d'un grand nombre de substances chimiques dans l'environnement. Ces substances, en particulier les perturbateurs endocriniens, représentent un danger sanitaire d'où l'importance du traitement de ces eaux usées dans des stations d'épuration avant leurs rejets. La présente étude a pour but d'évaluer la cytotoxicité et la génotoxicité des eaux usées prélevées de trois sites différents de la station d'épuration de la ville de Guelma (S1, S2 et S3), en utilisant le test d'*Allium cepa*.

Les bulbes d'oignon ont été incubés pendant 24, 48 et 72 h dans des milieux contenant les échantillons d'eaux prélevés de trois sites différents de la station. Après incubation, les racines d'*Allium cepa* ont été observées macroscopiquement. Les résultats ont montré une diminution de la croissance des racines pour tous les échantillons des eaux usées (S1, S2 et S3), mais elles étaient plus remarquables dans les échantillons de site S1 avec un taux d'inhibition de 50%. Ces résultats ont montré donc un effet cytotoxique extrême pour les échantillons de site S1 par rapport au site S2 et S3. En conclusion, le traitement des eaux usées provoque une réduction de la cytotoxicité et donc une diminution de la charge polluante. Cette étude nous a permis d'évaluer l'efficacité du traitement des eaux usées de la STEP de la ville de Guelma.

Mots clés : *Allium cepa*, eau usée, élongation racinaire, cytotoxicité, perturbateur endocrinien, STEP, traitement.

Abstract

The threat of wastewater to public health by the introduction of a large number of chemicals into the environment became increasingly apparent. Wastewater contains heavy metals and potentially hazardous contaminants that could be endocrine disruptors. To prevent such health risk it is necessary to treat and purify wastewater to some degree before disposal. The purpose of this study is to assess the cytotoxicity and genotoxicity of wastewater collected from three different sites at the Guelma City Treatment Plant (S1, S2 and S3), using the *Allium cepa* test. Onion bulbs were incubated for 24, 48 and 72 hours in media containing the collected water samples. After incubation, the roots of *Allium cepa* were observed macroscopically. The results showed a decrease in root growth for all wastewater samples (S1, S2 and S3), but the inhibition was more significant in samples of S1 with an inhibition rate of 50%. These results therefore showed an extreme cytotoxic effect of S1 non-treated water compared to site S2 and S3. In conclusion, the treatment of wastewater causes a reduction in cytotoxicity and therefore a decrease in the polluting load. This study allowed us to evaluate the effectiveness of the wastewater treatment of the STEP of the city of Guelma.

Keywords: *Allium cepa*, wastewater, root elongation, cytotoxicity, endocrine disruptor, STEP, treatment.

المخلص

تعتبر مياه الصرف الصحي مسؤولة بشكل متزايد عن إدخال عدد كبير من المواد الكيميائية في البيئة. تشكل هذه المواد، وخاصة المواد المسببة لاضطرابات الغدد الصماء، خطراً على الصحة. و من هنا نستخلص أهمية معالجة هذه المياه في محطات معالجة مياه الصرف الصحي قبل تصريفها. الغرض من هذه الدراسة هو تقييم السمية الخلوية و السمية الجينية لمياه الصرف الصحي التي تم جمعها من ثلاثة مواقع مختلفة في محطة المعالجة بمدينة قالمة (S1 و S2 و S3)، باستخدام اختبار *Allium cepa*.

تم تحضين بصيالات البصل لمدة 24 و 48 و 72 ساعة في وسط يحتوي على عينات المياه التي تم جمعها من محطة المعالجة. و بعد حضانة هذه البصيلات، تم ملاحظة جذور *Allium cepa* بشكل عياني. أظهرت النتائج انخفاضاً في النمو الجذري لجميع عينات مياه الصرف الصحي (S1 و S2 و S3)، لكنها كانت أكثر وضوحاً في عينات الموقع S1 بمعدل تثبيط 50 بالمئة. ولذلك أظهرت هذه النتائج تأثيراً بالغ السمية للخلايا بالنسبة لعينات الموقع S1 مقارنة بالموقعين S2 و S3. في الختام، تؤدي معالجة مياه الصرف الصحي إلى تقليل السمية الخلوية، وبالتالي تقليل حمل الملوثات. سمحت لنا هذه الدراسة بتقييم كفاءة محطة ولاية قالمة على معالجة مياه الصرف الصحي.

الكلمات المفتاحية: *Allium cepa*، مياه الصرف الصحي، استئطالة الجذور، السمية الخلوية، اضطراب الغدد الصماء، STEP، المعالجة .

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
1	Historique des perturbateurs endocriniens.	16
2	Différents modes d'action des perturbateurs endocriniens.	18
3	Les différents types des tests de génotoxicité.	25
4	Le principe de test Ames.	26
5	Schématisation de la formation des micronoyaux.	27
6	Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de l'ADN.	29
7	Situation géographique de la wilaya de Guelma.	33
8	Localisation de la station d'épuration de la ville de Guelma.	34
9	Configuration de la STEP de Guelma.	35

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
1	Les différents agents génotoxiques.	24
2	Classification systématique de l'oignon (<i>Allium cepa</i>).	30
3	Résultats du test d'inhibition de la croissance des racines d' <i>Allium cepa</i> après 24h.	42
4	Résultats du test d'inhibition de la croissance des racines d' <i>Allium cepa</i> après 48h.	43
5	Résultats du test d'inhibition de la croissance des racines d' <i>Allium cepa</i> après 72h.	44

Liste des photos

Photos	Titres	Pages
1	Germination des bulbes d' <i>Allium cepa</i> pendant 48h.	36
2	Exposition des bulbes d' <i>Allium cepa</i> aux échantillons d'eaux.	37
3	Fixation des extrémités racinaires dans la solution de Carnoy.	38
4	Conservation des extrémités racinaires dans l'éthanol 70%.	38
5	Aspect morphologique des racines après 72h.	45

Liste des abréviations

AC : Aberration chromosomique.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AN : Anomalie nucléaire.

BPA : Bisphénol A.

CTDD : Tétra-chlorodibenzodioxine.

DBO₅ : Demande biologique en oxygène.

DBP : Phtalate de dibutyle.

DCO : Demande chimique en oxygène.

DEHP : Phtalate de di (2-éthylhexyle).

DES : Diéthylstilbestrol.

DMP : Phtalate de diméthyle.

EPA : Environmental Protection Agency, USA.

ER : Elongation racinaire.

HAP : Hydrocarbure polycyclique aromatique.

His : Histidine.

HIV : Virus de l'immunodéficience humaine.

IM : Indice mitotique.

MES : Matière en suspension.

MO : Matière organique.

MN : Micronoyau.

OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PCB : Polychlorobiphénule.

PCDD : Polychlorodibenzo-*para*-dioxines.

PCDF : Polychlorodibenzo-furanes.

PE : Perturbateur endocrinien.

PNRPE : Programme national de recherche sur les PEs.

POP : Polluants organiques persistants.

PVC : Polychlorure de vinyle.

RX : Rayons X.

SCE : Echange de Chromatides Sœurs.

SE : Système endocrinien.

STEP: Station d'épuration.

UV : Ultra-violet.

5-BrdU : 5-bromodésoxyuridine.

Synthèse
bibliographique

Introduction

Introduction

L'eau est une ressource vitale indispensable à la vie de tous les êtres vivants, ainsi au développement des sociétés : santé, alimentation, ou les différentes activités humaines (**Smili et al., 2018**). Elle ne peut être considérée comme un simple produit commercial, elle doit être classée comme un patrimoine universel qui doit être protégée, défendue et traitée.

Depuis ces dernières années, les accroissements démographiques, économiques et urbains sont à l'origine de différentes sources de pollution. Parmi ces sources de pollution, la production des eaux usées (**Aragroug et Ennabo, 2018**). Ces eaux sont fortement chargées en polluants et en contaminants divers, elles ne devraient pas être donc directement rejetées dans le milieu naturel, car elles peuvent engendrer de graves problèmes environnementaux.

Ces contaminants sont de nature à porter atteinte à la santé de l'homme, l'animal et le végétal et peuvent être classés en contaminants biologiques tels que les bactéries et les champignons, contaminants physiques (les rayons ultraviolets et les rayonnements ionisants) et contaminants chimiques tels que les métaux lourds et les dioxines. Cette dernière classe renferme aussi les substances problématiques connues sous le nom de perturbateurs endocriniens (**Laborie, 2015**).

En 2002, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a défini les perturbateurs endocriniens comme des substances chimiques d'origine naturelle ou synthétique, étrangères à l'organisme et susceptibles d'interférer avec le fonctionnement du système endocrinien. Ces substances sont pour la plupart issus de l'industrie agro-chimique et de leurs rejets tels que les pesticides, les herbicides, les plastiques et les médicaments.

Pour protéger notre environnement et éviter ces problèmes, il faut donc éliminer cette pollution de l'eau avant son rejet dans le milieu naturel. Pour cela l'Algérie a exigé le traitement des eaux usées. L'objectif de ces traitements est de réduire la charge des polluants et d'éliminer les substances toxiques.

Ainsi, l'épuration de ces eaux est devenue, de nos jours, une priorité; aussi bien pour préserver la santé humaine et l'environnement, que pour produire une eau qui pourrait être utilisée en agriculture, en industrie et en d'autres activités sociales (**EL Hachemi, 2012**).

En 2008, la wilaya de Guelma, comme la plupart des villes algériennes a mis en service une station d'épuration (STEP) qui a pour objectif l'épuration de 43 388 m³/j d'eaux usées avec une série de traitement primaires permettant d'éliminer les déchets, les sables,

les graisses et les matières en suspension, puis un traitement biologique pour écarter le reste de la pollution (**Bedouh, 2014**).

C'est dans cette optique que se situe notre étude dont l'objectif principal est d'évaluer l'efficacité de ces traitements par la recherche de l'éventuel effet toxique et génotoxique des eaux usées prélevées de la station d'épuration de la ville de Guelma en utilisant le test d'*Allium cepa*. Ce dernier a été largement utilisé pour déterminer le pouvoir cytotoxique et génotoxique promu par des polluants dans l'eau, l'air et du sol.

Ce travail comporte deux parties principales :

Une partie de revue bibliographique qui est composée essentiellement de trois chapitres; le premier comporte des généralités sur les eaux usées et leurs traitements. Le deuxième chapitre a été consacré aux perturbateurs endocriniens, leurs modes d'action ainsi que leurs effets sur la santé. Et enfin, les différents tests de génotoxicité ont été revus dans le troisième.

Une partie expérimentale décrivant le protocole et les méthodes d'analyse utilisées dans cette étude, l'interprétation des résultats obtenus et leur discussion pour enfin terminer avec une conclusion sur l'efficacité des méthodes de traitement des eaux usées de la STEP de Guelma .

Chapitre I
Les eaux usées

Les eaux usées sont des milieux extrêmement complexes, altérées par les activités anthropiques à la suite d'un usage domestique, industriel, artisanal, agricole ou autre. Elles sont considérées comme polluées et doivent être donc traitées avant toute réutilisation ou injection dans les milieux naturels récepteurs (**Metahri, 2012**).

1. Définition d'une eau usée

Une eau usée appelée encore eau résiduaire ou effluent est une eau qui a subi une détérioration après usage. La pollution des eaux dans son sens le plus large est définie comme « Tout changement défavorable des caractéristiques naturelles (biologiques ou physico-chimiques) dont les causes sont directement ou indirectement en relation avec les activités humaines » (**Moussa Moumouni, 2005**).

Les eaux usées sont toutes les eaux des activités domestiques, agricoles et industrielles chargées en substances toxiques qui parviennent dans les canalisations d'assainissement. Les eaux usées englobent également les eaux de pluies et leur charge polluante, elles engendrent au milieu récepteur toutes sortes de pollution et de nuisance (**Metahri, 2012**).

2. Origine des eaux usées

2.1. Les eaux domestiques

D'après **Baumont et al. (2009)**, les eaux usées domestiques sont constituées par les eaux ménagères et les eaux vannes.

Les eaux vannes (eaux de toilettes) représentent environ le tiers des eaux usées domestiques. Elles sont constituées par les matières fécales et les urines. Les eaux ménagères regroupent l'ensemble des autres rejets : eaux de cuisine, de lessive, lavabos, douches, baignoires, appareils ménagères, etc.

Les eaux usées domestiques contiennent des matières minérales et des matières organiques :

- **Les matières minérales** : chlorures, phosphates, sulfates, etc.
- **Les matières organiques** : constituées de composés ternaires, tels que les sucres et les graisses (formés de carbone, oxygène et hydrogène, mais aussi d'azote et, dans certains cas, d'autres corps tels que soufre, phosphore, fer, etc.).

2.2. Les eaux industrielles

Tous les rejets résultant d'une utilisation de l'eau autre que domestique sont qualifiés de rejets industriels. Cette définition concerne les rejets des usines, mais aussi les rejets d'activités artisanales ou commerciales : blanchisserie, restaurant, laboratoire d'analyses médicales, etc. (Baumont *et al.*, 2009).

Les caractéristiques de ces eaux varient d'une industrie à l'autre. En plus de matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir (Mohsen et Jaber, 2003; Boukary, 2018):

- Des produits toxiques ;
- Des solvants ;
- Des métaux lourds ;
- Des micropolluants organiques ;
- Des hydrocarbures.

Avant d'être rejetées dans les réseaux de collecte, les eaux usées industrielles doivent faire l'objet d'un traitement. Elles ne sont mélangées aux eaux domestiques que lorsqu'elles ne présentent plus de danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des stations d'épurations (Metahri, 2012).

2.3. Les eaux usées agricoles

Ce sont des eaux qui ont été polluées par des substances utilisées dans le domaine agricole. Dans le contexte d'une agriculture performante et intensive, l'agriculteur est conduit à utiliser divers produits d'origine industrielle ou agricole dont certains présentent ou peuvent présenter, des risques pour l'environnement et plus particulièrement pour la qualité des eaux. Il s'agit principalement (Laabassi, 2016) :

- Des fertilisants (engrais minéraux du commerce ou déjections animales produites ou non sur l'exploitation) ;
- Des produits phytosanitaires (herbicides, fongicides, insecticides,..).

2.4. Les eaux pluviales

Les eaux pluviales peuvent, elles aussi, constituer la cause de pollutions importantes des cours d'eau, notamment pendant les périodes orageuses (Attab, 2011).

Les eaux de pluie ruissellent dans les rues où sont accumulées polluants atmosphériques, poussières, débris, suies de combustion et hydrocarbures rejetés par les véhicules (**Metahri, 2012**). Ces eaux donc sont polluées (**Picard, 2011**):

- Soit en contact de l'air;
- Soit en récupérant les résidus de toitures et de chaussées.

Les eaux de pluies, collectées normalement à la fois avec les eaux usées puis déversées dans la canalisation d'assainissement et acheminées vers une station d'épuration, sont souvent drainées directement dans les rivières entraînant ainsi une pollution intense du milieu aquatique (**Metahri, 2012**).

3. Composition des eaux usées

La composition des eaux usées est extrêmement variable en fonction de leur origine (industrielle, domestique, etc.). Elles peuvent contenir de nombreuses substances, sous forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux micro-organismes.

En fonction de leurs caractéristiques physiques, chimiques, biologiques et du danger sanitaire qu'elles représentent, ces substances peuvent être classées en quatre groupes : les micro-organismes, les matières en suspension, les éléments traces minéraux ou organiques, et les substances nutritives (**Baumont et al., 2009**).

3.1. Microorganismes

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes (**Belaid, 2010**). L'ensemble de ces organismes peut être classé en quatre grands groupes, par ordre croissant de taille : les virus, les bactéries, les protozoaires et les helminthes (**Baumont et al., 2009**).

3.1.1. Les virus

Ce sont des parasites intracellulaires obligés de très petite taille (10 à 350 nm) qui ne peuvent se multiplier que dans une cellule hôte.

Les virus ne sont pas naturellement présents dans l'intestin, contrairement aux bactéries. Ils sont présents soit intentionnellement (après une vaccination contre la poliomyélite, par exemple), soit chez un individu infecté accidentellement. L'infection se produit par l'ingestion dans la majorité des cas, sauf pour le Coronavirus où elle peut aussi avoir lieu par inhalation (**Djeddi, 2006; Belaid, 2010**).

On estime leur concentration dans les eaux usées urbaines comprise entre 10^3 et 10^4 particules par litre. Leur isolement et leur dénombrement dans les eaux usées sont difficiles, ce qui conduit vraisemblablement à une sous estimation de leur nombre réel. Parmi les virus entériques humains les plus nombreux il faut citer les entérovirus (exemple: polio), les rotavirus, les retrovirus, les adénovirus et le virus de l'Hépatite A (**Belaid, 2010**).

3.1.2. Les bactéries

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires simples et sans noyau. Leur taille est comprise entre 0,1 et 10 μm . La quantité moyenne de bactéries dans les fèces est d'environ 10^{12} bactéries/g (**Djeddi, 2006**).

Les eaux usées urbaines contiennent environ 10^6 à 10^7 bactéries/100 mL dont la plupart sont *Proteus* et Entérobactéries, 10^3 à 10^4 streptocoques et 10^2 à 10^3 *Clostridium*s. La concentration en bactéries pathogènes est de l'ordre de 10^4 germes L^{-1} . Parmi les plus détectées sont retrouvées, les *Salmonellas*, dont celles responsables de la typhoïde, des paratyphoïdes et des troubles intestinaux (**Belaid, 2010**).

3.1.3. Les protozoaires

Les protozoaires sont des organismes unicellulaires munis d'un noyau, plus complexes et plus gros que les bactéries.

La plupart des protozoaires pathogènes sont des organismes parasites, c'est-à-dire qu'ils se développent aux dépens de leur hôte (**Baumont et al., 2009**).

Certains protozoaires au cours de leur cycle vital, passent par une forme de résistance, les kystes, qui peuvent être véhiculés par les eaux résiduaires. Parmi les protozoaires les plus importants du point de vue sanitaire, il faut citer *Entamoeba histolytica*, responsable de la dysenterie amibienne et *Giardia lamblia*. (**Baumont et al, 2009; Belaid, 2010**). En revanche, 10 à 30 kystes, est une dose suffisante pour causer des troubles sanitaires (**Tabet, 2015**).

3.1.4. Les helminthes

Ce sont des parasites intestinaux, fréquemment rencontrés dans les eaux résiduaires (**Belaid, 2010**). La concentration en œufs d'helminthes dans les eaux usées est de l'ordre de 10 à 10^3 œufs/l. Beaucoup de ces helminthes ont des cycles de vie complexes comprenant un passage obligé par un hôte intermédiaire. Le stade infectieux de certains

helminthes est l'organisme adulte ou larve, alors que pour d'autres, ce sont les œufs (Djeddi, 2006).

Les helminthes pathogènes rencontrés dans les eaux usées sont : *Ascaris lumbricades*, *Oxyuris vermicularis*, *Trichuris trichuria*, *Taenia saginata* (Belaid, 2010).

3.2. Les matières en suspension (MES)

Ce sont des matières biodégradables pour la plupart. La plus grande part des microorganismes pathogènes contenus dans les eaux usées est transportée par les MES. Elles donnent également à l'eau une apparence trouble, un mauvais goût et une mauvaise odeur. Cependant, elles peuvent avoir un intérêt pour l'irrigation des cultures (Baumont *et al.*, 2009).

3.3. Micropolluants organiques et non organiques

Les micropolluants sont des éléments présents en quantité infinitésimale dans les eaux usées (Baumont *et al.*, 2009).

3.3.1. Eléments traces

Dans les eaux usées urbaines on trouve de nombreux métaux lourds; les plus abondants (de l'ordre de quelques µg/l) sont le fer, le zinc, le cuivre et le plomb. Les autres métaux (magnésium, aluminium, chrome, arsenic, sélénium, mercure, cadmium, molybdène, nickel, etc.) sont présents à l'état de traces (Baumont *et al.*, 2009; Belaid, 2010).

3.3.2. Eléments toxiques organiques

Les eaux usées contiennent des composés chimiques toxiques très persistants et qui ont une grande lipophilicité. Parmi ces composés, on peut citer les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP), les alkyl-phénols, chlorophénols, phtalates, les pesticides et les résidus pharmaceutiques actifs.

Certains composés ont un pouvoir de perturber le système endocrinien tel que les HAP et les alkylphénols (Tabet, 2015).

3.4. Les substances nutritives

Les eaux usées contiennent une grande quantité des nutriments, constituent un paramètre important de qualité pour la valorisation de ces eaux en agriculture et en gestion des paysages. Les éléments les plus fréquents sont l'azote, le phosphore et parfois le

potassium, le zinc et le soufre. Ces éléments se trouvent en quantités appréciables, mais en proportions très variables que ce soit, dans les eaux usées épurées ou brutes (**Tabet, 2015**).

4. Caractéristiques des eaux usées

4.1. Les paramètres physiques

4.1.1. La température

La température est un facteur écologique important des milieux aqueux (**Eddabra, 2011**). Elle joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique, dans la détermination du pH, pour la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels,...etc. (**Laabassi, 2016**).

4.1.2. La turbidité

Représente l'opacité d'un milieu trouble. C'est la réduction de la transparence due à la présence de matières non dissoutes. Elle est causée, dans les eaux, par la présence de matières en suspension (MES) fines, peut être due également à la présence de matières colloïdales d'origine organique ou minérale (**EL Hanafi, 2010**).

4.2. Les paramètres chimiques

4.2.1. Potentiel Hydrogène

Le pH mesure la concentration des ions H⁺ dans l'eau. La valeur du pH de l'eau représente son acidité et son alcalinité (**Guéroid, 1992**).

L'influence du pH se fait également ressentir par le rôle qu'il exerce sur les autres éléments comme les ions métaux dont il peut diminuer ou augmenter la disponibilité et donc la toxicité (**Metahri, 2012**).

4.2.2. La conductivité

La conductivité de l'eau est une mesure de sa capacité à conduire le courant électrique (**Moussa Moumouni, 2005**). La mesure de la conductivité permet d'apprécier la quantité globale des sels dissous dans l'eau (chlorures, sulfates, calcium, sodium, magnésium...) (**Yao, 2006**). Elle s'exprime en $\mu\text{Sm/cm}$ (**Diagne et al., 2017**).

4.2.3. La demande biologique en oxygène (DBO₅)

Elle exprime la quantité d'oxygène utilisée par les bactéries, à 20°C et à l'obscurité, pendant 5 jours pour oxyder par voie biologique les matières organiques présentes dans l'eau usée (**Metahri, 2012**). Pour être complète, l'oxydation biologique nécessite de 21 à

28 jours, mais la mesure de la DBO est limitée à 5 jours (DBO_5), car au-delà, débute le processus aérobie de nitrification (oxydation des matières azotées) (Yao, 2006).

4.2.4. La demande Chimique en Oxygène

La DCO représente la quantité d'oxygène nécessaire à l'oxydation chimique de l'ensemble des matières organiques et minérales contenues dans l'eau (Baumont *et al.*, 2009). La mesure de la DCO se fait à l'aide du dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$). Elle est exprimée en mg/l d'oxygène (Yao, 2006).

La valeur du rapport DCO/DBO indique le coefficient de biodégradabilité d'un effluent, il permet aussi de définir son origine (Yapo *et al.*, 2009).

4.2.5. La biodégradabilité

Selon Metahri (2012), c'est un facteur qui traduit l'aptitude d'un effluent à être décomposé ou oxydé par les microorganismes qui interviennent dans le processus d'épuration biologique des eaux. Elle s'exprime par un coefficient K, $K = DCO / DBO_5$:

- Si $K < 1,5$: les matières oxydables sont fortement biodégradables;
- Si $1,5 < K < 2,5$: les matières oxydables sont moyennement biodégradables;
- Si $2,5 < K < 3$: les matières oxydables sont peu biodégradables;
- Si $K > 3$: les matières oxydables sont non biodégradables.

5. Traitement des eaux usées

Les méthodes de traitement des eaux usées sont diverses et peuvent être classées en trois catégories: les traitements primaires, secondaires et tertiaires. On peut également tenter une classification physique et biologique qui revient grossièrement à distinguer d'un côté les traitements primaires et de l'autre les traitements secondaires et tertiaires (Moulin *et al.*, 2013).

5.1. Les prétraitements

Les prétraitements ont pour objectif d'éliminer les éléments les plus grossiers, qui sont susceptibles de gêner les traitements ultérieurs et d'endommager les équipements. Il s'agit des déchets volumineux, des sables et graviers et des graisses (Parveau, 2011).

5.1.1. Le dégrillage

Il permet de séparer les déchets volumineux et solides (papiers et plastiques...) contenus dans les eaux usées à l'aide d'une succession de grilles à barreaux de plus en plus

fines d'espace varie de 6 à 100 mm et sont placés verticalement ou inclinés de 60 à 80° sur l'horizontale. Ces déchets sont ensuite collectés et envoyés à une filière de traitement adaptée (**Metahri, 2012; Marsault et al., 2013**).

5.1.2. Le dessablage

Il débarrasse les eaux usées des sables et des graviers par sédimentation (**Sy et Tall, 2003**). L'écoulement de l'eau à une vitesse réduite dans un bassin appelé « dessableur » entraîne leur dépôt au fond de l'ouvrage. Ces particules sont ensuite aspirées par une pompe puis essorées et lavées avant d'être envoyés en décharge, soit réutilisés, selon la qualité du lavage (**Metahri, 2012**).

5.1.3. Dégraissage-Déshuilage

Consiste à séparer par flottation les huiles et les graisses. L'injection d'air au fond de l'ouvrage permet la remontée en surface des corps gras, les graisses sont raclées à la surface, puis stockées avant d'être éliminées (mise en décharge ou incinération) (**Parveau, 2011**).

5.2. Traitement primaire

Son objectif est d'éliminer les particules dont la densité est supérieure à celle de l'eau par graviter (**Metahri, 2012**). Le traitement s'effectue par voie physico-chimique pour but d'extraire le maximum de matières en suspension et de matières organiques facilement décantables. Trois voies de traitement sont possibles (**Bassompierre, 2007**) :

5.2.1. La décantation (processus physique)

Le principe de cette étape est la séparation des éléments liquides et solides sous l'effet de la pesanteur. Les matières en suspension ou colloïdales tendent à se séparer du liquide par sédimentation (**Bassompierre, 2007**).

5.2.2. La flottation (processus physique)

Par opposition à la décantation, la flottation est un procédé de séparation solide-liquide ou liquide-liquide qui s'applique à des particules dont la masse volumique réelle ou apparente (flottation assistée) est inférieure à celle du liquide qui les contient (l'eau) (**Bassompierre, 2007**).

5.2.3. Coagulation - Flocculation (voie physico-chimique)

Le principe est de favoriser l'agrégation des molécules en suspension grâce aux techniques de coagulation et de flocculation de façon à augmenter la sédimentation grâce à l'obtention de floccs plus gros.

Durant la phase de traitement primaire, une quantité importante de la pollution totale est éliminée (abattement des MES pouvant atteindre 90% et de la DBO de l'ordre de 35%. La DCO et la concentration en azote peuvent également être réduits durant cette phase. Les matières solides extraites représentent ce que l'on appelle les boues primaires (**Bassompierre, 2007**).

5.3. Le traitement secondaire (biologique)

Le traitement secondaire a pour objectif principal l'élimination des composés solubles d'origine organique. Parallèlement, la flocculation de la biomasse permet de piéger les matières en suspension restant à l'issue du traitement primaire. Le principe de ce traitement est de mettre en contact la matière organique contenue dans les eaux usées avec une population bactérienne capable de les consommer (**Bassompierre, 2007**).

5.3.1. Les traitements aérobies

➤ Les boues activées

Ils consistent à mélanger et à agiter des eaux usées brutes avec des boues activées liquides, bactériologiquement très actives (**Smili et al., 2018**). Les bactéries consomment la MO et contribuent à l'élimination de l'azote et du phosphate, puis forment dans un bassin appelé clarificateur, des boues (boues secondaires) qui sont ensuite traitées. Une partie de ces boues retourne dans les bassins pour éviter une trop grande perte en bactéries (**Bassompierre, 2007; Baumont et al., 2009**).

➤ Les lits bactériens

Leur principe de fonctionnement, quelques fois appelé filtre bactérien ou filtre percolateur, qui consiste à faire ruisseler l'eau à traiter, préalablement décantée, sur une masse de matériau de grande surface spécifique servant de support aux microorganismes épurateurs, qui y forment un feutrage ou un film plus ou moins épais, sous lequel une couche anaérobie peut se développer sous la couche aérobie, si son épaisseur est importante (**Metahri, 2012**).

➤ Le lagunage

C'est un système extensif dans lequel l'eau usée circule à travers un ou plusieurs bassins peu profonds. Tandis que les MES décantent au fond des bassins, l'auto-épuration est exercée de manière naturelle, et par conséquent assez lente, ce qui impose de longs temps de séjour et donc des ouvrages de grandes surfaces. Aucune source d'énergie n'est nécessaire car l'oxygénation est naturelle et la circulation de l'eau se fait en gravitaire (Renou, 2006).

5.3.2. Traitements anaérobies

Les traitements anaérobies font appel à des bactéries n'utilisant pas de l'O₂, en particulier, aux bactéries méthanogènes qui conduisent, comme leur nom l'indique, à la formation du méthane à partir de la matière organique, et à un degré moindre de CO₂.

Ce type de fermentation est appelé digestion en hydrologie. C'est une opération délicate qui demande une surveillance importante. En effet, la T° doit être maintenu à un niveau très stable et suffisamment élevé. Il faut aussi éviter les écarts brutaux de pH et les substances inhibitrices du développement bactérien, à titre d'exemple : les cyanures, les sels de métaux lourds et les phénols (Metahri, 2012).

5.4. Le traitement tertiaire

Il s'agit d'un ou plusieurs traitements complémentaires qui améliorent un paramètre spécifique de la qualité de l'eau rejetée en vue de protéger le milieu récepteur dans une zone localement plus vulnérable. Parmi les traitements existants, nous pouvons citer (Renou, 2006):

5.4.1. La désinfection

Elle est nécessaire lorsque les eaux usées traitées sont rejetées dans un milieu aquatique à usage balnéaire (plages, zones d'activités nautiques ou touristiques...) ou pour diminuer le risque de contamination humaine (prise d'eau potable, conchyliculture...). Pour éliminer les germes pathogènes, les techniques classiques sont utilisées : chloration, ozonation ou irradiation par rayonnement ultraviolet (UV). Toutefois les composés chlorés se révèlent toxiques pour l'écosystème aquatique. C'est pourquoi le traitement privilégié est plutôt la désinfection par UV. Cette technique nécessite par ailleurs des eaux claires (Renou, 2006).

5.4.2. Les traitements de finition

Pour certains usages, il est conseillé d'atteindre des concentrations très basses en MES, en DBO, en DCO, en azote ou en phosphore. Plusieurs procédés peuvent alors être utilisés comme traitement d'affinage.

L'avantage de mettre un traitement tertiaire est de pouvoir cibler le paramètre polluant à traiter et de dimensionner l'ouvrage en conséquence. C'est le cas de la filtration sur sable qui permet de réduire les MES. Des traitements secondaires, comme la biofiltration ou le lagunage, sont également employés (**Renou, 2006**).

5.4.3. Le traitement sur charbon actif

Il peut être intéressant pour l'élimination de certaines molécules résistantes aux traitements biologiques, bien souvent lorsque la STEP accueille des eaux industrielles. Il permet par exemple d'enlever la couleur de l'effluent (**Renou, 2006**).

Chapitre II

*Les perturbateurs
endocriniens*

Depuis le début des années 1990 la communauté scientifique expriment les préoccupations concernant les conséquences d'une exposition à des substances présentes dans l'environnement susceptibles d'interagir avec le système endocrinien (SE). Ces substances, qui provoquent des troubles biologiques, sont appelées « perturbateurs endocriniens » (Duval et Simonot, 2010; Quignot *et al.*, 2012).

Il est important donc de connaître à quoi correspond la notion de PE, l'histoire qui a conduit à son apparition dans le monde scientifique, leurs modalités d'action ainsi que leurs effets sur la santé humaine (Feron, 2017; Ruaux, 2019).

1. Le système endocrinien

2.1. Définition

Le système endocrinien est un réseau complexe de communication entre différents tissus (Planchon, 2014). Il se compose de différentes glandes endocrines qui sont l'hypophyse, le pancréas, la thyroïde, les glandes surrénales, les testicules et les ovaires (Thomasson, 2011).

Il est indispensable au maintien de l'ensemble des équilibres biologiques nécessaire à la vie. Il contrôle un très grand nombre de fonctions essentielles telles que la reproduction et le développement (systèmes des hormones sexuelles notamment), le métabolisme énergétique et les équilibres nutritionnels et ioniques, le développement neurocognitif (Quignot *et al.*, 2012).

2.2. Mode d'action

Le SE est constitué d'organes et d'ensembles de cellules spécialisées dans l'élaboration de messagers chimiques (Darde, 2017). Ces organes sécréteurs, les glandes endocrines, synthétisent et libèrent des hormones dans le sang ou dans la lymphe (Ramond, 2019).

Les hormones ont ainsi la capacité d'agir spécifiquement sur des cibles (cellules, tissus ou organes) plus ou moins éloignées au sein de l'organisme. Seules les cellules possédant les récepteurs spécifiques à une hormone donnée peuvent se lier à celle-ci. La liaison hormone-récepteur modifie alors le comportement de l'organe cible en stimulant ces fonctions ou au contraire en les inhibant (Darde, 2017; Ramond, 2019).

2.3. Les hormones

Ce sont des substances chimiques sécrétées par les glandes endocrines, et transportées par la circulation sanguine dans un autre organe ou un tissu dont elle excite ou inhibe le fonctionnement. Elles agissent comme des messagers chimiques (**Ricard, 2011**).

3. Les perturbateurs endocriniens

3.1. Définition

La notion de "perturbateurs endocrinien" (PE) a été définie pour la première en 1996 lors d'un colloque organisé à Weybridge (Angleterre) par l'EPA comme « une substance exogène induisant des effets délétères chez un organisme sain, ou sa progéniture, suite à des altérations de son système endocrinien » (**Quignot et al., 2012**).

En 1997, l'EPA proposait une définition selon laquelle un PE est « une substance exogène qui interfère avec la synthèse, le transport, la liaison, l'action ou l'élimination des hormones endogènes qui sont responsables du maintien de l'homéostasie, de la reproduction et du développement » (**Mauduit et al., 2006**).

Aujourd'hui, la définition qui prévaut est celle de l'OMS en 2002 qui entend comme PE « une substance exogène ou un mélange qui altère la/les fonction(s) du système endocrinien et, par voie de conséquence, cause un effet délétère sur la santé d'un individu, sa descendance ou des sous-populations » (**Damstra et al., 2002; Foster et Agzarian, 2008**).

3.2. Découverte des PEs

Les PEs font partie de notre vie quotidienne depuis les années 40. Ce n'est que plusieurs années plus tard qu'on se rend compte que ces composés ont une action hormonale, nocive pour la santé humaine et animale. La Figure 01 représente la chronologie de l'intérêt porté aux PEs (**Darde, 2017; Ramond, 2019**).

Figure 01 : Historique des perturbateurs endocriniens.

	1905	Apparition du mot « hormone » (Quignot <i>et al.</i> , 2017)
Premières inquiétudes quant à l'impact des pesticides sur les écosystèmes et la santé (Quignot <i>et al.</i> , 2017).	1945	
	1962	Le premier cri d'alarme est lancé par Rachel Carson, dans son livre <i>Silent Spring</i> (Ramond, 2019).
l'exposition des femmes enceintes au Distilbène (DES, estrogène de synthèse) (Laetitia, 2015).	1971	Description de premier cas de cancer du vagin (Quignot <i>et al.</i> , 2017).
	1991	Première déclaration sur la perturbation endocrinienne (la Déclaration de Wingspread) (Cicolella, 2011).
Publication du rapport « Men reproductive health and environmental xenoestrogens » par Niels-Erik Skakkebaek et Jorma Toppari (Ramond, 2019).	1996	Publication du livre <i>Our stolen future</i> par Theo Colborn : raconte la découverte et les effets des PE (Ramond, 2019).
L'OCDE définit un cadre spécifique pour les PE (Quignot <i>et al.</i> , 2017).		
	2001	Signature de la convention de Stockholm (accord international) visant à interdire certains POP (Dagher, 2019).
Rapport sur l'état des connaissances sur les PEs par l'OMS (Quignot <i>et al.</i> , 2017).	2002	
	2005	Création de programme national de recherche sur les PEs en France (PNRPE) (Jas et Gaudillière, 2016).
Le règlement européen REACH (1 ^{er} juin) (Quignot <i>et al.</i> , 2017).	2007	L'Union Européenne établit une liste préliminaire de perturbateurs endocriniens (Quignot <i>et al.</i> , 2017).
Le gouvernement Canadien a interdit le BPA dans les biberons (Gouzy, 2010).	2008	
	2009	La directive pesticide est modifiée (Quignot <i>et al.</i> , 2017).
Interdiction du BPA dans les contenants alimentaires et les tickets de caisse en France (Darde, 2017).	2015	
	2017	La Commission Européenne a ajouté une notion des PEs (Ramond, 2019) .
Le BPA est reconnu comme PE par l'Europe (Darde, 2017).		



3.3. L'origine des PE

Les perturbateurs endocriniens peuvent être classés en trois grandes catégories, si l'on considère leur nature chimique (Mauduit *et al.*, 2006) : naturelle, synthétique et anthropique.

- **Les substances naturelles**

Ce sont des hormones naturelles secrétées par l'organisme humain comme la progestérone, l'œstrogène, la testostérone... (Duval et Simonot, 2010; Aline, 2011). On retrouve aussi des hormones d'origine végétal (Mauduit *et al.*, 2006), telles que les phyto-œstrogènes, qui sont notamment contenant dans le soja, les germes de luzerne et le pois chiche (Duval et Simonot, 2010).

- **Les substances de synthèses**

Les hormones de synthèse sont conçues pour agir spécifiquement sur le système endocrinien et le moduler. Elles comprennent (Duval et Simonot, 2010):

- Les hormones utilisées dans les contraceptifs oraux ;
- Les traitements hormonaux de substitution ;
- Certains additifs alimentaires pour animaux.

- **Les substances anthropiques**

Ce sont des substances chimiques qui sont fabriquées et utilisées pour un usage industriel (agents de nettoyage, produits antirouille, plastifiants etc.), dans l'agriculture (pesticides, herbicides, insecticides, fongicides etc.), dans les produits de consommation courante (cosmétiques, produits d'entretien, emballages etc.) (Mauduit *et al.*, 2006).

3.4. Mécanisme d'action des PEs

Les PEs peuvent être classés selon leur origine et ils peuvent être également répertoriés selon leur mécanisme d'action. Ces substances peuvent perturber le système endocrinien de différentes façons (Ben Sghaier, 2017; Quignot *et al.*, 2017).

3.4.1. Effets hormono-mimétiques

Une substance hormono-mimétique est capable de mimer l'action d'une hormone endogène grâce à une forte similarité de structure moléculaire avec l'hormone. La substance peut ainsi se lier au récepteur cible et induire les mêmes effets (effets dits

agonistes). Les PE les plus connus ayant un effet hormono-mimétique sont ceux à activité oestrogénique comme le DES ou le Chlordécone (Darde, 2017).

3.4.2. Effets antagonistes

Le PE se fixe sur le récepteur sans l'activer, en empêchant la liaison de l'hormone endogène à son récepteur. IL bloque le fonctionnement de récepteur qui affecte les fonctions cellulaires normales liées à l'hormone, en empêchant la fixation du complexe hormone/récepteur sur l'ADN, et donc l'activation des gènes cibles exemple : le bisphénol A est un PE à activité anti-androgénique (Ben Sghaier, 2017).

3.4.3. Effets directs sur les hormones

Certaines substances n'altèrent pas le récepteur de l'hormone comme montré dans la figure 02 ci-dessous, mais agissent sur l'hormone elle-même. Elles affectent la biodisponibilité des hormones, en jouant sur leurs mécanismes de synthèse, de dégradations ou de circulations (Laetitia, 2015; Darde, 2017).

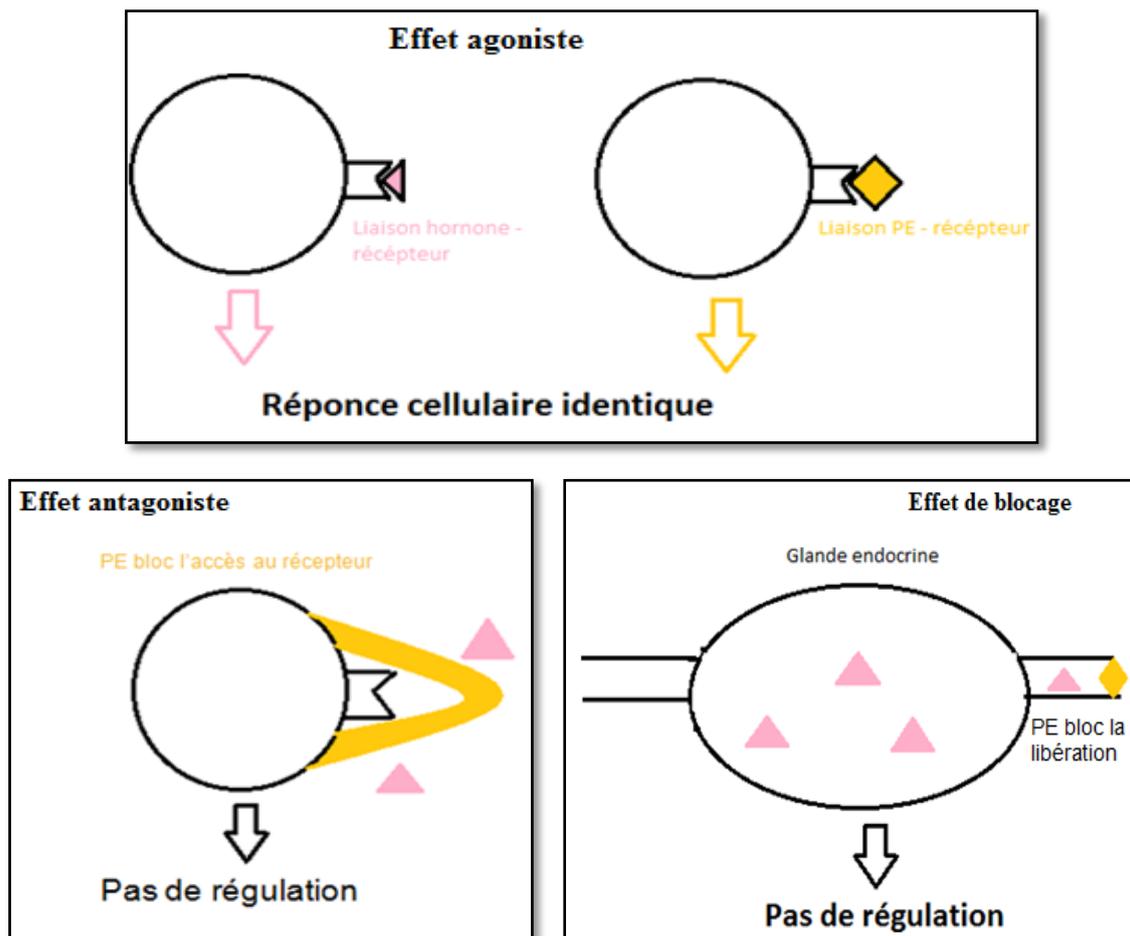


Figure 02 : Différents modes d'action des perturbateurs endocriniens (Laetitia, 2015).

4. Les différentes PEs

4.1. Le bisphénol A

Le BPA est une substance chimique de synthèse (**Ruaux, 2019**), utilisée pour la fabrication de plastiques de type polycarbonates, époxy- résines tapissant l'intérieur des boîtes de conserve, les récipients alimentaires, les bouchons de bouteilles, récipients d'eau et réservoirs d'eau réfrigérants, films alimentaires transparents, et un grand nombre d'objets de la vie courante (**Nassouri et al., 2012; Monneret, 2017**). Il est également sur les tickets thermiques (tickets de caisse) (**Dagher, 2019**), les ciments dentaires (**Olea et al, 1996**).

Le BPA est l'un des PE les plus étudiés (**Dagher, 2019**). Il provoque des troubles de la fertilité, une puberté précoce chez les jeunes filles, une baisse de la production de spermatozoïdes chez les garçons, mais aussi des troubles du comportement ou du développement chez l'enfant (**Ait El Cadi et al., 2011**).

4.2. Les dioxines

Les dioxines sont des dérivés du benzène, hydrocarbure aromatique, et rassemblent deux familles de composés : les polychlorodibenzo-*para*-dioxines (PCDD) et les polychlorodibenzo-furanes (PCDF) (**Ricard, 2011**).

Les dioxines sont résultent essentiellement de procédés industriels (incinérateurs de déchets, métallurgie, blanchiment de la pâte à papier, fabrication d'herbicides et de pesticides) (**Ait El Cadi et al, 2011**), Elles peuvent également se former à l'occasion de phénomènes naturels comme les éruptions volcaniques ou les feux de forêts (**Nassouri et al., 2012**).

La molécule la plus connue et la plus étudiée est le tétra-chlorodibenzodioxine (CTDD), connue sous le nom de dioxine de Seveso, classée comme cancérigène et PE (**Ait El Cadi et al, 2011**).

4.3. Les Parabens

Les parabènes sont des esters d'acide p-hydroxybenzoïque qui sont utilisés comme conservateurs, pour leurs propriétés antibactérienne et fongicide dans les cosmétiques ainsi que dans les aliments et les médicaments (**Duval et Simonot, 2010; Monneret, 2017**).

Les parabènes les plus couramment utilisés en cosmétique sont le méthylparabène, le propylparabène, le butylpara-ben et l'éthylparabène (**Monneret, 2017**).

4.4. Les phtalates

Les phtalates constituent une famille composée de nombreuses substances, esters de l'acide phtalique et d'alcools à chaînes plus ou moins ramifiées, pouvant aller de C1 à C13 (Ait El Cadi *et al.*, 2011). Ils sont utilisés pour rendre les plastiques plus flexibles et plus difficiles à casser (Monneret, 2017).

La toxicité des phtalates varie selon le type de composé, Ils affectent principalement l'appareil reproducteur mâle et le développement embryo-foetal des rongeurs (Ait El Cadi *et al.*, 2011). Ils sont présent comme plastifiants dans les PVC des revêtements d'intérieur de sols, revêtement mural, laques, vernis, produits cosmétiques dispositifs médicaux (Nassouri *et al.*, 2012).

Le phtalate de dibutyle (DBP), le phtalate de di (2-éthylhexyle) (DEHP) et le phtalate de diméthyle (DMP) sont les phtalates les plus couramment utilisés (Monneret, 2017).

4.5. Les pesticides

Ce sont des substances ou mélanges de substances ayant pour but de lutter ou de prévenir l'invasion des organismes identifiés comme nuisibles, pouvant causer des dommages ou interférer dans l'ensemble du processus de production d'aliments, de produits agricoles, de bois, et d'aliments pour animaux (Dagher, 2019).

Plus de 120 pesticides ont aujourd'hui été identifiés comme ayant des propriétés perturbatrices sur le système endocrinien (Ricard, 2011).

Les principaux pesticides peuvent être classés selon leurs formules chimiques en 4 groupes: les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthroïdes (Dagher, 2019), ou selon leurs modes d'action en (Ricard, 2011) :

- Invertébrés : insecticides, molluscicides, nématocides ;
- Vertébrés : rodenticides, avicides, piscicides et agents de répulsion ;
- Plantes : herbicides, régulateurs de croissance, défoliants et dessicants ;
- Micro-organismes : désinfectants et bactéricides, fongicides, algicides.

4.5. Les phytoestrogènes

Les phytoestrogènes constituent un groupe de composé non stéroïdiens d'origine végétale, capables de se fixer sur le récepteur des œstrogènes de par leur structure moléculaire similaire à celle de l'œstradiol (Dagher, 2019). Leur source principale pour les humains est l'alimentation (Ricard, 2011).

Quatre classes de phyto-oestrogènes existent : ce sont les isoflavonoïdes, les stilbènes, les lignanes et les coumestans (Cornwell, 2004).

4.6. Les PCB

Les polychlorobiphényles (PCB) sont une famille de 209 composés organiques chlorés (appelés congénères) (Ricard, 2011), constituent une classe de composés synthétiques, lipophiles, persistants produits par l'industrie chimique (Ait El Cadi *et al.*, 2011).

On les retrouve principalement dans les aliments gras comme le poisson, les produits laitiers, le beurre, la viande ... Les effets les plus remarquables en plus de l'effet cancérogène, sont les effets neurotoxiques et reprotoxiques (Dagher, 2019) et la responsabilité de ces PCB sur la fragmentation de l'ADN des cellules spermatiques (Ait El Cadi *et al.*, 2011).

5. Les effets des perturbateurs endocriniens

Les PE sont suspectés responsables de plusieurs troubles observés chez la population mondiale. Ainsi, ils peuvent être à l'origine de troubles de la reproduction, de cancers hormono-dépendants ou encore de troubles du métabolisme et du développement (Laborie, 2015).

5.1. Effets sur la reproduction

- **Chez la femme**

La différenciation sexuelle embryonnaire se fait sous le contrôle de l'oestradiol et l'absence de testostérone. Puis à la puberté, l'oestradiol et la progestérone sont responsables de l'apparition des caractères sexuels secondaires (croissance accrue des cheveux, développement des seins, premières règles) (Feron, 2017).

Au cours de ces stades de développement des perturbations peuvent provoquer des anomalies de la reproduction chez la femme: puberté précoce, malformations utérines, ovarienne, cervicale. Ces perturbations sont principalement liées à une action oestrogénomimétique de certaines substances (Feron, 2017).

- **Chez l'homme**

Les trois principaux effets de l'exposition au PE chez l'homme sont généralement (Laborie, 2015):

- La détérioration des fonctions reproductives, qui se manifeste par une réduction de la qualité du sperme et pose des problèmes de fertilité.
- La perturbation du développement du fœtus mâle entraînant une malformation du tractus urogénital : la non-descente des testicules (cryptorchidie) ou positionnement anormal de l'ouverture de l'urètre (hypospadias).
- Le cancer des cellules germinales testiculaires.

5.2. Effets sur les maladies métaboliques

Le taux croissant d'obésité dans le monde n'est pas uniquement due au mode de vie et à l'alimentation. En effet, de nombreuses études montrent que d'autres facteurs peuvent également jouer un rôle majeur (l'exposition aux produits chimiques). Ces produits de prise de poids, appelés obésogènes, modifient ou reprogramment des fonctions du SE contrôlant le métabolisme ou l'équilibre énergétique, conduisant à des effets néfastes pour l'organisme par rapport à un surplus de poids (**Darde, 2017**).

Il a été démontré que l'exposition à ces molécules au cours de la vie fœtale et un âge précoce augmente les prédispositions au surpoids, mais également au diabète de type 2, aux maladies cardiovasculaires ou à la sensibilité à l'insuline (**Darde, 2017**).

5.3. Effets sur la thyroïde et le système nerveux

Les hormones thyroïdiennes sont fortement impliquées dans la régulation du métabolisme, la croissance et du développement, en particulier du système nerveux central des mammifères. Au cours du développement périnatal du système nerveux central des perturbations peuvent provoquer des troubles de la maturation du cerveau, un retard mental et des anomalies neurologiques permanentes. Les PE peuvent cibler la cascade de la thyroïde endocrinienne à différents points (**Ait El Cadi et al., 2011**):

- Synthèse et catabolisme des hormones thyroïdiennes.
- Liaison aux protéines de transport.
- Absorption cellulaire.
- Récepteurs des hormones thyroïdiennes (TH) et l'expression des gènes TH-réglés.

5.4. Effets sur la cancérogénèse

Les PE agissent sur l'organisme par différents mécanismes. L'une des conséquences de cette perturbation est l'apparition de cancers. En effet, ces substances sont

suspectées d'être en partie responsables de l'augmentation du nombre de cancers hormono-dépendants dont le cancer de la thyroïde, mais également le cancer du sein, de la prostate ou testicules ou encore de l'ovaire (**Dolbois, 2017**).

Un cancer peut résulter d'expositions simultanées, successives ou cumulées à plusieurs facteurs de risques et il peut s'écouler plusieurs dizaines d'années entre l'exposition à l'agent cancérogène et l'apparition de la maladie (**Planchon, 2014**).

5.5. Effets toxiques

Les PEs agissent à faible dose. De plus ces molécules peuvent avoir des effets toxiques transgénérationnels. Contrairement aux substances toxiques « classiques » qui altèrent directement les fonctions de l'organisme, les PE perturbent la communication intercellulaire et les fonctions dont résulte cette signalisation. Ils agissent à faibles doses, mimant les hormones ou s'opposant à leur action (**Duval et Simonot, 2010; Dolbois, 2017**).

Chapitre III

Les tests de généotoxicité

Les rejets des déchets domestiques, agricoles et industriels dans l'environnement ont des conséquences graves sur ce dernier. Ces rejets contiennent des substances chimiques aux caractères mutagènes et cancérogènes qui affectent le patrimoine héréditaire des cellules ce qui peut provoquer des risques de pollution cytogénotoxiques pour l'environnement (Godet *et al.*, 1993; Cakpo *et al.*, 2015).

L'évaluation de ces risques nécessite de disposer, en plus des suivis et des analyses physicochimiques, d'outils biologiques tels que les tests de génotoxicité permettant de mieux évaluer l'impact sur les êtres vivants (Jolibois et Guerbet, 2005; Souguir *et al.*, 2017).

Ce chapitre présente les différents tests de génotoxicité et les avantages de leurs utilisations.

1. Définition de la génotoxicité

L'information génétique, codée chimiquement dans l'ADN, est maintenue, reproduite et transmise aux générations successives avec une grande fidélité. Des dommages à l'ADN peuvent se produire à travers le processus biologique normal ou à la suite de l'interaction de l'ADN, que ce soit directement ou indirectement (Young, 2002). La toxicité génétique ou La génotoxicité est l'aptitude de certains agents génotoxiques à provoquer des dommages à l'ADN qui peuvent conduire à des mutations génétiques (Ortega, 2004), par rupture d'une ou les deux chaînes d'ADN, par modification des bases (délétion, substitution, mésappariement) (Pillière et Falcy, 1991), si ces lésions ne sont pas réparées.

Ces agents peuvent être de nature chimique, physique ou biologique comme détaillé dans le tableau 01.

Tableau 01: Les différents agents génotoxiques.

Agents physiques	Agents chimiques	Agents biologiques
Radiation ionisantes (UV) et non ionisantes (rayon X) (Samouelian <i>et al.</i> , 2009).	Substances capable de modifier la structure ou la complémentarité (désamination, depurination, oxoguanine...) (Samouelian <i>et al.</i> , 2009).	Les virus (David, 2013).

2. Les tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité sont appliqués depuis longtemps pour étudier les risques mutagènes/cancérogènes chez les travailleurs exposés aux agents génotoxiques. Ils forment une boîte à outils, la seule pour le moment, pour pouvoir évaluer les effets prématurés, en tant que prédicteurs du risque de cancer, de l'exposition aux agents génotoxiques (**Ortega, 2004**). Ces tests ont pour but de mettre en évidence l'induction de modifications (dommages à l'ADN, mutations, transformations cellulaires...etc.) (**Hartmann et al., 2004**). Les différentes méthodes actuellement employées (voir Figure 03) détectent (**Pilliére et Falcy, 1991**) :

- **L'activité mutagène dans les milieux biologiques** : test d'Ames.
- **Les modifications cytogénétiques dans les cellules humaines** :
 - Les aberrations chromosomiques.
 - La recherche de micronoyaux.
 - Les échanges de chromatides-sœurs.
 - Test des comètes (test plus récent).
- **La formation de liaisons sur l'ADN ou sur les protéines (adduits)** : les adduits à l'ADN, les adduits aux protéines et les adduits à l'hémoglobine.

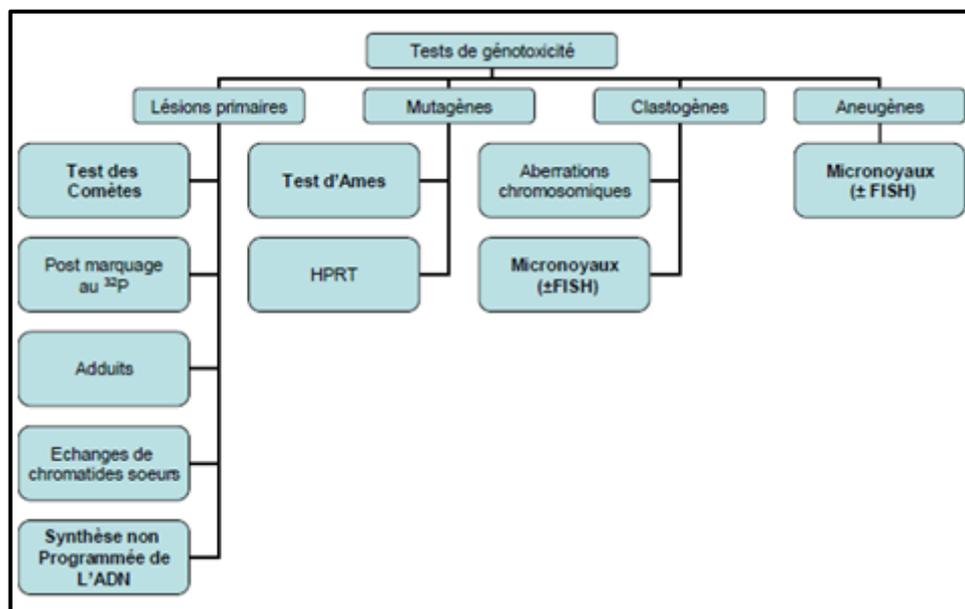


Figure 03: Les différents types des tests de génotoxicité (**Orsière et al., 2005**).

2.1. Test d'Ames

Le test d'Ames est un test de mutagenèse sur cellules procaryotes décrit dans les années 1970 par Bruce Ames (**Moche, 2015**). Ce test consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*, voir Figure 04 (**Godet, 1993**).

Les souches utilisées sont porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His⁻ rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His⁻ réversent spontanément vers His⁺ et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His⁻ à des agents mutagènes. Ainsi, le test d'Ames permet, en quantifiant l'induction de ces mutations réverses His⁺ (**Fardel et al., 2009**).

Le succès du test d'Ames vient de sa simplicité d'exécution et de son coût modique. De plus, ce test est rapide (48h) et sensible. Il donne une réponse quantitative permettant des études comparatives. Sa souplesse dans les différents protocoles lui permet de s'adapter à des échantillons variés (**Tabet, 2015**).

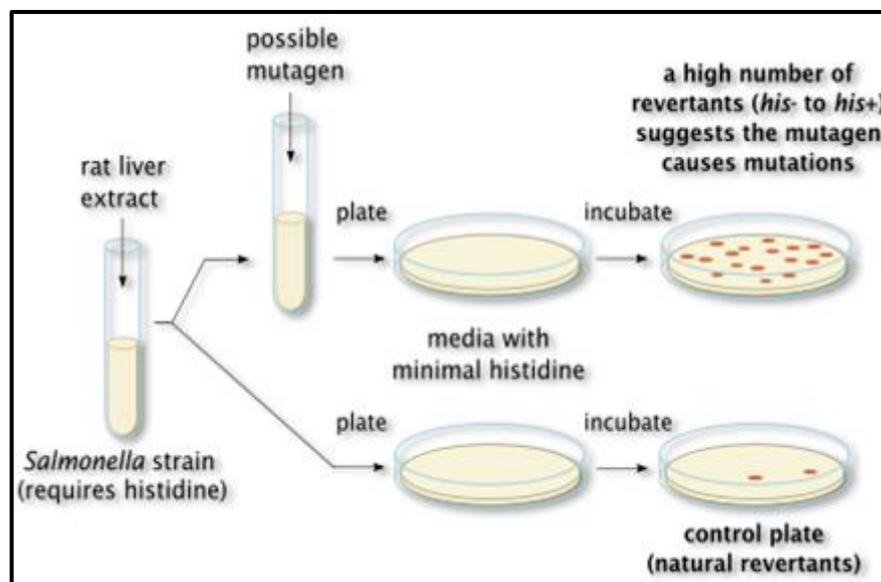


Figure 04 : Le principe de test Ames (**Jain et al., 2018**).

2.2. Test du micronoyau

Les micronoyaux sont constitués de chromosomes entiers perdus au cours de la mitose (phénomène aneugène) ou de fragments chromosomiques acentriques exclus du

noyau de la cellule fille pendant la division cellulaire (phénomène clastogène) (Ortega, 2004).

L'induction de micronoyaux *in vitro* est un des tests de mutagenicité utilisé pour la détection de la capacité de tout agent physique ou chimique à induire la formation de petits noyaux (micronoyaux) dans le cytoplasme de cellules en interphase (Soughir, 2009). Le test évalue l'exposition à des agents clastogènes et/ou aneugènes (Figure 05). L'observation microscopique des cellules-filles après coloration à l'acétoorcéine permet le dénombrement de ces micronoyaux (Ortega, 2004).

Ce test présente un certain nombre d'avantages :

- Relativement facile à mettre en œuvre (Fardel *et al.*, 2009);
- Mise en évidence des mutations chromosomiques et/ou génomiques;
- Détection à la fois des substances clastogènes et aneugènes et ne met en évidence que les mutations non létales pour la cellule (Tabet, 2015).

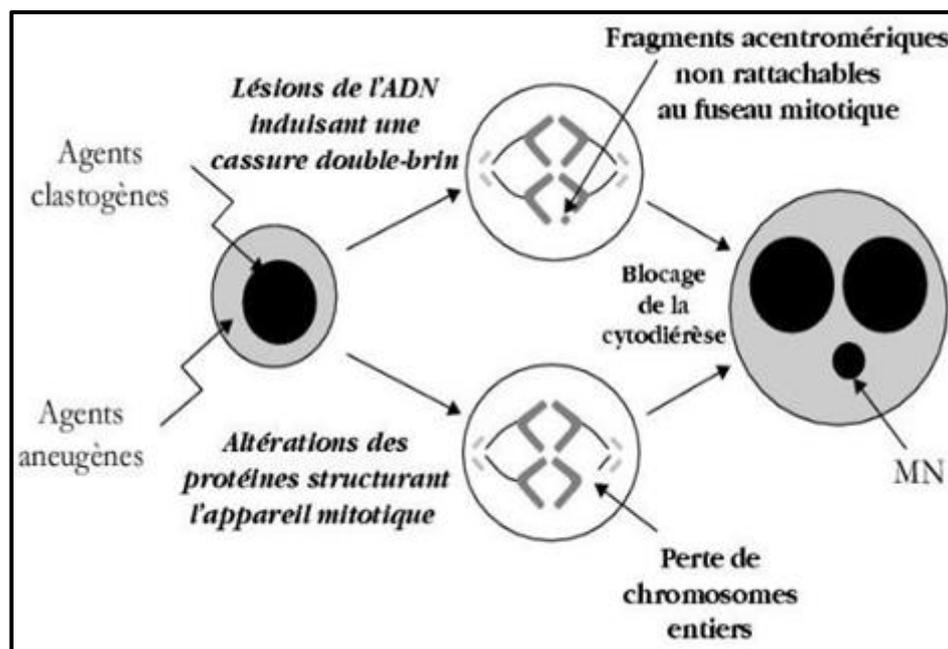


Figure 05 : Schématisation de la formation des micronoyaux (Darolles, 2010).

2.3. Échange de chromatides sœurs

L'échange entre chromatides sœurs (*sister chromatid exchange, SCE*) reflète des réarrangements de l'ADN à l'intérieur d'un même chromosome ; il s'agit d'un échange complet et réciproque entre les deux chromatides sœurs survenus une mitose réalisées *in vitro* (Ortega, 2004).

Les techniques permettant la visualisation des SCE impliquent l'exposition des cellules à la 5-bromodésoxyuridine (BrdU) durant deux cycles de réplication. Après avoir été traitées avec un agent inhibiteur de fuseau tel que la colchicine pour arrêter les cellules au stade métaphase de la mitose, les cellules sont collectées et les chromosomes sont préparés pour l'observation avec la procédure de fluorescence plus Giemsa (**Russo, 2000**).

Ce test permet l'identification des génotoxines même à de très faibles concentrations (**Soughir, 2009**).

2.4. Test de comète

Au cours des 30 dernières années, le test des comètes est devenu largement utilisé pour mesurer les dommages et la réparation de l'ADN dans les cellules et les tissus (**Møller, 2018**).

Le test des comètes aussi appelé en anglais « single cell gel electrophoresis » ou SCGE est un outil incontournable pour l'étude de la génotoxicité à l'échelle cellulaire d'une ou plusieurs substances sur n'importe quel tissu vivant constitué de cellules eucaryotes (**Foltete, 2010**). Ce test est simple à réaliser, sensible et peu coûteux (**Gajski et al., 2020**) qui permet dans des conditions alcalines (pH>13), la détection du plus grand nombre de lésions (**Burlinson et al., 2007; Moche, 2015**) :

- Les cassures simple et double-brin, les sites alcali-labiles, les sites incomplets de réparations et les liaisons entre ADN-protéine et ADN-ADN.

Le principe de cette technique consiste à suspendre des cellules dans un gel d'agarose sur une lame de microscope, puis après une étape de lyse cellulaire et la libération des noyaux, ces derniers vont migrer dans un champ électrophorétique (**Collins, 2004**).

- Si l'ADN n'a pas été endommagé (reste sous forme super enroulé) et sera révélé sous forme d'une sphère compacte.
- Si l'ADN a été endommagé, les noyaux subis des cassures prennent une forme de comète, voir Figure 06 (**Soughir, 2009**).

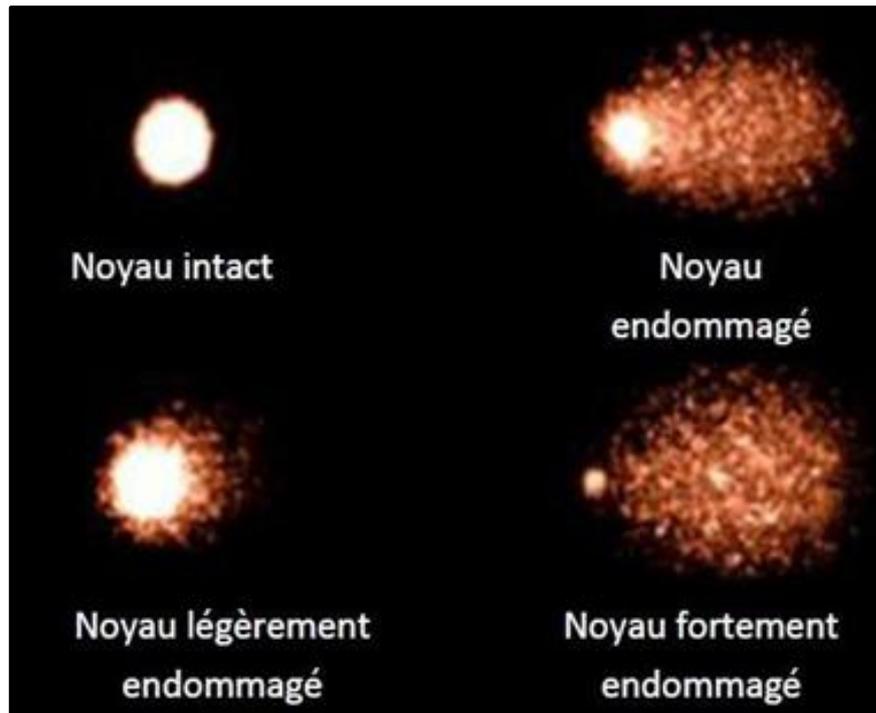


Figure 06 : Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de l'ADN (Moche, 2015).

2.5. Test d'aberration chromosomique

Les ACs sont caractérisés par le changement soit dans le nombre total de chromosomes (Khanna et Sharma, 2013), (aneuploïdie qui peut correspondre à une augmentation du nombre de chromosomes appelée hyperploïdie ou au contraire à une diminution du nombre de chromosomes appelée hypoploïdie) (Fardel *et al.*, 2009) ou de la structure chromosomique (délétion, translocation, inversion) qui se produisent en raison de l'exposition au traitement chimique (Khanna et Sharma, 2013).

Les cellules analysées peuvent notamment être des lymphocytes isolés de sujets humains ou d'animaux (exposés *in vivo* à des substances chimiques ou préparations) ou des cellules de lignée ou des lymphocytes exposés *in vitro* aux génotoxiques (Fardel *et al.*, 2009).

Le grand avantage de ce test est qu'il est le seul pour l'instant à avoir une valeur prédictive de la fréquence d'AC pour le risque de cancer (Ortega, 2004).

3. Le test d'*Allium cepa*

Les plantes supérieures sont reconnues comme d'excellents modèles génétiques pour détecter les mutagènes de l'environnement et sont fréquemment utilisées dans les études de surveillance. Parmi les espèces de plantes, *Allium cepa* a été utilisé pour évaluer les dommages à l'ADN (Leme et Marin-Morales, 2009).

L'*A. cepa* est la plus recommandée pour la consommation sous ses formes brutes ou transformées dans le monde (Adeoye *et al.*, 2018).

3.1. Description

L'oignon est une plante herbacée bisannuelle de la famille des Liliacées (Marefati *et al.*, 2018), ayant un scape apparaissant la deuxième année, de 2 à 4 pieds d'hauteur, nu, lisse, droit, trapu, gonflé à la base et fistuleux (Kumar *et al.*, 2010).

C'est une plante à bulbes tunique, rond, oblong ou en forme de toupie, recouverte d'une membrane brillante, mince et sèche, de couleur rougeâtre ou blanche. Les feuilles sont rondes et fistuleuses, de couleur vert brillant, aiguës et plus courtes que la tige (Kumar *et al.*, 2010).

3.2. Position taxonomique et caractéristiques génétiques

Le caryotype d'*Allium cepa* ($2n = 16$) présente cinq paires de chromosome (de 8 à 16 μm) avec des centromères situés de façon médiane à submédiane, deux paires dans lesquelles les centromères sont submédians et une paire de chromosomes satellites (Cotelle, 1999).

Tableau 02: Classification systématique de l'oignon (*Allium cepa*) (Bedouh, 2014).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Spermatophyta
Classe	Liliopodia
Ordre	Liliales
Famille	Liliaceae
Genre	<i>Allium</i> L.
Espèce	<i>Allium cepa</i> L.

3.3. Les différents paramètres Analysés par le test *Allium cepa*

Le test d'*Allium cepa* permet l'évaluation de divers critères de toxicité et de génotoxicité (Cotelle, 1999).

3.3.1. La forme des racines

Les racines présentaient une sensibilité plus élevée, avec des effets significatifs, même à la plus faible concentration du produit chimique à tester. Ce paramètre est observable après 3-5 jours de traitement qui montrent le gonflement, la flexion et la décoloration des racines ou radicelles (Khanna et Sharma, 2013).

3.3.2. Indice mitotique

L'indice mitotique (IM), caractérisé par le nombre total des divisions des cellules dans le cycle cellulaire, a été utilisé en tant que paramètre à évaluer la cytotoxicité de plusieurs substances. Le niveau de cytotoxicité d'une substance peut être déterminé par l'augmentation ou la diminution de l'IM. La diminution significative de l'IM en comparant au contrôle négatif indique une altération, découlant de l'action d'une substance chimique sur la croissance et le développement des organismes exposés. D'autre part, Lorsque l'IM est plus élevé que le témoin négatif, ceci est le résultat d'une augmentation de la division cellulaire, conduit à une prolifération anarchique des cellules et même à la formation de tissus tumoraux (Leme et Marin-Morales, 2009).

3.3.3. Les aberrations chromosomiques

Les ACs sont caractérisées par la variation soit de nombre total de chromosomes ou de structure chromosomique qui se produisent à la suite de l'exposition du traitement chimique. Pour évaluer les anomalies chromosomiques, plusieurs types d'ACs sont considérés à différents stades du cycle cellulaire (prophase, métaphase, anaphase et télophase). Les ACs ont été regroupés en 2 types, clastogène et aberrations physiologiques. Les anomalies clastogènes comprennent les ponts chromosomiques, la rupture chromosomique tandis que les anomalies physiologiques comprennent la c-mitose, chromosome retardataire et la condensation des chromosomes (Khanna et Sharma, 2013).

3.3.4. Les anomalies nucléaires

Certains auteurs ont récemment inclus un autre paramètre dans l'analyse d'AC dans les cellules méristématiques d'*Allium cepa*, Ce caractère se réfère à des anomalies nucléaires. Les ANs se caractérisent par des altérations morphologiques dans les noyaux

interphasiques, résultant de l'action de l'agent testé. Généralement, ces modifications sont observées dans le test d'*Allium cepa* sous forme des noyaux lobulés, noyaux portant des bourgeons nucléaires, polynucléaires, mini cellules. La présence de noyaux lobulés et des cellules polynucléaires peut indiquer un processus de mort cellulaire (**Leme et Marin-Morales, 2009**).

3.3.5. Micronoyau

Les micronoyaux (MN) ont été considérés par de nombreux auteurs comme le critère le plus efficace et le plus simple pour analyser l'effet mutagène des produits chimiques. Cela est dû au fait que les MN résultent des dommages d'ADN, pas ou mal réparés, dans les cellules parentales, étant facilement observés dans les cellules filles comme une structure similaire au noyau principal, mais dans une taille réduite. Ainsi, MN résultent de la développement de certains aberrations chromosomiques, par exemple, les pertes chromosomiques et les ruptures (**Leme et Marin-Morales, 2009**).

La taille de MN peut être un paramètre pour évaluer les effets clastogènes et aneugènes chez *Allium cepa*, car cette espèce présente un caryotype symétrique, qui est homogène par rapport à la taille chromosomique, avec de grandes et quelques chromosomes ($2n = 16$) (**Khanna et Sharma, 2013**).

3.3.6. Autres anomalies

La mort cellulaire ou l'apoptose est un processus biologique des organismes vivants. La mort cellulaire a été induite par des fortes concentrations de produits chimiques toxiques et d'autres. La présence de cellules binucléées a été signalée par plusieurs chercheurs dans plusieurs genres à la suite de traitements chimiques. La présence de cellules binucléées était le résultat de l'inhibition du processus de la cytokinèse de la division cellulaire (**Khanna et Sharma, 2013**).

Partie expérimentale

La station d'épuration est une installation assurant le traitement des eaux usées par divers procédés avant d'être rejetées dans le milieu naturel.

Elle est installée généralement à l'extrémité d'un réseau de collecte, juste en amont de la sortie des eaux vers le milieu naturel. Une station d'épuration est constituée de plusieurs dispositifs, conçus pour extraire les différents polluants qui sont contenus dans les eaux (Chaouch, 2013).

Bien que ces eaux soient traitées en STEP, les procédés employés ne sont pas toujours suffisamment efficaces pour éliminer tous les polluants notamment les composés génotoxiques (Tabet, 2015).

L'objectif de notre travail est d'évaluer la cytotoxicité des échantillons d'eaux usées prélevés de la station d'épuration de la ville de Guelma, en utilisant le test d'*Allium cepa*.

1. Présentation de la région d'étude

La wilaya de Guelma se situe au Nord Est du pays, elle est limitée par la wilaya d'Annaba au Nord, El Tarf au Nord Est, Skikda au Nord Ouest, Souk Ahras et Oum El-Bouaghi au Sud et enfin Constantine à l'Ouest, voire Figure 07 (Aissaoui *et al.*, 2017).

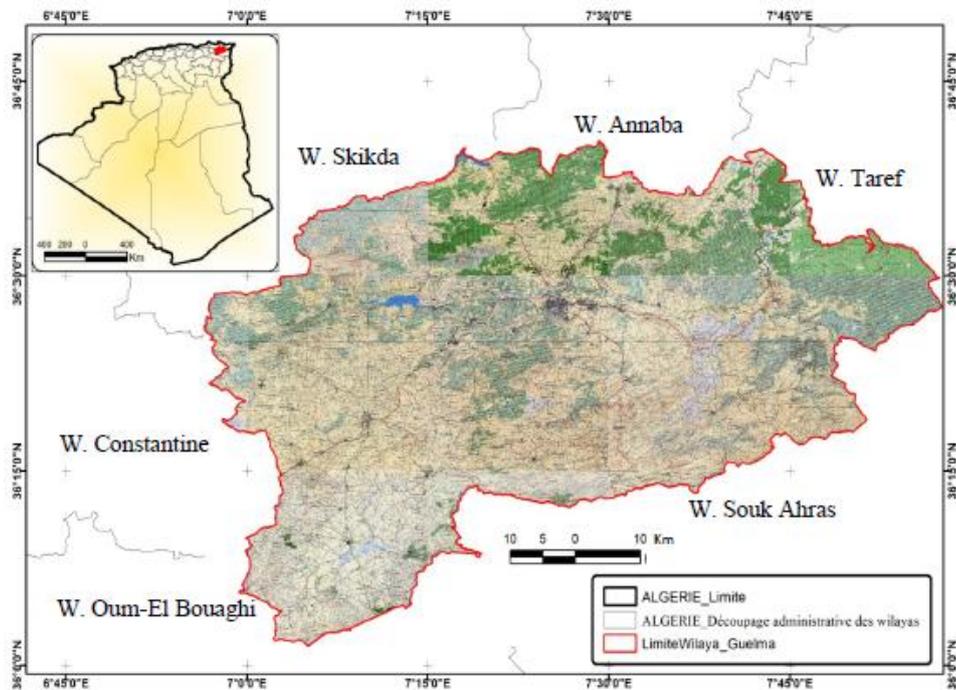


Figure 07 : Situation géographique de la wilaya de Guelma (Bennacer, 2018).

2. Description de la zone d'étude (STEP de Guelma)

2.1. Présentation et localisation

La station d'épuration de Guelma est fonctionnelle depuis le 18 Février 2008 et occupe un terrain agricole de 7.8 ha (Tabet, 2015). Elle se situe à 1 km environ au Nord de la ville sur le flanc droit de la vallée développée par Oued Seybouse et sur la route nationale N° 21 menant à Annaba à la sortie de l'agglomération (Figure 08), (Bedouh, 2014).

La STEP est alimentée par 02 conduites de refoulement (Tabet, 2015) :

- SR1 : Oued El Maiz, avec un débit de 1575 m³/h.
- SR2 : Oued Skhoun, avec un débit de 1125 m³/h.

Les coordonnées de localisation géographique selon le GPS sont :

- Latitude 36°28'48,6" N
- Longitude 7°26'22,8" E

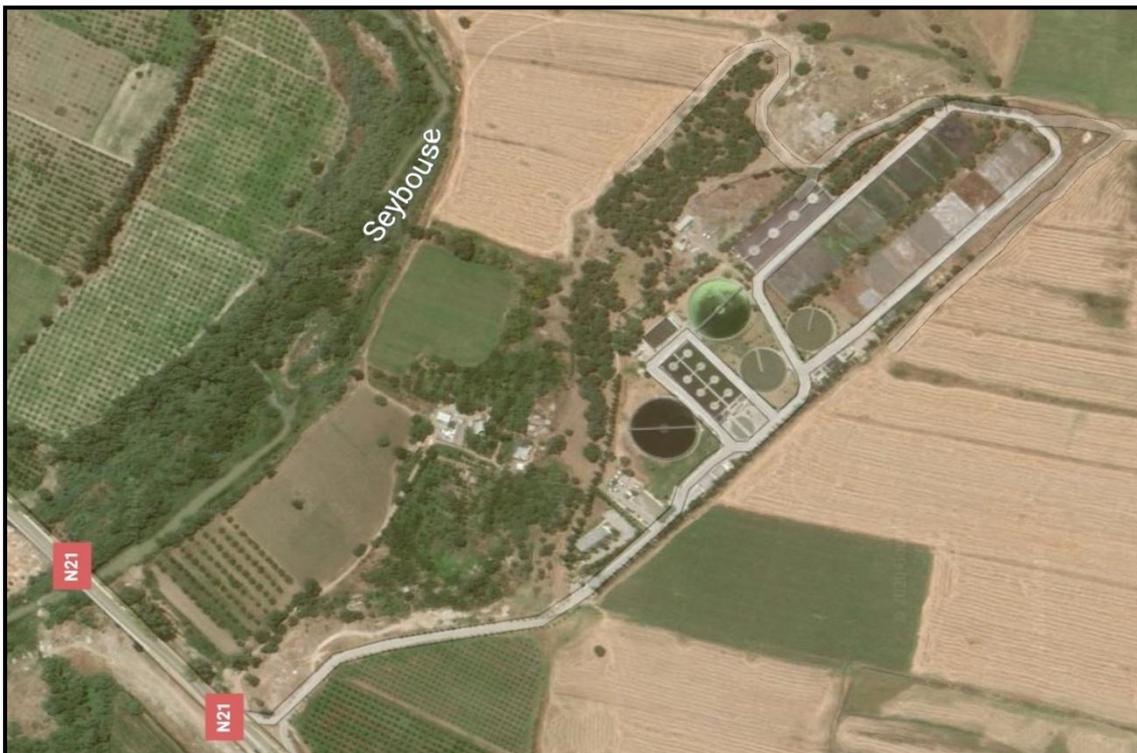


Figure 08 : Localisation de la station d'épuration de la ville de Guelma (Google Earth, 2020).

2.2. Principe et fonctionnement du système de traitement

L'épuration des eaux usées dans la STEP de la ville de Guelma consiste à un prétraitement physique, un traitement primaire par décantation, des traitements biologiques et un traitement tertiaire par chloration comme illustré dans la Figure 09 (Tabet *et al.*, 2015).



Figure 09 : Configuration de la STEP de Guelma (Bedouh, 2014).

(1) Prétraitement, (2) Décanteur primaire, (3) Bassin d'oxygénation, (4) Clarificateur, (5) Épaississeur, (6) Bassin de désinfection, (7) Lit de séchage, (8) Boue secondaire.

2.3. Prélèvement des eaux

Au niveau de la STEP de Guelma, des prélèvements sont réalisés manuellement pour l'étude des effets génotoxiques et cytotoxiques au niveau de trois points de traitements: prétraitement (désuage), décantation et la sortie de la station (désinfection).

Les échantillons sont prélevés dans des flacons en plastique et conservés dans une glacière pendant le transport vers le laboratoire puis au réfrigérateur à 4°C.

3. Test de génotoxicité (test d'*Allium cepa*)

3.1 Matériel biologique

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est l'oignon *Allium cepa* ($2n=16$). Les bulbes d'oignons ont été achetés auprès d'un supermarché local à Guelma.

3.2. La technique

Dans cette étude nous avons utilisé Les racines d'*Allium cepa* pour déterminer le nombre d'aberrations chromosomiques, le protocole de ce test est inspiré de celui de Fiskesjö (1985) et Liman *et al.*, (2010, 2019).

3.2.1. La culture des bulbes

Avant de lancer le test *Allium*, les écailles externes des bulbes et la plaque de fond sec ont été enlevés avec grattage sans détruire les primordiaux des racines. Une série de trente cinq bulbes ont été placées dans de l'eau de robinet à température ambiante pendant 48h à l'obscurité dans un endroit aéré, voire Photo 01 (Fiskesjö, 1988; Liman *et al.*, 2010).



Photo 01 : Germination des bulbes d'*Allium cepa* pendant 48h.

Il s'agit de placer les bulbes germés (les meilleurs 5 croissants) dans des petits gobelets en plastique transparent contenant l'échantillon à tester de façon à ce que seules les racines soient immergées comme montré dans la Photo 02 Afin de limiter la variabilité

intra individuelle, cinq réplicat par échantillon présentant la moyenne croissance racinaire sont conservées pour les critères étudiés (Cotelle, 1999).

L'eau de robinet est utilisée comme contrôle négatif et les échantillons d'eaux usées prélevés (en Mars 2020) de la STEP de Guelma (au niveau des trois points de traitement) comme contrôle positif. La durée de l'exposition est de 24h, 48h et 72h (Les solutions d'essai ont été remplacées par des solutions fraîches, toutes les 24h).



Photo 02 : Exposition des bulbes d'*Allium cepa* aux échantillons d'eaux.

T : témoin, **E1** : échantillon 1, **E2** : échantillon 2, **E3** : échantillon 3.

3.2.2. La fixation des extrémités racinaires

Après culture des bulbes, les racines sont nettoyées à l'eau distillée et les deux derniers centimètres sont coupés à l'aide d'un ciseau (5 racines par bulbe d'oignon soit 25 racines par échantillon), fixés à 4°C dans 2,5 ml d'un mélange éthanol (99%)/acide acétique glacial (3v:1v) préparé frais pendant 24h, voir Photo 03 (Cotelle, 1999; Khallef *et al.*, 2019; Liman *et al.*, 2019). Ce mélange appelé solution de Carnoy est très instable, il peut se produire une estérification s'il n'est pas préparé au moment de l'utilisation. L'éthanol a pour effet de précipiter et dénaturer les protéines, de dissoudre certains lipides et de durcir les tissus. L'acide acétique est un bon fixateur des chromosomes, il précipite les protéines du noyau (Cotelle, 1999).



Photo 03 : Fixation des extrémités racinaires dans la solution de Carnoy.

Les extrémités racinaires sont ensuite conservées pour un long terme dans 2,5 ml d'éthanol à 70% à 4°C comme montré dans la Photo 04 (Liman *et al.*, 2019).



Photo 04 : Conservation des extrémités racinaires dans l'éthanol 70%.

3.2.3. La coloration des extrémités racinaires

Les extrémités racinaires sont alors placées dans l'eau distillée pendant 10 min, hydrolysées dans l'HCL 1N pendant 8 min et à nouveau transférées dans de l'eau distillée pendant 15 min, changer l'eau distillée 3 fois (5min/fois). L'hydrolyse a pour but la destruction de la lamelle moyenne composée principalement de pectines, ce qui facilite les étalements cellulaires. Les racines sont ensuite colorées avec le réactif Feulgen pendant 20min à 25min à l'abri de la lumière. Après la coloration, les racines sont ensuite transférées dans de l'eau distillée pendant 2min (**Cotelle, 1999; Yildiz et Suna Arikan, 2008**).

Les racines sont ensuite placées sur les lames, après un bref passage sur papier buvard sans toucher la pointe ou la coiffe de la racine, couper la partie claire de la partie foncée. A l'aide d'une lame de rasoir, la coiffe est fragmentée en très petits morceaux. La coloration est réalisée en écrasant les racines avec une goutte d'acide acétique glacial à 45%, placer la lamelle et appuyer par un papier filtre de manière physique par les doigts. Après cette étape, utiliser le vernis à ongle transparent pour fermer les lamelles et éviter l'évaporation de la solution (**Liman et al., 2010; Radić et al., 2010; Çıldır et Liman, 2020**).

3.2.4. L'observation macroscopique

Le test de cytotoxicité se repose sur l'inhibition de la croissance des longueurs des racines des bulbes d'oignon exposés pendant 24, 48 et 72 heures dans les différents échantillons des eaux prélevées.

A la fin des périodes d'exposition, les longueurs des racines des bulbes ont été mesurées en calculant leurs moyennes.

3.2.5. L'observation microscopique

L'indice mitotique (IM) et la fréquence des AC ont été déterminés selon **Liman et al., (2010)**. Pour le MI, les différentes étapes de mitose ont été comptées dans un total de 5000-6000 cellules (1000 cellules/lame) et exprimées en pourcentage selon l'équation suivante :

$$IM (\%) = \frac{\text{Nombre de cellules en division}}{\text{Nombre total de cellules}} \times 100$$

Les diapositives ont été codées au hasard et notées à l'aveugle. Dans le test d'aberration chromosomique, 100 cellules en anaphase ou en télophase ont été examinés pour les aberrations par lame si c'est possible.

Résultats et discussion

L'utilisation des plantes est principalement attribuable au fait que ces tests sont relativement simples à réaliser, peu coûteux, biologiquement sensible, et rapide (**Bich *et al.*, 2012**).

L'évaluation de la cytotoxicité des échantillons d'eaux usées prélevés de la STEP de Guelma a été estimée par l'analyse de l'élongation racinaire avec le test d'*Allium cepa* qui est souvent utilisé pour la détermination de la cytotoxicité et/ou les effets génotoxiques de différentes substances (**Liman *et al.*, 2012**).

1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire

Les racines des bulbes d'oignon ont été incubées dans des milieux contenant les échantillons des eaux usées prélevées, la longueur des racines a été mesurée à des intervalles de temps de 24, 48 et 72h de traitement.

Les résultats de la longueur des racines exposées aux échantillons des eaux usées sont présentés dans les tableaux (03, 04 et 05).

1.1. Longueur des racines après 24 heures

Les racines d'*Allium cepa* exposées à l'eau de robinet utilisée comme contrôle négatif pendant 24 heures avaient une longueur moyenne de $3,46 \pm 0,36$ cm. Une diminution dans la longueur des racines a été observée pour tous les échantillons des eaux usées prélevées à partir des sites S1, S2 et S3. Une croissance racinaire légère ou nulle ($1,80 \pm 0,18$ cm) a été observée dans l'*Allium cepa* exposé aux échantillons des eaux usées prélevés du S1 avec un taux d'inhibition extrême de 47,97 %. Une croissance racinaire légère ($2,16 \pm 0,24$ cm) a été observée dans l'*Allium cepa* exposé aux échantillons des eaux prétraitées prélevés du deuxième site avec un taux d'inhibition relativement élevé (37,57 %). Concernant les racines d'oignon exposées aux échantillons d'eau du dernier site de traitement, une forte croissance ($2,82 \pm 0,46$ cm) inversement proportionnelle au taux d'inhibition (18,49 %) démontre que les échantillons d'eau les plus pollués prélevée à partir des sites S1 et S2 ont augmenté le taux d'inhibition de croissance racinaire de façon remarquable comparés au résultat obtenu avec l'échantillon d'eau traitée prélevé du site S3 (Tableau 03).

Tableau 03 : Résultats du test d'inhibition de la croissance des racines d'*Allium cepa* après 24h.

Paramètres	Moyenne de la longueur de cinq bulbes/échantillon (cm)		ER ± SD (cm)	Inhibition de l'élongation racinaire (%)
	Bulbe 1	Bulbe 2		
Contrôle (-) 24h	Bulbe 1	4	3,46 ±0,36	/
	Bulbe 2	3,5		
	Bulbe 3	3,5		
	Bulbe 4	3		
	Bulbe 5	3,3		
S1	Bulbe 1	2	1,80 ±0,18	47,97
	Bulbe 2	1,5		
	Bulbe 3	1,8		
	Bulbe 4	1,8		
	Bulbe 5	1,9		
S2	Bulbe 1	2,5	2,16 ±0,24	37,57
	Bulbe 2	2,3		
	Bulbe 3	2,1		
	Bulbe 4	2		
	Bulbe 5	1,9		
S3	Bulbe 1	3,5	2,82 ±0,46	18,49
	Bulbe 2	3		
	Bulbe 3	2,8		
	Bulbe 4	2,3		
	Bulbe 5	2,5		

ER : élongation racinaire, **SD :** écart type.

1.2. Longueur des racines après 48 et 72 heures

Les racines d'*Allium cepa* exposées au contrôle négatif pendant 48 et 72 heures avaient une longueur moyenne de $4,30 \pm 0,46$ et $5,36 \pm 0,44$ cm respectivement comme détaillé dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 04 : Résultats du test d'inhibition de la croissance des racines d'*Allium cepa* après 48h.

Paramètres	Moyenne de la longueur de cinq bulbes/échantillon (cm)		ER ± SD (cm)	Inhibition de l'élongation racinaire (%)
	Bulbe	Longueur (cm)		
Contrôle (-) 48h	Bulbe 1	4,3	4,30 ±0,46	/
	Bulbe 2	4,5		
	Bulbe 3	3,5		
	Bulbe 4	4,7		
	Bulbe 5	4,5		
S1	Bulbe 1	2,5	2,50 ±0,19	41,86
	Bulbe 2	2,6		
	Bulbe 3	2,9		
	Bulbe 4	2,4		
	Bulbe 5	2,3		
S2	Bulbe 1	3	2,84 ±0,21	33,95
	Bulbe 2	2,8		
	Bulbe 3	3		
	Bulbe 4	2,5		
	Bulbe 5	2,9		
S3	Bulbe 1	3,1	3,04 ±0,33	29,30
	Bulbe 2	3,3		
	Bulbe 3	3		
	Bulbe 4	3		
	Bulbe 5	2,5		

ER : élongation racinaire, **SD :** écart type.

Tableau 05 : Résultats du test d'inhibition de la croissance des racines d'*Allium cepa* après 72h.

Paramètres	Moyenne de la longueur de cinq bulbes/échantillon (cm)		ER ± SD (cm)	Inhibition de l'élongation racinaire (%)
Contrôle (-) 72h	Bulbe 1	5,5	5,36 ±0,44	/
	Bulbe 2	4,8		
	Bulbe 3	5,7		
	Bulbe 4	5,8		
	Bulbe 5	5		
S1	Bulbe 1	2	2,58 ±0,38	51,86
	Bulbe 2	3		
	Bulbe 3	2,8		
	Bulbe 4	2,5		
	Bulbe 5	2,6		
S2	Bulbe 1	3	3,22 ±0,41	39,92
	Bulbe 2	3,2		
	Bulbe 3	3,2		
	Bulbe 4	3,9		
	Bulbe 5	2,8		
S3	Bulbe 1	3,5	3,58 ±0,40	33,20
	Bulbe 2	4		
	Bulbe 3	3,5		
	Bulbe 4	3,9		
	Bulbe 5	3		

ER : élongation racinaire, **SD :** écart type.

Le résultat de test d'inhibition de l'élongation racinaire a été observé à différents temps d'incubation et reste constant même avec l'augmentation de la durée de contact (24, 48 et 72 heures). L'inhibition de la croissance des racines détectée au cours de cette étude est associée à l'activité méristématique apicale et à l'allongement de la cellule au cours de la différenciation (**Fusconi et al., 2006; Cresencio et al., 2017**).

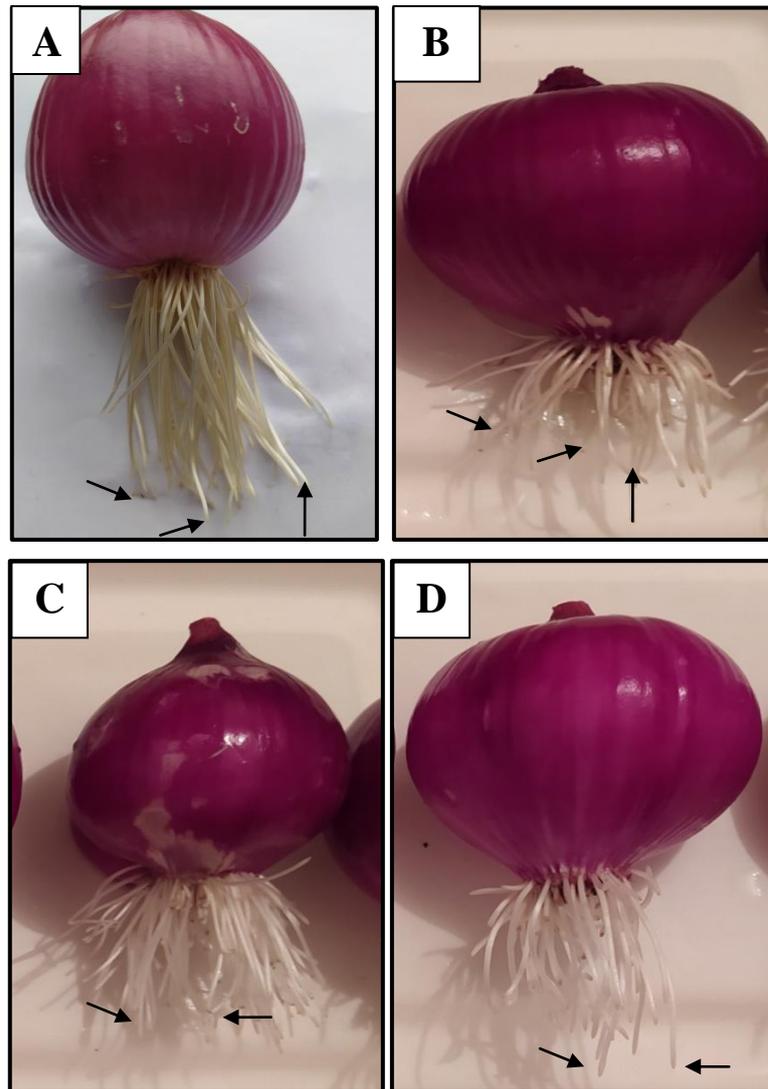


Photo 05 : Aspect morphologique des racines après 72h.

A) Racines poussées dans l'eau de robinet ; B) Racines poussées dans l'échantillon d'eau du S1;

C) Racines poussées dans l'échantillon d'eau du S2; D) Racines poussées dans l'échantillon d'eau du S3

En raison du rejet d'eaux usées traitées dans le milieu naturel, on craint que les produits chimiques génotoxiques puissent nuire aux organismes des écosystèmes ainsi qu'aux humains, en s'accumulant dans la chaîne alimentaire (**Grisolia et al., 2005**). De nombreux types d'essais peuvent être utilisés pour la surveillance de la toxicité de mélanges complexes ou d'échantillons d'eau de l'environnement (**Bich et al., 2012**).

Leme et Marin-Morales ont effectué en **2009** un examen approfondi sur le test *Allium cepa* et de son utilisation dans la contamination de l'environnement, où ils ont déclaré que les plantes vasculaires sont reconnues comme d'excellents modèles génétiques pour détecter les mutagènes environnementaux et sont fréquemment utilisées dans les études de surveillance. Par ailleurs, l'espèce *Allium cepa* présente de nombreux avantages : c'est une plante qui possède de grands chromosomes en nombre réduit ($2n = 16$), ce qui facilite l'évaluation des dommages chromosomiques et/ou les perturbations du cycle cellulaire (**Rainho et al., 2010**).

Plusieurs études ont rapporté l'évaluation de la cytotoxicité dans plusieurs systèmes d'études notamment les plantes supérieures (**Jakowska et al., 1950; Lane et al., 1978; Fiskesjö, 1985; Shishkova et al., 2007; Liman et al., 2010; Goujon et al., 2014; Cakpo et al., 2015; Wijeyaratne et Wadasinghe, 2019**). Les signes de toxicité sont les changements de la consistance, la forme (racines en crochet et racines tordues), la couleur et la croissance des racines (**Herrero et al., 2012**).

Notre travail est basé sur une analyse macroscopique permettant d'expliquer la cytotoxicité par l'inhibition de la croissance et la fragilité des racines. Le test d'inhibition de l'ER est utilisé pour évaluer la toxicité chez les plantes supérieures. Ce test d'inhibition a indiqué une diminution de l'ER des bulbes exposés aux échantillons des eaux usées comparativement aux bulbes exposés à l'eau de robinet (contrôle négatif). Cette diminution montre que la croissance et le développement des organismes exposés (*Allium cepa*) ont été affectés par les composés des échantillons testés. De telles observations ont été rapportées par les études de **Tabet** en **2015**, qui ont observé une diminution dans la longueur des racines pour tous les échantillons des eaux usées pendant toute la période d'étude. Dans des études menées par **Liman et al. (2015)**, les auteurs ont indiqué que les facteurs affectant la croissance des racines sont non seulement liés à la suppression de l'activité méristématique apicale et le cycle cellulaire lors de la différenciation, mais aussi aux enzymes qui favorisent l'allongement et le relâchement de la paroi cellulaire dans le processus de différenciation. L'apparition des racines rabougries indiquent également le retard de croissance et la cytotoxicité (**Yıldız et al., 2009**). De tels résultats ont été

rapportés par d'autres auteurs en utilisant le même test (Yıldız *et al.*, 2009; Liman *et al.*, 2012; Firdos *et al.*, 2018; Küçük et Liman, 2018; Aydın et Liman, 2020; Çıldır et Liman, 2020).

D'après Fiskesjö (1985), le fait que la longueur des racines diminue de plus de 45% indique la présence de substances toxiques ayant un effet létal sur les plantes, ce qui laisse prétendre que les eaux usées essentiellement du 1^{er} site de prélèvement contiennent des substances ayant un effet cytotoxique majeur > à 45% sur *Allium cepa*. Silveira *et al.* (2017) ont montré que dans les plantes, la croissance d'un organe est étroitement liée aux cycles successifs de division cellulaire. En ce sens, si l'agent toxique n'interfère pas dans le cycle de division, la prolifération cellulaire se produit normalement, sans affecter la longueur de la racine. Selon Wierzbicka (1988), la croissance des racines due à la division cellulaire est minime par rapport à la croissance due à l'énorme potentiel d'allongement des cellules. Ce dernier est fortement inhibé même par de très faibles doses, ce qui peut être causé par des changements des caractéristiques de la paroi cellulaire.

Les résultats obtenus lors de l'étude macroscopique basée sur l'inhibition des racines d'oignon, indiquent clairement que le site S1 d'eau usée brute est le plus toxique que celui de S2 et S3 qui sont des points d'échantillonnage d'eau usée traitée. Nos résultats concordent avec ceux de l'étude effectuée par Grisolia *et al.* (2005) qui ont montré que la procédure de traitement des eaux usées au niveau tertiaire provoque une diminution de la cytotoxicité chez *A. cepa*. Ces résultats s'expliquent par la présence de nombreuses substances toxiques telles que les métaux lourds, les hydrocarbures polycycliques, herbicides, rejets industriels et domestiques et autres médicaments qui provoquent par conséquent un effet cytotoxique profond chez *Allium cepa* (Barbério *et al.*, 2009).

Conclusion

Conclusion

La pollution des ressources en eau peut avoir de multiples origines, domestique urbaine, industriel, agricole et naturelle. Pour la protection contre la pollution des eaux usées, ces dernières doivent être épurées par les techniques biologiques avant leur rejet dans le milieu naturel.

En effet, les eaux usées sont acheminées vers la station de traitement pour subir des opérations de traitement et de clarification par différents procédés, puis elles sont désinfectées par le chlore.

Dans la présente étude, les racines d'*Allium cepa* ont été utilisées pour évaluer la cytotoxicité des eaux usées de la station d'épuration de la ville de Guelma avant et après leur traitement. Les résultats montrent que les eaux brutes présentent une charge cytotoxique par l'inhibition extrême de l'élongation racinaire. Cette charge est diminuée après traitement de ces eaux. Le taux détecté d'inhibition des racines d'*Allium cepa* au niveau des eaux traitées peut être dû à la persistance des substances chimiques présentes dans les eaux traitées qui résistent au traitement ou à l'utilisation du chlore suite au dernier traitement.

À l'issue de cette étude, nous pouvons conclure qu'un seul test ne peut pas mettre en évidence l'effet toxique ou génotoxique des substances pour nous donner une idée sur la qualité des traitements effectués au niveau de ces stations d'épuration. Pour cela, il serait intéressant de compléter cette étude par d'autres travaux de recherche avec des méthodes plus performantes et plus précises.

*Références
bibliographiques*

- **Adeoye, O.J., Olayinka, O.A., Bernard, S.A., Sikiru, O.A., Kofoworola, O.I., Olufemi, O.J., Adekunle, A.A., 2018.** Testicular and spermatotoxic potential of methanol extract of red cultivar *Allium cepa* in rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 15. <https://doi.org/10.1515/jcim-2017-0102>.
- **Aissaoui, M., Benhamza, M., Guettaf, M., 2017.** Caractéristiques hydro chimiques des eaux de l'oued Seybouse - Cas de la région de Guelma (Nord est Algérien). *Rev. Sci. Technol., Synthèse* 35, 178–186.
- **Ait El Cadi, M., El Jaoudi, R., Bouslimane, Y., Bouklouze, A., Cherrah, Y., 2011.** Les perturbateurs endocriniens : quel risque pour la santé ? *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*, 13, 102–9. <https://doi.org/doi:10.1684/mte.2011.0352>.
- **Aline, R., 2011.** Perturbateurs endocriniens et stérilité masculine. Thèse pour le diplôme D'état de Docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré, NANCY 1, 146p.
- **Aragroug, M.A., Ennabo, Y., 2018.** Les caractérisations des eaux domestiques et industrielles, Éditions universitaires européennes. Ed, 92p.
- **Attab, Sarah, 2011.** Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activées de la station d'épuration Haoud Berkaoui par l'utilisation d'un filtre a sable local. Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université kasdi Merbah-Ouargla, 152p.
- **Aydın, G., Liman, R., 2020.** Cyto-genotoxic effects of Pinoxaden on *Allium cepa* L. roots. *J Appl Genetics* 61, 349–357. <https://doi.org/10.1007/s13353-020-00560-w>.
- **Barbério, A., Barros, L., Voltolini, Jc., Mello, Mls., 2009.** Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. *Braz. J. Biol.* 69, 837–842. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842009000400010>.
- **Bassompierre, C., 2007.** Procédé à boues activées pour le traitement d'effluents papetiers : de la conception d'un pilote à la validation de modèles. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Grenoble - INPG, 232p.
- **Baumont, S., Camard, J.P., Lefranc, A., 2009.** Réutilisation des eaux usées épurées : risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. École nationale supérieure agronomique de Toulouse (ENSAT), 222p.

- **Bedouh, Y., 2014.** Évaluation de la toxicité des eaux usées traitées par la station d'épuration de Guelma et son impact sur l'oignon « *Allium cepa* ». Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba, 158p.
- **Belaid, N., 2010.** Évaluation des impacts de l'irrigation par les eaux usées traitées sur les plantes et les sols du périmètre irrigué d'El Hajeb-Sfax : salinisation, accumulation et phytoabsorption des éléments métalliques. Thèse en co-tutelle, de l'Université de Sfax École Nationale d'Ingénieurs de Sfax et de l'Université de Limoges, 236p.
- **Ben Sghaier, R., 2017.** Perturbateurs endocriniens dans le milieu aquatique : « Développement analytique et faisabilité de traitement ». Thèse en co-tutelle, de l'Université de Carthage, Faculté des sciences de Bizerte et l'Université de Lille, 214p.
- **Bennacer, L., 2018.** Les Industries Agroalimentaires: Cas de la Wilaya de Guelma dans le Nord-est Algérien. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri – Constantine 1. Faculté des Sciences de la Terre de la Géographie et de l'Aménagement du Territoire, 334p.
- **Bich, G.A., Vedoya, M.C., Medvedeff, M.G., 2012.** Antifungal Formulation Based on Saturated Sucrose Solution: Evaluation of its potential genotoxic activity using the *Allium cepa* test. Review science and technology 14, 39–43.
- **Boukary, S., 2018.** Traitement des eaux usées industrielles par des procédés membranaires sous climat sahélien: cas des eaux usées de brasserie au Burkina Faso. Thèse de doctorat. Université Montpellier, Institut international d'ingénierie de l'eau et de l'environnement, 196p.
- **Burlinson, B., Tice, R.R., Speit, G., Agurell, E., Brendler-Schwaab, S.Y., Collins, A.R., Escobar, P., Honma, M., Kumaravel, T.S., Nakajima, M., Sasaki, Y.F., Thybaud, V., Uno, Y., Vasquez, M., Hartmann, A., 2007.** Fourth International Workgroup on Genotoxicity testing: Results of the in vivo Comet assay workgroup. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 627, 31–35. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.08.011>.
- **Cakpo, R.A., Sagbo, E., Mama, D., Soumanou, M.M., 2015.** Évaluation de la cytogénotoxicité des sites de pollution du PONT et d'ACCRON de la lagune de Porto-Novo. J. App. Bioscience. 87, 8076– 8084. <https://doi.org/10.4314/jab.v87i1.8>.
- **Chaouch, A., 2013.** Surveillance de l'état de fonctionnement d'un procédé biologique de dépollution. Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université 20 AOÛT 1955 – Skikda. Faculté de Technologie, 142p.

- **Çıldır, D.S., Liman, R., 2020.** Cytogenetic and genotoxic assessment in *Allium cepa* exposed to imazalil fungicide. *Environ Sci Pollut Res* 27, 20335–20343. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08553-2>.
- **Collins, A.R., 2004.** The Comet Assay for DNA Damage and Repair: Principles, Applications, and Limitations. *MB* 26, 249–261. <https://doi.org/10.1385/MB:26:3:249>
- **Cornwell, T., 2004.** Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry* 65, 995–1016. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.03.005>.
- **Cotelle, S., 1999.** Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Thèse de doctorat. Université de Metz, 258p.
- **Cresencio, C.C.J., Abelada, J.J.Z., Apostado, R.R.Q., Hernando, B.J.H., Lador, J.E.C., Obenza, O.L.P., Presilda, C.J.R., Havana, H.C., 2017.** *Allium cepa* test: An evaluation of genotoxicity. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences* 7, 12–19.
- **Dagher, C., 2019.** Evaluation de la disposition des médecins généralistes des Bouches-du-Rhône à utiliser une fiche d'information et de conseils dans la prévention contre les perturbateurs endocriniens. Thèse de doctorat. Université AIX-Marseille, Faculté des sciences médicales et paramédicales, 153p.
- **Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R., Van Der Kraak, G., 2002.** Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors, eds. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (WHO/PCS/EDC/02.2).
- **Darde, T., 2017.** Identification et classification de composés reprotoxiques par des approches de toxicogénomique prédictive. Thèse de doctorat. Université Rennes 1 École doctorale Biologie-Santé, 292p.
- **Darolles, C., 2010.** Discrimination des effets chimiotoxiques et radiotoxiques de l'uranium: définition de marqueurs biologiques pour l'évaluation des risques professionnels dans l'industrie du nucléaire. Thèse de doctorat. Université de la méditerranée AIX-Marseille II. Faculté de médecine et de pharmacie, Spécialité : environnement et santé, 459p.
- **David, C., 2013.** Les agents biologiques. Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS), 4p.
- **Diagne, I., Drame, S., Ndiaye, M., Ndiaye, B., Diop, A., 2017.** Caractérisation physico-chimique et contamination métallique des eaux usées déversées au niveau de la

- baie de Hann (Dakar/Sénégal). *Int. J. Bio. Chem. Sci* 11, 462. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i1.37>.
- **Djeddi, H., 2006.** Utilisation des eaux d'une station pour l'irrigation des essences forestières urbaines. Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université Mentouri Constantine, 157p.
 - **Dolbois, C., 2017.** Perturbateurs endocriniens et cancer de la THYROÏDE. Thèse pour le diplôme D'état de Docteur en pharmacie. Université Paul Sabatier Toulouse III, Faculté des sciences pharmaceutiques, 81p.
 - **Duval, G., Simonot, B., 2010.** Les perturbateurs endocriniens: un enjeu sanitaire pour le XXIème siècle. *Air pur* 79, 9.
 - **Eddabra, R., 2011.** Évaluation de la contamination bactériologique des eaux usées des stations d'épuration du Grand Agadir: isolement, caractérisation moléculaire et antibiorésistance des espèces du genre *Vibrio*. Thèse en co-tutelle, de l'université Ibn Zohr. Faculté des sciences d'Agadir et de l'université de Strasbourg Ecole doctorale science de la vie et de la sante, 146p.
 - **EL Hachemi, O., 2012.** Traitement des eaux usées par lagunage naturel en milieu désertique (Oasis de Figuig): Performances épuratoires et aspect phytoplanctonique. Thèse de doctorat. Université Mohammed Premier. Faculté des Sciences Oujda, 140p.
 - **EL Hanafi, N., 2010.** Etude paramétrique et optimisation du traitement d'émulsions de lait par le procédé d'électrocoagulation. Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université des sciences et de la technologie Houari-Boumediène (USTHB), 96p.
 - **Fardel, O., Vernhet, L., Nouvel, V., 2009.** Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets, 164p.
 - **Feron, M., 2017.** Exposition aux perturbateurs endocriniens et Conseils à l'officine. Thèse pour le diplôme D'état de Docteur en pharmacie. Université de Lille 2, 146p.
 - **Firdos, F., Verma, S., Kamal, A., Srivastava, A., 2018.** Monitoring of morphotoxic, cytotoxic and genotoxic potential of mancozeb using *Allium* assay. *Chemosphere* 195, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.052>.
 - **Fiskesjö, G., 1988.** The *Allium* test — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular*

- Mechanisms of Mutagenesis 197, 243–260. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(88\)90096-6](https://doi.org/10.1016/0027-5107(88)90096-6).
- **Fiskesjö, G., 1985.** The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas* 102, 99–112. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>.
 - **Foltete, A.-S., 2010.** Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Thèse de doctorat. Université Paul Verlaine – Metz, 246p.
 - **Foster, W.G., Agzarian, J., 2008.** Toward Less Confusing Terminology in Endocrine Disruptor Research. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 11, 152–161. <https://doi.org/10.1080/00927870701873214>.
 - **Fusconi, A., Repetto, O., Bona, E., Massa, N., Gallo, C., Dumas-Gaudot, E., Berta, G., 2006.** Effects of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum sativum* L. cv. Frisson seedlings. *Environmental and Experimental Botany* 58, 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.09.008>.
 - **Gajski, G., Gerić, M., Živković Semren, T., Tariba Lovaković, B., Oreščanin, V., Pizent, A., 2020.** Application of the comet assay for the evaluation of DNA damage from frozen human whole blood samples: Implications for human biomonitoring. *Toxicology Letters* 319, 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.11.010>.
 - **Godet, E., Vasseur, B., Sabut, M., 1993.** Essais de génotoxicité in vitro et in vivo applicables à l'environnement hydrique. *rsseau* 6, 285–314. <https://doi.org/10.7202/705177ar>.
 - **Godet, F., 1993.** Performance des tests d'Ames et micronoyaux triton appliqués à l'étude de la génotoxicité d'effluents complexes et des interactions entre polluants. Thèse de doctorat. Université de Metz, 101p.
 - **Goujon, E., Sta, C., Trivella, A., Goupil, P., Richard, C., Ledoigt, G., 2014.** Genotoxicity of sulcotrione pesticide and photoproducts on *Allium cepa* root meristem. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 113, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.06.002>.
 - **Grisolia, C.K., Oliveira, A.B.B. de, Bonfim, H., Klautau-Guimarães, M. de N., 2005.** Genotoxicity evaluation of domestic sewage in a municipal wastewater treatment plant. *Genet. Mol. Biol.* 28, 334–338. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572005000200026>.

- **Guéroid, F., 1992.** L'acidification des cours d'eau: impact sur les peuplements de macroinvertébrés benthiques: application au massif Vosgien. Biologie animale. Université Paul Verlaine - Metz, 263p.
- **Hartmann, A., Chumacher, M., Plappert-Helbig, U., Lowe, P., Suter, W., Mueller, L., 2004.** Use of the alkaline in vivo Comet assay for mechanistic genotoxicity investigations. *Mutagenesis* 19, 51–59. <https://doi.org/10.1093/mutage/geg038>.
- **Herrero, O., Pérez Martín, J.M., Fernández Freire, P., Carvajal López, L., Peropadre, A., Hazen, M.J., 2012.** Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 743, 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.12.028>.
- **Jain, A.K., Singh, D., Dubey, K., Maurya, R., Mittal, S., Pandey, A.K., 2018.** Models and Methods for In Vitro Toxicity, in: *In Vitro Toxicology*. Elsevier, pp. 45–65. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804667-8.00003-1>.
- **Jakowska, S., Nigrelli, R.F., Goldsmith, E.D., 1950.** Growth Responses in *Allium Cepa*. *Caryologia* 3, 1–10. <https://doi.org/10.1080/00087114.1950.10797143>.
- **Jolibois, B., Guerbet, M., 2005.** Efficacy of Two Wastewater Treatment Plants in Removing Genotoxins. *Arch Environ Contam Toxicol* 48, 289–295. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-0239-6>.
- **Khallef, M., Benouareth, D.E., Konuk, M., Liman, R., Bouchelaghem, S., Hazzem, S., Kerdouci, K., 2019.** The effect of silver nanoparticles on the mutagenic and the genotoxic properties of the urban wastewater liquid sludges. *Environ Sci Pollut Res* 26, 18403–18410. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05225-8>.
- **Khanna, N., Sharma, S., 2013.** *Allium Cepa* Root Chromosomal Aberration Assay: A Review. *ijpbr* 1. <https://doi.org/10.30750/ijpbr.1.3.15>.
- **Küçük, D., Liman, R., 2018.** Cytogenetic and genotoxic effects of 2-chlorophenol on *Allium cepa* L. root meristem cells. *Environ Sci Pollut Res* 25, 36117–36123. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3502-0>.
- **Kumar, K.P.S., Bhowmik, D., Tiwari, P., 2010.** *Allium cepa*: A traditional medicinal herb and its health benefits, 9p.
- **Laabassi, A., 2016.** L'épuration des eaux usées par le système de lagunage à Macrophytes. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 107p.

- **Laborie, S., 2015.** Exposition Humaine aux perturbateurs endocriniens par inhalation : Caractérisation de la contamination de l'air intérieur par analyses chimiques et biologiques in vitro. Thèse de doctorat, spécialité Chimie, Environnement et Santé. École Pratique des Hautes Études, 296p.
- **Laetitia, C., 2015.** Les perturbateurs endocriniens. Université du Québec à Chicoutimi (UQAC), 30p.
- **Lane, S.D., Martin, E.S., Garrod, J.F., 1978.** Lead toxicity effects on indole-3-ylacetic acid-induced cell elongation. *Planta* 144, 79–84. <https://doi.org/10.1007/BF00385010>.
- **Leme, D.M., Marin-Morales, M.A., 2009.** *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 682, 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>.
- **Liman, R., Acikbas, Y., Ciğerci, İ.H., 2019.** Cytotoxicity and genotoxicity of cerium oxide micro and nanoparticles by *Allium* and Comet tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 168, 408–414. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.10.088>.
- **Liman, R., Akyıl, D., Eren, Y., Konuk, M., 2010.** Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/*Salmonella* and *Allium* test. *Chemosphere* 80, 1056–1061. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.05.011>.
- **Liman, R., Ciğerci, İ.H., Öztürk, N.S., 2015.** Determination of genotoxic effects of Imazethapyr herbicide in *Allium cepa* root cells by mitotic activity, chromosome aberration, and comet assay. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 118, 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.007>.
- **Liman, R., Gökçe, U.G., Akyıl, D., Eren, Y., Konuk, M., 2012.** Evaluation of genotoxic and mutagenic effects of aqueous extract from aerial parts of *Linaria genistifolia* subsp. *genistifolia*. *Rev. bras. farmacogn.* 22, 541–548. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000028>.
- **Marefati, N., Eftekhar, N., Kaveh, M., Boskabadi, J., Beheshti, F., Boskabady, M.H., 2018.** The Effect of *Allium cepa* Extract on Lung Oxidant, Antioxidant, and Immunological Biomarkers in Ovalbumin-Sensitized Rats. *Med Princ Pract* 27, 122–128. <https://doi.org/10.1159/000487885>.
- **Marsault, F., Naylor, B., Reigue, A., 2013.** Traitement et valorisation des eaux usées : l'exemple de la station de lagunage de Rochefort, 12p.

- **Mauduit, C., Florin, A., Amara, S., Bozec, A., Siddeek, B., Cunha, S., Meunier, L., Selva, J., Albert, M., Vialard, F., Bailly, M., Benahmed, M., 2006.** Effets à long terme des perturbateurs endocriniens environnementaux sur la fertilité masculine. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 34, 978–984. <https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2006.08.010>.
- **Metahri, M.S., 2012.** Élimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées, par des procédés mixtes. Cas de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri De TIZI-OUZOU, 172p.
- **Moche, H., 2015.** Utilisation du carbure de tungstène-cobalt (WC-Co) comme témoin positif génotoxique nanoparticulaire et étude de la génotoxicité de candidats nanovecteurs de médicaments, 221p.
- **Mohsen, M.S., Jaber, J.O., 2003.** Potential of industrial wastewater reuse. *Desalination* 152, 281–289. [https://doi.org/10.1016/S0011-9164\(02\)01075-5](https://doi.org/10.1016/S0011-9164(02)01075-5).
- **Møller, P., 2018.** The comet assay: ready for 30 more years. *Mutagenesis* 33, 1–7. <https://doi.org/10.1093/mutage/gex046>.
- **Monneret, C., 2017.** What is an endocrine disruptor? *Comptes Rendus Biologies* 340, 403–405. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2017.07.004>.
- **Moulin, S., Rozen-Rechels, D., Stankovic, M., 2013.** Traitement des eaux usées, 13p.
- **Moussa Moumouni, D.H., 2005.** les eaux résiduaires des tanneries et des teintureries: Caractéristiques physico-chimiques, bactériologiques et impact sur les eaux de surface et les eaux souterraines. Thèse de doctorat. Université De Bamako, faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontostomalogie, 135p.
- **Nassouri, A.S., Archambeaud, F., Desailoud, R., 2012.** Perturbateurs endocriniens : échos des congrès d'Endocrinologie 2012. *Annales d'Endocrinologie* 73, S36–S44. [https://doi.org/10.1016/S0003-4266\(12\)70013-6](https://doi.org/10.1016/S0003-4266(12)70013-6).
- **Olea, N., Pulgar, R., Pdrez, P., Olea-Serrano, Fa., Rivas, A., Novillo-Fertrell, A., Pedraza, V., M. Soto, A., Sonnenschein, C., 1996.** Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environmental Health Perspectives* 104, 8.
- **Orsière, T., Sari-Minodier, I., Decome, L., Botta, C., Iarmarcovai, G., Botta, A., 2005.** De la génotoxicologie à la biosurveillance. Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP, *Annales* 28, 25–28.

- **Ortega, E.M.I., 2004.** Genotoxicity tests: Usefulness in occupational health Difficulties encountered in their application to the workers medical survey. *Arch Public Health* 62, 71–81.
- **Parveau, P., 2011.** bactéries multirésistantes dans l'environnement: recherche dans les effluents de la ville de Toulouse. Thèse pour le diplôme D'état de Docteur en pharmacie. université de Limoges, faculté de pharmacie, 153p.
- **Picard, C., 2011.** Transfert de matière dans un biofilm aéré sur membrane. Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier, 212p.
- **Pillière, F., Falcy, M., 1991.** Exposition aux produits chimiques génotoxique. Fiche medico- technique, Institut National de recherche et de sécurité, Paris, 330–336.
- **Planchon, P., 2014.** Les perturbateurs endocriniens dans les produits de santé. Thèse pour le diplôme D'état de Docteur en pharmacie. L'Université de Rouen et l'UFR de Médecine et de Pharmacie, 97p.
- **Quignot, N., Barouki, R., Lemazurier, E., 2017.** Perturbation endocrinienne et évaluation du risque pour la reproduction humaine : entre défis scientifiques d'aujourd'hui et enjeux de demain. *Environ Risque Sante* 10, 15.
- **Quignot, N., Barouki, R., Lesné, L., Lemazurier, E., Jégou, B., 2012.** Mécanismes et enjeux de la perturbation endocrinienne 6, 114–119.
- **Radić, S., Stipaničev, D., Vujčić, V., Rajčić, M.M., Širac, S., Pevalek-Kozlina, B., 2010.** The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. *Science of the Total Environment* 408, 1228–1233. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.055>.
- **Rainho, C.R. de, Kaezer, A., Aiub, C.A.F., Felzenszwalb, I., 2010.** Ability of *Allium cepa* L. root tips and *Tradescantia pallida* var. *purpurea* in N-nitrosodiethylamine genotoxicity and mutagenicity evaluation. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 82, 925–932. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652010000400015>.
- **Ramond, C., 2019.** Les perturbateurs endocriniens : état actuel des connaissances et cas particulier des cosmétiques, 152p.
- **Renou, S., 2006.** Analyse de cycle de vie appliquée aux systèmes de traitement des eaux usées. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, 261p.
- **Ricard, L.-E., 2011.** Les perturbateurs endocriniens dans l'environnement de l'enfant et de l'adolescent et les risques pour la santé: L'exemple des phtalates et du bisphénol A. Thèse de doctorat. Université Henry Poincaré, Nancy 1. Faculté de médecine, 174p.

- **Ruauux, N., 2019.** Les perturbateurs endocriniens : Comprendre où en est la recherche. Anses – Les Cahiers de la Recherche No 13 -Santé, Environnement, Travail, 55p.
- **Russo, A., 2000.** In vivo cytogenetics: mammalian germ cells. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 455, 167–189. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(00\)00115-9](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(00)00115-9).
- **Samouelian, F., Gaudin, V., Boccara, M., 2009.** Génétique moléculaire des plantes. Editions Quae. ed. Paris, 208p.
- **Shishkova, S., Rost, T.L., Dubrovsky, J.G., 2007.** Determinate Root Growth and Meristem Maintenance in Angiosperms. Annals of Botany 101, 1–22. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm251>.
- **Silveira, G.L., Lima, M.G.F., Reis, G.B. dos, Palmieri, M.J., Andrade-Vieria, L.F., 2017.** Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. Chemosphere 178, 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.048>.
- **Smili, G., Benhamou, A., Bouhent, M., 2018.** Contribution à la réduction du phosphore et de l’azote au niveau de la STEP de Cap-Falcon-Oran. Revue des Energies Renouvelables SIENR’18 Ghardaïa 71–75.
- **Soughir, D., 2009.** Modification métaboliques, moléculaires et génotoxicité par le cadmium chez *vicia f.* Thèse de doctorat. Université de Carthage, 238p.
- **Souguir, D., Hörmann, G., Hachicha, M., 2017.** Evaluation de la génotoxicité d’un sol salin irrigué par des eaux usées traitées: Cas du sol de Kalaât Landelous (Tunisie). Etude et Gestion des Sols 24, 127–135.
- **Sy, S., Tall, P.S., 2003.** Etude de réhabilitation de la station d’épuration de Saly Portudal. En vue de l’obtention du diplôme d’ingénieur de conception. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 155p.
- **Tabet, M., 2015.** Etude physico-chimique et microbiologique des eaux usées et évaluation du traitement d’épuration. Thèse de doctorat. Université 08 mai 1945-Guelma, 161p.
- **Tabet, M., Abda, A., Benouareth, D.E., Liman, R., Konuk, M., Khallef, M., Taher, A., 2015.** Mutagenic and genotoxic effects of Guelma’s urban wastewater, Algeria. Environ Monit Assess 187, 26. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4281-4>.

- **Thomasson, R., 2011.** Effets ergogéniques, métaboliques et hormonaux des glucocorticoïdes chez l'homme et l'animal. Thèse de doctorat. Université d'Orléans Ecole doctorale sciences et technologies, 252p.
- **Wierzbicka, M., 1988.** Mitotic Disturbances Induced by Low Doses of Inorganic Lead. *Caryologia* 41, 143–160. <https://doi.org/10.1080/00087114.1988.10797856>.
- **Wijeyaratne, W.M.D.N., Wadasinghe, L.G.Y.J.G., 2019.** *Allium cepa* Bio Assay to Assess the Water and Sediment Cytogenotoxicity in a Tropical Stream Subjected to Multiple Point and Nonpoint Source Pollutants. *Journal of Toxicology* 1–10. <https://doi.org/10.1155/2019/5420124>.
- **Yao, A., 2006.** Evaluation de la pollution des eaux usées domestiques collectées et traitées à la station d'épuration de Cambérène (Dakar). Université Cheikhanta Diop de Dakar, 44p.
- **Yapo, B.O., Mambo, V., Séka, A., Yapi, A.D., Houenou, P., 2009.** Caractérisation par fractionnement gravimétrique de la matière organique contenue dans les eaux usées : application à l'étude de la biodégradabilité. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 21; 21–37.
- **Yildiz, M., Suna Arikan, E., 2008.** Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Caryologia* 61, 45–52. <https://doi.org/10.1080/00087114.2008.10589608>.
- **Yıldız, M., Ciğerci, İ.H., Konuk, M., Fatih Fidan, A., Terzi, H., 2009.** Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere* 75, 934–938. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.023>.
- **Young, R.R., 2002.** Genetic toxicology: web resources. *Toxicology* 173, 103–121. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00026-4](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00026-4).

Annexe

Annexe

La solution HCl (1N)

Ingrédients	100 ml
HCl.....	8,17 ml
Eau distillée.....	91,83 ml

Préparation

- ✓ Dans un bécher de 100 ml, mettre 20 ml d'eau distillée.
- ✓ Ajoutée 8,17 ml HCl.
- ✓ Compléter avec de l'eau distillée le volume jusqu'à 100 ml pour avoir HCl 1N.
- ✓ Conserver dans un flacon à 4 °C.

Solution d'Acide Acétique Glacial à 45%

Ingrédients	100 ml
Acide Acétique glacial.....	45 ml
Eau distillée.....	55 ml

Préparation

- ✓ Ajouter avec précaution 45 ml d'acide acétique glacial dans 55 ml d'eau distillée et bien mélanger.

Solution Ethanol 70%

Ingrédients	100 ml
Éthanol absolu.....	70 ml
Eau distillée.....	30 ml

Préparation

- ✓ Préparer 70 ml d'éthanol 99%.

- ✓ Compléter le volume par l'eau distillée jusqu'à 100 ml.

Solution de Carnoy

Ingrédients	10 ml
Acide acétique glacial (1V)	2,5 ml
Éthanol absolu (3V)	7,5 ml

- ✓ Mixer et conserver à 4°.

Colorant Feulgen

Ingrédients	50 ml
Fushine basique.....	0,25g
Eau distillée.....	50 ml
HCl.....	5 ml
K ₂ S ₂ O ₅	0,5g

Préparation

- ✓ Mélanger 0,25 g de Fushine basique dans 50 ml d'eau distillée bouillante (100°), attendre 10 minutes jusqu'à ce que le mélange atteigne une température 50° puis ajouter 5 ml d'une solution 1N d'HCl et mixer puis ajouter 0,5 g de métrasulfite de Potassium K₂S₂O₅ et agiter avec l'agitateur, couvrir la solution par un papier aluminium et la conserver à 4°C pendant une nuit.
- ✓ Filtrer à l'obscurité par un papier filtre puis conserver dans un flacon sombre pour 15 à 20 jours au maximum.