

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 :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité/Option :** Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Département :** Biologie

---

### Thème

## Evaluation de la génotoxicité des eaux usées urbaines de la ville de Guelma

---

**Présenté par :**

- DERGHOU M. Nada
- ABDAOUI Nour El Houda

**Devant le jury composé de :**

<b>Président :</b>	ABDAOUI W.	M.C.B	Université de Guelma
<b>Examineur :</b>	BENOUARETH D.E.	Pr.	Université de Guelma
<b>Encadreur :</b>	TABET M.	M.C.B	Université de Guelma

**Juin 2024**

## **REMERCIEMENTS**

*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*

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

*Nous voudrions remercier vivement **Mme ABDAUI wissem** de nous avoir honorés de sa présence et d'avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire. Nous sommes sûrs que ses critiques et orientations nous seront très utiles.*

*Nous tenons particulièrement et chaleureusement à remercier notre encadrant **Mme TABET Mouna**, 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.*

*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 son aide.*

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

# Dédicace

*Je remercie tout d'abord le bon dieu tout puissant qui m'a donnée la force et le courage pour terminer ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail :*

***A moi-même**, qui m'a toujours soutenue, encouragée et donné de la force.*

***A mon très cher père Abd Anaser***

*Je te remercie pour tout le soutien que tu m'as porté depuis mon enfance . 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 ma très chère mère Zahra***

*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*

***À ma sœur, Yasmine** la lumière de ma vie, qui m'a aidé à avancer et m'a donné force et courage. Merci pour votre amour, votre patience et votre soutien continu et **de son mari Abdelaali**.*

***À mon frère, Abdou** qui a tout fait pour que je ne manque de rien et pour être la meilleure dans mes études.*

***À ma partenaire et chère amie, Nada** qui partage tous nos moments de bonheur et de fatigue, merci beaucoup et que notre amitié dure toujours.*

***A mon beau chat**, dont la présence a toujours été une source de bonheur pour moi.*

***À MES AMIS:** Wassen , Lina, Souhila, Hadil, Nadjla*

***À mes professeurs de l'Université de Guelma***

***A toute la promotion de Master BMC (2023-2024)***

***Nour El Houda***

# Dédicace

Je dédie ce travail :

**À mon cher père Salah**

*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. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.*

**À ma chère mère Sihem**

*La mère la plus adorable du monde et je ne pourrais jamais te remercier assez d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. 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 ma grande sœur Nadia**, source de tendresse, je t'aime beaucoup, et à son fils

**Obadaï**, que Dieu le protège.

**Et ma petite sœur Chames El Assil**, Tu es pour moi une belle sœur, grand merci pour ton encouragement, aide et soutien.

**à ma partenaire et amie Nour Elhouda**, qui a accepté de travailler avec moi ce travail merci votre efforts et encouragement ma belle.

**À tous mes oncles et tantes**

**Sans oublier mes grands-parents**

**. À tous mes cousins et cousines**

**À tous les membres de ma famille, petite et grande**

**À tous mes Amies de proche et de loin** : Safa, wassen, Aya, lyna, yasmine, Nadjla, souhila

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

# NADA

# Sommaire

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Résumés**

**Introduction..... 1**

## **Partie bibliographique**

### **Chapitre I :Généralités sur les eaux usées**

1. Définition d'une eau usée .....	4
2. Origine des eaux usées .....	4
2.1. Origine domestique .....	4
2.2. Eaux usées industrielles .....	5
2.3. Eaux agricoles .....	5
2.4. Eaux pluviales .....	5
3. Composition des eaux usées .....	6
3.1. Microorganismes.....	6
3.1.1. Virus .....	6
3.1.2. Bactéries .....	6
3.1.3. Protozoaires .....	7
3.1.4. Helminthes .....	7
3.2. Micropolluants organiques et non organiques .....	8
3.2.1. Eléments traces .....	8
3.2.2. Eléments toxiques organiques .....	8
3.3. Substances nutritives .....	8
4. Caractéristiques des eaux usées .....	8
4.1. Les paramètres physico-chimiques .....	8
4.1.1. Température .....	8
4.1.2. Potentiel d'hydrogéné (pH) .....	9
4.1.3. Conductivité .....	9
4.1.4. Salinité .....	9
4.1.5. Turbidité .....	9
4.1.6. Matières en suspension .....	10

4.1.7. Demande biologique en oxygène (DBO5) .....	10
4.1.8. Demande chimique en oxygène(DCO) .....	10

## **Chapitre II :Tests de génotoxicité**

1. Définition de génotoxicité .....	12
2. Utilisation de plantes supérieures en génotoxicité .....	12
3. Différents tests de génotoxicité associés aux plantes supérieures .....	12
3.1. Test des aberrations chromosomiques.....	12
3.1.1. Test des aberrations chromosomiques dans les racines <i>d'Allium cepa</i> .....	12
3.1.1.1. Présentation générale d' <i>Allium</i> .....	12
3.1.1.2. Critères de génotoxicité déterminés sur <i>Allium cepa</i> .....	13
3.2. Test de comète .....	13
3.3. Test du micronoyau.....	14
3.4. Test des échanges de chromatides sœurs.....	15

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre III :Matériel et Méthodes**

1. Description de la STEP des eaux usées de la ville de Guelma.....	18
1.1 Présentation et Localisation.....	18
1.2. Etapes du traitement d'épuration .....	19
1.2.1. Prétraitement .....	19
1.2.1.1. Dégrillage.....	19
1.2.1.2. Dessablage .....	19
1.2.1.3. Dégraissage -Déshuilage .....	19
1.2.2. Traitement primaire (décantation primaire).....	20
1.2.3. Traitement secondaire (biologique) .....	21
2. Modalités de Prélèvement .....	21
3. Méthodes analytiques.....	22
3.1. Méthodes d'analyses physicochimiques .....	22
3.1.1. Paramètres physicochimiques in situ .....	22
3.1.1.2. Matières en suspension .....	22
4. Etude génotoxique (test <i>d'Allium cepa</i> ).....	23
4.1. Matériel biologique .....	23
4.2. Test des aberrations chromosomiques.....	23
4.2.1 Traitement des bulbes.....	23

4.2.2 Elongation racinaire .....	24
4.2.3. Fixation et coloration des extrémités racinaires.....	24
5. Examen microscopique .....	26

## **Chapitre IV: Résultats et Discussion**

1. Résultats des Analyses physicochimiques .....	28
1.1. PH.....	28
1.2. Température .....	28
1.3. Conductivité.....	29
1.4. Matières en suspension.....	30
2. Résultats du test de génotoxicité (Test d' <i>Allium</i> ) .....	31
2.1. Longueur des racines.....	31
2.2. Indice mitotique .....	32
2.3. Aberrations chromosomiques : .....	34
<b>Conclusion.....</b>	<b>38</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>40</b>

### **Annexes**

## Liste des abréviations

**STEP** : Station d'épuration

**MES** : Matières en suspension.

**AC** : Aberrations chromosomiques.

**IM** : Indice mitotique.

**HAP** : Hydrocarbures polycycliques

**pH** : Potentiel d'hydrogéné

**CE** : Conductivité électrique

**RS** : Résidu sec

**DBO5**:Demande biologique en oxygène

**DCO** : Demande chimique en oxygène

**SCGE** : Cell gel electrophoresis

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**SCE** : Sister chromatid exchange

**BrdU** : 5-bromodésoxyuridine

**JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne.

**FAO**: Food and agriculture organization.

**MMS**: Méthyle méthane sulfonate.

**PAT** : Perturbation anaphase-télophase.

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> origine d'eaux usées.....	4
<b>Figure 2:</b> Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de L'ADN	14
<b>Figure 3:</b> Schématisation de la formation des micronoyaux. ....	15
<b>Figure 4:</b> Localisation de la station d'épuration de la ville de Guelma. ....	18
<b>Figure 5:</b> Prétraitement.....	20
<b>Figure 6:</b> Décanteur primaire.....	20
<b>Figure 7:</b> Bassin d'aération.....	21
<b>Figure 8:</b> Multi paramètre WTW (Multi 1970i). ....	22
<b>Figure 9:</b> Culture des bulbes dans l'eau distillée. ....	23
<b>Figure 10:</b> Hydrolyse des racines dans l'HCl.....	24
<b>Figure 11:</b> Coloration des racine par le Feulgen.....	25
<b>Figure 12 :</b> Préparation microscopique des racines traitées.....	25
<b>Figure 1 3:</b> Variation des valeurs du pH des différents échantillons des eaux usées. ....	28
<b>Figure 14:</b> Variation de la température des différents échantillons des eaux usées. ....	29
<b>Figure 15:</b> Variation des valeurs de la conductivité des différents échantillons des eaux usée	30
<b>Figure 16:</b> Variation des valeurs de MES des différents échantillons des eaux usées. ....	31
<b>Figure 17:</b> Racines d' <i>Allium cepa</i> du contrôle négatif (A) et des échantillons testés (B). ....	32
<b>Figure 18:</b> Les phases mitotiques des racines d' <i>Allium cepa</i> .....	34
<b>Figure 19:</b> Aberrations chromosomiques détectées dans les racines d' <i>Allium cepa</i> . ....	36

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les bactéries pathogènes dans les eaux usées.....	7
<b>Tableau 2:</b> Classification systématique de l'oignon ( <i>Allium cepa</i> ).....	13
<b>Tableau 3:</b> Résultats de la longueur des racines d' <i>Allium cepa</i> .....	32
<b>Tableau 4:</b> L'effet des échantillons testés sur l'IM et les phases mitotiques.....	33
<b>Tableau 5:</b> Pourcentage des AC détectées dans les racines d' <i>Allium cepa</i> .....	35



# Résumés

## Résumé

Notre étude se concentre sur l'évaluation de la génotoxicité des eaux usées prélevées au niveau de la station d'épuration de la ville de Guelma pendant (Février 2024 et Avril 2024) et ceci par l'application du test des aberrations chromosomiques dans les racines d'*Allium cepa*. Certains paramètres physicochimiques (pH, T°, Conductivité et MES) ont été également mesurés.

Durant cette étude, les résultats des paramètres physicochimiques des échantillons bruts et épurés ont montré que les valeurs du pH sont proches des normes exigées pour le rejet direct dans l'environnement. En revanche, les valeurs des MES dépassent ces limites, tandis que les valeurs de température et de conductivité sont inférieures aux normes.

Les résultats de l'effet génotoxique ont révélé une inhibition de la croissance des racines traitées par les échantillons d'eaux usées avec une différence dans l'intensité des réponses. Cette inhibition est traduite par une diminution dans l'élongation racinaire et l'indice mitotique. Des aberrations chromosomiques telles que : pont chromosomique, chromosome vagabond, Perturbation Anaphase-Télophase, condensation des chromosomes ont été également observées.

**Mots clés :** Eaux usées, station d'épuration, test d'*Allium cepa*, cytotoxicité, génotoxicité, paramètres physico-chimiques.

## **Abstract**

Our study focuses on the evaluation of the genotoxicity of wastewater collected from the wastewater treatment plant in the city of Guelma during February 2024 and April 2024. This is done by applying the chromosomal aberration test in the roots of *Allium cepa*.

Some physicochemical parameters (pH, temperature, conductivity, and MES) were also measured.

During this study, the results of the physicochemical parameters of the raw and treated samples showed that the pH values are close to the standards required for direct discharge into the environment. However, the values of MES exceed these limits, while the temperature and conductivity values are below the standards.

The results of the genotoxic effect showed an inhibition of root growth treated with wastewater samples, with a difference in the intensity of the responses. This inhibition is reflected by a decrease in root elongation and the mitotic index.

Chromosomal aberrations such as chromosomal bridges, vagrant, anaphase-telophase disturbed, and stickiness were also observed.

**Keywords:** Wastewater, treatment plant, *Allium cepa* test, cytotoxicity, genotoxicity, physicochemical parameters.

## الملخص

تتركز دراستنا على تقييم السمية الجينية لمياه الصرف الصحي المأخوذة من محطة معالجة المياه في مدينة قالمة خلال الفترتين (فبراير 2024 وابريل 2024), وذلك من خلال تطبيق اختبار التشوهات الكروموسومية في جذور نبات البصل (*Allium cepa*). تم أيضاً قياس بعض المعايير الفيزيوكيميائية (pH, T°, Conductivité, MES). خلال هذه الدراسة أظهرت نتائج المعايير الفيزيوكيميائية للعينات الملوثة و المعالجة ان قيم pH قريبة من المعايير المطلوبة للتصريف المباشر في البيئة. و مع ذلك فان قيم MES تتجاوز هذه الحدود, في حين ان قيم T°, Conductivité اقل من المعايير. أظهرت نتائج التأثير السمي الجيني تثبيط نمو الجذور المعالجة بعينات مياه الصرف الصحي مع وجود اختلاف في شدة الاستجابات. هذا التثبيط يُترجم بانخفاض في استطالة الجذور وانخفاض في مؤشر الانقسام الخلوي.

تمت ملاحظة تغيرات كروموسومية مثل: Perturbation Anaphase-Télophase, condensation des chromosomes, Pont chromosomique, chromosome vagabond.

**الكلمات المفتاحية :** محطة تطهير المياه المستعملة, اختبار *Allium cepa*, السمية الخلوية, مياه الصرف الصحي , السمية الجينية , المعايير الفيزيوكيميائية.



# Introduction

## Introduction

Les eaux usées sont des milieux extrêmement complexes, résultant de l'usage domestique, industriel, artisanal, agricole ou autre. Elles sont généralement contaminées et nécessitent un traitement avant toute réutilisation ou déversement dans les écosystèmes naturels (**Metahri, 2012**).

Les eaux usées peuvent contenir une grande variété de substances génotoxiques, qui représentent un problème majeur pour la protection des écosystèmes aquatiques et la préservation des ressources en eau (**Jolibois et al., 2009 ; Kassa, 2021**). Bien que ces eaux soient traitées en station d'épuration, les procédés employés ne sont pas toujours suffisamment efficaces pour éliminer tous les composés génotoxiques. Des études ont ainsi démontré qu'une activité génotoxique pouvait être détectée dans des effluents des stations d'épuration (**Ono et al., 1996 ; Jolibois et al., 2009 ; Tabet et al., 2015**).

Les bioessais couramment utilisés pour caractériser la génotoxicité des échantillons d'eau sont les tests utilisant les plantes supérieures telles que : *Allium cepa*, *Vicia faba* etc... Ces tests biologiques permettent de produire une réponse globale au mélange complexe de produits chimiques sans aucune connaissance préalable de la composition du mélange ou de ses propriétés chimiques (**Kassa, 2021**).

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer la génotoxicité des eaux usées prélevées au niveau de la station d'épuration (STEP) de la ville de Guelma, et ceci à l'aide du test des aberrations chromosomiques dans les racines d'*Allium cepa*.

Ce travail comporte deux parties principales :

1. La partie bibliographique avec deux chapitres qui traitent les eaux usées, et les tests de génotoxicité
2. la partie expérimentale avec deux chapitres :
  - le premier chapitre décrit le matériel et les méthodes d'analyse utilisées.
  - le deuxième chapitre représente les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Et enfin, une conclusion clôturera ce travail.



# **Partie bibliographique**



# **Chapitre I**

## **Généralités sur les eaux usées**

### 1. Définition d'une eau usée

« La pollution de l'eau s'entend comme, une modification défavorable ou nocive des propriétés physicochimiques et biologiques, produite directement ou indirectement par les activités humaines, les rendant impropres à l'utilisation normale établit ».

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

Suivant l'origine et la qualité des substances polluantes, on distingue quatre catégories d'eaux usées (Fig.01)

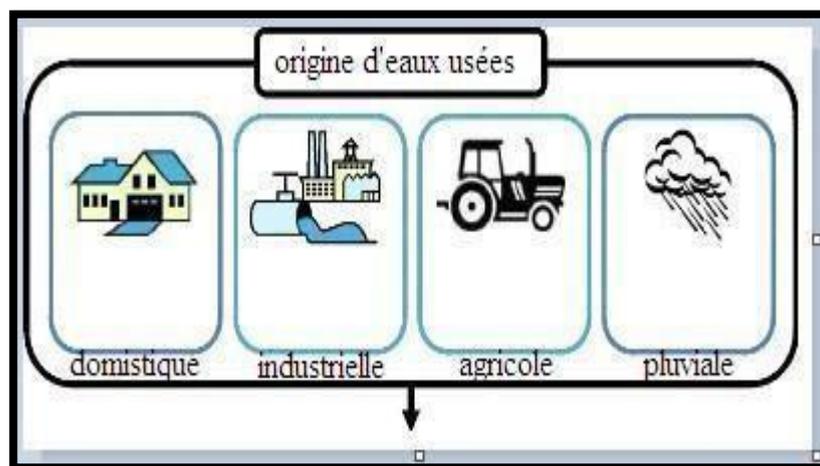


Figure 1: Origine d'eaux usées (Baumont et al., 2009)

#### 2.1. Origine domestique

Les eaux usées proviennent des différents usages domestiques de l'eau. Elles se composent essentiellement des éléments suivants :

- **Excréments humains** : Ces eaux, appelées eaux noires, sont chargées en matières organiques, azotées et phosphatées, ainsi qu'en germes fécaux.
- **Eaux ménagères**: Issues des activités de vaisselle, de lessive et de nettoyage, elles sont appelées eaux grises car elles contiennent des détergents et des graisses.

- **Eaux de toilette** : Ces eaux sont également classées parmi les eaux noires en raison de leur charge en matières organiques et en germes fécaux (**Metahri, 2012**).

## 2.2. Eaux usées industrielles

Les eaux usées industrielles sont très différentes des eaux usées domestiques, et leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus des matières organiques, azotées ou phosphorées, elles sont chargées en diverses substances chimiques organiques et métalliques. Selon leur origine industrielle, elles peuvent également contenir :

- Des graisses (industries agroalimentaires, équarrissage)
- Des hydrocarbures (raffineries)
- Des métaux (traitement de surface, métallurgie)
- Des acides, des bases et divers produits chimiques (industries chimiques divers, tanneries)
- De l'eau chaude (circuit de refroidissement des centrales thermiques).

Des matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs). 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 aucun danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des stations d'épurations (**Metahri, 2012**).

## 2.3. Eaux agricoles

L'agriculture est une source de pollution des eaux non négligeable en raison de l'utilisation d'engrais et de pesticides. Les eaux de ruissellement provenant des terres cultivées sont souvent chargées en engrais nitrés et phosphatés. Lorsque ces substances ne sont pas entièrement retenues par le sol ni assimilées par les plantes, elles peuvent, par ruissellement, enrichir en matières azotées ou phosphatées les nappes phréatiques superficielles ainsi que les cours d'eau et les retenues d'eau (**Metahri, 2012**).

## 2.4. Eaux pluviales

Les eaux de pluie ruissellent dans les rues où s'accumulent des polluants atmosphériques, des poussières, des débris, des suies de combustion et des hydrocarbures rejetés par les véhicules. Ces eaux de pluie, collectées normalement avec les eaux usées et déversées dans les canalisations d'assainissement pour être acheminées vers une station d'épuration, sont

souvent drainées directement dans les rivières. Cela entraîne une pollution intense du milieu aquatique (Metahri, 2012).

### 3. Composition des eaux usées

La composition des eaux usées varie considérablement 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. 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 (Belaid, 2010).

##### 3.1.1. Virus

Les virus sont des parasites intracellulaires obligés qui ne peuvent se multiplier que dans une cellule hôte. 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 restent difficiles, ce qui conduit vraisemblablement à une sous-estimation de leur nombre réel. Les virus entériques sont ceux qui se multiplient dans le trajet intestinal. Parmi les virus entériques humains les plus nombreux il faut citer les entérovirus (exemple : polio), les rotavirus, les rétrovirus, les adénovirus et le virus de l'Hépatite A (Belaid, 2010).

##### 3.1.2. Bactéries

Les bactéries sont les micro-organismes les plus fréquemment présents dans les eaux usées. Les eaux usées urbaines contiennent environ  $10^6$  à  $10^7$  bactéries par 100 mL, principalement des *Proteus* et des entérobactéries, ainsi que  $10^3$  à  $10^4$  streptocoques et  $10^2$  à  $10^3$  *clostridium*s. La concentration en bactéries pathogènes est d'environ  $10^4$  germes par litre. Parmi les bactéries pathogènes les plus courantes, on trouve les *salmonelles*, y compris celles responsables de la typhoïde, des paratyphoïdes et des troubles intestinaux (Tab.01) (Belaid, 2010).

Tableau 1: Les bactéries pathogènes dans les eaux usées (Bedouh, 2014).

Agent pathogène	Syptomes, maladie	Nombre pour un litre d'eau usée	Voies de contamination principales
<i>Salmonella</i>	Typhoïde, paratyphoïde, salmonellose	23 à 80 000	Ingestion
<i>Shigella</i>	Dysenterie bacillaire	10 à 10 000	Ingestion
<i>E.coli</i>	Gastro-entérite		Ingestion
<i>Yersinia</i>	Gastro-entérite		Ingestion
<i>Campylobacter</i>	Gastro-entérite	37 000	Ingestion
<i>Vibrio</i>	Choléra	100 à 100 000	Ingestion
<i>Leptospira</i>	Leptospirose		Cutanée/Inhalation/Ingestion
<i>Legionella</i>	Légionellose		Inhalation
<i>Mycobacterium</i>	Tuberculose		Inhalation

### 3.1.3. Protozoaires

Les protozoaires sont des organismes unicellulaires dotés d'un noyau, plus complexes et plus gros que les bactéries. La plupart des protozoaires pathogènes sont des parasites, c'est-à-dire qu'ils se développent aux dépens de leur hôte (Djeddi, 2006). Plusieurs protozoaires pathogènes ont été identifiés dans les eaux usées. Parmi les plus importants du point de vue sanitaire, on trouve : *Entamoeba histolytica*, responsable de la dysenterie amibienne, *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium parvum* (Belaid, 2010).

### 3.1.4. Helminthes

Les helminthes sont des vers multicellulaires. Tout comme les protozoaires, ce sont majoritairement des organismes parasites. La concentration en œufs d'helminthes dans les eaux usées est de l'ordre de 10 à 10<sup>3</sup> œufs par litre. Parmi les plus notables, on peut citer : *ascaris lumbricades*, *Oxyuris vermicularis*, *Trichuris trichuria*, *Taenia saginata* (Djeddi, 2006).

## 3.2. Micropolluants organiques et non organiques

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

### 3.2.1. Eléments traces

Dans les eaux usées urbaines, on trouve de nombreux métaux lourds. Les plus abondants, présents à raison de quelques  $\mu\text{g/l}$ , sont le fer, le zinc, le cuivre et le plomb. Les autres métaux, tels que le magnésium, l'aluminium, le chrome, l'arsenic, le sélénium, le mercure, le cadmium, le molybdène et le nickel, sont présents à l'état de traces (Baumont et al., 2009 ; Belaid, 2010).

### 3.2.2. 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).

## 3.3. 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 physico-chimiques

#### 4.1.1. Température

La température est un facteur écologique crucial. Elle influence la densité de l'eau et joue un rôle primordial dans les phénomènes de stratification des lacs et des mers. Une élévation de la température peut perturber fortement le milieu, mais elle peut aussi être un facteur d'accroissement de la productivité biologique (Bedouh, 2014).

#### 4.1.2. Potentiel d'hydrogéné (pH)

Les organismes sont très sensibles aux variations du pH, et un développement optimal de la faune et de la flore aquatiques n'est possible que si la valeur du pH se situe entre 6 et 9. Le pH influence également les autres éléments, notamment les ions métalliques, dont il peut modifier la mobilité en solution biodisponible et donc la toxicité.

Le pH joue un rôle crucial dans le traitement des effluents et le développement bactérien. Par exemple, la nitrification optimale s'effectue à des valeurs de pH comprises entre 7,5 et 9 (Metahri, 2012).

#### 4.1.3. Conductivité

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant électrique entre deux électrodes. La plupart des substances dissoutes dans l'eau sont présentes sous forme d'ions chargés électriquement. Ainsi, la mesure de la conductivité permet d'évaluer la quantité de sels dissous dans l'eau (Eddabra, 2011). Cette mesure est utile, car au-delà de la valeur limite de salinité correspondant à une conductivité de 2500  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , la prolifération des microorganismes peut être réduite, entraînant ainsi une baisse de l'efficacité épuratoire (Metahri, 2012).

#### 4.1.4. Salinité

La salinité de l'eau correspond à sa concentration totale en sels dissous. Elle est exprimée soit par la valeur de la conductivité électrique (CE), soit par le résidu sec (RS). La CE de l'eau peut être estimée à partir de la concentration en RS, exprimée en g/l, en utilisant les relations approximatives suivantes à titre indicatif :

- $\text{RS (g/l)} = 0,64 \times \text{CE (ds/m)}$  lorsque  $\text{CE} < 5 \text{ ds/m}$ .
- $\text{RS (g/l)} = 0,80 \times \text{CE (ds/m)}$  lorsque  $\text{CE} > 5 \text{ ds/m}$  (Belaid, 2010).

#### 4.1.5. Turbidité

La turbidité est inversement proportionnelle à la transparence de l'eau. Elle est un indicateur clé de la pollution, signalant la présence de matière organique ou minérale sous forme colloïdale en suspension dans les eaux usées. La turbidité varie en fonction des matières en suspension (MES) présentes dans l'eau (Metahri, 2012).

#### 4.1.6. Matières en suspension

Ces matières sont pour la plupart biodégradables. Les micro-organismes sont souvent adsorbés à leur surface et sont ainsi "transportés" par les MES. Les MES rendent l'eau trouble et lui confèrent un mauvais goût et une mauvaise odeur. Cependant, elles peuvent être bénéfiques pour l'irrigation des cultures (**Baumont et al., 2009**).

#### 4.1.7. Demande biologique en oxygène (DBO5)

La DBO5 correspond à la quantité d'oxygène utilisée en 5 jours par les micro-organismes pour oxyder la matière organique. Onensemence l'effluent et on le sature en oxygène, puis, au bout de 5 jours, on mesure la quantité d'oxygène consommée. La DBO5 est en fait une mesure de la fraction organique de la demande chimique en oxygène (DCO) (**Baumont et al., 2009**). Elle se résume à la réaction chimique suivante :

Substrat + micro-organisme + O<sub>2</sub> → CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + énergie + biomasse (**Metahri, 2012**).

#### 4.1.8. Demande chimique en oxygène (DCO)

DCO correspond à la quantité d'oxygène (mg/l) consommée par voie chimique pour oxyder toutes les matières oxydables présentes dans l'eau. Ce paramètre est particulièrement utilisé pour évaluer la pollution des effluents industriels (**Bedouh, 2014**).



# **Chapitre II**

## Tests de génomotoxicité

### 1. Définition de génotoxicité

La génotoxicité, également connue sous le nom de toxicité génétique, fait référence à la capacité de certains agents physiques, chimiques ou biologiques à endommager l'ADN, ce qui peut entraîner des mutations génétiques si ces lésions ne sont pas réparées. Ces agents sont qualifiés de mutagènes. Les génotoxiques sont des molécules qui exercent un effet toxique sur le génome en altérant le matériel génétique, ce qui peut se produire de manière directe, induisant des mutations géniques ou chromosomiques, ou de manière indirecte, comme la modification de la structure des nucléotides avant leur incorporation dans l'ADN, ou encore en inhibant des enzymes de synthèse ou de réparation telles que l'ADN polymérase, les ligases, les topoisomérases, etc., conduisant à des mutations génomiques (Cachot et Dégremont, 2009 ; Fasla, 2009).

### 2. Utilisation de plantes supérieures en génotoxicité

Actuellement, parmi les espèces végétales supérieures utilisées pour évaluer la contamination environnementale, on retrouve fréquemment *Allium cepa*, *Vicia faba*, *Zea mays*, *Tradescantia*, *Nicotiana tabacum*, *Crepis capillaris* et *Hordeum vulgare* (Grant, 1994). En outre, parmi ces espèces, *Allium cepa* est particulièrement reconnue pour son aptitude à détecter les dommages et les perturbations chromosomiques. Ses conditions chromosomiques, notamment la présence de grands chromosomes en nombre réduit ( $2n = 16$ ), facilitent la détection des altérations du cycle mitotique (Fiskesjo, 1985).

### 3. Différents tests de génotoxicité associés aux plantes supérieures

#### 3.1. Test des aberrations chromosomiques

Le test des aberrations chromosomiques (AC) implique l'examen au microscope optique pour détecter des anomalies telles que des cassures de chromosomes avec ou sans délétion, des modifications de structures et d'appariements, ainsi que des erreurs survenues lors de la mitose. Une augmentation de la fréquence des aberrations chromosomiques est corrélée à un risque accru de développer un cancer (Tarantini, 2009).

##### 3.1.1. Test des aberrations chromosomiques dans les racines d'*Allium cepa*

###### 3.1.1.1. Présentation générale d'*Allium*

*Allium cepa* ( $2n=16$ ), communément appelé l'oignon, appartient à la famille des alliacées. Cette plante est largement cultivée dans de nombreux pays pour son utilisation alimentaire. Son caryotype présente cinq paires de chromosomes, avec des tailles variant de 8

à 16 micromètres, et les centromères sont situés de manière médiane à submédiane. Deux paires de chromosomes présentent des centromères submédians, tandis qu'une paire possède des chromosomes satellites. Les différentes variétés d'oignon, telles qu'une variété à petits bulbes, une variété américaine à gros bulbes jaunes, et une troisième variété mexicaine à petits bulbes, connue en France sous le nom d'oignon blanc printanier, peuvent être utilisées à des fins d'évaluation. *Allium cepa* est couramment employé pour évaluer divers critères de toxicité et de génotoxicité. En ce qui concerne la toxicité, l'élongation racinaire d'*Allium cepa* est souvent mesurée conjointement avec les études de génotoxicité. Ce critère présente une meilleure reproductibilité et une facilité de mesure accrue, car les racines d'*Allium* poussent de manière très homogène et forment un ensemble de racines de longueur égale (Tabet, 2015). Le tableau 2 présente la classification systématique de l'oignon (*Allium cepa*).

**Tableau 2:** Classification systématique de l'oignon (*Allium cepa*) (Bedouh, 2014).

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

### 3.1.1.2. Critères de génotoxicité déterminés sur *Allium cepa*

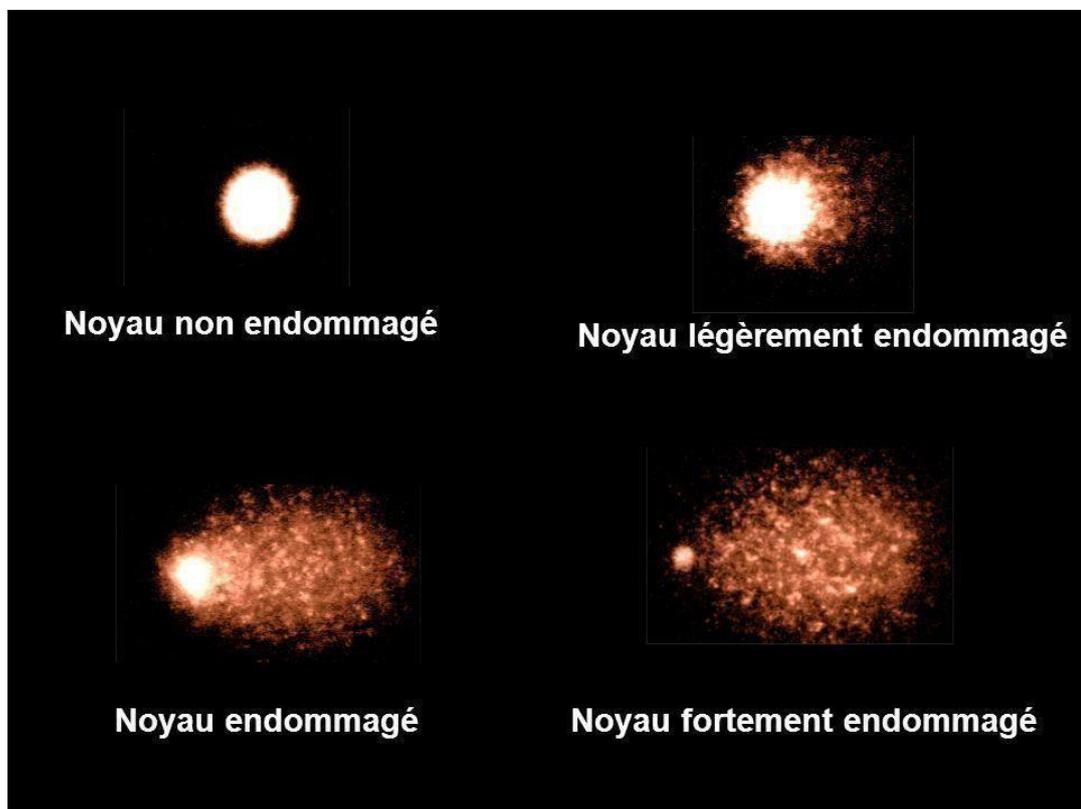
Le premier critère de génotoxicité à avoir été analysé est la fréquence AC dans les années 1930. Il existe différents types AC : ponts (chromosome(s) qui ne migre(nt) pas correctement lors de l'anaphase), C-mitose (les agents c-mitotiques ou colchicomitotiques induisent un effet similaire à celui induit par la colchicine, c'est-à-dire la non construction du fuseau mitotique, ce qui a pour conséquence de disperser les chromosomes en C métaphase), etc... Les AC sont comptés dans les cellules en mitose et peuvent être détectées lors des différents stades : la métaphase, l'anaphase ou la télophase (Cotelle, 1999).

### 3.2. Test de comète

Le test des comètes, également connu sous le nom anglais de « single cell gel electrophoresis » ou SCGE, est un outil essentiel pour étudier la génotoxicité à l'échelle cellulaire de substances sur tout tissu vivant composé de cellules eucaryotes (**Foltete, 2010**).

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 et reste sous forme super enroulée, il se présentera sous forme d'une sphère compacte. En revanche, si l'ADN a subi des dommages, les noyaux présentant des cassures adopteront une forme de comète (**Fig.02**) (**Soughir, 2009**).

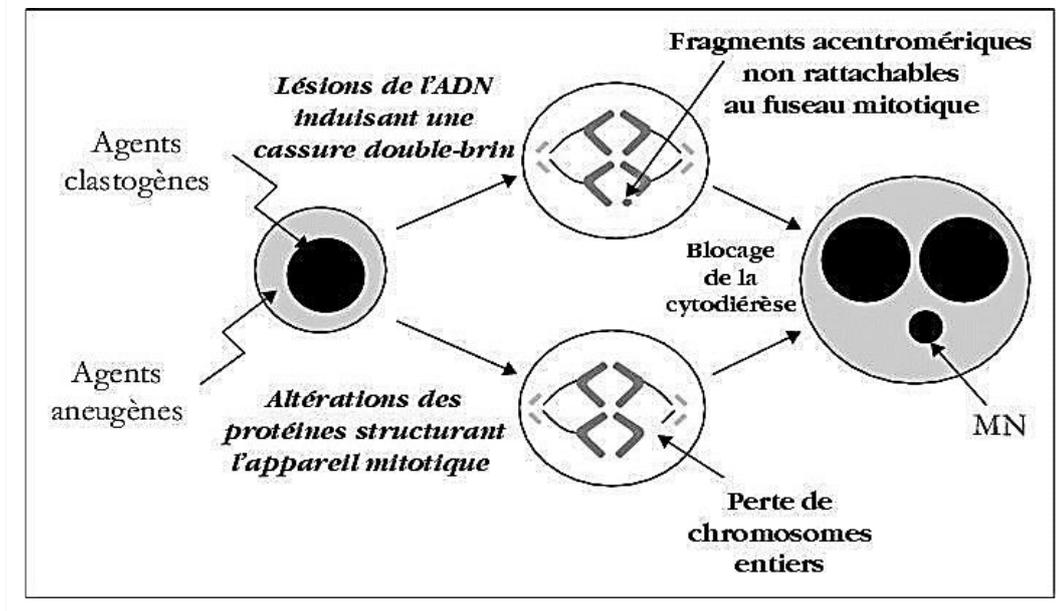


**Figure 2:** Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de l'ADN (**Moche, 2015**).

### 3.3. Test du micronoyau

L'induction de micronoyaux *in vitro* est l'un des tests de mutagénicité utilisés pour détecter la capacité de tout agent physique ou chimique à provoquer la formation de petits noyaux (micronoyaux) dans le cytoplasme des cellules en interphase (**Soughir, 2009**). Ce test évalue l'exposition à des agents clastogènes et/ou aneugènes (**Fig.03**). L'observation

microscopique des cellules-filles après coloration à l'acéto-orceine permet le dénombrement de ces micronoyaux (Ortega, 2004).



**Figure 3:** Schématisation de la formation des micronoyaux (Darolles, 2010).

### 3.4. Test des échanges de chromatides sœurs

L'échange entre chromatides soeurs (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 soeurs 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) pendant deux cycles de réplication. Ensuite, après traitement avec un agent inhibiteur du 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 à l'aide de la procédure de fluorescence (Russo, 2000).



# **Partie**

# **expérimentale**



# **Chapitre III**

## **Matériel et Méthodes**

Ce travail a pour objectif l'évaluation de la génotoxicité des eaux usées urbaines de la ville de Guelma, en utilisant le test des aberrations chromosomiques dans les racines d'*Allium cepa*.

La partie pratique de notre travail a été réalisée au sein du laboratoire pédagogique de notre faculté et les analyses physicochimiques ont été effectuées au niveau du laboratoire de la STEP de la ville de Guelma.

### 1. Description de la STEP des eaux usées de la ville de Guelma

#### 1.1 Présentation et Localisation

La STEP a été créée en 2008 et occupe un terrain agricole de 8 ha. Elle se situe à 1 km environ au Nord de la ville sur le flanc droit de la vallée développée par l'Oued Seybouse et sur la route nationale N° 21 menant à Annaba à la sortie de l'agglomération (ONA, 2011) (Fig.04).

La STEP est alimentée par 02 conduites de refoulement :

- SR1 : alimentée par Oued ElMaiz, avec un débit de 1575m<sup>3</sup>/h.
- SR2 : alimentée par Oued Skhoun, avec un débit de 1125m<sup>3</sup>/h.



**Figure 4:** Localisation de la station d'épuration de la ville de Guelma (Google Earth, 2024).

## **1.2. Etapes du traitement d'épuration**

### **1.2.1. Prétraitement**

Les prétraitements visent à éliminer les éléments les plus gros qui pourraient entraver les étapes suivantes et causer des dommages aux équipements. Cela inclut les déchets volumineux (dégrillage), les sables et graviers (dessablage), ainsi que les graisses (dégraissage-déshuilage) (**Parveau, 2011**) (**Fig.05**).

#### **1.2.1.1. Dégrillage**

Pendant le processus de dégrillage, les eaux usées passent à travers une grille dont les barreaux, espacés à des degrés divers, capturent les éléments les plus volumineux et flottants transportés par l'eau brute. Ceci vise à prévenir toute altération de l'efficacité des étapes de traitement subséquentes ou à éviter toute complication dans leur mise en œuvre. De plus, le dégrillage sert à protéger la station contre l'arrivée inopportune d'objets volumineux susceptibles de causer des obstructions dans les différentes unités de l'installation. Les éléments retenus sont ensuite éliminés en même temps que les déchets ménagers (**Metahri, 2012**).

#### **1.2.1.2. Dessablage**

Pour prévenir les dépôts dans les canalisations, protéger les organes mécaniques (pompes) contre l'abrasion et éviter de perturber les autres étapes de traitement. Les sables, recueillis généralement par raclage en fond de bassin, sont recyclés (**Attab, 2011**).

#### **1.2.1.3. Dégraissage -Déshuilage**

Le déshuilage et le dégraissage sont des processus distincts : le déshuilage implique une séparation entre deux liquides, tandis que le dégraissage sépare les solides des liquides (à condition que la température de l'eau soit assez basse pour solidifier les graisses). Ces deux méthodes ont pour but d'éliminer les corps gras des eaux usées, susceptibles de compromettre l'efficacité du traitement biologique qui intervient en suite (**Metahri, 2012**).



**Figure 5:** Prétraitement (Photo personnelle, 2024).

### 1.2.2. Traitement primaire (décantation primaire)

Dans ce cas, la séparation gravitaire ne concerne que les particules ayant un diamètre supérieur à 100 micromètres. Celles dont le diamètre est inférieur à cette valeur ne décantent pas mais sont entraînées vers les étapes de traitement suivantes. Les bassins de décantation, généralement de forme cylindrique et à ciel ouvert, reçoivent l'effluent brut par un point central. Les matières en suspension dans l'eau, susceptibles de décantation, se déposent au fond du bassin où elles sont ensuite raclées par un pont radial tournant, tandis que les eaux de surface sont déversées. Les matières décantables ainsi obtenues, appelées boues primaires, sont récupérées et dirigées vers le traitement des boues (Tabet, 2015) (Fig.06).



**Figure 6:** Décanteur primaire.

### 1.2.3. Traitement secondaire (biologique)

Le traitement secondaire a pour objectif principal l'élimination des composés solubles d'origine organique. Parallèlement, la floculation 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. Celle-ci assimile alors la matière organique pour son propre développement (**Fig.07**) (**Metahri, 2012**).



**Figure 7:** Bassin d'aération.

## 2. Modalités de Prélèvement

Au niveau de la STEP de la ville de Guelma, des prélèvements instantanés sont réalisés au niveau de deux points : entrée de la station et la sortie de la station.

Les eaux usées ont été collectées durant les périodes suivantes : 13 Février 2024 (P1) et 16 Avril 2024 (P2). Les flacons contenant les échantillons des eaux usées à analyser sont transportés dans un environnement isotherme à 4 ° C.

### 3. Méthodes analytiques

#### 3.1. Méthodes d'analyses physicochimiques

##### 3.1.1. Paramètres physicochimiques in situ

La mesure du pH, la conductivité et la température a été effectuée à l'aide d'un multi paramètre de marque **WTW (Multi 1970i) (Fig.08)**.



**Figure 8:** Multi paramètre WTW (Multi 1970i).

##### 3.1.1.2. Matières en suspension

###### a. Principe

Les MES sont déterminées par filtration d'un volume d'eau usée sur filtre cellulosique (de 0,45  $\mu\text{m}$ ). L'eau est filtrée et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle (**Tabet, 2015**).

###### b. Matériel

- Dispositif de filtration sous vide ou sous pression (rampe).
- Membranes de filtration.

###### c. Mode opératoire

- Mettre les membranes filtrantes dans une étuve à 105°C pendant 20 min.
- Laisser refroidir dans le dessiccateur.
- Ensuite les peser soit P1 : poids des membranes avant filtration.
- Placer les membranes dans la rampe à filtration et faire passer 200 ml d'eau à analyser à travers.

- Rendre les membranes à l'étuve (à 105°C) afin de les sécher pendant 20 min.
- Les laisser refroidir au dessiccateur puis les peser une 2ème fois. Soit P2 = poids des membranes après filtration.

#### d. Expression des résultats

$$\text{MES (mg/l)} = (P2-P1) \times 5 \times 1000.$$

### 4. Etude génotoxique (test d'*Allium cepa*)

#### 4.1. Matériel biologique

La plante *Allium cepa* est le matériel végétal utilisé dans ce travail. Les bulbes d'oignon *Allium cepa* (2n = 16) ont été achetés auprès d'un marché turc.

#### 4.2. Test des aberrations chromosomiques

L'étude génotoxique des échantillons d'eaux usées a été réalisée par le test AC sur *Allium cepa*, le protocole de ce test est inspiré de celui de (Liman et al., 2010).

##### 4.2.1 Traitement des bulbes

Il s'agit de placer 15 bulbes d'oignon dans de l'eau distillée à température ambiante pendant 48h à l'obscurité dans un endroit aéré. Ensuite, des séries de cinq bulbes en croissance sont placées pendant 24 h dans des gobelets contenant, les échantillons à tester (eau brute et eau épurée) et l'eau distillée (contrôle négatif), de façon à ce que seules les racines soient immergées (**Fig.09**). Pour le contrôle positif, on a utilisé les résultats cités dans les travaux de Tabet et al., en 2015.



**Figure 9:** Culture des bulbes dans l'eau distillée.

#### 4.2.2. Elongation racinaire

L'élongation racinaire a été calculée en mesurant la longueur des racines des bulbes d'oignons après 24 h de l'exposition aux trois solutions à tester : eau distillée, eau brute et eau épurée. Il s'agit donc de mesurer les longueurs de cinq racines de chaque bulbe en calculant la moyenne des racines.

#### 4.2.3. Fixation et coloration des extrémités racinaires

Les racines sont nettoyées à l'eau distillée, puis les deux derniers centimètres sont prélevés et fixés à 4 ° C pendant au moins une nuit dans un mélange éthanol/acide acétique glacé (3v :1v) préparé au préalable. Ce mélange, connu sous le nom de solution de Carnoy, est extrêmement instable. S'il n'est pas préparé au moment de l'utilisation, il peut être estérifié. 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. Ensuite, les extrémités racinaires sont conservées dans 2,5 ml d'éthanol à 70% à 4 ° C.

Les extrémités des racines sont ensuite immergées dans de l'eau distillée pendant dix minutes, hydrolysées dans de l'HCl 1N pendant 8 min à 60 ° C (**Fig.10**).



**Figure 10:** Hydrolyse des racines dans l'HCl.

Puis transférées dans l'eau distillée pendant 5 minutes avec le changement de l'eau 3 fois (5minutes/fois).

Pendant 20 à 25 minutes, les racines sont ensuite colorées à l'obscurité avec le réactif Feulgen (Fig.11).



**Figure 11:** Coloration des racines par le Feulgen.

Après la coloration, les racines sont ensuite immergées pendant deux minutes dans de l'eau distillée.

Après cela, les racines sont placées sur les lames après avoir passé un bref passage sur papier whatman sans coupé la pointe ou la coiffe de la racine. Il est important de séparer la partie foncée de la partie claire. La coiffe est coupée en très petits morceaux avec un scalpel. La préparation est obtenue en écrasant les racines avec une goutte d'acide acétique glacial à 45 % en plaçant la lamelle et en appuyant physiquement sur un papier filtre. Après cette étape, appliquez du vernis à ongle transparent pour fermer les lamelles et empêcher la solution de s'évaporer (Fig.12).



**Figure 12 :** Préparation microscopique des racines traitées.

### 5. Examen microscopique

L'observation des cellules racinaires a été effectuée au microscope marque OPTIKA (Objectif×40) pour le calcul de l'indice mitotique (IM) et (Objectif ×60) pour la fréquence des AC.



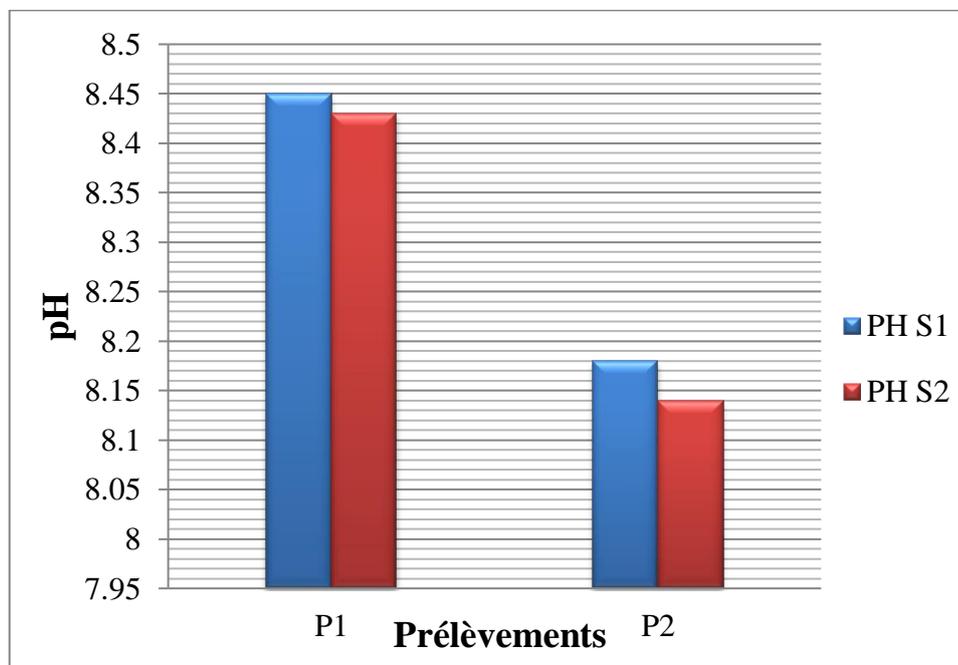
# **Chapitre IV**

## **Résultats et Discussion**

## 1. Résultats des Analyses physicochimiques

### 1.1. pH

La figure 13 représente les valeurs de pH obtenues au cours de cette étude. Les pH des échantillons d'eau prélevés varient entre (8.14 et 8.45).



**Figure13:** Variation des valeurs du pH des différents échantillons des eaux usées.

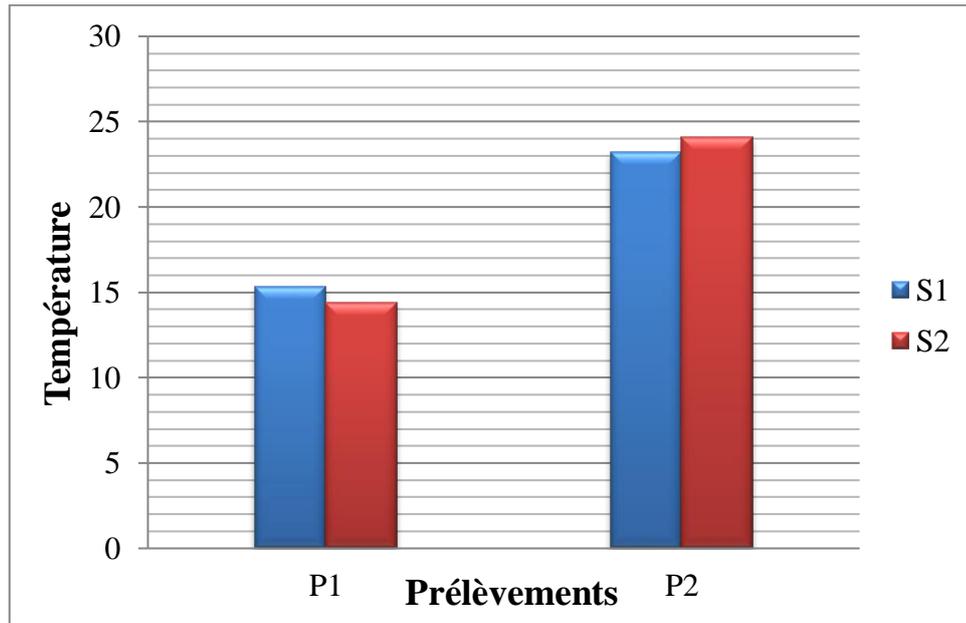
Les valeurs de pH mentionnées durant notre travail se rapprochent des normes de qualité de l'eau pour l'irrigation en Algérie (FAO, 2003) (Voir l'annexe 02). De plus, elles se situent généralement entre 6,5 et 8,5, considérées comme des limites acceptables pour les rejets directs dans l'environnement récepteur (JORA, 2006) (Voir l'annexe 02).

### 1.2. Température

La figure 14 représente les variations de la température au niveau de chaque site de prélèvement.

Pendant cette étude, les valeurs de la température varient entre (14,4°C et 24,1°C) avec une légère variation entre les deux sites d'étude.

Les températures élevées ont été enregistrées pendant P2 alors que les valeurs les plus basses ont été enregistrées pendant le mois de P1. Ces résultats soulignent une variation de la température entre les périodes étudiées.



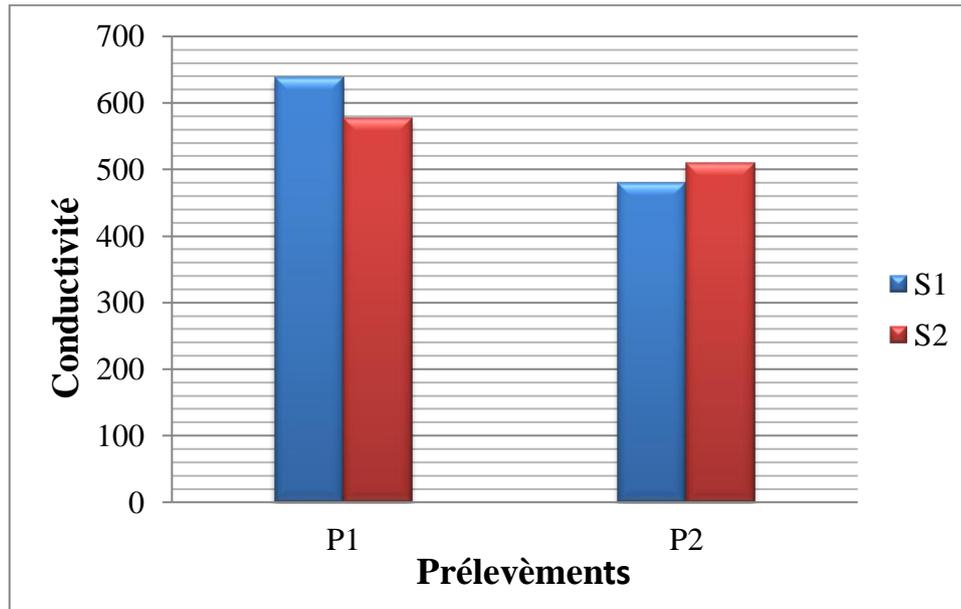
**Figure 14:** Variation de la température des différents échantillons des eaux usées.

Les températures relevées au cours de notre étude sont en dessous de la limite autorisée pour les rejets directs dans l'environnement récepteur (**JORA, 2006**). Et également elles sont inférieures à 35°C, considérée comme valeur limite indicative pour les eaux destinées à l'irrigation des cultures (**FAO, 2003**).

### 1.3. Conductivité

La figure 15 représente les variations de la conductivité des échantillons des eaux prélevées.

Les valeurs obtenues de la conductivité varient entre (480 $\mu$ S/cm et 639 $\mu$ S/cm). Ces deux valeurs demeurent inférieures aux normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation (**FAO, 2003**). Il semble que les niveaux de conductivité mesurés au cours de votre étude soient inférieurs à la limite autorisée pour les rejets directs dans l'environnement récepteur (**JORA, 2006**).



**Figure 15:** Variation des valeurs de la conductivité des différents échantillons des eaux usées.

#### 1.4. Matières en suspension

D'après la figure 16 il est remarqué que les concentrations en MES diminuent de l'entrée à la sortie de la station et ceci pendant les deux prélèvements.

La valeur de MES enregistrées à l'entrée de la station est de 100mg/l et 60 mg /l alors que celles de la sortie est de 88mg/l et 35mg/l, et ceci pendant P1 et P2 respectivement.

La valeur de MES des eaux épurées n'est pas conforme à la norme de rejet appliquée en l'Algérie (<35 mg/l) (**JORA, 2006**).

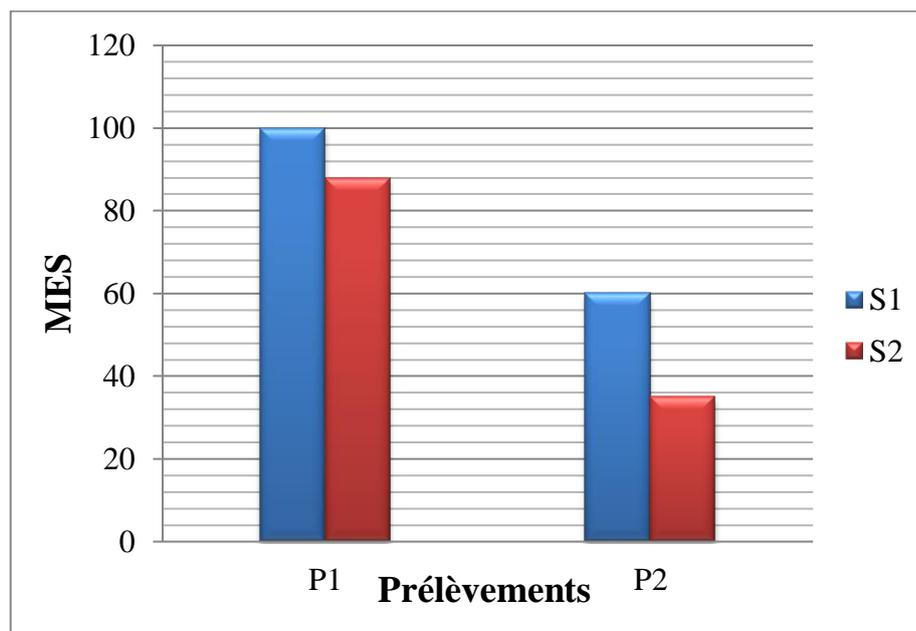


Figure 16: Variation des valeurs de MES des différents échantillons des eaux usées.

2. Résultats du test de génotoxicité (Test d'Allium)

L'étude de la cytotoxicité et la génotoxicité des échantillons d'eaux usées prélevés de la STEP de Guelma a été examinée par trois critères : la longueur racinaire, l'IM et par la fréquence des AC dans les racines d'Allium cepa.

2.1. Longueur des racines

Les résultats de la longueur racinaire des bulbes traités sont présentés dans le tableau 03 et la figure 17. Les racines d'Allium cepa exposées au contrôle négatif avaient une longueur moyenne (1,82±1,01) et celles exposées au contrôle positif avaient une longueur moyenne (1,1±0,22).

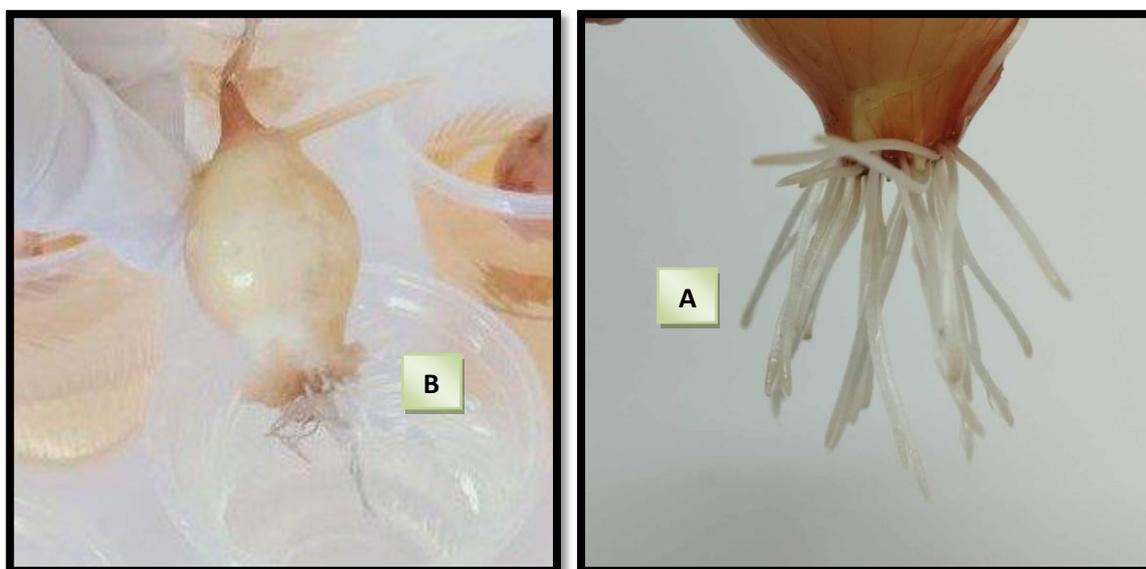
Une diminution de la longueur des racines a été enregistrée pour les échantillons d'eaux brutes (1,28±0,19 et 1,12±0,84) et les eaux épurées (1,76±0,75et 1,72±0,61) et ceci pendant P1 et P2 respectivement. Cette diminution indique une inhibition de la croissance des racines qui est liée à l'activité méristématique apicale et à l'allongement des cellules pendant la différenciation (Webster and Macleod, 1996 ; Fusconi et al., 2006 ; Liman et al., 2010). Les résultats obtenus sont en accord avec ceux cités par Tabet et al., 2015.

Tableau 3: Résultats de la longueur des racines d'Allium cepa

--	--	--

Traitement	P1	P2
<b>E.B</b>	1,28±0,19	1,12±0,84
<b>E.E</b>	1,76±0,75	1,72±0,61
<b>Contrôle négatif</b>	1,82±1,01	
<b>MMS</b>	1,1±0,22	

E.B : eaux brute, E.E : eaux épurée, MMS : contrôle positif, P : prélèvement  
SD : écart type.



**Figure 17:** Racines d'*Allium cepa* du contrôle négatif (A) et des échantillons testés (B).

## 2.2. Indice mitotique

Les niveaux de cytotoxicité d'un agent sont déterminés par l'augmentation ou la diminution de l'IM. Des IMs inférieurs au témoin négatif peuvent indiquer que la croissance et le développement des organismes exposés ont été affectés par les échantillons testés. D'autre part, l'augmentation d'IM résulte de l'induction de la division cellulaire et peut être caractérisée comme un événement préjudiciable aux cellules en entraînant à la fois une prolifération incontrôlée et la formation de tumeurs (Hoshina, 2002 ; Liman et al., 2010).

Les résultats de l'IM des racines d'*Allium cepa* et du pourcentage des phases mitotiques sont présentés dans le tableau 04.

La valeur maximale de l'IM a été enregistrée pour le contrôle négatif ( $22,99 \pm 2,82$ ) tandis que la valeur minimale ( $6,81 \pm 0,89$ ) a été obtenue pour le contrôle positif MMS. Une diminution dans l'IM a été enregistrée pour tous les échantillons d'eaux prélevés (Eau brute :  $12,22 \pm 1,63$  et Eau épurée :  $18,30 \pm 1,88$ ) et ceci par rapport à l'IM du contrôle négatif.

La diminution de l'IM enregistrée durant cette étude pourrait être due à la présence de certaines substances cytotoxiques dans nos échantillons (tels que les métaux lourds, les nitrites, etc...), qui peuvent provoquer un effet inhibiteur significatif sur la division cellulaire (Leme et Marin-Morales, 2009 ; Radić et al., 2010). Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par Tabet et al., 2015 et Kassa en 2021.

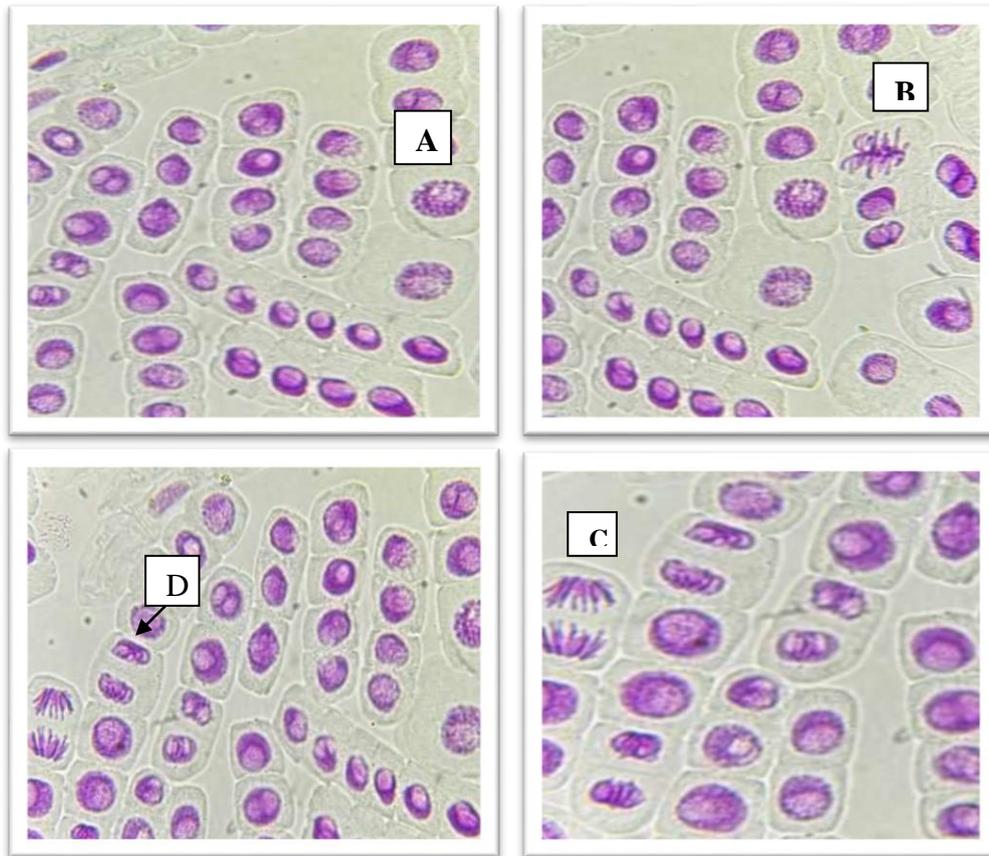
**Tableau 4:** Effet des échantillons testés sur l'IM et les phases mitotiques.

Traitement	N.C.C	IM $\pm$ SD	Phases mitotiques (%) $\pm$ SD			
			Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase
<b>E.B</b>	5198	$12,22 \pm 1,63$	$55,30 \pm 5,03$	$6,85 \pm 2,85$	$4,17 \pm 0,81$	$13,18 \pm 2,71$
<b>E.E</b>	5213	$18,30 \pm 1,88$	$67,80 \pm 7,80$	$3,16 \pm 1,21$	$2,97 \pm 0,92$	$13,65 \pm 1,60$
<b>Contrôle négatif</b>	5109	$22,99 \pm 2,82$	$78,21 \pm 2,29$	$6,88 \pm 1,08$	$3,29 \pm 0,83$	$11,86 \pm 1,07$
<b>MMS</b>	5194	$6,81 \pm 0,89$	$57,6 \pm 5,65$	$13,84 \pm 3,8$	$8,63 \pm 3,56$	$19,9 \pm 4,85$

NCC : nombre de cellules comptées, SD : écart type

Les échantillons d'eaux usées testés ont induit une modification du pourcentage des phases mitotiques par rapport au contrôle négatif. Les valeurs du pourcentage des phases mitotiques du contrôle négatif étaient de  $78,21 \pm 2,29\%$  pour la prophase,  $6,88 \pm 1,08\%$  pour la métaphase,  $3,29 \pm 0,83\%$  pour l'anaphase, et  $11,86 \pm 1,07\%$  pour la télophase. Une réduction du pourcentage de cellules en prophase a été observée pendant toute la période d'étude. Cette diminution indique un effet mito-dépressif de quelques micropolluants organiques et inorganiques, pourrait interférer avec le développement normal de la mitose, ce qui empêche un certain nombre de cellules de pénétrer dans la prophase et en bloquant le cycle de la mitose durant l'interphase (Yıldız et al., 2009).

. La figure 18 représente les différentes phases observées durant notre étude.



**Figure 18:** Les phases mitotiques des racines d'*Allium cepa* (X640) , (A) prophase, (B) métaphase, (C) anaphase, (D) télophase.

### 2.3. Aberrations chromosomiques

Durant notre étude, le potentiel génotoxique des eaux usées a été évalué par l'apparition des AC dans les racines d'*Allium cepa*. Ces anomalies sont caractérisées par des changements dans la structure des chromosomes ou dans le nombre total de chromosomes, Cette modification peut se produire à la fois spontanément ou à la suite d'une exposition à des agents chimiques ou physiques (Leme et Marin-Morales, 2009).

Les résultats obtenus ont montré que tous les échantillons testés ont provoqué des AC dans les racines traitées et ceci pendant les deux prélèvements (Tab.05), (Fig.19).

**Tableau 5:** Pourcentage des AC détectées dans les racines d'*Allium cepa*.

Traitement		NCC	V%	C%	PAT%	PC%	AT%±SD
<b>P1</b>	E.B	554	0,72	1,36	4,32	4,68	11,08±2,02
	E.E	573	0,79	1,63	4,7	0,5	7,62±1,77
<b>P2</b>	E.B	515	0,68	0,79	3,67	2,11	7,25±1,39
	E.E	522	0,52	0,92	0,28	2,85	4,57±1,16
<b>Contrôle négatif</b>		525	0,81	1,37	0,45	0,7	3,3±0,38
<b>MMS</b>		586	0,7	0,84	4,21	1,63	7,38±0,61

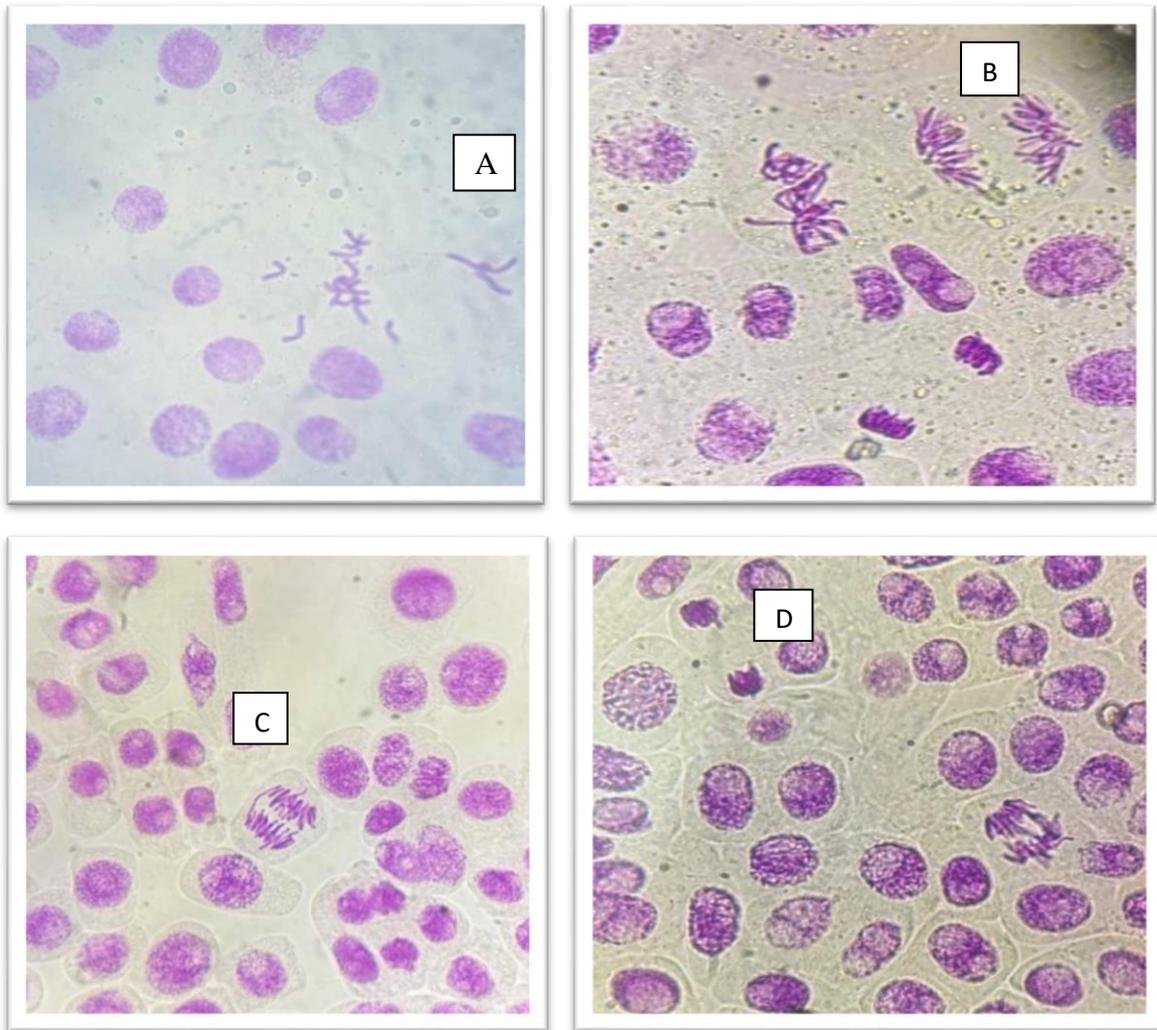
NCC : nombre de cellules comptées, SD : écart type, PAT : Perturbation Anaphase-Télophase, V : Vagabond, C : Condensation des chromosomes, PC : Pont chromosomique, AT: Anomalies Totales.

Dans le premier prélèvement, les échantillons d'eau brute ont présenté le pourcentage le plus élevé d'anomalies chromosomiques, avec une valeur moyenne de  $11,08 \pm 2,02$  %. En revanche, lors du deuxième prélèvement, c'est le MMS qui a affiché le pourcentage le plus élevé, avec une valeur moyenne de  $7,38 \pm 0,61$  %. En comparaison, le pourcentage le plus

Faible d'anomalies chromosomiques a été observé pour le contrôle négatif, avec une valeur moyenne de  $3,3 \pm 0,38$  %.

Pendant notre étude, nous avons observé que la perturbation de l'anaphase-télophase (PAT) était l'anomalie la plus fréquente. En plus de cela, nous avons également noté la présence d'autres aberrations telles que la condensation des chromosomes, les chromosomes vagabonds et les ponts chromosomiques. Il est possible que les anomalies chromosomiques observées, telles que PAT et les chromosomes vagabonds, soient induites par l'impact des échantillons d'eaux usées sur la formation des microtubules. Ce dysfonctionnement pourrait résulter de l'inhibition de la polymérisation de la tubuline (**Liman et al., 2010**).

L'observation des AC dans les racines traitées est due à la présence de certains micropolluants génotoxiques (tels que les métaux lourds (Nickel, Aluminium, Manganèse, Lithium, Cu et Cd), les produits pharmaceutiques, etc...) dans nos échantillons. Ces résultats sont en accord avec des études qui ont montré que ces substances peuvent induire des AC (**Leme et Marin-Morales, 2009 ; Tabet et al., 2015 ; Kassa et al., 2021**)



**Figure 19:** Aberrations chromosomiques détectées dans les racines d'*Allium cepa*(X960).

(A) : chromosome vagabond, (B) : PAT, (C) : ponts chromosomiques. Et (D) :  
condensation des chromosomes.



# **Conclusion**

### Conclusion

La pollution des ressources en eau peut provenir de diverses sources, telles que les activités domestiques, urbaines, industrielles, agricoles et naturelles. Afin de prévenir la pollution des eaux usées, il est essentiel de les traiter par des méthodes biologiques avant de les déverser dans l'environnement naturel.

Ce travail est basé sur l'évaluation de la génotoxicité des eaux usées brutes et épurées de la STEP de la ville de Guelma, en utilisant le test des aberrations chromosomiques dans les racines *d'Allium cepa*. Durant notre étude, certains paramètres physico-chimiques ont été également mesurés (pH, température, conductivité et MES).

Les résultats de température et de conductivité des échantillons indiquant que les valeurs obtenus sont inférieures aux normes pour le rejet direct dans l'environnement récepteur. En revanche, les valeurs de pH sont proches des limites réglementaires. Les résultats des MES ont révélé que les valeurs obtenues durant cette étude sont supérieures à celles exigées par JORA.

Les résultats de l'étude génotoxique ont montré que tous les échantillons testés exercent un effet cytotoxique et génotoxique sur les racines *d'Allium cepa* mais avec une différence dans l'intensité des réponses. Les eaux usées brutes présentent une toxicité notable, se traduisant par une diminution marquée dans l'élongation racinaire et l'IM ainsi que l'apparition d'un pourcentage élevé d'anomalies chromosomiques (PAT, chromosome vagabond, condensation des chromosomes et pont chromosomique). Le taux d'inhibition observé chez les racines *d'Allium cepa* traitées par les eaux épurées pourrait être attribuable à la persistance de substances chimiques résiduelles qui résistent au traitement.

À la lumière de cette étude, il est évident qu'un seul test ne suffit pas à révéler pleinement les effets génotoxiques des substances, et donc à évaluer de manière exhaustive la qualité des traitements effectués au niveau des stations d'épuration. Il serait donc pertinent de compléter cette recherche par d'autres études utilisant des méthodes plus sophistiquées et précises pour obtenir une compréhension plus approfondie de la situation.



# **Références bibliographiques**

- **Attab S. (2011).** Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activées de la station d'épuration haoudberkaoui par l'utilisation d'un filtre à sable local. Mémoire de Magister. UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA, 152p.
- **Baumont S., Camard J. P. et 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).** Evaluation 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 de doctorat, Université de Limoges, 236p.
- **Cachot J., Dégrement C. (2009).** La génotoxicité : quel risque pour les espèces aquatiques ? 36p.
- **Chibani S. (2010).** Analyses physico-chimique et rhéologique des boues d'épuration des eaux usées de la ville de Guelma. Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université 08 Mai 1945 de GUELMA, 157p.
- **Collins A.R. (2004).** The Comet Assay for DNA Damage and Repair: Principles, Applications, and Limitations. MB 26, 249–261.
- **Cotelle S. (1999).** Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Thèse de doctorat, Université de Metz, 257p.
- **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 Facultés de médecine et de pharmacie, Spécialité: environnement et santé, 459p.
- **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.

- **Eddabra R. (2011).**Évaluation de la contamination bactériologique des eaux usées des stations d'épuration du grand Agadir : isolement, caractérisation moléculaire et antibioresistance 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, 146p.
- **FAO. (2003).** L'irrigation avec des eaux usées traitées : Manuel d'utilisation. Pp 73.
- **Fasla B. (2009).** évaluation du potentiel antimutogène et génotoxique de plantes médicinales et analyse phytochimique .Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université d'Oran Es-Sénia.172p.
- **Fiskesjo G. (1985).** The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. Hereditas, 102, 99-112.
- **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.
- **Fusconi A., Repetto O., Bona E., Massa N., Gallo C., Dumas-Gaudot, E., Berta G. (2006).** Effect of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum sativum* L. Cv.Frisson seedlings. Environ. Exp. Bot. 58, 253–260.
- **Grant W. F. (1994).** The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. Mutation Research, 310 : 175-185.
- **Hoshina M.M. (2002).** Evaluation of a possible contamination of the waters of the Claro River-municipality of Rio Claro, part of the Corumbataí River basin, with the mutagenicity tests using *Allium cepa*. State University of São Paulo, Rio Claro, SP (in Portuguese).
- **Jolibois B., Guerbet M., Goullé J. P. and Lacroix C. (2009).** Effectiveness of two treatment plants to remove the genotoxicity of urban wastewater. Hospital Technology, 715, 63-68.
- **JORA. (2006).** Valeurs limites des paramètres de rejets effluents liquides industriels. Journal.
- **Kasa A. (2021).**Cytotoxicity and Genotoxicity evaluation of municipal wastewater discharged into the head of Blue Nile River using the *Allium Cepa* test, 11p.
- **Leme M. D. and Marin-Morales M. A. (2009).** *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Mutation Research, 682, 71–81.

- **Liman R., Akyl D., Eren Y. and Konuk M. (2010).** Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and *Allium* test. *Chemosphere*, 80, 1056–1061.
- **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 nano particulaire et étude de la génotoxicité de candidats nano vecteurs de médicaments, 221p.
- **ONA. (2011).** Descriptif de fonctionnement et d'exploitation de la station d'épuration de Guelma, Ministère des Ressources en Eaux, Office National de l'Assainissement, Algérie, 64p.
- **Ono Y., Somiya I., Kawaguchi T. and Mohri S. (1996).** Evaluation of toxic substances in effluents from a wastewater treatment plant. *Desalination*, 106, 255-261
- **Ortega E.M.I. (2004).**Genotoxicity tests: Usefulness in occupational health Difficulties encountered in their application to the worker's medical survey. *Arch Public Health* 62, 71–81.
- **Parveau P. (2011).** Bactéries multi résistantes 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.
- **Russo A. (2000).** In vivo cytogenetics: mammalian germ cells. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 455, 167–189.
- **Radic S., Stipanicev D., Vujcic V., Rajcic M. M., Sirac S. and Pevalek-Kozlina B. (2010).** The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. *Science of the Total Environment*, 408, 1228–1233.
- **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.

- **Tarantini A. (2010).** Modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges, Life Sciences, Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 175p.
- **Webster P.L., MacLeod R.D. (1996).** The root apical meristem and its magrin. In: Waishel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (Eds.), Plant Roots. The Hidden Half, second ed. Marcel Dekker, New York, pp. 51–76.
- **Yıldız M., Hakkı C. I., Konuk M., Fatih F. A. and 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



# **Annexes**

## Annexe I

### Matériel

- Microscope optique
- Lame et lamelle
- Eprouvette
- Bécher
- Entonnoir
- Burette d'acide
- Pipette
- Les Tube à essai
- Pissette
- Compte-goutte
- Balance
- Les Flcon
- Agitateur chauffant
- Papier filtre
- Pince
- Les boites de pétri en verre
- Papier whatman
- Gobelets
- Cure dents

## Annexes

---

### La solution HCl (1N)

#### Préparation de 100 ml

HCl.....8.17 ml

Eau distillé.....91,83 ml

#### Préparation

- ✓ Dans une éprouvette, il convient d'ajouter d'abord un peu d'eau distillée pour prévenir la chaleur exothermique produite par l'HCl, puis d'incorporer 8,17 ml d'HCl. Compléter ensuite avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume total de 100 ml afin d'obtenir une solution d'HCl à 1N.

### Solution d'acide acétique glacial 45%

#### Préparation de 100 ml

Acide acétique glacial ..... 45 ml

Eau distillé l ..... 55 m

#### Préparation

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

### Solution Ethanol 70%

#### Préparation de 100 ml

Éthanol absolu..... 70 ml

Eau distillée .....30 ml

#### Préparation

- ✓ Préparer 70 ml d'éthanol 100 %. Compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre 100 ml.

## Annexes

---

### Solution de Carnoy

#### Préparation de 40 ml

Acide acétique glacial (1V) .....10ml

Éthanol absolu (3V) .....30 ml

Le Carnoy est composé d'éthanol et d'acide acétique glacial (3V /1V) c'est-à-dire volume d'éthanol 3fois d'acide.

### Colorant Feulgen

#### Préparation de 50ml

Fushine basique .....0,25g

Eau distillée .....50 ml

HCl.....5 ml

K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.....0,5g

#### Préparation

- ✓ Mélanger 0,25 g de fuchsine basique dans 50 ml d'eau distillée bouillante (100°C). Attendre 10 minutes jusqu'à ce que le mélange atteigne une température de 50°C, puis ajouter 5 ml d'une solution 1N d'HCl et mixer. Ajouter ensuite 0,5 g de métabisulfite de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) et agiter avec un agitateur. Couvrir la solution avec du papier aluminium et la conserver à 4°C pendant une nuit.
- ✓ Filtrer à l'obscurité à l'aide d'un papier filtre, puis conserver dans un flacon sombre.

## Annexe II

**Tableau I :** Les valeurs limites des paramètres de rejet dans un milieu récepteur et de rejet pour l'irrigation (JORA, 2006 ; Tabet, 2015)

Paramètre	Valeurs limites de rejet dans le milieu récepteur	Valeurs limites de rejet pour l'irrigation (FAO, 2003)	Unité
Température	30	35	°C
pH	6,5à 8,5	6,5-8,4	-
Conductivité	1,2	3	ms/cm
MES	35	<30	mg/l
DBO <sub>5</sub>	35	<25	mg/l
DCO	120	<40*	mg/l
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	/	50 <sup>**</sup>	
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	/	<3	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	/	<3	
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	/	<0,94	
Azotekjeldahl	30	/	mg/l
Azote total	/	<50	
Phosphore total	02	/	mg/l
Phosphates	10	<02	mg/l
Cyanures	0,1	/	mg/l
Aluminium	03	5.0	mg/l
Cadmium	0,2	1.0	mg/l
Fer	03	5.0	mg/l
Manganèse	01	0.2	mg/l
Plomb total	0,01	5.0	mg/l
Cuivre total	0,5	0.2	mg/l
Mercure total	0,5	/	mg/l
Nickel total	0,5	0.2	mg/l
Zinc total	03	/	mg/l
Huiles et Grasses	20	<20	mg/l
Hydrocarbures totaux	10		mg/l
Indice phénols	0,3		mg/l
Fluore composes	15		mg/l
Chrome total	0,5		mg/l
Chrome III+	03		mg/l
Chrome VI+	0,1		mg/l
Solvants organiques	20		mg/l
Chlore actif	1,0		mg/l
PCB	0,001		mg/l
Détergents	2		mg/l
Tensioactif anioniques	10		mg/l
Composés organiques chlorés	05		mg/l
Etain total	02		mg/l