

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 8 MAI 1945-GUELMA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Laboratoire de Biologie, Eau et Environnement

Département d'Écologie et Génie de l'Environnement



THÈSE :

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat 3^{ème} cycle en Sciences Biologiques

Option : Santé, Eau et Environnement

**Traitement des eaux de surface et les risques
génotoxiques des sous-produits de chloration**

Présentée par :

ABDA Ahlem

Devant le jury

Président:	M. HOUHAMDI	Prof	Université de Guelma
Directeur de thèse:	D.E. BENOURETH	Prof	Université de Guelma
Examinatrice:	D. GACEMI-KIRANE	Prof	Université d'Annaba
Examineur:	H. FERIHI	Prof	Université d'Annaba
Examineur:	Z. BRANES	Prof	Université d'Annaba
Examinatrice:	N. GRARA	M.C.A	Université de Guelma

Année Universitaire 2014/2015

Remerciements

Au terme de ce travail, c'est avec émotion que je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont cru en moi et qui m'ont permis d'arriver au bout de cette thèse

Je tiens tout d'abord à exprimer mes plus vifs remerciements à Mr BENOUARETH D. E Professeur à l'université de Guelma qui fut pour moi un directeur de thèse attentif et disponible malgré ses nombreuses charges. Sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris, j'espère avoir été digne de la confiance qu'il m'ait accordée et que ce travail est finalement à la hauteur de ses espérances. Qu'il en soit, j'ai beaucoup appris à ses côtés et je suis très honoré de l'avoir eu pour encadrant.

Mes remerciements vont également pour Mr HOUHAMDI M professeur à l'université de Guelma et directeur de laboratoire Biologie, Eau et Environnement, Vous me fait le très grand honneur de présider ce jury de thèse. Je remercie vivement Mr BRANES Z, Mme GACEMI-KIRANE D, Mr FRIHI et Mme GRARA N qui ont bien voulu examiner ce travail.

Je remercie plus particulièrement TABET Mouna pour nos nombreuses discussions sur le travail et pour son aide au cours toute la période de la réalisation de la thèse. Je voudrais aussi remercier Mme KHALEF M pour son aide au cours de la réalisation de la partie pratique de ma thèse.

Un merci tout particulier à Mr HILALI A. R., professeur à l'université de Hassen 2^{ème} au Maroc, à Mr RECEP L et Mr MUHSIN K de l'université d'Afyon Turquie et Mr TAHER Ali professeur à l'université d'Annaba pour l'aide inconditionnelle qu'ils m'ont apportée durant la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire de la station de traitement des eaux potables de la ville de Guelma et de l'Université 08 Mai 1945, Guelma.

Ces remerciements seraient incomplets si je n'en adressais pas à l'ensemble des MEMBRES de la formation doctorale : Santé, Eau et Environnement sans oublier l'ingénieure de laboratoire Abbas Leila pour leur soutien logistique et moral ainsi que pour la très bonne ambiance que j'ai toujours trouvée au laboratoire.

Les mots les plus simples étant les plus forts, j'adresse toute mon affection à mes parents qui m'ont toujours soutenu et aidé à réaliser mon rêve et pour leur appui et leur dévotion durant toutes ces années, merci pour avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Je remercie également toutes les personnes formidables de ma famille, et en particulier à ma spéciale tante Rachida, mes sœurs et mes frères. Est-ce un bon endroit pour dire ce genre de choses ? Je n'en connais en tous cas pas de mauvais. Je vous aime.

Mes derniers remerciements et non les moindres, s'adressent à mon mari. Il est simplement le pilier de toutes mes constructions et la base de mes projets. Son soutien a été sans faille et je lui serai éternellement reconnaissante. Il est la clef de ma réussite, sans il à mes côtés, cette réalisation n'aurait pas la même saveur.

Une pensée pour terminer ces remerciements pour toi qui n'a pas vu l'aboutissement de mon travail mais je sais que tu en aurais été très fier de ta nièces ! !

Introduction	01
---------------------------	----

La Partie Bibliographique

Chapitre 1 : Traitement des eaux de consommation

I. Différentes origines des eaux de consommation.....	03
I. 1 Eaux souterraines.....	03
I. 2 Eaux minérales.....	03
I. 3 Eaux de source.....	04
I. 4 Eaux de surface.....	04
II. Les indicateurs de pollution des eaux.....	05
II. 1 Indicateurs biologiques.....	05
II. 1. 1 Les indicateurs sanitaires.....	07
II. 1. 1. 1 Les coliformes fécaux et <i>E. coli</i>	08
II. 1. 1. 2 Les bactéries entérocoques.....	08
II. 1. 1. 3 Les indicateurs viraux	08
II. 1. 1. 4 Les indicateurs parasitaires	09
II. 1. 2 Les indicateurs de la qualité des eaux.....	09
II. 1. 2. 1 Les coliformes totaux.....	09
II. 1. 2. 2 Les BHAA et les colonies atypiques.....	10
II. 2 Indicateurs physico-chimiques	10
II. 2. 1 La turbidité	10
II. 2. 2 Le potentiel d'hydrogène (pH)	10
II. 2. 3 La minéralisation.....	11
II. 2. 4 Certains métaux	11
II. 2. 5 Les gaz dissous (H ₂ S)	11
II. 2. 6 L'Ammonium (NH ₄ ⁺).....	11
II. 2. 7 Les Nitrites (NO ₂ ⁻) et les nitrates (NO ₃ ⁻).....	12
II. 2. 8 La conductivité.....	12
II. 2. 9 La température (T°).....	12
II. 2. 10 L'Oxygène Dissous (OD)	12
II. 3 Indicateurs organiques.....	12
III. Les différents procédés de traitement	13

Chapitre 2 : Les sous-produits de chloration

I. Type de désinfectant.....	20
I. 1 Le chlore (Cl_2)	20
I. 2 Les monochloramines (NH_2Cl)	20
I. 3 L'ozone (O_3)	20
I. 4 Dioxyde de chlore (ClO_2)	20
II. La formation des sous-produits de désinfection	21
II. 1 La chimie du chlore	21
II. 2 Les précurseurs	24
II. 3 Formation et évolution des sous-produits de chloration	24
II. 3. 1 Mécanismes de formation	25
II. 3. 2 Paramètres affectant la formation des sous-produits de chloration.....	26
II. 3. 2. 1 La matière organique naturelles	26
II. 3. 2. 2 Ions bromures (Br^-).....	27
II. 3. 2. 3 La température.....	27
II. 3. 2. 4 Le pH.....	28
II. 3. 2. 5 Dose de désinfectant et concentration résiduelle	28
II. 3. 2. 6 Temps de séjour.....	29
II. Les différentes classes des sous-produits de désinfection.....	29
III. 1 Les sous-produits de chloration.....	29
III. 1. 1 Les trihalométhanes.....	29
III. 1. 2 Les acides haloacétiques.....	30
III. 1. 3 Acétonitriles halogénés.....	30
III. 1. 4 Autres sous-produits de chloration.....	30
III. 2 Sous-produits de chloramination	31
III. 2. 1 Le chlorure de cyanogène (CNCL)	31
III. 2. 2 Autres sous-produits de chloramination	31
III. 3 Sous-produits d'ozonation.....	31
III. 3. 1 Bromates	31
III. 3. 2 Formaldéhyde	32
III. 4 Sous-produits du dioxyde de chlore	32
III. 4. 1 Chlorates	32
III. 4. 2 Chlorites	32

IV. Effets mutagènes et/ou génotoxiques des sous-produits de désinfection.....	32
IV. 1 Les trihalomethanes.....	32
IV. 2 Les acides haloacétiques.....	33
IV. 3 Les acétonitriles halogénés.....	33
IV. 4 Les hydrates de chloral.....	33
IV. 5 Les chloracétone.....	33
IV. 6 Les chlorophénols.....	33
IV. 7 Les chlorohydroxyfurnones.....	34
IV. 8 Les bromates	34
IV. 9 Le formaldéhyde.....	34

Chapitre 3 : Les tests de mutagénèse

I. Tests de détection du pouvoir cancérigène	35
I. 1 Les tests procaryotiques	35
I. 1. 1 Test d'Ames.....	36
I. 1. 2 Le SOS chromotest.....	37
I. 2 Les tests eucaryotiques.....	37
I. 2. 1 Le test d'Allium.....	37
I. 2. 2 Le test des Comètes.....	38
I. 2. 3 Test des micronoyaux.....	39

La Partie Expérimentale

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

I. Collecte des données	41
I. 1 Site d'étude	41
I. 1. 1 Pré-chloration	41
I. 1. 2 Clarification	42
I. 1. 3 Post-chloration.....	44
I. 2 Echantillonnage	46
II. Protocol analytique	46
II. 1 Analyse des paramètres de la qualité des eaux	46
II. 1. 1 Paramètres physico-chimiques	46
II. 1. 1. 1 Paramètres mesurés sur le terrain	46
II. 1. 1. 2 Paramètres mesurés au laboratoire	47
II. 1. 2 Paramètres bactériologiques	47

II. 1. 2. 1 Recherche et dénombrement	48
II. 1. 2. 1. 1 Recherche et dénombrement des germes totaux (GT).....	48
II. 1. 2. 1. 2 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	48
II. 1. 2. 1. 3 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux....	49
II. 1. 2. 1. 4 Recherche et isolement des staphylocoques.....	49
II. 1. 2. 1. 5 Recherche et isolement des pseudomonas.....	50
II. 1. 2. 2 Identification biochimique	50
II. 2 Détermination de l'activité mutagène	50
II. 2. 1 Le test d'Ames	51
1. Principe.....	51
2. Matériel biologique	51
3. Contrôle de génotype bactérien.....	52
3. 1 Réclamation de l'Histidine	52
3. 2 La sensibilité aux UV	52
3. 3 La résistance à l'ampicilline (AMP) et la sensibilité au cristal violet	53
4. Confirmation des génotypes	53
4. 1 Activation des souches tests	53
4. 2 Procédure	54
5. La lecture	54
II. 2. 2 Le test d'Allium.....	54
1. Principe.....	54
2. Matériel biologique	54
3. Procédure	54
3. 1 Préparation des organismes végétaux	54
3. 2 Traitement des graines	55
3. 3 Fixation et coloration	55
4. L'examen microscopique	56
II. 2. 3 Le test des micronoyaux.....	56
1. Principe.....	56
2. Matériel biologique	56
3. Procédure	57

3. 1. Mise en culture	57
3. 2 Blocage de la division cellulaire	57
3. 3 Traitement cytologique	57
4. Observation.....	58
II. 3 Analyse statistique	58
Chapitre 5 : Résultats et discussion	
I.Résultats de l'analyse des paramètres de la qualité des eaux.....	59
I. 1 Les paramètres physico-chimiques.....	59
I. 1. 1 La température.....	60
I. 1. 2 Le pH.....	62
I. 1. 3 La turbidité.....	63
I. 1. 3 La conductivité électrique.....	64
I. 1. 4 L'oxygène dissous.....	65
I. 1. 5 La dureté totale.....	66
I. 1. 6 Les TDS.....	68
I. 1. 7 Les résidus secs.....	69
I. 1. 8 Les matières organiques naturelles.....	70
I. 1. 9 Le chlore résiduel	71
I. 1. 10 Le calcium (Ca^{++}).....	72
I. 1. 11 Le magnésium (Mg^{++})	73
I. 1. 12 Les chlorures (Cl^-).....	74
I. 1. 13 Les Sulfates (SO_4^{2-}).....	75
I. 1. 14 Les ortho Phosphates (PO_4^{3-}).....	76
I. 1. 15 Le Fer total (Fe^{2+}).....	77
I. 1. 16 L'ammonium (NH_4^+).....	78
I. 1. 17 Les nitrites (NO_2^-).....	79
I. 1. 18 Les nitrates (NO_3^-)	80
I. 1. 19 Les sous-produits de chloration	81
I. 2 Les paramètres Bactériologiques.....	84
I. 2. 1 Résultats des dénombrements.....	84
I. 2. 1. 1 Les germes totaux.....	84
I. 2. 1. 2 Les coliformes totaux.....	86
I. 2. 1. 3 Les coliformes fécaux.....	87

I. 2. 1. 4 Les streptocoques fécaux.....	88
I. 2. 1. 5 Le rapport CF/SF.....	89
I. 2. 1. 6 Les staphylocoques.....	89
I. 2. 1. 7 Les Pseudomonas.....	90
I. 2. 2 Résultats de l'identification biochimique.....	91
II. Résultats des tests de génotoxicité.....	94
II. 1 Test d'Ames	94
II. 1. 1 Résultats de la vérification des caractères génétiques	94
II. 1. 1. 1 Réclamation de l'histidine	94
II. 1. 1. 2 La sensibilité aux UV	94
II. 1. 1. 3 La résistance à l'AMP et la sensibilité au cristal violet.....	95
II. 1. 2 Résultats du test	95
II. 2 Test d'Allium	98
II. 2. 1 La longueur des racines	98
II. 2. 2 L'indice mitotique.....	99
II. 2. 3 Les aberrations chromosomiques.....	101
II. 3 Test des micronoyaux.....	104
Conclusion.....	107
Références bibliographiques.....	110
Annexes	123

Résumés

Liste des Tableaux :

Tableau I : Principales différences entre eaux superficielles et eaux profondes.....	05
Tableau II : Description des principaux indicateurs utilisés.....	07
Tableau III : Les différents procédés du traitement	14
Tableau IV : Principaux désinfectants utilisés et SPD associés.....	21
Tableau V : Formation des principaux SPD selon le pH de l'eau	28
Tableau VI : Distribution des SPD halogénés dans les eaux chlorées et chloraminées.....	31
Tableau VII : Présentation des points de prélèvement.....	45
Tableau VIII : Différentes mutations des souches utilisées.....	51
Tableau IX : Références de qualité des paramètres physico-chimiques dans l'eau destinée à la consommation humaine.....	60
Tableau X : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la T° des eaux.....	62
Tableau XI : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée au pH des eaux.....	63
Tableau XII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la turbidité des eaux.....	64
Tableau XIII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la conductivité électrique des eaux.....	65
Tableau XIV : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à l'OD des eaux.....	66
Tableau XV : Normes pour la dureté des eaux de boisson.....	67
Tableau XVI : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la dureté totale des eaux.....	68
Tableau XVII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la TDS des eaux.....	69
Tableau XVIII : Classification des eaux potables selon l'extrait sec.....	69
Tableau XIX : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux R/S des eaux.....	70
Tableau XX : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux MON des eaux.....	71
Tableau XXI : Suivi du chlore résiduel.....	72

Tableau XXII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée au calcium des eaux.....	73
Tableau XXIII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée au magnésium des eaux.....	74
Tableau XXIV : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux sulfates des eaux.....	76
Tableau XXV : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux ortho phosphates des eaux.....	77
Tableau XXVI : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée au fer total des eaux.....	78
Tableau XXVII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux ions ammonium des eaux.....	79
Tableau XXVIII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux ions nitrites des eaux.....	80
Tableau XXIX : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux ions nitrates des eaux.....	81
Tableau XXX : Références de qualité des paramètres bactériologiques dans l'eau destinée à la consommation humaine.....	84
Tableau XXXI : Évolution du nombre des GT à 22°C et à 37°C dans les eaux prélevées pendant les quatre saisons.....	86
Tableau XXXII : Origine de la pollution fécale selon le rapport CF/SF.....	89
Tableau XXXIII : Pourcentage des germes isolés pendant les quatre saisons.....	92
Tableau XXXIV : Répartition des principales espèces bactériennes rencontrées dans les échantillons étudiés pendant les quatre saisons.....	93
Tableau XXXV : L'activité mutagène des échantillons prélevés sur <i>S. typhimurium</i> TA98 en absence de S9-mix.....	96
Tableau XXXVI : L'activité mutagène des échantillons prélevés sur <i>S. typhimurium</i> TA98 en présence de S9-mix.....	96
Tableau XXXVII : L'activité mutagène des échantillons prélevés sur <i>S. typhimurium</i> TA100 en absence de S9-mix.....	97
Tableau XXXVIII : L'activité mutagène des échantillons prélevés sur <i>S. typhimurium</i> TA100 en présence de S9-mix.....	97
Tableau XXXIX : Les résultats de la croissance des racines d' <i>A cepa</i>	99

Tableau XL : Les effets des échantillons d'eau sur l'IM dans les extrémités méristématiques des racines d' <i>A. cepa</i>	101
Tableau XLI : Pourcentage des AC des échantillons d'eau.....	103
Tableau XLII : Les valeurs moyennes de la fréquence des MN dans les cellules binucléées des lymphocytes traités	104
Tableau XLIII : Les valeurs moyennes des IP dans les cellules binucléées des lymphocytes traités.....	105

Liste des Figures :

Figure 1 : La cohabitation du Cl_2 , HClO et ClO^- en fonction du pH.....	22
Figure 2 : Voies de dégradations possibles des acides humiques de type résorcinol.....	26
Figure 3 : principe du test d'Ames.....	36
Figure 4 : Principe de SOS chromotest.....	37
Figure 5 : Principe de test des comètes.....	39
Figure 6 : Principe du test micronoyaux	40
Figure 7 : La pré-chloration dans le premier bassin de mélange.....	41
Figure 8 : Bassin de la coagulation.....	42
Figure 9 : Bassin de floculation.....	42
Figure 10 : Décanteur raclé à ciel ouvert.....	43
Figure 11 : Basin d'un filtre à sable.....	43
Figure 12 : Position schématique des points de prélèvement choisis pour l'étude.	44
Figure 13 : les variations de la T° des échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	61
Figure 14 : les variations de pH des échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	62
Figure 15 : Évolution de la turbidité des échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons....	63
Figure 16 : Évolution de la conductivité électrique des échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	64
Figure 17 : Évolution de l'OD dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	66
Figure 18 : Évolution de la dureté totale dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	67
Figure 19 : Évolution des TDS dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons....	68
Figure 20 : Évolution des R/S dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	70
Figure 21 : Évolution des MON dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons...	71
Figure 22 : Évolution de calcium dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.	73
Figure 23 : Évolution de magnésium dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	74
Figure 24 : Évolution des chlorures dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	75
Figure 25 : Évolution des sulfates dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	76

Figure 26 : Évolution des ortho phosphates dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	77
Figure 27 : Évolution de fer total dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	78
Figure 28 : Évolution des ions ammonium dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	79
Figure 29 : Évolution des ions nitrites dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	80
Figure 30 : Évolution des ions nitrates dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.....	81
Figure 31 : Concentrations de THM dans l'eau collectée durant les quatre saisons.....	82
Figure 32 : Concentrations de chloroforme (CHCl_3), bromoforme (CHBr_3), bromodichlorométhane (CHBrCl_2), dibromochlorométhane (CHBr_2Cl) dans l'eau collectée durant les quatre saisons.....	83
Figure 33 : Évolution du nombre des CT.....	86
Figure 34 : Évolution du nombre des CF.....	88
Figure 35 : Évolution du nombre des SF.....	88
Figure 36 : Évolution du nombre des Staphylocoques.....	90
Figure 37 : Évolution du nombre des Pseudomonas.....	90
Figure 38 : Répartition des familles des germes isolés.....	91
Figure 39 : Résultats de la réclamation de l'histidine (1-sans histidine/2-avec histidine)	94
Figure 40 : l'effet des UV sur les souches d'Ames et la souche sauvage.....	95
Figure 41 : L'effet de l'AMP et du cristal violet sur les souches d'Ames (TA100/TA98).....	95
Figure 42 : Les différents types des AC dans les racines d' <i>A. cepa</i>	102

Liste des abréviations

BHAA : Les bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies

E. coli : *Escherichia coli*

S. typhimurium : *Salmonella typhimurium*

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

CT : Les coliformes totaux

GT : Les germes totaux

CF : Les coliformes fécaux

SF : Les streptocoques fécaux

pH : Le potentiel d'hydrogène

TH : Le titre hydrotimétrique

OD : L'oxygène dissous

COT : Le carbone organique total

MON : La matière organique naturelle

MES : Matières en suspension

TDS : Total des solides dissous

EDTA : L'acideéthylènediaminetétraacétique

R/S : Le Résidu sec

SPD : Les sous-produits de désinfection

SPC : Les sous-produits chlorés

THM : Les trihalométhanes

HAA : Les haloacétique

AOX : Les composés organohalogénés

TCA : Le trichloracétiques

DCA : Le dichloroacétiques

HC : Les hydrates de chloral

CK : Les chloracétones

CP : Les Chlorophénols

CHF_s : Les Chlorohydroxyfurones

CNCL : Le chlorure de cyanogène

DBAN : Le dibromoacétonitrile

DCAN : Le dichloroacétonitrile

ADE : L'Algérienne Des Eaux

A. cepa : *Allium cepa*

MN : Micronoyaux

UV : Ultraviolet

ADN : L'acide désoxyribonucléique

β-gal : β-galactosidase

cyto B : Le cytochalasine B

GMA : La gélose minimale agar

IM : L'indice mitotique

IP : L'indice de prolifération

AC : Les aberrations chromosomiques

AMP : L'Ampicilline

Si selon l'adage, l'eau est le miroir de la santé, elle peut devenir source de maladies et de nuisances.

L'un des problèmes les plus critiques concernant les ressources en eau potable et la protection de l'environnement des plans d'eau est la pollution de l'eau par les micropolluants (Ohe et al., 2004). Dans le passé la propagation d'organismes pathogènes a occasionné de nombreuses épidémies, il devint donc nécessaire de traiter les eaux destinées à la consommation.

Dès la fin du 19^{ième} siècle, l'application de la désinfection de l'eau permet le contrôle des maladies d'origine hydrique (fièvre typhoïde, choléra, dysenterie, amibiase salmonellose, giardiose, shigellose et hépatite A). L'utilisation d'oxydants s'avéra donc primordiale pour assurer la qualité bactériologique de l'eau potable. Les interactions entre les différents composants de l'eau durant son séjour dans le réseau ainsi que les conditions qui régnaient dans le système de distribution peuvent changer et dégrader la qualité de l'eau du robinet par rapport à celle de l'eau à la sortie de l'usine de traitement. Le chlore est le produit le plus utilisé pour la désinfection de l'eau, il a pour objectif l'élimination des germes pathogènes, l'oxydation de la matière organique naturelle (MON) et quelques éléments minéraux, mais également le maintien d'un résiduel désinfectant capable d'assurer la protection microbiologique de l'eau pendant son transport dans le réseau de distribution (Mouly et al., 2008).

Ce n'est que lors des années 1970 que des chercheurs découvrirent différents désinfectants qui peuvent réagir avec des matières humiques et fulviques, pour donner naissance à des nombreux sous-produits de désinfection (SPD) (Guzzellaa et al., 2004). Depuis la première recherche sur les SPD, les trihalométhanes (THM) captent beaucoup d'attention parce que le chloroforme a été démontré en 1976 comme cancérigène, à la suite des travaux qui sont effectués sur des animaux de laboratoire et provoqua l'intensification des recherches (Bull, 1982). L'exposition chronique à des faibles doses de ces produits peut affecter la biodiversité, tandis que chez l'homme, il peut augmenter le risque de développement du cancer (Lafferrière et al., 1999 ; Zekkour et Beron, 2001).

Le seul moyen de caractériser la toxicité / génotoxicité des échantillons d'eau sont les tests biologiques, qui produisent une réponse globale au mélange complexe de produits chimiques sans aucune connaissance préalable de la composition du mélange ou de ses propriétés chimiques. Il y a beaucoup de tests de génotoxicité, cependant, pour la détection de

mutagénicité / génotoxicité des différents types d'eau, en particulier le test de mutagénicité sur *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) (test d'Ames), a été le plus largement utilisé (Ohe et al., 2004).

En Algérie, le chlore est le désinfectant le plus utilisé pour la désinfection des eaux, il est donc essentiel de respecter les conditions d'utilisation de chlore pour éviter d'une part la formation des sous-produits indésirables dans l'eau potable et d'une autre part le maintien d'une bonne qualité des eaux potables de la sortie de l'usine du traitement jusqu'au robinet du consommateur (Mouly et al., 2004).

Dans ce cadre, et dans le but de statuer les variations saisonnières de la qualité physico-chimique, bactériologique et génotoxique de l'eau distribuée par le réseau d'alimentation en eau potable de la ville de Guelma (de l'entrée de la station de traitement jusqu'aux consommateurs), le présent travail consiste à :

1. Evaluer la qualité physico-chimique et bactériologique dans les points judicieusement choisis pour représenter l'ensemble du réseau,
2. Etablir un aperçu quantitatif et qualitatif de l'évolution des THM,
3. Etudier l'activité mutagène et/ou génotoxique de ces eaux sur deux types de test l'un sur une cellule procaryotique et les deux autres sur des cellules eucaryotiques végétales et animales,
4. Et faire des propositions et des recommandations à la lumière des résultats obtenus dans le but d'améliorer la qualité des eaux distribuées dans la totalité du système de distribution.

L'eau est de toutes les matières la plus importante pour l'existence de l'homme. Elle est indispensable pour la survie et pour le développement de la société moderne (Kettab, 1992).

L'eau est un liquide incolore transparent qui constitue un milieu indispensable à la vie, occupe les trois quart de la surface terrestre c'est-à-dire 72 % des 508 millions de Km² de la superficie totale du globe (Guergazi et Achour, 2005).

L'eau prélevée de son milieu naturel est généralement impropre à la consommation humaine. Un procédé de traitement est donc nécessaire, qui doit tenir compte de la qualité et de la nature de la source d'approvisionnement en eau, pour prévenir et limiter les risques infectieux véhiculer au cours de sa distribution. (Kettab, 1992 ; Guergazi et Achour, 2005 ; Mouly et al., 2008).

I. Différentes origines des eaux de consommation

I. 1 Eaux souterraines

De point de vue hydrogéologique les couches aquifères se divisent en :

- Nappes phréatiques ou alluviales : Peu profondes et alimentées directement par les précipitations pluvieuses ou les écoulements d'eau en dessus,
- Nappes captives : Plus profondes que les premières et séparées de la surface par une couche imperméable, l'alimentation de ces nappes est assurée par l'infiltration sur leurs bordures.

La nature du terrain sous lequel se trouvent ces eaux est un déterminant de leurs compositions chimiques, cependant elles sont appelées aussi les eaux propres car ils répondent en général aux normes de potabilité. Pourtant, ces eaux sont moins sensibles aux pollutions accidentelles, elles perdent totalement leur pureté originale dans le cas de contamination par des polluants (Salghi, 2000). Les eaux souterraines peuvent aussi contenir des éléments à des concentrations dépassant largement les normes de potabilité. Ceci est dû à la composition du terrain de stockage. Elles doivent être traitées avant distribution toutes les fois que la concentration d'un ou de plusieurs éléments dépasse la valeur autorisée par les règlements en vigueur (Monod, 1989 ; Kettab, 1992).

I. 2 Eaux minérales

Ce sont des eaux profondes, naturelles qui possèdent des propriétés thérapeutiques reconnues (Cardot, 1999). L'embouteillage de ces eaux est assuré après parfois une étape de traitement pour éliminer ou diminuer la concentration de certains éléments qui sont en

concentration supérieure à la concentration autorisée pour une eau potable (Monod, 1989 ; MEFI, 1997).

I. 3 Eaux de source

Ce sont des eaux naturellement potables, contrairement aux eaux minérales doivent répondre aux critères de potabilité et les seuls traitements pouvant appliquer sont l'aération, la décantation et la filtration (Monod, 1989 ; Cardot, 1999).

I. 4 Eaux de surface

Ce type des eaux englobe toutes les eaux circulantes ou stockées à la surface des continents (rivières, lacs, étangs, barrages,...).

La composition chimique des eaux de surface dépend de la nature des terrains traversés par ces eaux durant leurs parcours dans l'ensemble des bassins versants. Ces eaux sont le siège, dans la plupart des cas, d'un développement d'une vie microbienne à cause des déchets rejetés dedans et de l'importante surface de contact avec le milieu extérieur. C'est à cause de ça que ces eaux sont rarement potables sans aucun traitement (Salghi, 2000). De plus elles peuvent présenter plusieurs pollutions :

- D'origine urbaine.
- D'origine industrielle.
- D'origine agricole (Kettab, 1992).

Le tableau I indique les principales différences entre les eaux superficielles et les eaux profondes :

Tableau I : Principales différences entre eaux superficielles et eaux profondes (Kettab, 1992).

Caractéristiques examinées	Eaux superficielles	Eaux profondes
Température	Variable suivant les saisons	Relativement constante
Turbidité, Matières En Suspension (MES) (vraies ou colloïdales)	Variables, parfois élevées	Faibles ou nulles (sauf en terrain karstique)
Couleur	Liée surtout aux MES (argiles, algues..) sauf dans les eaux très douces et acides (acides humiques)	Liée surtout aux MES (acides humiques par exemple)
Minéralisation globale	Variable en fonction des terrains, des précipitations, des rejets...	Sensiblement constante en général nettement plus élevée que dans les eaux de surface de la même région.
Fer et manganèse divalents (à l'état dissous)	Généralement absents, sauf en profondeur des pièces d'eau en état d'eutrophisation	Généralement présents
CO ₂ agressif	Généralement absent	Souvent présent en grande quantité
O ₂ dissous	Souvent au voisinage de la saturation.	Absent la plupart du temps
Ammoniaque	Présent seulement dans les eaux polluées	Présence fréquente sans être un indice systématique de pollution
Nitrates- Nitrites	Peu abondant en général	Teneur parfois élevée
Calcium, Magnésium	Teneur en général modérée	Teneur souvent élevée
Micropolluants minéraux et organiques	Présents dans les eaux de pays développés, mais susceptibles de disparaître rapidement après suppression de la source polluante	Généralement absent, mais une pollution accidentelle subsiste beaucoup plus longtemps
Organismes vivants	Bactéries (dont certaines pathogènes), virus, plancton (animal et végétal)	Ferro-bactéries fréquentes

II. Les indicateurs de pollution des eaux

La qualité de l'eau peut être décrite à l'aide d'un grand nombre d'indicateurs, appelés aussi paramètres ou descripteurs, lesquels peuvent être de nature biologique, physico-chimique ou organique. Chacun de ces indicateurs permet de mesurer et quantifier un aspect spécifique de la qualité de l'eau.

II. 1 Indicateurs biologiques

La majorité des micro-organismes pathogènes (virus, bactéries ou protozoaires pouvant causer des maladies) susceptibles de se trouver dans l'eau proviennent des déjections humaines et/ou animales.

Néanmoins les indicateurs microbiologiques ne provoquent pas des maladies mais certains d'entre eux indiquent que l'eau est contaminée par la matière fécale et qu'elle risque

donc de contenir des micro-organismes pathogènes. Ces derniers ne font pas partie des analyses routinières en raison des méthodes longues, complexes et parfois inexistantes. De plus, les coûts de ces analyses sont généralement très élevés (OMS, 1994 ; RQEP, 2010).

Le tableau II présente les principaux indicateurs utilisés en microbiologie de production d'eau potable. Ces indicateurs sont comparés les uns aux autres sur la base de quatre usages différents : le risque sanitaire, la contamination fécale, l'efficacité du traitement et la qualité du réseau.

a. Les indicateurs bactériens

Utilisés dans le contrôle réglementaire du système de distribution, sont les bactéries coliformes totales (CT) et les bactéries coliformes fécales (CF) ou *Escherichia coli* (*E. coli*), de même que les colonies atypiques et les bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies (BHAA). Les bactéries entérocoques sont analysées uniquement dans l'eau brute des eaux souterraines non désinfectées comme indicateur de contamination fécale (RQEP, 2012).

b. Les indicateurs viraux

Sont les coliphages somatiques et les coliphages mâle-spécifiques. Dans le contexte du RQEP, (2012) ce sont ces derniers qui sont recommandés et analysés, et ceci aussi seulement dans l'eau brute des eaux souterraines non désinfectées.

c. Les indicateurs parasitaires

Ne sont pas réglementés. Même si le dénombrement des bactéries sporulantes aérobies n'est pas réglementé, il est recommandé pour l'évaluation de l'efficacité du traitement d'enlèvement des parasites (RQEP, 2012).

Tableau II : Description des principaux indicateurs utilisés (RQEP, 2012).

Indicateurs	Risque sanitaire ⁽¹⁾	Contamination fécale	Efficacité du traitement ⁽²⁾	Qualité du réseau	commentaires
<i>E. coli</i>	+++	++++	+	+	Contamination fécale certaine et récente; risque sanitaire (présence soupçonnée de pathogènes)
CF	++	+++	+	+	Contamination fécale probable
CT	–	–	++	++	Indicateur standard de la qualité de l'eau distribuée et du traitement (récurrence à surveiller)
BHAA	–	–	+++	++++	Qualité bactérienne générale de l'eau distribuée incluant le traitement et la dégradation dans le réseau
Colonies atypiques	–	–	++	+++	Qualité bactérienne générale de l'eau distribuée incluant le traitement et la dégradation dans le réseau
Entérocoques	++	++++	+	+	Contamination fécale probable (doit être utilisé avec <i>E. coli</i> .)
Coliphages	+	+++	+	–	Contamination fécale très probable; présence possible de virus pathogènes si contamination fécale d'origine humaine.
Bactéries sporulantes aérobies	–	–	+++ (parasites)	–	Bon indicateur de l'efficacité du traitement à enlever (filtration) et inactiver (chloration) les parasites

(1) : Les indicateurs du risque sanitaire sont associés à une contamination fécale ou une déficience du traitement

(2) : Ces indicateurs doivent être analysés à la sortie du traitement pour en faire une interprétation valable

++++ : Excellent indicateur; +++ : Très bon indicateur; ++ : Bon indicateur; + : Indicateur acceptable; - : Indicateur non valable.

D'après le tableau II, nous pouvons distinguer deux types d'indicateurs microbiologiques utilisés dans le contexte du contrôle réglementaire :

II. 1. 1 Les indicateurs sanitaires

Ce sont essentiellement des indicateurs de contamination fécale dont la présence représente un niveau de risque pour la santé. Ces indicateurs sont les bactéries *E. coli*, les CF, les entérocoques et les virus. Ils sont présents dans la flore intestinale normale des humains et des animaux, en concentration beaucoup plus abondante que les micro-organismes pathogènes entériques.

II. 1. 1. 1 Les coliformes fécaux *E. coli*

Les CF sont un sous-groupe de bactéries faisant partie des CT. La méthode d'analyse est optimisée pour sélectionner la croissance des bactéries d'origine fécale. L'incubation se fait à 44,5°C durant 24 heures dans un milieu spécifique favorisant la croissance des colonies typiques bleutées. Cette température de croissance élevée confère à ce groupe le terme plus judicieux de coliformes thermotolérants. Si, en plus des bactéries CT, des bactéries CF sont présentes, une contamination d'origine fécale est fortement soupçonnée et un avis d'ébullition doit être émis immédiatement pour protéger la population.

L'analyse des bactéries *E. coli*, confirme sans aucun doute que cette contamination est d'origine fécale. En effet, *E. coli* est la seule espèce bactérienne faisant partie du groupe des CT (et des CF) qui soit strictement d'origine fécale humaine ou animale. C'est une bactérie qui est particulièrement sensible à la désinfection et qui a la particularité de se développer difficilement à l'intérieur d'un réseau. Sa présence indique qu'une contamination fécale s'est introduite dans le réseau. Les effets sur la santé de l'exposition à ces bactéries dans l'eau potable varient. Une maladie d'origine hydrique se manifeste le plus souvent par des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements et diarrhée), habituellement de courte durée (OMS, 2004 ; RQEP, 2006).

II. 1. 1. 2 Les bactéries entérocoques

Les bactéries du genre *enterococcus* appartiennent au groupe des bactéries qu'on appelait auparavant les streptocoques fécaux (SF). À l'instar des bactéries *E. coli*, les bactéries entérocoques se retrouvent en quantité considérable mais moins abondante que ces dernières dans les matières fécales humaines et animales. Toutefois, certaines variétés ne sont pas d'origine fécale et sont présentes naturellement dans les végétaux et le sol. Ces bactéries sont plus résistantes à la chloration que les coliformes et survivent généralement plus longtemps dans l'environnement.

En outre, contrairement aux coliformes, elles recroissent très difficilement dans le réseau. Leur haute résistance à la sécheresse permet d'utiliser aussi les entérocoques comme contrôle de routine lors de l'installation ou de la réparation de conduites d'un réseau de distribution. L'analyse des bactéries entérocoques est souvent réalisée pour évaluer la contamination fécale des eaux de baignade (RQEP, 2006).

II. 1. 1. 3 Les indicateurs viraux

Des virus entériques humains sont susceptibles de se retrouver dans presque toutes les eaux de surface et aussi dans les eaux souterraines vulnérables si une source de pollution fécale, surtout humaine, est présente dans le périmètre de protection virologique de 550 jours.

Contrairement aux bactéries et aux parasites, les virus infectent habituellement une seule espèce. À quelques exceptions près (d'ailleurs peu documentées), les virus entériques pathogènes infectant les animaux ne peuvent pas infecter les humains (RQEP, 2006).

II. 1. 1. 4 Les indicateurs parasitaires

Les parasites les plus connus sont : *Cryptosporidium* et *Giardia*. Ils sont fréquemment présents dans les eaux de surface sous une forme enkystée résistante même à la congélation. Ils ont une plus grande résistance à la désinfection au chlore que les bactéries et les virus. En outre, ils sont beaucoup plus persistants dans l'environnement que les bactéries. Ils se multiplient dans l'intestin et leurs principaux réservoirs sont les animaux domestiques, les animaux sauvages (rats musqués et castors particulièrement pour *Giardia*) et l'homme. La nouvelle génération de traitement de désinfection aux ultraviolets (UV) est cependant particulièrement efficace contre ces parasites. *Cryptosporidium* est un parasite plutôt petit et compte parmi les plus résistants à la chloration. On estime qu'un traitement efficace pour éliminer de façon sécuritaire ce parasite sera suffisamment efficace contre les autres parasites. Par contre, les parasites sont plus gros que les bactéries et les virus de sorte que la contamination par les parasites d'une eau souterraine bien captée est improbable (RQEP, 2006).

II. 1. 2 Les indicateurs de la qualité des eaux

Ils sont utilisés pour évaluer et contrôler la qualité bactérienne de l'eau dans le réseau. Ce sont les CT, les colonies atypiques et les BHAA.

II. 1. 2. 1 Les coliformes totaux

L'analyse des bactéries CT est utilisée pour le contrôle de l'eau potable depuis plus de 100 ans. Son faible coût d'analyse, sa reproductibilité et son omniprésence dans les eaux de surface en font un indicateur universel pour juger la qualité d'une eau. Ce groupe hétérogène appartient à la famille des entérobactéries et comprend plusieurs genres bactériens se retrouvant dans la flore intestinale normale. Cependant, la plupart des espèces se retrouvent aussi naturellement dans le sol, la végétation et aussi dans l'eau. De ce fait, cette analyse n'est pas considérée comme un indicateur de contamination fécale ou de risque sanitaire. La présence de CT dans un système de distribution d'eau potable peut avoir plusieurs significations : la re-croissance bactérienne, une perte d'étanchéité du réseau, une déficience ou une absence de traitement. Une eau potable contenant des CT peut indiquer une incapacité à maintenir un résiduel de chlore suffisant dans le système de distribution. En effet, plusieurs bactéries de ce groupe ont la capacité de recroître dans le réseau lorsque certaines conditions y

sont favorables (chlore libre insuffisant, eau stagnante, température élevée et présence de nutriments).

Les CT peuvent signaler la présence d'une pollution de surface à cause d'une perte de l'intégrité du réseau (réparations, contaminations croisées, siphons dus à la présence de fissures etc.). Cette situation peut être associée à une baisse subite de la pression et de la concentration de chlore libre ainsi qu'à une augmentation du dénombrement des BHAA. Elle nécessite alors une investigation plus poussée (Fournier, 2006 ; RQEP, 2006).

II. 1. 2. 2 Les BHAA et les colonies atypiques

Les analyses des BHAA viennent appuyer et valider les décomptes conventionnels des bactéries CT par membrane filtrante. Si elles dépassent un seuil de 500 BHAA UFC/ml, elles entrent en compétition avec les bactéries CT et masquent leur présence lors de l'analyse en empêchant le développement des caractères typiques des colonies de coliformes. De même, si les colonies de bactéries atypiques, qui se développent sur le même milieu de culture que les CT, dépassent 200 UFC/100ml, elles peuvent masquer le dénombrement de ces derniers. Ces contrôles viennent non seulement valider le dénombrement des coliformes, mais aussi fournir une indication du développement général des bactéries dans l'eau du réseau de distribution avant même que des coliformes ne soient détectés (Fournier, 2006 ; RQEP, 2006).

II. 2 Indicateurs physico-chimiques

II. 2. 1 La turbidité

La turbidité est une autre façon de mesurer la transparence (l'aspect trouble) de l'eau. Elle s'exprime en UTN (unités de turbidité par néphélométrie) et est due à la présence des particules en suspension, notamment colloïdales, telles que l'argile, les particules organiques, et les autres organismes microscopiques. Une turbidité trop élevée empêche la pénétration de la lumière dans la colonne d'eau et peut ainsi diminuer la croissance des algues et des plantes aquatiques. Elle peut aussi protéger les bactéries et les virus contre les procédés de désinfection de l'eau potable (Guergazi et Achour, 2005 ; Rodier et al., 2009).

II. 2 .2 Le potentiel d'hydrogène (pH)

La valeur de pH détermine l'équilibre entre les acides et les bases d'une eau sur une échelle de 0 à 14, 7 étant le pH de neutralité et est une mesure de la concentration des ions d'hydrogène en solution. Le pH influence la toxicité de plusieurs éléments en régissant un grand nombre de réactions chimiques (Hébert et Légaré, 2000).

Il joue un rôle primordial dans les processus biologiques qui exigent des limites très étroites de pH (Fournier, 2006).

pH = 7	pH neutre
$7 < \text{pH} < 8$	neutralité approchée, majorité des eaux de surfaces
$5.5 < \text{pH} < 8$	eaux souterraines
pH > 8	alcalinité, évaporation intense

II. 2. 3 La minéralisation

La dureté d'une eau est due principalement à la présence de sels de calcium et de magnésium sous forme de bicarbonates, de sulfates et de chlorures. C'est donc la concentration en ions alcalino-terreux, que l'on mesure globalement par le titre hydrotimétrique (TH). On cherche à distribuer une eau à l'équilibre pour éviter l'entartrage ou la corrosion des réseaux. Une quantité trop importante de sulfates a un effet sur le goût de l'eau et peut la rendre laxative. Une quantité trop importante de chlorures affecte aussi le goût de l'eau et la rend corrosive (Kettab, 1992 ; Fournier, 2006).

II. 2. 4 Certains métaux

Les métaux sont des micronutriments essentiels pour les organismes aquatiques et se retrouvent naturellement dans l'eau à des faibles concentrations. Ils proviennent du lessivage du sol et des substrats rocheux. Les métaux les plus fréquemment mesurés sont l'aluminium (Al^{3+}), le fer (Fe^{2+}) et le manganèse (Mn^{2+}) qui peuvent provoquer une coloration et sont à l'origine de dépôts dans les réseaux (Kettab, 1992 ; Rodier et al., 2009).

II. 2. 5 Les gaz dissous (H_2S)

Le gaz dissous est un révélateur de conditions anaérobies, et d'un potentiel d'oxydoréduction trop bas ; il provoque des mauvaises odeurs et peut être à l'origine de corrosion. Il doit être éliminé (Mouly et al., 2008 ; Trembley, 1995).

II. 2. 6 L'ammonium (NH_4^+)

L'ammonium représente la forme ionisée de l'azote ammoniacal, sa présence dans les eaux profondes résulte le plus souvent de la décomposition anaérobie de matières organiques azotées. On les trouve souvent à des teneurs variant entre 0,1 à 0,2 mg/l. Il n'a pas d'effet appréciable sur la santé du consommateur, mais sa présence dans les eaux est un indicateur de pollution. L'ammonium doit être éliminé dans les eaux de consommation, car c'est un aliment qui peut permettre à certaines bactéries de se proliférer dans les réseaux de distributions (Trembley, 1995 ; Mouly et al., 2008).

II. 2. 7 Les Nitrites (NO_2^-) et les nitrates (NO_3^-)

Les nitrates et les Nitrites constituent la forme la plus abondante d'azote dans l'eau. Bien que naturellement présents en faibles quantités dans les eaux de surface, des concentrations trop élevées de nitrites-nitrates peuvent être toxiques pour la faune aquatique et provoquer une maladie infantile (méthémoglobinémie). Ils sont généralement l'indice d'une pollution. La présence des nitrites est due, soit à l'oxydation bactérienne de l'ammoniaque, soit à la réduction des nitrates. Ils ne représentent qu'un stade intermédiaire et sont facilement oxydés en NO_3^- (Trembley, 1995 ; Mouly et al., 2008).

II. 2. 8 La conductivité

La conductivité est la capacité d'une eau à conduire l'électricité. La conductivité d'une eau dépend de sa concentration ionique et de sa température. Elle donne une bonne indication des changements de la composition des eaux et spécialement de leur concentration en minéraux. La conductivité augmente avec la teneur en solides dissous (TDS). Cette mesure permet d'évaluer rapidement le degré de minéralisation d'une eau, c'est-à-dire la quantité de substances dissoutes ionisées présentes (Hébert et Légaré, 2000).

II. 2. 9 La température (T°)

La température de l'eau varie naturellement au cours de l'année, elle affecte la qualité, notamment parce que l'eau chaude diminue la concentration en oxygène dissous (OD), au détriment de la vie aquatique (Fournier, 2006 ; Rodier et al., 2009).

II. 2. 10 L'Oxygène dissous (OD)

Les organismes aquatiques ont besoin d'une quantité suffisante d'OD dans l'eau pour survivre, ce qui en fait un important critère pour la vie aquatique. Les facteurs pouvant mener à une réduction de l'OD sont l'augmentation de la température de l'eau et la décomposition de grandes quantités de MON (Fournier, 2006 ; Rodier et al., 2009).

II. 3 Indicateurs organiques

De nombreuses substances organiques naturelles sont présentes dans les eaux souterraines ou de surface. Elles se classent en cinq groupes principaux : substances humiques, acides carboxyliques, peptides, aminoacides et hydrates de carbone. On trouve également des substances organiques proviennent des activités urbaines. Les substances organiques sont caractérisées analytiquement soit par la mesure d'indices globaux :

- l'oxydabilité au permanganate et le carbone organique total (COT) rendent compte de la concentration en MON.
- l'absorption mesurée en UV à 254 nm rend compte de la concentration en doubles liaisons aliphatiques, carboxyliques, benzéniques.

- Le Clot : rend compte de la concentration en matières organiques chlorés ou halogènes (Monod, 1989).

III. Les différents procédés de traitement

Le traitement d'une eau potable a pour but de garantir l'absence de tous germes infectieux, de détruire la MON présente dans l'eau qui peut servir d'abri ou d'aliment pour les micro-organismes et de mettre hors risque de contamination un système de distribution ayant subi une pollution accidentelle. Il dépend de la qualité de l'eau, laquelle est en fonction de son origine et peut varier dans le temps (Rodier et al., 2009).

L'intensité du traitement dépendra du degré de contamination. Lorsque la source d'eau est contaminée, il est particulièrement important d'instituer un traitement qui oppose des barrières multiples à la diffusion des organismes pathogènes de façon à assurer un degré élevé de protection. Le concept des barrières multiples peut être adapté au traitement des eaux de surface (Duponta, 1981 ; Monod, 1989).

Le tableau III indique les procédés de traitement des eaux potables :

Tableau III : Les différents procédés du traitement (Kettab, 2006 ; Monod, 1989 ; Rodier et al., 2009).

Famille	Nature du traitement	But recherché	Procédés	Observations
Traitements physiques	Dégrossissage	Elimination des MES de grosse taille et moyenne taille (sup 200-300 microns)	-Dégrillage grossier 8-10cm -Dégrillage fin 25-40mm -Tamisage (tamis rotatif) 1-5 mm -Dessablage -Microtamisage -Désuilage -Débourbage (raclé ou non raclé)	/ / -Recommandé -Indispensable pour les transports de l'eau brute sur de grandes distances - peu utilisé -Quasiment obligatoire lorsque la concentration en MES dépasse quelques g/l
	Stockage ou Storage	Fréélimination des MES et de la turbidité	Retenus artificielles : -Barrage : temps de séjour (plusieurs mois) -Lac artificiel : temps de séjour grand (plusieurs mois)	Si les retenues reçoivent trop de nutriments azotés et/ou phosphorés, une dégradation de la qualité de l'eau peut advenir. Il y aura alors des conséquences sur l'ammonium (NH₄), le fer, le manganèse, les algues, les planctons, les odeurs, la teneur en OD.

Famille	Nature du traitement	But recherché	Procédés	Observations
Prétraitements physico-chimiques	Aération	-Oxygénation -Oxydation d'ions ferreux et manganéux -Oxygéner avant une nitrification biologique de l'ammoniaque -Elimination de gaz ✓ Carbonique(CO ₂) ✓ Sulfureux(H ₂ S)	-Cascades (sur tuiles) -Aération sous pression -Pulvérisation (par buses)	Réservé à la seule ré-oxygénation Spécifique des eaux dures et minéralisées Réservé aux eaux douces et peu minéralisées (pour faciliter le départ de CO ₂) Indispensable pour éliminer H ₂ S
	Pré-oxydation chimique	-Elimination de l'ammoniaque -Oxydation des MON -Oxydation du fer, du manganèse -Oxydation des composés soufrés	-Pré-chloration par le chlore gazeux, par l'eau de javel (hypochlorite de sodium) ou par l'hypochlorite de calcium. -Pré-oxydation au bioxyde de chlore -Pré-ozonation -Pré-oxydation au permanganate de potassium	Technique classique : le chlore, l'eau de javel ou l'hypochlorite de calcium se dissocient dans l'eau en HOCl (agent bactéricide puissant) et ClO ⁻ (agent bactéricide mais moins puissant que l'acide) dont les proportions respectives sont fonction du pH de l'eau. L'élimination de l'ammonium (NH₄) nécessite un excès de chlore Inconvénient : production possible d'haloformes Oxydation puissant réservé aux cas difficiles (gouts, odeurs) Inconvénient : génère des chlorites Le plus puissant des oxydants, Technique récente (taux de traitement maxi=1 à 2g/m ³ , ne génère pas d'haloforme, pas d'oxydation de l'ammoniaque) Essentiellement réservé à l'élimination du Manganèse Cinétique de réaction lente en dessous de pH= 7

Famille	Nature du traitement	But recherché	Procédés	Observations
Traitements physico-chimiques	Coagulation-Floculation	- Elimination totale des M.E.S	Dans tous les cas, il faut distinguer deux étapes : 1. La déstabilisation des colloïdes par coagulation-floculation 	Coagulation : déstabilisation des colloïdes par neutralisation des charges électriques. Réactifs usuels de coagulation : ✓ Sulfate d'Aluminium $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ ✓ WAC (Chlorure basique d'Aluminium) ✓ Chlorure ferrique $FeCl_3$ ✓ Chlorosulfate ferrique $FeClSO_4$ ✓ Aqualenc Floculation: agglomération des particules neutralisées Ce phénomène est naturellement lent. Il peut être accéléré par l'adjonction de réactifs appelés adjuvants de floculation (✓ Silice activée, ✓ Alginate, ✓ Charges minérales, ✓ Amidon, ✓ Polyélectrolytes ou polymères
		- Décoloration complète	2. La séparation des floes par : Filtration directe (monocouche ou bicouche) ou Décantation + filtration ou Flottation + filtration	Voir : ✓ Décanteurs ✓ Flottateurs ✓ Filtres

Famille	Nature du traitement	But recherché	Procédés	Observations
Traitements physico-chimiques (suite)	Neutralisation	-Éliminer le Gaz carbonique agressif -Limiter la corrosion des conduites métalliques	-Élimination par ✓ Aération ou ✓ Ajout de réactifs alcalins : ✓ Chaux $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ✓ Soude ✓ Carbonate de Sodium ✓ Neutralite ($\text{CaCO}_3 + \text{MgO}$)	-La chaux est généralement utilisée sous forme d'eau de chaux saturée (l'opération est effectuée dans un saturateur) -La neutralité est un matériau solide et le contact se fait comme dans un filtre -Le carbonate de Sodium est réservé aux installations de petits débits
	Re-minéralisation	 -Limitation de la corrosion -Augmentation artificielle de la dureté carbonatée	 -Gaz carbonique CO_2 + chaux -Bicarbonate de Sodium + Chlorure de Calcium	Mise en œuvre dans une tour de contact eau + chaux et régulation de la valeur du pH d'équilibre
	Désinfection	Elimination totale des germes dangereux : ✓ Coliformes ✓ Streptocoques ✓ Clostridium ✓ Sulfito- réducteur Et éviter toute reviviscence bactérienne dans le réseau de distribution	-Chloration : chlore gazeux Hypochlorite de Sodium (eau de javel) -Ou hypochlorite de Calcium -Ozonation -Bioxyde de chlore -UV	L'ozonation n'est indispensable que dans les cas d'eau de très mauvaise qualité bactériologique, ou bien lorsque les risques d'apparition de goûts sont importants. C'est le cas de pratiquement toutes les eaux de surface Les UV sont assez peu utilisés

Famille	Nature du traitement	But recherché	Procédés	Observations
Traitements Biologiques	Filtration Biologique Attention : les procédés biologiques sont sensibles à la température et aux variations importantes de charge massique	-Élimination des matières organiques carbonées	-Filtration lente à trois étapes : ✓ Dégrossisseurs : 1m/h ✓ Préfiltres : 0,5 m/h ✓ Filtre : 0,2m/h	Procédé ancien très peu utilisé actuellement car à rendement variable vis-à-vis des micropolluants -Nécessite des surfaces importantes de filtration -Influence sur des eaux chargées
		-Élimination du Fer et du Manganèse	-Combinaison d'un réacteur rapide biologique fortement oxygéné (20_30m/h) suivie d'une filtration	La déferrisation est assurée par filtration directe à grande vitesse Déferrisation/démanganisation n'ont généralement pas lieu simultanément.....
		-Élimination des nitrates	-Réacteur biologique suivi d'une oxygénation et d'un CAG	L'élimination des nitrates par voie biologique nécessite l'adjonction de substrats carbonés (alcool, acide acétique) et phosphorés
		-Élimination de l'ammoniaque	-Nécessite d'oxygéner d'eau avant filtration	L'ammoniaque est transformée en nitrates
Autres Traitements	Echange d'ions	-Élimination des nitrates	-Echange des anions nitrates NO ₃ - avec les chlorures d'une résine anionique forte Ex : NITRACYCLE	-Procédé souple, efficace, plus sécurisant que les procédés biologiques -Production d'éluant de régénération dont il faut se débarrasser
		-Adoucissement	-Élimination du Calcium Ca ⁺² et du magnésium Mg ⁺²	-Résine cationique forte
		-Décarbonations	-Élimination du Ca ⁺² et Mg ⁺² , éventuellement des bicarbonates	-Résine carboxylique

Famille	Nature du traitement	But recherché	Procédés	Observations
Autres Traitements importants (suite)	Absorption sur charbon actif Technique réservée aux eaux les plus difficiles	-Elimination totale ou partielle de : ✓ Gouts tenaces ✓ Micropolluants ✓ Matières organiques solubles ✓ Dé-chloration	En grains : En traitement secondaire d'affinage après filtration sur sable Mise en œuvre : filtre à lit fixe En poudre : En traitement combiné avec une coagulation, floculation décantation	-Le charbon peut être régénéré thermiquement (50% du cout du charbon neuf) -A n'envisager que pour les très grosses installations -Le charbon est considéré comme un consommable -Intéressant en appoint occasionnel en cas de pollution accidentelle
	Décarbonatation	-Elimination de la dureté et des carbonates	-Traitement à la chaux dans un réacteur a lit fluidisé -Production de CaCO_3 dont il faut se débarrasser	-Procédé réservé aux eaux très dures
	Techniques membranaires	-Elimination des anions (chlorures Cl^- , Sulfates SO_4^{2-}) -Elimination des microparticules	-Osmose inverse -Nanofiltration -Electrolyse -Ultrafiltration -Microfiltration	Techniques envisagées dans des cas particuliers (eaux saumâtres, production d'eau ultra-pure...) La nanofiltration devient une technique d'affinage à la fin d'une filière classique de traitement d'eau de surface. Techniques intéressantes dont l'implantation est à préciser en fonction des qualités d'eau brute L'ultrafiltration, combinée avec du CAP Deviens une technique d'affinage à la fin d'une filière classique de traitement d'eau de surface.

La désinfection de l'eau est une opération essentielle à tout traitement des eaux à visée de potabilisation, elle a deux effets bénéfiques : d'une part, elle permet d'inactiver les micro-organismes pathogènes pouvant être nuisibles à la santé humaine ; d'autre part, elle permet de laisser un résiduel du désinfectant dans le réseau de distribution, prévenant ainsi une éventuelle re-croissance bactérienne. Par contre, l'utilisation d'un désinfectant a comme principal désavantage, la formation des SPD qui sont potentiellement cancérigènes pour l'être humain (Vinette, 2001).

I. Types de désinfectant

Différents types de SPD peuvent être formés dans l'eau potable qui sont susceptible de se former par réaction entre la MON de l'eau et les oxydants utilisés pour désinfecter l'eau potable (Vinette, 2001) :

I. 1 Le chlore (Cl_2)

Est un agent désinfectant puissant en plus d'être économique. Il permet la destruction de germes pathogènes, mais en plus, il a l'avantage de laisser un résiduel dans le réseau. Par contre, il engendre des inconvénients organoleptiques évidents en plus de produire des grandes concentrations de sous-produits chlorés (SPC), soit sous forme gazeuse (Cl_2) ou liquide (HClO^-) (Droste, 1997 ; Vinette, 2001).

I. 2 Les monochloramines (NH_2Cl)

Ils ont l'avantage de produire des concentrations moins élevées de SPD, mais son effet bactéricide est moins puissant comparativement au chlore (Vinette, 2001).

I. 3 L'ozone (O_3)

L'ozone est un agent oxydant très puissant, mais il ne laisse pas de résiduel dans le réseau et nécessite tout de même une post-désinfection (Vinette, 2001).

I. 4 Dioxyde de chlore (ClO_2)

A comme principal désavantage la formation des sous-produits toxiques inorganiques tels que les chlorites et les chlorates (Vinette, 2001).

Le tableau IV présente une liste des principaux désinfectants associés aux principaux SPD formés (Vinette, 2001) :

Tableau IV : Principaux désinfectants utilisés et SPD associés (Vinette, 2001).

Désinfectants	SPD
Chlore	THM Acides haloacétiques (HAA) Haloacétonitriles Halopictine Halocétone
Chloramine	HAA Nitrite/nitrate Halocétone THM
Dioxyde de chlore	Chlorite Chlorate
Ozone	Bromate Carbone organique biodégradable Aldéhydes Acides cétoaldéhyde Bromoforme Péroxyde Epoxydes

II. La formation des sous-produits de chloration

Le chlore est l'oxydant utilisé pour l'eau potable privilégié partout dans le monde à cause de son efficacité bactéricide, sa facilité d'application, son faible coût d'achat et une bonne connaissance scientifique de son utilisation. Il présente par contre certains inconvénients, dont le principal est relié à la formation des SPC, formés lors de l'association du chlore et des précurseurs. Les plus importants sont les THM. Afin de bien comprendre le mécanisme de leur formation, une description des substances participant à cette réaction est nécessaire (Trembley, 1995).

II. 1 La chimie du chlore

Le chlore se répartit en chlore libre, chlore combiné et chlore total :

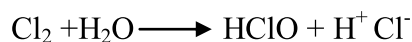
- Le chlore libre est la somme des concentrations d'acide hypochloreux (HClO) et de l'ion hypochlorite (ClO^-) produit quand le chlore est ajouté à l'eau.
- Le chlore combiné est la portion de chlore qui a réagi avec l'ammoniac, produisant des chloramines, ou avec des amines organiques, créant des chloramines organiques.

- Le chlore total est la somme du chlore libre et du chlore combiné (Trembley, 1995).

Le chlore fait partie de la famille des halogènes et peut être disponible sous forme gazeuse (Cl_2) ou sous forme de composés solides solubles dans l'eau (Trembley, 1995) :

➤ Le chlore gazeux

Dans des conditions normales ; de pression et de température ; le chlore est un gaz jaune vert, en milieu aqueux, le chlore gazeux est rapidement hydrolysé pour donner le HClO selon les réactions suivantes :



Le pH diminue

L'addition de chlore gazeux dans l'eau réduit le pH car cela entraîne la formation d'un ion hydrogène (H^+). Le HClO est un acide faible ce qui signifie qu'il se dissocie légèrement en H^+ et ClO^- , tel que montre la réaction suivante (Vinette, 2001) :



La figure 1 montre que ces trois espèces ; Cl_2 , HClO et ClO^- , vont cohabiter deux à deux en solution aqueuse.

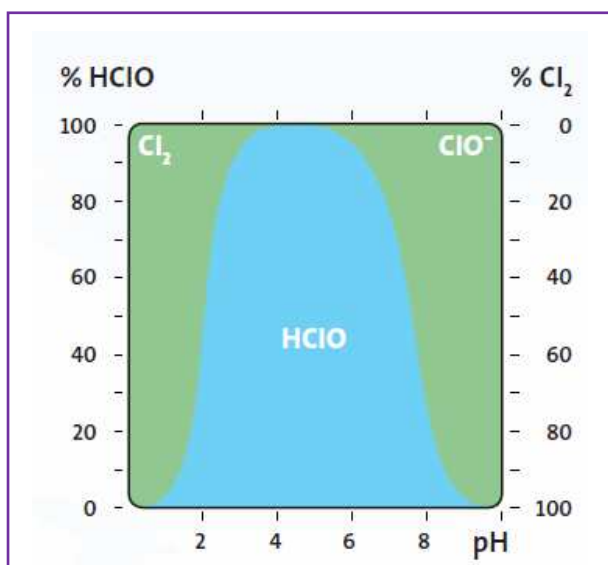


Figure 1 : La cohabitation du Cl_2 , HClO et ClO^- en fonction du pH (Vinette, 2001).

La position de l'équilibre chimique qui s'établit est fortement liée à la concentration en ions H^+ , donc le pH du milieu : plus il est élevé, plus la dissociation en ClO^- est favorisée.

Si $\text{pH} < 4$: Cl_2 dissous, l'équilibre est complètement déplacé vers la gauche (tout le chlore est sous forme moléculaire Cl_2).

- Si $4 < \text{pH} < 5.6$: formation de HClO non dissocié.

- Si $5.6 < \text{pH} < 10$: formation de HClO et ClO^- (c'est le cas habituel des eaux traitées par le chlore, il y a mélange d'acide ClO^- qui n'est qu'un faible désinfectant et l'acide HClO qui est un puissant bactéricide).
- Si $\text{pH} > 10$: formation de ClO^- .

La quantité relative de ClO^- et HClO est en fonction du pH. Ce dernier est donc un paramètre de première importance puisque le chlore (gazeux) et l'acide hypochloreux est beaucoup plus efficace que l'ion ClO^- . Par ailleurs, l'efficacité de la chloration est d'autant plus meilleure que le temps de contact du chlore dans l'eau est plus long (au moins 4 heures).

➤ **Hypochlorite de sodium NaClO** (l'eau de javel)

Pour la fabrication de l'eau de Javel, on fait agir le chlore sur la soude, on obtient du sel, de l'eau et de ClO^- : le mélange de ces trois produits constitue l'eau de Javel.



Hypochlorite

de sodium



Eau de javel

L'équation suivante illustre la réaction qui se produit entre le NaClO et l'eau.

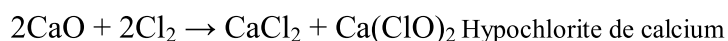


Le pH augmente

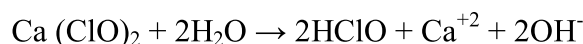
Contrairement à l'hydrolyse du chlore, l'ajout de NaClO dans l'eau produit un H^+ qui fait grimper le pH.

➤ **Hypochlorite de calcium $\text{Ca}(\text{ClO})_2$**

Il est obtenu à partir de la précité issu de la dissolution du Cl_2 dans une solution d'oxyde de calcium (chaux vive) et d'hydroxyde de calcium.



L'équation de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ dans l'eau est la suivante :



(Awwa, 1990 ; Trembley, 1995 ; Bouziani, 2000 ; Vilagines, 2000 ; ADE, 2007).

II. 2 Les précurseurs

La MON est la source de nombreux précurseurs pour la formation des SPC. Ceux-ci peuvent être de différents types tels les algues, l'acide tannique, les composés azotés et principalement les matières humiques.

Les substances humiques sont des composés organiques naturels macromoléculaires, issus de la polymérisation des composés qui sont liés au processus de dégradation biologique et d'oxydation chimique des déchets de végétaux et d'animaux, caractérisées par une odeur importante (présence de cycles aromatiques), représentent la fraction la plus réactive et formatrice des SPC, notamment grâce à leurs sites métadihydroxybenzeniques, très réactifs avec le chlore. Ces substances se composent de 40 à 60 % de carbone, 30 à 50 % d'oxygène, 4 à 6 % d'hydrogène, 0,5 à 2 % d'azote, moins de 1 % de soufre et jusqu'à 10 % de matières résiduelles.

La figure 2 illustre un modèle simplifié d'un composé humique présenté par Trussel dans un article de Trussel et Umphres (1978). Cette structure se compose d'une énorme masse de matière organique chimiquement amorphe, ayant certains groupes fonctionnels qui émergent de la surface et réagissent avec le chlore pour produire des THM (Tremblay, 1995 ; Mouly et al., 2008). Les substances humiques représentent en moyenne de 30 à 50% du carbone organique dissout. Elles se divisent en deux composantes : les acides humiques et les acides fulviques lesquels représentent la fraction la plus importante.

Les acides humiques sont les composés qui, dans la MON, possèdent le poids moléculaire le plus élevé. Ceci est principalement dû à la forte concentration de carbone aromatique par rapport à la concentration d'acides carboxyliques et de groupements carbonyles. Les acides fulviques représentent la fraction majoritaire de la MON, soit près de 50%. Ce sont de poids moléculaires inférieur aux acides humiques. Leur concentration en carbones aromatiques est moindre que celle des acides humiques, cependant les concentrations en groupements carbonyles et les acides carboxyliques des acides fulviques sont supérieures à celles des acides humiques.

Les acides humiques favorisent la formation des SPD à cause de leur plus grande concentration en carbone aromatique, mais puisque les acides fulviques sont plus présents dans la MON, les SPD sont principalement formés par ces derniers (Tremblay, 1995 ; Vinette, 2001 ; RQEP, 2006 ; Mouly et al., 2008).

II. 3 Formation et évolution des sous-produits de chloration

L'appellation générique SPD correspond à l'ensemble des sous-produits formés au niveau des usines de traitement d'eau quels que soient la nature et le point d'injection de

l'oxydant. Un même agent oxydant peut être utilisé à différents endroits d'une filière de traitement pour oxyder ou désinfecter l'eau avant sa mise en distribution :

- Dans le premier cas, l'oxydant (le plus souvent ozone, bioxyde de chlore ou chlore) est ajouté en début ou milieu de filière de traitement, et on parle de pré-chloration, pré-ozonation, inter-chloration, inter-ozonation. L'objectif est de contrôler le développement de divers micro-organismes ou d'oxyder certains composés indésirables pour faciliter ensuite leur élimination;
- Dans le deuxième cas, l'oxydant (chlore, bioxyde de chlore ou chloramines en fonction des pays) est ajouté en fin de filière, et on parle de post-chloration, post-chloramination. L'objectif est d'inactiver les agents pathogènes et d'empêcher leur réactivation dans le réseau d'eau.

Dans les deux cas, les sous-produits potentiellement formés diffèrent par leur nature et leurs teneurs en fonction des caractéristiques de l'eau brute, du type d'oxydant et du point d'injection (Mouly et al., 2008).

II. 3. 1 Mécanismes de formation

La formation de SPC est un processus complexe qui survient lorsque le chlore réagit avec des MON présentes dans l'eau. Cette réaction débute dès l'ajout du désinfectant dans l'eau et se termine lorsqu'il n'y a plus de désinfectant ou de MON pour réagir.

Le chlore ajouté à l'eau est en majorité consommé par le processus d'oxydation. Le reste (10 %) opère une substitution, une addition, ou une oxydation incomplète des composés organiques. Il s'associe donc à d'autres éléments pour former des produits, dont la plupart sont indéfinis ou ne peuvent être clairement identifiés en raison de la stabilité des structures et des facteurs de solubilité. Certains d'entre eux ont été identifiés : les THM, les HAA, les haloaldéhydes, les halocétones, les haloacétonitriles, les chlorophénols (CP).

A titre d'exemple, la figure 2 illustre le mécanisme de formation de plusieurs SPC à partir d'acides humiques de type résorcinol.

La réaction débute par une chloration rapide de l'atome de carbone en ortho, activé par une substitution hydroxyle (compose I sur la figure 2). Une forme intermédiaire (compose II) est ensuite rapidement halogénée (formation du compose IV) ou protonée (formation du composé III) suivant les conditions réactionnelles. Les composés III et IV sont ensuite clivés au niveau des repères a, b et c pour donner différents sous-produits:

Un clivage de la molécule en a du composé IV forme les THM. Le clivage en b par l'insertion d'un hydrogène permet la formation des HAA tandis que le clivage en c forme des halocétones.

Le pH est un paramètre important de la formation de SPC : la formation de THM augmente lorsque le pH est élevé et diminue lorsqu'il est faible (Tremblay, 1995 ; Vinette, 2001 ; RQEP, 2006 ; Mouly et al., 2008).

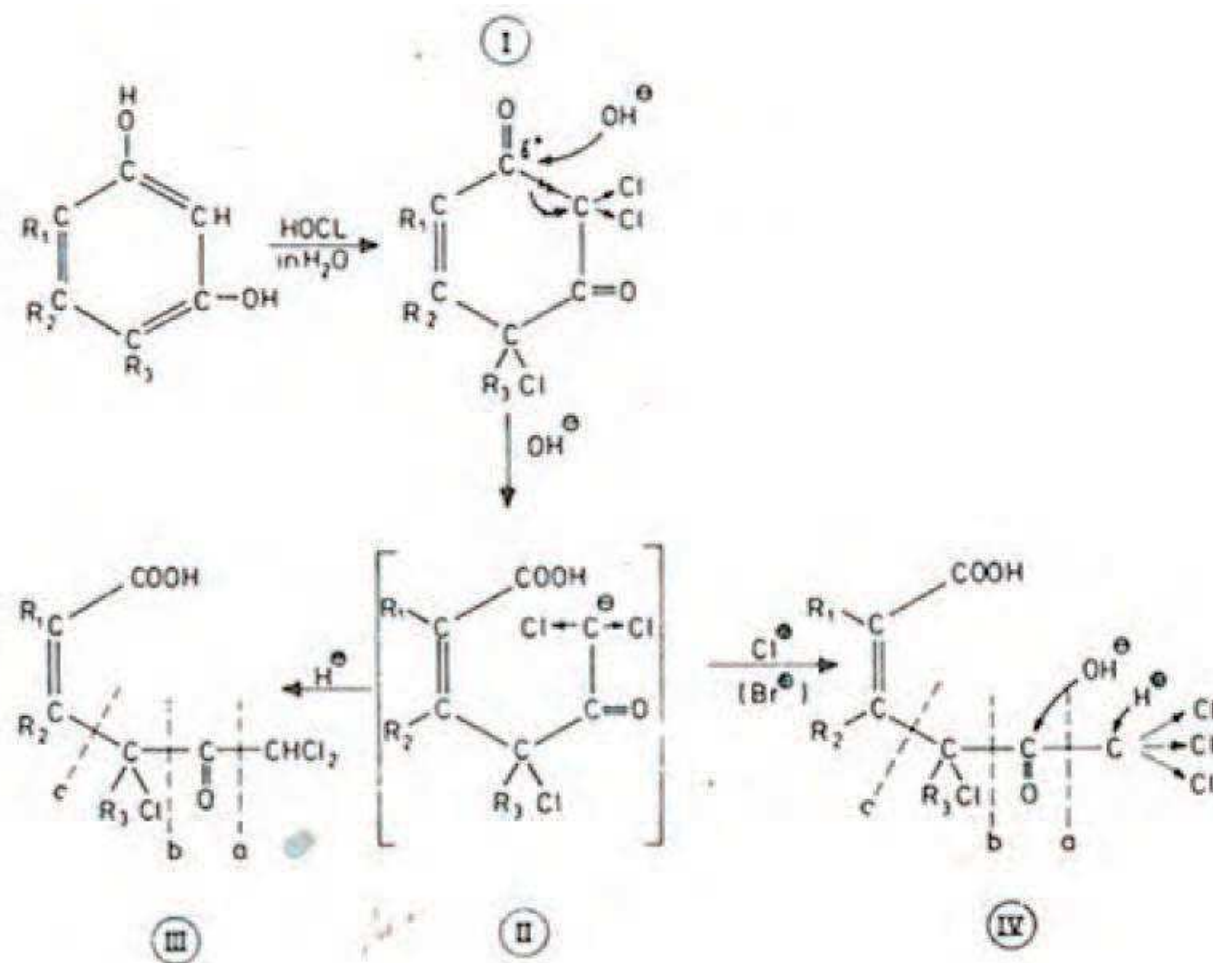


Figure 2 : Voies de dégradations possibles des acides humiques de type résorcinol (Mouly et al., 2008)

II. 3. 2 Paramètres affectant la formation des sous-produits de chloration

Les facteurs qui affectent la formation des SPD peuvent être regroupés en deux catégories : les paramètres de la qualité de l'eau directement reliés aux caractéristiques de l'eau brute, à savoir la MON et les ions bromures ; les paramètres opérationnels, à savoir le pH, la température, la dose de désinfectant et le temps de contact du chlore dans l'eau. Ce dernier paramètre correspond, dans les réseaux de distribution, au temps de séjour de l'eau (Vinette, 2001).

II. 3. 2. 1 La matière organique naturelle

La MON est le précurseur des SPD dans l'eau potable. La MON comprend un ensemble de substances humiques (acides fulviques et humiques) et non humiques. Les

indicateurs de MON les plus utilisés sont le COT et l'absorbance UV à une longueur d'onde spécifique, soit 254nm (W-254). Une augmentation de ces indicateurs s'accompagne généralement d'une augmentation des concentrations en SPC. Le COT et l'absorbance UV à 254nm constituent donc des indicateurs des précurseurs de SPC. Le suivi de ces deux indicateurs est intéressant car ils sont davantage liés aux acides humiques, précurseurs plus réactifs que les acides fulviques vis-à-vis du chlore. Le rapport entre l'UV-254 et le COT est également utilisé pour caractériser la réactivité de la MON vis-à-vis du chlore et de son potentiel à former des SPC. (l'UV-254 est un indicateur des liens aromatiques contenus dans les substances humiques, soit la réactivité de la MON tandis que le COT est un indicateur de la quantité de MON disponible pour la réaction) (Vinette, 2001 ; Mouly et al., 2008).

II. 3. 2. 2 Ions bromures (Br⁻)

La présence de Br⁻ affecte la spéciation des SPD et leur vitesse de formation. Les bromures sont oxydés par le HClO pour former l'acide hypobromeux (HOBr), lequel réagit ensuite en combinaison avec le HClO pour former des sous-produits bromés selon les réactions suivantes :



Le HOBr réagit plus facilement avec la MON que HClO puisqu'il est un agent de substitution halogène plus efficace. Des chercheurs ont observé par des tests de potentiel de formation des THM qu'en général, moins de 10% du HOCl était incorporé dans les THM (THM-Cl) tandis que pour le HOBr (THM-Br), ce pourcentage s'élevait à près de 50% (Vinette, 2001).

II. 3. 2. 3 La température

Comme pour toute réaction chimique, la vitesse de formation des SPC dépend de la température. Dans le cas de la formation des THM, une température plus élevée favorise la vitesse de réaction entre le chlore résiduel et la MON. C'est une des raisons pour lesquelles les concentrations de THM sont généralement plus élevées en été qu'en hiver. Les variations saisonnières sont intimement liées aux variations de la température. En plus d'affecter la vitesse de réaction responsable de la formation des SPD, les conditions saisonnières influencent également la disponibilité des précurseurs (MON) ainsi que leur composition.

L'effet de la température semble s'estomper avec la durée de la réaction, ceci sous-entend qu'elle influence la cinétique de réaction des THM mais ne modifie pas l'état d'équilibre final. L'effet de la température est indissociable de la notion de temps de contact (ou temps de réaction). En dehors de ces aspects cinétiques propres à la formation des SPC, la

température de l'eau brute influence différentes étapes d'une filière de traitement, notamment la clarification (Vinette, 2001 ; Mouly et al., 2008).

II. 3. 2. 4 Le pH

Le pH conditionne les caractéristiques des réactions chimiques responsables de la formation des SPD. La réaction responsable de la formation des THM se fait en deux étapes : d'une part, la cinétique de la première étape est favorisée par la présence de la forme non ionisée de HOCl à pH acide ; d'autre part la deuxième étape est une hydrolyse catalytique en milieu basique favorisée lorsque le pH de l'eau est plus élevé. Le tableau V présente une étude qu'a montré qu'une usine de traitement distribuant une eau à pH 5,5 produisait autant de THM que de HAA, alors que les usines dont le pH était supérieur à 7 produisaient plus de THM que de HAA. En complément des effets du pH sur la formation des THM et des HAA, de nombreux SPC ont tendance à être hydrolysés dans des conditions de pH alcalins (pH>8,0).

Le pH de l'eau brute détermine également l'efficacité de l'étape de clarification au cours de laquelle la majorité de MON peut être éliminée (Vinette, 2001 ; Mouly et al., 2008).

Tableau V : Formation des principaux SPD selon le pH de l'eau (Vinette, 2001)

SPD	pH= 5	pH= 7	pH= 9,4
THM	Faible		Elevée
Acide Trichloroacétique (TCA)	Comparable		Faible
Acide Dichloroacétique (DCA)	Comparable; peut-être favorisé a pH=7		
Chloral hydrate	Comparable		Importante dans les premières 4h : dégradation ensuite
Dichloropropanone	Elevée	Importante dans les premières 4h : dégradation ensuite	Faible
1, 1,1-trichloropropanone	Elevée	Faible	Non détecté

II. 3. 2. 5 Dose de désinfectant et concentration résiduelle

La dose de désinfectant appliquée à l'eau durant le traitement affecte directement la formation des sous-produits. En plus de favoriser leur formation, la dose de désinfectant affecte la spéciation des SPD et leur importance relative. Par exemple, une dose plus élevée favoriserait la formation de HAA au lieu des THM. De même, une dose de chlore plus élevée favorise la formation de SPC par rapport aux sous-produits bromés autant pour les THM que les HAA.

Le chlore résiduel libre dans le réseau de distribution contribue directement à la formation des SPD. Il apparaît qu'à mesure que le chlore résiduel libre diminue dans le réseau, la concentration en SPD augmente. Il semble aussi que plus la concentration de chlore résiduel libre est faible, moins la formation en SPD est importante. Cette observation est expliquée par le fait que la vitesse de formation des SPD dépend probablement de la concentration du chlore résiduel libre (Vinette, 2001).

II. 3. 2. 6 Temps de séjour

Le temps de séjour dans le réseau est un paramètre fondamental de la formation des SPD. Il correspond au temps de réaction entre le désinfectant et la MON. Plus ce temps est élevé, plus la concentration en SPD sera importante. Tel que mentionné précédemment, il semble que la vitesse de formation soit rapide en début de réaction et qu'elle tende à ralentir à mesure que le chlore résiduel libre est consommé. La concentration en SPD peut donc devenir considérable dans les extrémités des réseaux de distribution d'eau potable où le temps de séjour excède parfois 24 heures (Vinette, 2001).

III. Les différentes classes des sous-produits de désinfection

III. 1 Les sous-produits de chloration

III. 1. 1 Les trihalométhanes

Les THM sont les sous-produits les plus abondants dans l'eau potable chlorée, ils représentent 44 à 50% des composés organohalogénés (A.O.X) totaux où 35% de celui-ci sont formés lors de l'étape de pré-chloration, alors que 60 à 70% sont formés lors de la post-chloration. On note aussi que les différentes étapes du traitement physico-chimique n'ont pratiquement aucune influence notable sur la réduction des THM formés en pré-chloration.

Les quatre types de THM les plus importants sont : le trichlorométhane (CHCl_3 ou chloroforme), le dibromochlorométhane (CHClBr_2), le bromodichlorométhane (CHBrCl_2) et le tribromométhane (CHBr_3 ou bromoforme). Le dibromochlorométhane est le THM qui présente le risque sérieux de cancer suivi par le bromoforme et enfin le chloroforme. La concentration des THM est deux fois plus en saison chaude qu'en saison froide (Gibbons et Laha, 1994 ; Lebel et al., 1995 ; Birane et Bouzid, 1998 ; Chen et Weisel, 1998 ; El Shahat et al., 1998 ; Simpson et Hayes, 1998).

Les THM sont absorbés, métabolisés et éliminés rapidement par les mammifères après ingestion ou inhalation qui sont ensuite arrivent rapidement dans le courant sanguin qui les transporte dans les tissus (Liimatainen et al., 1988 ; OMS, 1994).

III. 1. 2 Les acides haloacétiques

Les HAA sont des produits d'oxydation très polaires formés par la réaction du chlore sur certaines substances organiques présentes dans l'eau comme l'acide fulvique et l'acide humique. C'est la fraction la plus importante après les THM et représentent 25% des AOX totaux. Ces acides comprennent des acides chlorés, bromés et chlorés/bromés. Les acides dichloroacétiques (DCA) et les acides trichloroacétiques (TCA) sont détectés dans les eaux chlorées à une concentration de 4 à 161 µg/l.

Il n'existe pas de différence statistiquement significative des concentrations des HAA durant la saison chaude ou froide, leur concentration est plus faible plus qu'on s'éloigne de la station de traitement et plus l'eau est âgée (le temps de stockage est long) (Gibbons et Laha, 1994 ; OMS, 1994 ; Lebel et al., 1995 ; Chen et Weisel, 1998 ; El Shahat et al., 1998 ; Simpson et Hayes, 1998).

III. 1. 3 Acétonitriles halogénés

Les acétonitriles halogénés ont été identifiés dans l'environnement uniquement comme étant des SPC des eaux de surface et des eaux souterraines, ils représentent 5% des AOX totaux. Les précurseurs potentiels de ses sous-produits sont : les algues, les acides humiques et les protéines. Ils peuvent aussi se former in vivo à la suite d'ingestion d'eau chlorée. Le dichloroacétonitrile (DCAN) est l'acétonitrile halogéné le plus abondant dans les eaux de boisson (0,3 à 24 µg/l).

Les acétonitriles halogénés bromés peuvent aussi exister si les ions bromures se trouvent dans l'eau brute. Les concentrations des différents acétonitriles halogénés dans le réseau de distribution sont généralement faibles et diminuent légèrement durant la saison chaude (Gibbons et Laha, 1994 ; OMS, 1994 ; Lebel et al., 1995 ; Chen et Weisel, 1998 ; El Shahat et al., 1998 ; Simpson et Hayes, 1998). Ils sont facilement absorbés par la voie gastro-intestinale et rapidement métabolisés en composés mono-carbonés, notamment en cyanure, en formaldéhyde ainsi que des halogénures de formyle (OMS, 1994).

III. 1. 4 Autres sous-produits de chloration

Les hydrates de chloral (trichloroacétaldehydes HC), les chlora-cétones (CK), les CP et les Chlorohydroxyfurnones (CHF) sont des groupes de SPC cités par l'organisation mondiale de la santé qui peuvent présenter un danger pour la santé publique. L'OMS n'a pas donnée des valeurs guides à la plus part de ces groupes vu le manque de données.

III. 2 Sous-produits de chloramination

III. 2. 1 Le chlorure de cyanogène (CNCL)

Le CNCL est le produit de chloramination le plus connu, il se forme par réaction de HOCl sur des précurseurs organiques en présence de l'ion NH_4^+ . Des concentrations de 0,4 et 1,6 µg/l respectivement ont été détectées dans l'eau de boisson traitée par la chloramine (OMS, 1994 ; Simpson et Hayes, 1998).

Le CNCL se transforme rapidement en cyanure dans l'organisme. Il existe peu de données sur la toxicité par voie orale du CNCL, de sorte que la valeur guide indiquée 70 µg/l est fondée sur les propriétés des cyanures (OMS, 1994).

III. 2. 2 Autres sous-produits de chloramination

Tous les SPD détectés par chloration peuvent aussi se présenter dans les eaux chloraminées mais à des niveaux inférieurs à ceux rencontrés dans les eaux chlorées vu le pouvoir oxydant faible des chloramines.

Le profil des SPD est différent avec la dominance des HAA suivis par les THM (24% au lieu de 46% dans l'eau chlorée) et les acétonitriles halogénés (augmentent de 5 en eau chlorée à 11% dans l'eau chloraminée). La concentration du HC diminue de 3 à 1% tandis que la concentration des CK demeure invariable avec 3%. Les HAA et les THM compte près de 83% dans les eaux chloraminées (OMS, 1994 ; Simpson et Hayes, 1998).

Le tableau VI montre une distribution des SPD halogénés dans les eaux chlorées et chloraminées

Tableau VI : Distribution des SPD halogénés dans les eaux chlorées et chloraminées (Simpson et Hayes, 1998).

	Eau chlorée %	Eau chlorée %
THMs	46	24
HAAs	42	54
HC	03	01
CK	03	03
CNCL	01	07

III. 3 Sous-produits d'ozonation

III. 3. 1 Bromates

Des bromates peuvent se former par oxydation de l'ion bromure lors de l'ozonation, et éventuellement à partir d'autres oxydants utilisés dans le traitement de l'eau. Des données limitées montrent que les concentrations dans l'eau de boisson sont généralement inférieures à

90µg/l (Kurokawa et al., 1986). Ils sont rapidement absorbés et excrétés, principalement dans les urines sous forme de bromures. On peut les mettre en évidence dans les urines à des doses supérieures ou égales à 5 mg/Kg de poids corporel (OMS, 1994).

III. 3. 2 Formaldéhyde

La présence de formaldéhyde dans l'eau de boisson résulte principalement de l'oxydation de MON lors de l'ozonation et de la chloration. Des concentrations atteignant 30µg/l ont été mesurées dans l'eau de boisson ozonisée (OMS, 1994).

III. 4 Sous-produits du dioxyde de chlore

III. 4. 1 Chlorates

La présence de chlorates dans l'eau peut résulter de la décomposition du dioxyde de chlore ou de l'utilisation d'hypochlorites comme désinfectant (Dernat et Pouillot, 1994 ; OMS, 1994).

III. 4. 2 Chlorites

Analogues des chlorates générés par la dégradation du dioxyde de chlore (Dernat et Pouillot, 1994 ; OMS, 1994). La dose initiale de chlorite se retrouve à moins de 50% sous forme de chlorure dans les urines et en faible proportion sous sa forme initiale.

IV. Effets mutagènes et/ou génotoxiques des sous-produits de désinfection

Les effets mutagènes et génotoxiques des SPD sont déterminés à l'aide de tests « *in vitro* » comme le SOS chromotest et le test d'Ames, de tests « *in vivo* » test micronoyaux (MN) triton et le test d'Allium ainsi que par des études épidémiologiques menées sur des animaux de laboratoire « *in situ* » ou sur des populations résidant dans des aires géographiques alimentées par des eaux de boisson d'origine différente (souterraine ou superficielle) traitées par différents désinfectants.

IV. 1 Les trihalométhanes

Dans le SOS chromotest seul le chloroforme n'induit pas un effet génotoxique sur *E. Coli* PQ 37. Le CHBrCl_2 , le CHClBr_2 et le CHBr_3 sont génotoxiques avec et sans activation métabolique. Dans le test Ames fluctuation, tous les THM sont montrés mutagènes sur *S. typhimurium* TA100 avec et sans activation métabolique. Dans le test MN triton seul deux des quatre THM exposent des effets clastogéniques dans les érythrocytes périphériques, le CHBrCl_2 induit une augmentation de la fréquence d'apparition de MN dans les érythrocytes (Le Curieux et al., 1995).

Des études épidémiologiques menues en Taiwan visant à vérifier l'existence d'un lien possible entre le taux de mortalité dans cette ville et l'eau chlorée. Ils ont choisis de travailler

sur des municipalités alimentées en eau chlorée et des municipalités alimentées avec une eau non chlorée et ont observés une relation significative pour le cancer de rectum, vessie et reins chez les deux sexes et le cancer du foie chez les hommes (Chan-Yuh et al., 1998).

IV. 2 Les acides haloacétiques

Tous les HAA se sont montrés mutagènes dans le test Ames fluctuation sur *S. typhimurium* TA100 leur toxicité est diminuée par l'addition du S9-mix (Chan-Yuh et al., 1998). Aucun des HAA n'a montré une activité clastogénique excepté le TCA qui induit une basse fréquence de formation d'érythrocytes micronuclées. Dans plusieurs études, le DCA a provoqué des tumeurs hépatiques chez la souris. Les TCA ont également provoqués des tumeurs du foie chez la souris (OMS, 1994).

IV. 3 Les acétonitriles halogénés

Lors d'une étude, deux des acétonitriles halogénés ont montré un effet génotoxique. Le DCAN génotoxique en présence de S9-mix par contre le dibromoacétonitril (DBAN) produit un effet génotoxique en absence de S9-mix. Tous les acétonitriles halogénés à l'exception du DBAN démontrent une activité mutagène chez *S. typhimurium* TA100 sans ou avec activation métabolique.

Ces acétonitriles halogénés étudiés exposent des effets clastogéniques sur les érythrocytes périphériques des larves de triton. Les résultats montrent aussi que la toxicité des acétonitriles chlorés s'accroît avec le nombre de substituant chlorés (Le Curieux et al., 1995 ; Le Curieux et al., 1996).

IV. 4 Les hydrates de chloral

Ce composé induit des mutations dans le test d'Ames avec pré-incubation en présence de S9-mix chez *S. typhimurium* TA100. Le HC est positif « *in vitro* » dans les essais micronucleus dans les lymphocytes humains (Giller et al., 1995).

IV. 5 Les chloracétones

Les CK montrent aussi une activité mutagène dans le test d'Ames fluctuation avec et sans activation métabolique. Le test des MN triton est positif et présente une activité clastogénique sur les érythrocytes périphériques (Le Curieux et al., 1994 ; Le Curieux et al., 1996).

IV. 6 Les chlorofénols

Selon certains rapports, les CP provoqueraient l'apparition de lymphomes et de leucémies chez le rat mâle et de tumeurs hépatiques chez les souris des deux sexes, ils ne se sont révélés pas mutagène dans l'épreuve d'Ames mais ils ont manifesté une faible activité mutagène dans d'autres épreuves « *in vivo* » et « *in vitro* » (OMS, 1994).

IV. 7 Les chlorohydroxyfurnones

Dans l'essai des MN sur des cellules lymphatiques, tous les CHFs montrent des effets génotoxiques significantes. De nombreuses études « *in vitro* » ont démontrés que les CHFs causent des rangs de dommages chromosomiaux dans les cellules mammifères (sans activation métabolique) (Back Lund et al., 1989 ; Le Curieux et al., 1999).

IV. 8 Les bromates

Les bromates provoqueraient une leucémie très élevée de tumeurs rénales chez les rats des deux sexes et de mésothéliomes du péritoine chez les rats mâles. L'ion bromate est mutagène dans le test d'Ames et provoque des cassures chromosomiques « *in vivo* » et « *in vitro* » et l'apparition des MN (OMS, 1994).

IV. 9 Le formaldéhyde

Le formaldéhyde administré par inhalation à des rats et à des souris s'est révélé cancérigène à des doses qui provoquaient une irritation de l'épithélium nasal, l'ingestion pendant 2ans d'eau de boisson contenait du formaldéhyde a provoqué des papillomes de l'estomac associés à une forte irritation ont été observés (OMS, 1994).

Il y a de plus en plus d'indices d'une corrélation entre le pouvoir mutagène et le pouvoir cancérigène d'une substance. Une étude a montré en particulier que 157 des 175 agents cancérigènes recensés (donc environ 90%) sont également mutagènes (Griffiths et al., 1997). Le terme mutagène désigne les agents qui augmentent la fréquence des mutations dans la population des cellules et/ou d'organismes.

Les termes génotoxiques et génotoxicité se référant aux agents ou processus qui altèrent la structure, le contenu informationnel ou séparation de l'acide désoxyribonucléique (ADN), notamment ceux qui endommagent l'ADN en interférant avec le processus normal de réplication de façon non physiologique (temporaire).

Un agent cancérigène est un facteur provoquant, aggravant ou sensibilisant l'apparition d'un cancer. Un agent physique ou chimique est cancérigène pour l'homme quand il provoque des lésions de l'ADN cellulaire qui déclenchent un processus complexe de transformation cancéreuse (Meyer et al., 2004)

Lien entre mutagenèse et cancérogenèse

La molécule d'ADN est une structure dynamique sujette à des constants changements. Ces variations sont consécutives, d'une part à des erreurs spontanées, d'autre part à des lésions de l'ADN induites par des agents physiques ou chimiques (UV, radiations ionisantes, produits chimiques) qualifiés de génotoxiques. La plupart de ces dommages génétiques sont réparés et sans conséquence. Ces mécanismes de réparation deviennent moins efficaces avec l'âge.

Quelquefois, si le dommage est trop important, les capacités de réparation de la cellule sont dépassées et la cellule peut mourir (par exemple par apoptose). Cependant, des agressions répétées sur le génome augmentent la probabilité de survenue de lésions irréversibles (mutations) et peuvent être à l'origine de l'initiation d'un processus cancérogène (Iamarcovai, 2008).

I. Tests de détection du pouvoir cancérigène

Il existe de nombreux tests de détection du pouvoir cancérigène. Les procédés choisis doivent devenir compte du fait que l'organisation du matériel génique est très différente entre les eucaryotes et les procaryotes (Vaubourdolle, 2007).

I. 1 Les tests procaryotiques

Les plus employés sont :

I. 1. 1 Test d'Ames

La figure 3 montre le test d'Ames qui est un test de mutagenèse proprement dit. Il consiste à examiner si une substance chimique ou agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *S. typhimurium*. Les souches utilisées dans le test sont des souches porteuses d'une mutation dans des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine (**His**⁻). Cette mutation **His**⁻ rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations de **His**⁻ reversent 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 de quantifier l'induction de ces mutations reverses **His**⁺ (Maron et Ames, 1983 ; De Meo et al., 1996).

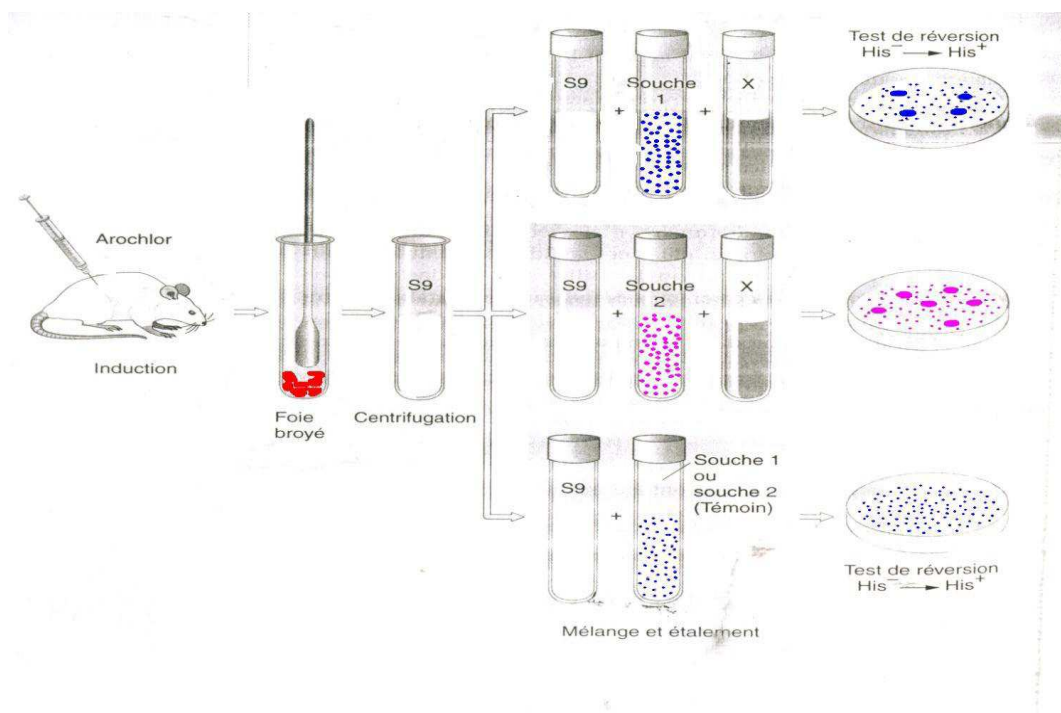


Figure 3 : Principe du test d'Ames (Griffiths et al., 1997).

I. 1. 2 Le SOS chromotest

Ce test est basé sur l'utilisation de la bactérie intestinale *E. coli* PQ37 qui sous l'action d'agents génotoxiques, c'est-à-dire d'agents capables d'endommager l'ADN cellulaire va mettre en place un système de fonctions réparatrices appelés « fonctions SOS » qui vont éviter le blocage irréversible de la synthèse d'ADN. Ce système code pour une enzyme β -galactosidase (β -gal), à l'aide d'un substrat qui peut être converti en composé coloré par la β -gal, le taux du dommage provoqué à l'ADN peut être mesuré par l'intensité de l'activité enzymatique (Fig. 4). Ce test peut être utilisé pour la détection de nombreux échantillons aqueux. C'est pourquoi, ce test est particulièrement adapté pour tester les échantillons pris de l'environnement (Kroon et Van Mullem, 1999).

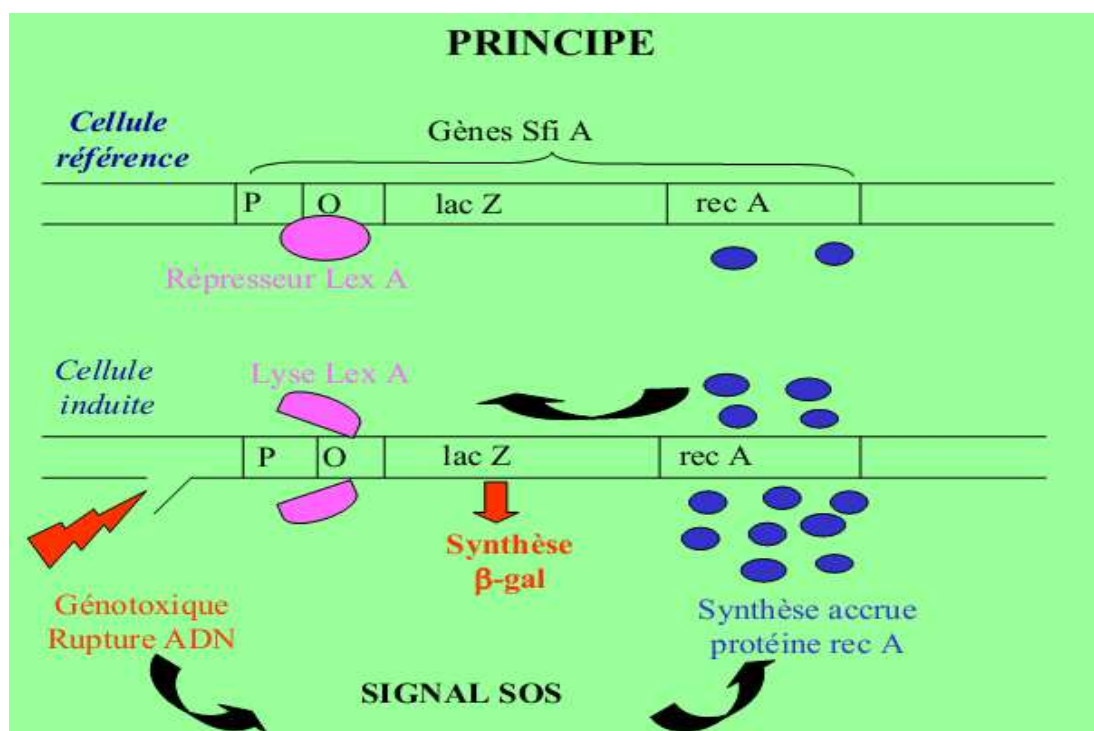


Figure 4 : Principe de SOS chromotest (Quillardet et Hoffnung, 1982).

I. 2 Les tests eucaryotiques

Les plus employés sont :

I. 2. 1 Le test d'Allium

Allium cepa (*A. cepa*) ($2n=16$), l'oignon, fait partie de la famille des alliacées. Cette plante est cultivée dans de très nombreux pays pour son usage alimentaire. Les racines de cette plante ont surtout été utilisées pour évaluer le nombre d'aberrations chromosomiques (AC). Ce critère s'est avéré très sensible pour détecter le potentiel génotoxique des produits

chimiques. Elles permettent l'évaluation de divers critères de toxicité et de génotoxicité (Fiskesjo, 1988).

Le test d'*Allium* consiste à mettre les racines en contact avec le liquide à tester pendant un temps bien déterminé ensuite les couper et les colorer pour bien visualiser les différents stades de la division cellulaire et évaluer le nombre des AC (Cotelle, 1999).

I. 2. 2 Le test des Comètes

Le test des comètes ou *Single Cell Gel Electrophoresis* (SCGE) est une technique d'électrophorèse sur microgel d'agarose. Il permet de mesurer les cassures induites directement par un agent génotoxique et indirectement lors des processus enzymatiques de réparation des dommages ou lors de processus secondaires de fragmentation de l'ADN tel que l'apoptose (Schmid, 1997).

Après traitement *ex vivo*, *in vitro* et *in vivo*, les cellules isolées sont mélangées avec l'agarose à faible point de fusion et déposées sur des lames précédemment recouvertes d'un gel d'agarose. Les cellules, emprisonnées dans le gel, sont lysées par un tampon contenant des détergents et une forte concentration en sels. Les lames sont ensuite déposées dans une cuve d'électrophorèse. Après dénaturation ou non de l'ADN, une électrophorèse est réalisée. Ce test est basé sur la capacité de l'ADN, chargé négativement, de migrer vers l'anode dans le gel d'agarose soumis à un champ électrique. Après la migration, les lames sont neutralisées et fixées (Fig. 5). Après coloration, l'ADN d'une cellule intacte apparaît comme une sphère de 25 à 35 μm de diamètre et l'ADN d'une cellule lésée s'étire proportionnellement au nombre de cassures (Kerninon, 2003).

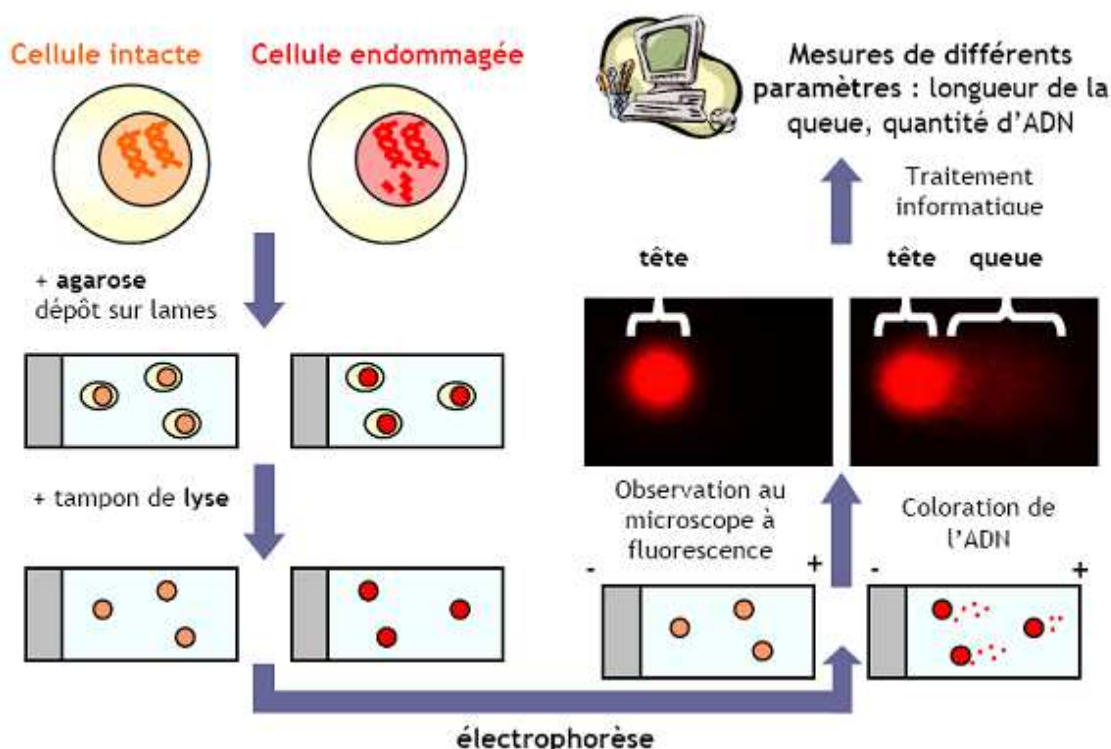


Figure 5 : Principe de test des comètes (Kerninon, 2003).

I. 2. 3 Test des micronoyaux

Le test des MN est pratiqué *in vivo* chez des mammifères en vue de détecter des lésions des chromosomes ou de l'appareil mitotique d'érythroblastes résultant de l'action d'une substance d'essai. Il est basé sur l'analyse d'érythrocytes prélevés dans la moelle osseuse et/ou dans les cellules du sang périphérique d'animaux, généralement des rongeurs. Le test des MN a pour but de détecter des substances qui engendrent des lésions cytogénétiques et des MN dans lesquels il reste des fragments de chromosomes ou des chromosomes entiers. Lorsqu'un érythroblaste de moelle osseuse se transforme en érythrocyte polychromatique, le noyau principal est expulsé et chaque MN qui s'est formé peut subsister dans le cytoplasme par ailleurs anucléé. La visualisation des MN est facilitée par l'absence du noyau principal. Un accroissement de la fréquence MN dans les érythrocytes polychromatiques des animaux traités est le signe d'une lésion chromosomique (Schmid, 1997).

Ce test appliqué dans des études *in vitro* a pour but de détecter la génotoxicité d'un agent physique ou chimique ; dans ce cadre, l'agent à tester est incorporé au cours de la division cellulaire générant un micronoyau. Appliqué dans des études *in vivo*, Il est employé dans des nombreuses études de bio-surveillance, notamment auprès de populations exposées aux rayonnements ionisants au niveau environnemental ou professionnel. Ce test est

susceptible d'être mis en œuvre sur toutes les cellules eucaryotes capable d'effectuer une division cellulaire en culture. Il est surtout actuellement appliqué aux lymphocytes en culture utilisés comme cellules modèles, il consiste alors à dénombrer les MN présents dans les lymphocytes binucléés obtenus par blocage de la division cytoplasmique par la cytochalasine B (cyto B) (inhibiteur de la polymérisation des filaments d'actine) après une division nucléaire complète (Fig. 6). Cette méthode permet de distinguer les cellules mononucléées, qui ne se sont pas divisées, et les cellules binucléées, qui ont réalisées une division nucléaire complète (Bach-Campa, 2011).

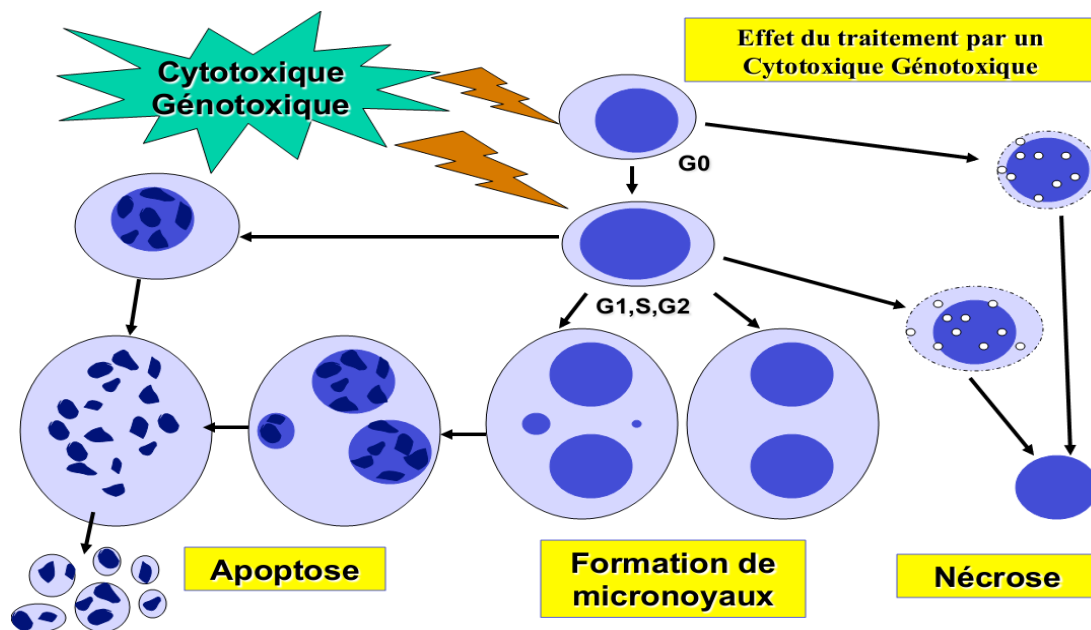


Figure 6 : Principe du test micronoyaux (Meyer et al., 2004).

Les travaux de recherche réalisés dans le cadre de cette étude ont permis d'étudier l'effet du désinfectant sur les eaux étudiées. Ce chapitre décrit les étapes suivies afin d'atteindre les objectifs souhaités. La première étape consiste à analyser les paramètres de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux étudiés ; d'une part, les changements de la qualité de l'eau à travers les saisons, et d'autre part les changements de la qualité de l'eau entre l'usine de traitement et les robinets consommateurs. La deuxième étape de la méthodologie consiste à déterminer la génotoxicité des eaux prélevées pendant les quatre saisons et à la fin une étude statistique des résultats obtenus.

I. Collecte des données

I.1 Sites d'étude

Guelma est l'une des wilayas de l'Algérie, alimentée par les eaux de surface qui proviennent du barrage sur l'oued Bouhamdane et les eaux des forages. Le barrage de Bouhamdane représente la source essentielle qui assure la distribution de l'eau à la population.

La station de traitement de cette eau, est une usine de traitement des eaux de surface d'une capacité de 500L/S selon l'Algérienne Des Eaux (ADE), 2007. Ce traitement passe par des étapes bien définies qui forment le procédé de traitement qui a été mis au point en fonction de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau brute du barrage de Bouhamdane. Le procédé se compose de plusieurs étapes selon les recommandations de la norme algérienne et internationale (ADE), 2007 :

I.1.1 Pré-chloration

Elle se fait par le NaClO ou communément appelé l'eau de javel qui est l'oxydant utilisé ; à défaut, il est parfois remplacé par le $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (Fig. 7).



Figure 7 : La pré-chloration dans le premier bassin de mélange.

I. 1. 2 Clarification

A. Coagulation

C'est une opération qui consiste à provoquer dans un premier temps la déstabilisation des MES, puis leur agrégation en flocons décantables (Fig. 8), elle se fait par le sulfate d'alumine ($\text{Al}_2 (\text{SO}_4)_3$) qu'il est ajouté dans un bassin d'agitation rapide (180 t/min) pour permettre la formation des petits flocons (ADE, 1999).



Figure 8 : Bassin de la coagulation.

B. Flocculation

C'est une opération complémentaire à la coagulation qui consiste à un grossissement des micros flocons formés par l'aluminium. Elle se fait par un flocculant qui est le poly-électrolyte dans un bassin d'agitation lent (40t/min), elle assure une plus grande cohésion du floc et une meilleure vitesse de sédimentation (Fig. 9), ce qui permet une meilleure récupération des eaux de la surface du décanteur (ADE, 1999).



Figure 9 : Bassin de flocculation.

C. Décantation

C'est la phase de séparation gravitaire des matières insolubles dans l'eau. Elle vise à éliminer les floccs issus de la coagulation- floculation (Fig. 10). Elle se fait dans un décanteur raclé à ciel ouvert de 17mètre de diamètre pendant deux heures qui sont le temps nécessaire pour permettre aux floccs de décanter (ADE, 1999).



Figure 10 : Décanteur raclé à ciel ouvert

D. Filtration sur sable

C'est une étape essentielle pour la réalisation d'un traitement efficace, puisque après la décantation il reste toujours des petits floccs et des particules de faible masse qui ne se décantent pas.

L'objectif de la filtration est tout d'abord d'améliorer la qualité de l'eau décantée essentiellement du point de vue de la turbidité, mais aussi celui de l'utilisation du lit de sable comme support biologique aux bactéries nitrifiantes (membrane biologique) pour l'élimination de l'azote ammoniacal non éliminé par l'oxydation (Fig. 11).

La vitesse de filtration est de 0,1 à 0,2 m/h. Au cours de ce passage, la qualité de l'eau s'améliore considérablement par la diminution du nombre de micro-organismes (bactéries, virus, kystes), par l'élimination des MES, des colloïdales et par des changements dans la composition chimique de l'eau(ADE, 1999).



Figure 11 : Bassin d'un filtre à sable

I. 1. 3 Post-chloration

C'est l'étape ultime du traitement de l'eau de consommation avant sa distribution. Elle permet la préservation de l'eau contre toute contamination exogène qui peut altérer sa qualité tous au long du réseau où l'eau peut séjourner plusieurs jours.

Dans l'eau, il existe des germes banals car la désinfection n'est pas une stérilisation c'est-à-dire elle ne permet pas la destruction de tous les micro-organismes vivants dans l'eau, mais plutôt, de garantir l'absence des germes infectieux et d'éviter toute contamination extérieure du réseau de distribution (ADE, 2007).

Lors de chacun des essais, un échantillon d'eau brute, un échantillon après pré-chloration et un échantillon après décantation ont d'abord été prélevés pour des fins d'analyses des paramètres physico-chimiques et bactériologiques (P1, P2 et P3 dans la figure 12 successivement). Le point P4 sur la figure 12 correspond au point de la mise en distribution (post-chloration=SP1) ; les paramètres de la qualité et de la génotoxicité de l'eau et les teneurs en THM mesurés au niveau de ces points représentent la qualité et la génotoxicité de l'eau et la quantité de THM produites par l'usine. Les mesures effectuées après le point P4 représentent l'évolution de la qualité et la génotoxicité, et les teneurs en THM dans le réseau.

Dans tous les sites ayant des postes de re-chloration en distribution, des prélèvements ont été effectués chez les consommateurs ; donc le choix du site et le nombre de point de prélèvement ont été définis en fonction du traitement par le chlore et les postes de re-chloration (SP2 et SP3 sont les stations ou les réservoirs de pompage : SP2 réservoir où s'effectué la 1^{ère} re-chloration et SP3 réservoir où s'effectué la 2^{ème} re-chloration) et la figure 12 présente la position schématique des points de prélèvement choisis pour l'étude.

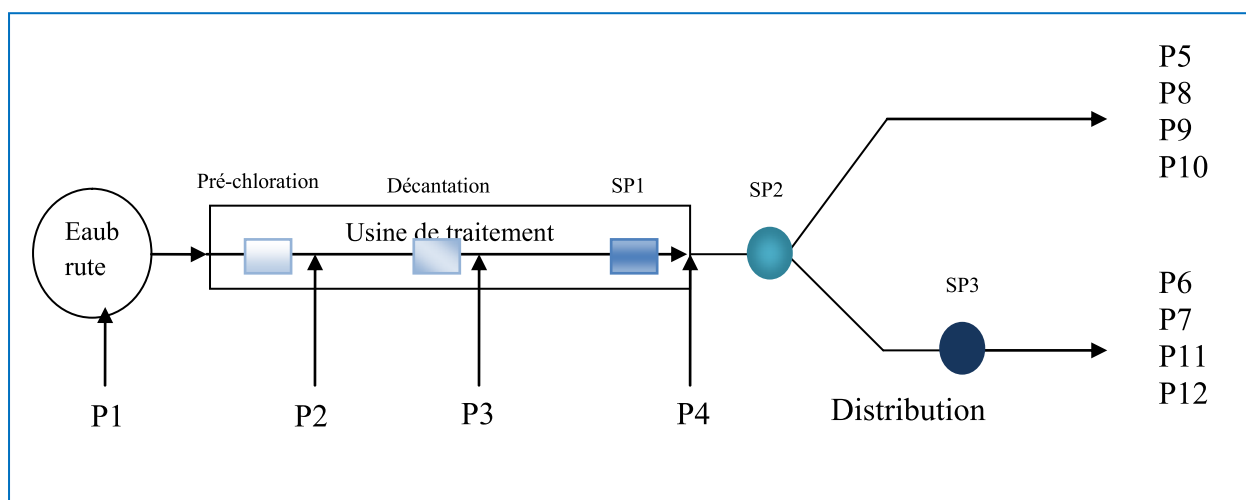


Figure 12 : Position schématique des points de prélèvement choisis pour l'étude

L'effet de la saison sur la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux et sur les concentrations en THM a été estimé sur la base d'échantillons prélevés en été, automne, hiver et printemps. Le choix de ces quatre saisons se justifie par des situations contrastées au niveau de la qualité de l'eau brute et du fonctionnement des usines du traitement. Le tableau VII présente les caractéristiques et la localisation des points de prélèvement :

Tableau VII : Présentation des points de prélèvement

		Nature d'eau prélevée	Caractéristiques des eaux prélevées
Eaux de la station	P1	Brute	L'entrée de l'eau de barrage de Bouhamdane Pas de contact avec le chlore
	P2	Traitée après pré-chloration	Contact d'une demi-heure avec le chlore
	P3	Traitée après décantation	Contact d'une heure ou plus avec le chlore
	P4	Traitée post-chloration	Contact de deux heures ou plus avec le chlore Réservoir SP1 (post-chloration dans la station de traitement)
Robinetts Consommateurs (R/C)	R/C 1	P5	Potable/consommateur
	R/C 2	P6	Potable/consommateur
		P7	Potable/consommateur
	R/C 1	P8	Potable/consommateur
		P9	Potable/consommateur
		P10	Potable/consommateur
	R/C 2	P11	Potable/consommateur
		P12	Potable/consommateur

I. 2 Echantillonnage

Le volume total d'échantillons recueillis lors de chacun des essais variait légèrement en fonction des analyses effectuées.

Les échantillons d'eaux ont été prélevés dans des flacons en verre stériles. Deux flacons de 250 ml, un a été réservé pour l'analyse bactériologique alors que l'autre a été conçu pour l'analyse physico-chimique.

Les échantillons pour la mesure des THM ont été recueillis dans des bouteilles en verre de 40 ml fermées avec un bouchon étanche recouvert de téflon. Avant l'échantillonnage, une solution de thiosulfate de sodium (100mg/L) a été ajoutée dans chaque bouteille afin d'éliminer le chlore résiduel libre et d'empêcher la formation de THM entre la prise de l'échantillon et son analyse dans le laboratoire. Lors de l'échantillonnage, les bouteilles ont été totalement remplies pour éviter la formation des bulles d'air dans l'échantillon.

Après chaque prélèvement, tous les contenants ont été conservés à l'abri de la lumière dans une glacière dont la température est maintenue à 4°C. Ils ont été ensuite transférés dans un réfrigérateur à la même température jusqu'à leur analyse.

Pour le transport des échantillons destinés au dosage des THM qui ont été expédiés au laboratoire d'analyse à Alger, les échantillons ont été placés dans une glacière avec des sachets réfrigérants et envoyés dans un délai maximum de cinq jours après prélèvement, comme préconisé par la norme NF EN ISO 15680.

II. Protocole analytique

II. 1 Analyse des paramètres de la qualité des eaux

II. 1. 1 Paramètres physico-chimiques

En raison du nombre important de variable pouvant influencer la qualité de l'eau et devant l'impossibilité de les analyser toutes, seuls les paramètres largement utilisés dans la qualité de traitement de l'eau et corrélés à la formation et l'évolution des SPC ont été retenus :

II. 1. 1. 1 Paramètres mesurés sur le terrain

Les paramètres suivis dans la présente étude qui ont été analysés sur le terrain sont : le pH a été mesuré en utilisant un pH-mètre (Mettler Toledo MP220), la turbidité par un turbidimètre Néphélométrique à lumière infrarouge de marque Hach Lange 2100N, la T° par un thermomètre de marque Check Temp1 et le chlore résiduel a été déterminé à l'aide d'un appareil Testpak (Comparateur 2000+Lovibond, Tintometer-Group, France), en utilisant la méthode à la DPD (diéthyl-p-phenyldiamine) (NFT 90-038 Octobre 1987). La conductivité, la salinité, l'OD et la TDS des eaux ont été mesurés à l'aide d'un appareil NTW.

II. 1. 1. 2 Paramètres mesurés au laboratoire

Le dosage des THM, le chloroforme (CHCl_3), le bromoforme (CHBr_3), le dibromochlorométhane (CHBr_2Cl), et le dichlorobromométhane (CHBrCl_2) dans l'eau brute et dans les eaux traitées aux différents points de prélèvement a été effectué selon la norme internationale ISO 10301, au niveau du laboratoire de l'ADE d'Alger.

Les autres analyses physico-chimiques ont été effectuées au sein de laboratoire du traitement des eaux potables (Guelma, Algérie) qui est accrédité pour tous ces paramètres, et ceci par deux méthodes :

II. 1. 1. 2. 1 La méthode volumétrique qui consiste à doser les Chlorures (Cl^-) en milieu neutre par une solution titrée de nitrates d'argent en présence de chromate de potassium (Rodier et al., 2005), le Magnésium (Mg^{2+}) et le Calcium (Ca^{2+}) par Titration molaire des ions de calcium (Ca^{2+}) et de magnésium (Mg^{2+}) avec une solution de sel disodique de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) à pH10 (ISO 6058), le TH selon Rodier et al., (2005) où les alcalino-terreux présents dans l'eau sont amenés à former un complexe du type chélate par le sel disodique d'EDTA à pH =10, la MON qui consiste à mesurer, en milieu acide et en milieu alcalin, la quantité d'oxygène utilisé pour la réduction du permanganate de potassium par les MON d'origine animale ou végétale contenues dans une eau (ISO 8467:1993, F) et le Résidu sec (R/S) qui correspond au poids de la totalité des matières par litre d'eau (Rodier et al., 2005).

II. 1. 1. 2. 2 La méthode spectrométrique avec un spectrophotomètre de type HACH(ODYSSEY) qui consiste à doser le fer par la méthode à l'orthophénanthroline (ISO 6332), Les nitrates par la méthode au salicylate de sodium où les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium, coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique (NFT 90-012), les nitrites réagissent en milieu acide (PH=1.9) avec la sulfamylade en formant sel de diazonium (diazotation) qui forme avec le N-(1-naphyl)-éthylènediamine-dichlorohydraté un colorant azoïque rouge (ISO5667), l'ammonium par la mesure à environ 655nm du composé bleu formé par réaction de NH^{+4} avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitroprussiate de sodium (ISO 7150/1-1984 F), les sulfates par la méthode Allemande : M.KERN où les ions sulfates sont précipités et pesés à l'état de sulfate de baryum et les orthophosphates (PO_4^{3-}) selon ISO6878.

II. 1. 2 Paramètres bactériologiques

L'analyse bactériologique a pour but de mettre en évidence la présence des germes, basés sur la recherche et la numération de celles-ci dans les échantillons à analyser par la

méthode de filtration sur une membrane de cellulose à 0,45µm. Ceci permet aux colonies de se développer préférentiellement au cours d'une incubation de 18 à 24 heures, et sous un aspect suffisamment caractéristique pour autoriser un diagnostic présomptif. Celui-ci peut d'ailleurs être confirmé par des repiquages judicieux. L'analyse n'est pas seulement qualitative mais aussi quantitative (Rodier et al., 1996 ; Leyral et al., 2002).

Il faut signaler qu'un examen bactériologique ne peut être interpréter que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toutes les contaminations accidentelles, correctement transporté au laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes (Rodier et al., 1996).

II. 1. 2. 1 Recherche et dénombrement

La recherche et le dénombrement ont été basés sur des micro-organismes considérés comme des indicateurs de contamination ou pathogènes et au même temps ils ont la possibilité de résister même après un traitement avec le chlore en se basant sur les paramètres suivants selon Rodier et al., (1996):

III. 1. 2. 1. 1 Recherche et dénombrement des germes totaux (GT)

Selon les normes internationales, les micro-organismes reviviscibles se définie comme étant la totalité des bactéries, levures et moisissures capables de former des colonies dans ou sur le milieu de culture spécifié.

➤ Mode opératoire

A partir de l'eau à analyser, deux fois 1 ml a été porté dans deux boites de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées, ensuite chacune des boites a été complétée avec environ 15ml de gélose TGEA et mélangée avec précaution en mouvement rotatoire puis laissée solidifier.

➤ Incubation et lecture

Les boites ont été retournées et incubées, une à 37 °C pendant 48 h, l'autre à 22°C pendant 72 h. Le nombre de colonies formées présentes dans un millilitre d'échantillon a été calculé et les résultats sont exprimés en nombre de germes par 100ml (Germe UFC/100ml).

II. 1. 2. 1. 2 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Le terme de « coliformes » ne correspond pas à une définition microbiologique stricte. Sous ce terme est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae* et qui partagent certaines caractéristiques biochimiques (Mouly et al., 2008).

➤ **Test présomptif**

Ce test conduit à un dénombrement présomptif des CT et des CF et ceci sur une boîte de gélose lactosée au TTC Tergitol. La boîte a été incubée durant 24 heures à 37 °C. Après ce temps d'incubation, il peut apparaître des colonies rouges (ou roses) et jaunes (ou orangées). Les colonies jaunes correspondantes aux CF ont été repiquées sur des milieux de confirmation.

➤ **Test confirmatif**

Le test de confirmation est basé sur la recherche de CF parmi lesquels : *E. coli*.

Les CF ont les mêmes propriétés de fermentation que les CT mais pousseront à 44°C sur le milieu Schubert ; L'existence de pousse bactérienne, de gaz dans la cloche (fermentation du mannitol avec gaz) et une coloration rouge après addition de réactif de Kovacs (caractère indologène), correspondent à une réaction positive pour la présence d'*E.coli* présumés.

II. 1. 2. 1. 3 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Anciennement la législation parlait de « SF ». Sous cette dénomination générale, il faut entendre l'ensemble des streptocoques possédant la substance (acide teichoïque) antigénique caractéristique du groupe D. Ces streptocoques du groupe D sont généralement pris globalement en compte comme des témoins de pollution fécale, car tous ont un habitat fécal.

➤ **Test présomptif**

La recherche a été faite de la même manière que les coliformes selon la méthode de filtration sur membrane, mais cette fois la membrane a été placée sur une boîte de milieu de Slanetz et Bartley.

Après 24 heures d'incubation, les streptocoques fécaux ont été apparait sous forme de petites colonies rouges, violettes ou roses visibles sur la boîte.

➤ **Test confirmatif**

Les colonies suspectées ont été repiquées(ou transférer la membrane) sur le milieu BEA. La lecture a été faite après quelques heures des halos noirs.

II. 1. 2. 1. 4 Recherche et isolement des staphylocoques

Après concentration des échantillons par filtration sur membrane de cellulose à 0,45µm, celle-ci a été déposée sur un milieu sélectif pour bactéries tolérant de hautes concentrations en NaCl, le milieu Chapman au mannitol. Les boîtes ont été incubées à 37°C

durant 24 heures où, si besoin est, durant 48 heures. Les souches de *S. aureus* sont de taille importante et élaborent leur propre pigment ; elles apparaissent en jaune, surmontant une zone jaune du milieu sous la membrane, par suite de la fermentation du mannitol.

D'autres espèces de staphylocoques peuvent donner naissance à des petites colonies qui le plus souvent ne se colorent pas et ne modifient pas la teinte du milieu. Certaines souches cependant fermentent le mannitol et, certaines autres bactéries, en particulier les *Bacillus* – ou des *Corynebacterium*– peuvent se développer sur ce milieu.

II. 1. 2. 1. 5 Recherche et isolement des Pseudomonas

Après une étape de filtration, la membrane a été déposée à la surface d'une gélose à la cétrimide. Après 24 heures d'incubation à 37°C, une lecture a été effectuée. Les colonies de *P. aurogenosa* ont un diamètre de 1,5 à 2 mm, un contour circulaire, une surface lisse et brillante, une couleur blanc crème, un aspect muqueux et sont parfois déjà accompagnées d'une production de pigment bleu-vert qui commence à diffuser : fluorescence sous UV.

II. 1. 2. 2 Identification biochimique

Les différentes colonies ont été dénombrées directement mais nous n'avons pas pu les décrites convenablement qu'à partir des colonies bien isolées (repiquage des colonies). La première étape de description des colonies a été la coloration de Gram qui a été éventuellement confirmées par une étape d'identification biochimique par des Galeries Api qui sont des systèmes d'identifications biochimiques spécifiques, utilisant des tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base des données.

Le principe est le même pour tous les galeries (Api20E, Api20NE, Apistaph, Apistrep) :

La galerie comporte des micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée et les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique.

II. 2 Détermination de l'activité mutagène

Trois tests ont été réalisés pour évaluer la génotoxicité des eaux chlorées, un sur les cellules procaryotiques (test d'Ames), et deux autres sur les cellules eucaryotiques (animales ; test des MN et végétales qui est le test d'*Allium*) :

II. 2. 1 Le test d'Ames

Méthode standard avec pré-incubation

1. Principe

Le test d'Ames évalue la capacité d'une substance à induire une réversion dans l'expression des gènes pour l'histidine sur des souches bactériennes mutagènes de *S. typhimurium*. La mutation rend les bactéries **auxotrophes**, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent se développer que dans un milieu possédant cet acide aminé contrairement aux bactéries sauvages (**prototrophes**) qui poussent dans un milieu qui en est dépourvu. On cherche l'apparition des souches mutantes (Hubbard et al., 1984 ; De Meo et al., 1996 ; Liman et al., 2010).

2. Matériel biologique

Au cours de cette étude, les essais ont été réalisés sur les souches *S. typhimurium* TA100 et TA98 (Godet et Vasseur, 1994), ces deux bactéries utilisées dans ce test ont été envoyées par le Professeur Muhsin Konuk de l'université d'Afyon (turque). Nous tenons à le remercier vivement d'avoir répondu à notre demande. Chacune des souches contient un type différent de mutation dans l'opéron histidine, et d'autres mutations qui augmentent énormément leur habilité à détecter des mutagènes (Maron et Ames, 1983 ; De Meo et al., 1996 ; Lupi et al., 2009). Tab VIII

Tableau VIII : Différentes mutations des souches utilisées (Evind et al., 1982 ; Maron et Ames, 1983 ; Mortelmans et Zeiger, 2000).

Souches	mutation	réparation	LPS	plasmide	Séquence spécifique d'ADN cible	Type de réversion
TA 100	<i>hisG</i> 46	Délétion <i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM 101	-GGG-	substitution
TA 98	<i>hisD</i> 3052	Délétion <i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM 101	-CGCGCGCG-	frameshift

2. 1 Mutation *hisD* 3052 : mutation dans TA98, cette bactérie est déficiente à l'enzyme histidinol déshydrogénase. La TA98, détecte des mutagènes de type « frameshift ». Cette mutation à la séquence,

$$\begin{array}{c} \text{---CGCGCGCG---} \\ \text{---GCGCGCGC---} \end{array}$$
est reversée par les frameshift mutagènes tel que 2-nitrosofluorène et le daunomycine ce qui conduit à la restauration du cadre de lecture correct pour la synthèse de l'histidine.

2. 2 Mutation *hisG* 46 : mutation présente dans TA100, cette bactérie est déficiente à la première enzyme qui entre dans la synthèse de l'histidine. Elle est déterminée par la séquence

$$\begin{array}{c} \text{---GGG---} \\ \text{---CCC---} \end{array}$$
La TA100, détecte les mutagènes qui causent des substituants de paires de bases.

2. 3 Mutation *rfa* : cette mutation cause la perte partielle des polysaccharides (LPS) à la surface de la barrière cellulaire de la bactérie ce qui augmente sa perméabilité aux grandes molécules qui sont incapables de pénétrer dans la cellule normale.

2. 4 Mutation *uvrB* : c'est une délétion du gène codant pour le système de réparation « excision resynthèse », conférant une augmentation de la sensibilité à la détection des mutagènes. Pour des raisons techniques la délétion du gène *uvrB* s'étend jusqu'au gène *bio* et par conséquent, la bactérie est aussi auxotrophe à la biotine pour croître.

2. 5 Plasmide pKM 101 : Ce plasmide porte le gène de résistance à l'ampicilline (R – Factor), il est présent dans les souches TA98 et TA100. Ces souches portant le facteur de résistance se réverses par des mutagènes qui sont faiblement détectés par les autres souches. pKM 101 qui contient deux gènes amplifiant le processus SOS de réparation responsable de la mutagenèse induite (Maron et Ames, 1983 ; Mortelmans et Zeiger, 2000).

3. Contrôle de génotype bactérien

Le but de cette culture est d'arriver à la phase exponentielle de croissance c'est-à-dire 2.10^9 et qui correspond à une $DO = 0,4$ à une longueur d'onde égale à 650nm.

A partir d'une culture de nuit, 50 μ l a été prélevée, diluée dans 5ml de bouillon nutritif et incubée à nouveau à 37° pendant 2 heures avec agitation. Les bactéries ont été couvertes de papier Aluminium pour les protéger de la lumière (Evind et al., 1982).

3. 1 Réclamation de l'Histidine

La mutation *his-* rend les bactéries auxotrophes à cet acide aminé dans un milieu sélectif contient obligatoirement la biotine.

Avec un écouvillon ou une anse de platine un seul strie de chaque souche a été réalisé sur

1. des boîtes his / bio.
2. des boîtes de contrôle contenant uniquement 100 μ l d'une solution (0,5mM) stérile de biotine par boîte appliquée à la surface de la gélose minimale agar, avec un râteau.

L'incubation à 37° pendant 24h.

3. 2 La sensibilité aux UV

La vérification de l'existence d'une mutation *uvrB* a été effectuée dans des boîtes de gélose nutritive où les souches à tester et la souche sauvage sont déposées en stries.

La moitié de la boîte a été couverte par une plaque en verre et l'autre moitié a été irradiée par une lampe à UV pendant 8 secondes à une distance de 30cm. L'incubation à 37°c pendant 24h.

3. 3 La résistance à l'ampicilline (AMP) et la sensibilité au cristal violet

Deux caractéristiques ont été testées simultanément ; la présence du plasmide pKM101 qui est instable et la mutation *rfa* chez la TA98 et TA100 qui sont assurées par la résistance à l'AMP et la sensibilité au cristal violet successivement.

Trois disques stériles de papier Wattman ont été préparés, chaque disque a été déposé sur une boîte de gélose nutritive imbibé de 10µl d'une des solutions suivantes :

- Solution à 1mg/ml de cristal violet.
- Solution à 10 mg/ml d'AMP.
- L'eau distillée stérile a été utilisée comme témoin.

Remarque : avant de déposer les disques il faut verser d'abord la suspension bactérienne (Maron et Ames, 1983 ; Mortelmans et Zeiger, 2000 ; Liman et al., 2010).

4. Confirmation des génotypes

Lors de chaque essai, des contrôles doivent être réalisés et ceci pour chacune des souches utilisées :

- ❖ Taux de réversion spontanée
- ❖ Absence du solvant utilisé (témoins négatif)
- ❖ Réponse à des mutagènes de référence (témoins positifs) (Godet et Vasseur, 1994).

4. 1 Activation des souches tests

➤La pré-culture de nuit

Dans un bouillon nutritif, les souches qui sont conservées dans une gélose sélective (Master Black) ont été cultivées et incubées à 37°C dans un bain mari avec agitation pendant 16 heures.

A côté des souches test, des souches sauvages ont été cultivées dans les mêmes conditions.

➤Le ré-isolément des souches tests

A partir de la culture de nuit des souches et avec une anse de platine des stries ont été réalisées dans des boîtes contenant la gélose minimal agar (GMA) enrichie d'histidine, de biotine, et l'AMP, incubé à 37°C pendant 48h. Les boîtes ensuite ont été placées dans un réfrigérateur et serviront comme source de bactéries pour des tests ultérieurs. Cette conservation dura jusqu'à 2 mois.

➤Le stockage des souches

Le stockage a été fait dans des eppendorfs de 2ml où une quantité de bouillon nutritive a été déposée (1,5ml), ensuite à l'aide d'une pipette pasteur les colonies ont étéensemencées dans les eppendorfs et ceci avec 0,5 ml de glycérol. La conservation à -20°C.

Le mélange est renouvelé chaque six mois (Evind et al., 1982 ; Maron et Ames, 1983).

4. 2 Procédure

Pour s'assurer que la réplication de l'ADN puisse se faire en présence du mutagène potentiel, dans un tube de 20 ml, 100µl de la culture de nuit a été mise en contact avec 100µl de l'échantillon à tester après l'avoir filtré (-S9) et avec 500µl de solution S9-mix (+S9). Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 20min, ensuite 2ml de l'agar molle a été additionnée a 200µl de la solution histidine biotine qui ont été ensuite ajoutés aux tubes. Le mélangea été étalé à la surface des boîtes de GMA. L'incubation deux à trois jours à 37°C (Maron et Ames, 1983 ; Lupiet al., 2009 ; Liman et al., 2010).

5. La lecture

Après la période d'incubation si une mutation réverse est induite, les bactéries se développent en colonies. Donc le résultat qualitatif a été déterminé par la présence de mutagénicité et quantitatif par le nombre de colonies (Godet et Vasseur, 1994).

II. 2. 2 Le test d'Allium

1. Principe

Parmi les tests adaptés à la surveillance de la toxicité, le test Allium est bien connu et couramment utilisé dans de nombreux laboratoires. Les oignons sont faciles à stocker et à manipuler.

Elle permet de déterminer des critères de phytotoxicité tels que l'élongation racinaires, l'indice mitotique (IM) et le plus souvent les AC (Fiskesjö, 1988 ; Cotelte, 1999).

2. Matériel biologique

A. cepa (2n=16) bulbes d'oignons, sans aucun traitement, ont été achetés auprès d'un supermarché (turque) en fonction de leur taille(diamètre de 25-30 mm)

Les bulbes d'*A. cepa* ont été conservés à 4°C dans une chambre froide pendant une durée maximale d'un an.

3. Procédure

3. 1 Préparation des organismes végétaux

Les bulbes d'un diamètre de 1,5 cm ont été sélectionnés et nettoyés à l'eau distillée, après avoir ôté les racines et la première pelure,

Entre [6-9] h les bulbes ont été placés à l'obscurité et à environ 22°C au-dessus des tubes à essai contenant d'H₂O distillée dans un endroit aéré pendant 24h,

Au bout de 2 jours les bulbes dont les racines ont une longueur de 1 à 2 cm ont été utilisés pour le test (Cotelle, 1999 ; Liman et al., 2010).

3. 2 Traitement des graines

Il s'agit de placer chacune des graines germées sur un tube à essai contenant le liquide à tester (eau potable/ brute/ R/C) de façon à ce que seules les racines soient immergées.

Afin de limiter la variabilité intra-individuelle, cinq répliques par échantillon ont été utilisés. La mesure de la longueur des racines a été faite après 24 d'exposition à l'obscurité (Cotelle, 1999 ; Liman et al., 2011).

3. 3 Fixation et coloration

Les deux derniers centimètres ont été prélevés et fixés à 4°C pendant une durée minimale d'une nuit dans un mélange éthanol/acide acétique glacial, ce mélange appelé solution de Carnoy. Il 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.

Les extrémités racinaires ont été ensuite conservées à long terme dans de l'éthanol 70% à 4°C (chaque flacon 2,5 ml).

Au moment de l'analyse, les extrémités racinaires ont été alors hydrolysées dans 2,5 ml d'une solution HCL 1 N pendant 8 minutes à 60°C.

Le rinçage de ces extrémités a été effectué trois fois chaque 5 minutes. Après le dernier rinçage, les extrémités ont été transférées dans le colorant Feulgen pendant 20 à 25 minutes à l'abri de la lumière.

Il s'agit ensuite de rincer les racines dans l'eau distillée pendant 2 minutes, poser deux extrémités racinaires sur une seule lame à l'aide d'une pince, d'enlever la partie claire (n'est pas colorée) et la couper, et mettre une goutte d'acide acétique glaciaire 45% sur chaque extrémité.

Pour terminer la préparation des lames, une lamelle a été placée sur chaque extrémité, et pour éviter l'évaporation de l'eau, un vernis à angle n=0 a été utilisé (Fiskesjö, 1988 ; Cotelle, 1999 ; Liman et al., 2010 ; Silva et al., 2011).

4. L'examen microscopique

Il a été nécessaire avant l'observation des cellules, d'effectuer un code à chacune des lames, de façon à ce que l'expérimentateur ne sache pas à quel groupe des lames correspondent.

L'examen microscopique des lames a été réalisé à un grossissement de 640 pour l'IM qui correspond à la proportion de cellules en cours de division mitotique. Les cellules en division ont été dénombrées pour 1000 cellules par lame. Notons que tous les stades de la mitose ont été pris en compte, de la prophase jusqu'à la télophase.

Et pour les AC, l'examen a été réalisé à un grossissement de 960, les résultats ont été exprimés en nombre des aberrations pour 100 cellules (Fiskesjö, 1988 ; Sexena et al., 2005 ; Silva et al., 2011).

II. 2. 3 Le test des micronoyaux

L'observation des anomalies chromosomiques dans les lymphocytes requiert un personnel spécialisé et demande beaucoup de temps. Pour cette raison, divers laboratoires sont intéressés à la mise au point de techniques plus rapides.

La méthode des MN est une des premières à avoir fait l'objet de nombreuses études (Cotelle, 1999).

1. Principe

Lors de l'exposition à l'action d'un agent capable de produire des cassures dans les chromosomes ou d'altérer la distribution des chromosomes, les fragments acentriques ou les chromosomes ayant migré tardivement apparaîtront, dans les cellules filles, sous forme de MN distincts du noyau principal qui lui contient les autres chromosomes. La technique implique l'addition de la cyto B, Cette substance inhibe la formation des microfilaments et empêche la division cytoplasmique alors que la division du noyau se fait normalement (Cotelle, 1999 ; Amahdar et al., 2009).

2. Matériel biologique

Les essais ont été réalisés sur des lymphocytes humains au sein du laboratoire de cytogénétique (Université Hassan 1^{er}) pendant un stage d'une courte durée au Maroc. Le sang a été retiré par le prélèvement sanguin de volontaires sains non-fumeurs et transféré immédiatement dans un tube stérile hépariné (Sanjeev et al., 2006).

3. Procédure

Les cellules ont ensuite été cultivées selon un protocole standard légèrement modifiée pour le test de MN (Fenech et Morley, 1985).

3. 1. Mise en culture

Elle a été faite dans des conditions aseptiques, sous une hotte à flux laminaire, 0.5ml du sang total et 0,9ml de l'échantillon à tester filtré ont été ajoutés dans chaque tube à culture contenant 5ml du milieu RPMI 1640 après avoir noté le code de l'échantillon et l'heure.

Le contenu des tubes a été homogénéisé soigneusement pour éviter la formation de la mousse.

Ces derniers ont été disposés inclinément dans le bain-marie à 37°C, afin de pouvoir être incubés pendant 72 heures.

3. 2 Blocage de la division cellulaire

Après 44h de la mise en culture, 0,1ml de la solution de cytoB a été ajouté dans chaque tube. Après une homogénéisation manuelle, les tubes ont été remis au bain marie à 37°C pendant 28 heures.

3. 3 Traitement cytologique

Choc hypotonique

Au terme de 72 heures, les tubes de culture ont été versés dans des tubes adaptés à la centrifugeuse, dès cette étape les conditions de stérilités ne sont plus nécessaires.

Centrifugation

Cette étape a été effectuée pendant 8 minutes à 800 tours/minute.

Le surnageant a été éliminé par aspiration à la pipette pasteur de telle façon à laisser quelques gouttes du milieu au-dessus du culot, ce dernier a été remis en suspension dans la solution hypotonique (chlorure de potassium KCl à 0,075m).

L'homogénéisation a été faite à l'aide d'un vortex adapté aux tubes à centrifuger.

Fixation

Une fois le choc hypotonique effectué, les tubes ont été centrifugés à 800t/min, pendant 8 minutes,

Le surnageant a été éliminé et le culot a été remis en suspension et le fixateur a été ajouté (3 volumes de méthanol pour 1 volume d'acide acétique) goutte à goutte jusqu'à ce que la suspension devienne noire puis complété jusqu'à 5ml avec le fixatif, tout en homogénéisant au vortex,

Cette étape a été répétée trois fois avec une centrifugation à 800t/min pendant 8 min à chaque fixation.

Étalement des lames

L'étalement a été faite à l'aide d'une pipette pasteur sur des lames codées, propres et dégraissées. Trois lames ont été préparées pour chaque échantillon (Fenech, 1993 ; Amahdar et al., 2009).

4. Observation

La lecture a été effectuée au microscope optique (Objectifx60), en double aveugle, par le même opérateur. Notre objectif était d'enquêter sur 1000 lymphocytes binucléés entourés d'un cytoplasme bien délimité pour la détection des MN, mais dans certains cas, ce montant n'a pas été atteint. En cas de doute, l'avis d'un deuxième observateur est sollicité.

L'indice de prolifération (IP) a été calculé selon la formule suivante :

$$IP = \frac{(1 \times N1) + (2 \times N2) + (3 \times N3) + (4 \times N4)}{1000 \text{ cellules analysées}}$$

Où N1-N4 sont les nombres des cellules avec des noyaux de 1 à 4, respectivement (Titenko-Holland et al., 1997 ; Amahdar et al., 2009).

II. 3 Analyse statistique

Les analyses statistiques des paramètres physico-chimiques et des résultats du test MN ont été effectuées en utilisant le logiciel Minitab 16 en utilisant une analyse de variance (ANOVA) pour confirmer la variabilité des données et la validité des résultats.

Les résultats du test d'Ames et test d'Allium ont été analysés statistiquement en utilisant SPSS 18.0 pour Windows. Test de Mann-Whitney a été utilisé pour le test d'Ames. Les résultats d'IM et AC ont été exprimés en pourcentage et les niveaux de signification dans les différents groupes de traitement ont été analysés par le test de Duncan de comparaisons multiples à l'aide d'une analyse unidirectionnelle de la variance (ANOVA).

Après la description des différentes techniques d'analyse réalisées, nous allons présenter dans ce chapitre les résultats obtenus ainsi que les discussions

Ce chapitre est structuré en deux parties :

1. La première partie présente l'ensemble des résultats obtenus des paramètres de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux étudiées.
2. La deuxième partie montre les résultats des tests de génotoxicité effectués.

I. Résultats de l'analyse des paramètres de la qualité des eaux

I. 1 Les paramètres physico-chimiques

Les références de qualité des eaux potables fixées doivent respecter les valeurs suivantes (Tab. IX) :

Tableau IX : Références de qualité des paramètres physico-chimiques dans l'eau destinée à la consommation humaine.

Paramètres	Unités	Valeurs maximales admissibles		
		Algérie ⁽¹⁾	France ⁽²⁾	OMS ⁽³⁾
T°	°C	25	25	/
Ph	Unité pH	≥ 6,5 et ≤ 9	≥ 6,5 et ≤ 9	≥ 6,5 et ≤ 8,5
Turbidité	NTU	5	2	1
Conductivité	μS/cm à 20 °C	2800	≥ 180 et ≤ 1000	/
OD	mg/L	8	/	/
TH	Degré français °F	200 (mg/l en CaCO ₃)	15	10
TDS	mg/l	/	/	< 600
R/S	mg/l	1500	1500	/
MON	mg/l	3	/	/
Calcium	mg/l en CaCO ₃	200	100	/
Magnésium	mg/l de Mg ²⁺	150	50	/
Chlorures	mg/l	500	250	250
Sulfates	mg/l	400	250	250
Phosphore	mg/l	5	/	5
Fer total	mg/l	0,3	0,2	/
Ammonium	mg/l	0,5	0,1	0,5
Nitrites	mg/l NO ₂ ⁻	0,2	0,1	3
Nitrates	mg/l de NO ₃ ⁻	50	50	50

⁽¹⁾ : Selon le décret du 22 mars 2011 (J.O.R.A.), Algérie.

⁽²⁾ : Selon l'arrêté du 11 janvier 2007 (J.O.R.F.), France.

⁽³⁾ : Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.), 2011.

I. 1. 1 La température

Sa détermination est très importante dans les études de potabilité des eaux de surfaces ou souterraines. La température des eaux est fortement influencée par les conditions environnementales liées à la position géographique de la localité, à la géologie des terrains traversés, à l'hydrologie et surtout au climat. D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et ceci d'autant plus que leur origine est moins profonde. Dans le cas des réseaux d'adduction pour l'approvisionnement des collectivités

en eau potable, la température du milieu influe très fortement sur la température de l'eau car les canalisations sont souvent exposées aux rayonnements solaire et nocturne (Fall, 2008).

Dans la présente étude, l'ensemble des températures se situe sous la norme en vigueur de 25°C pour les eaux brutes où les valeurs sont minimales en hiver et maximales en été, et sont voisines à celles qui ont été soulignées dans les travaux des Hatje, 2003 ; Fekhaoui, 2005 ; El Blidi et al., 2006 ; Malki et al., 2008 et EL Morhit, 2009 (Fig. 13).

Pour l'eau potable selon Van Overmeiren (2007), la température maximale acceptable est de 12°C car on admet que l'eau doit être rafraîchissante. Au-dessus de 12°C, il y a risque de croissance accélérée des micro-organismes, d'algues, entraînant des goûts et des odeurs désagréables. La figure 13 montre que pendant l'été les températures varient et oscillent entre 10 °C et 12,87 °C. De même, pendant l'hiver, les températures oscillent entre 6,9 °C et 10 °C. Alors que pendant l'automne et le printemps, les températures varient entre 7,87 °C et 10 °C. Les températures des eaux de boisson mesurées en période d'étiage sont légèrement supérieures à celles relevées en période pluvieuse dans tous les huit sites de prélèvements, ils sont dans les normes pour la totalité des eaux.

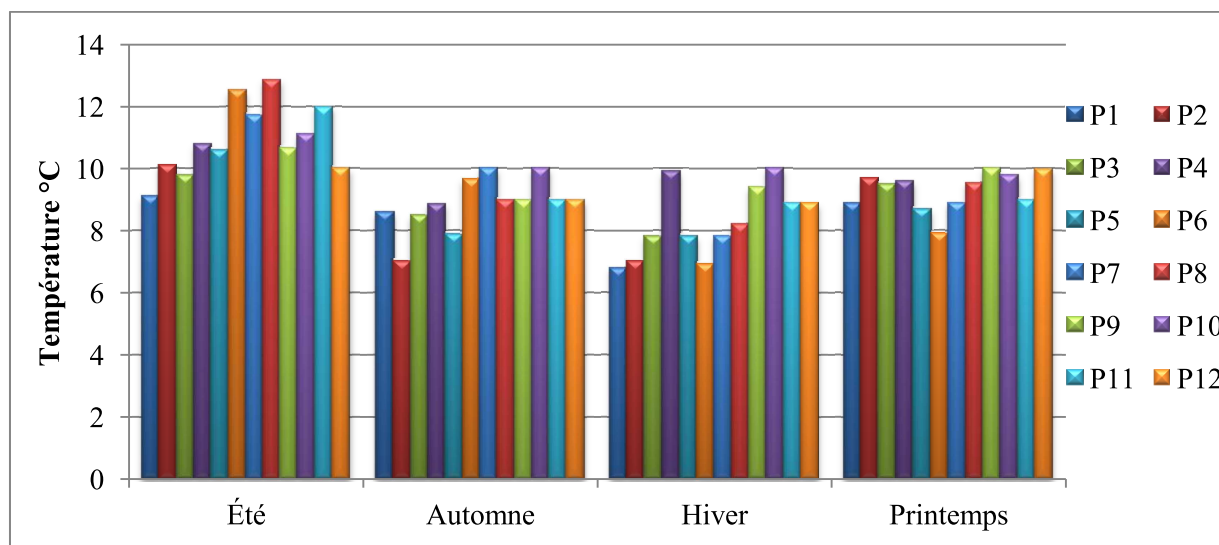


Figure 13 : Les variations de la T° des échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de la température sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. X).

Tableau X : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la T° des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
T°	Été	11	43,131	3,921	5,05	0,000
	Automne	11	23,882	2,171	5,71	0,000
	Hiver	11	42,037	3,822	3,84	0,000
	Printemps	11	22,83	2,17	4,98	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) : différences très hautement significatives.

I. 1. 2 Le pH

Le pH de l'eau potable est généralement lié à la concentration des substances dissoutes dans l'eau. Dans cette étude, la figure 14 montre que les valeurs de pH sont comprises entre 6,5 et 8,5 sauf pour les points P9 et P10 ($6,36 \pm 0,03$ et $6,41 \pm 0,01$ respectivement) pendant l'hiver. Fall (2008) a constaté que les niveaux élevés des bicarbonates conduits à un pH acide dans les échantillons d'eau des consommateurs.

La valeur la plus élevée de pH a été trouvée pendant le printemps, lors de l'épisode de photosynthèse dans l'eau brute $P1 = 8,49 \pm 0,01$, cette valeur peut s'expliquer par l'augmentation de la proportion de l'aluminium dissous par la formation d'un complexe soluble de type $Al(OH)_4^-$ (Ramseier et al., 2002). Cependant, ces eaux sont généralement exposées aux risques de propagation des germes pathogènes et des bactéries nuisibles à la santé des consommateurs car des pH supérieurs à 7 rendent l'eau plus ou moins alcaline et diminuent l'efficacité de la désinfection au chlore.

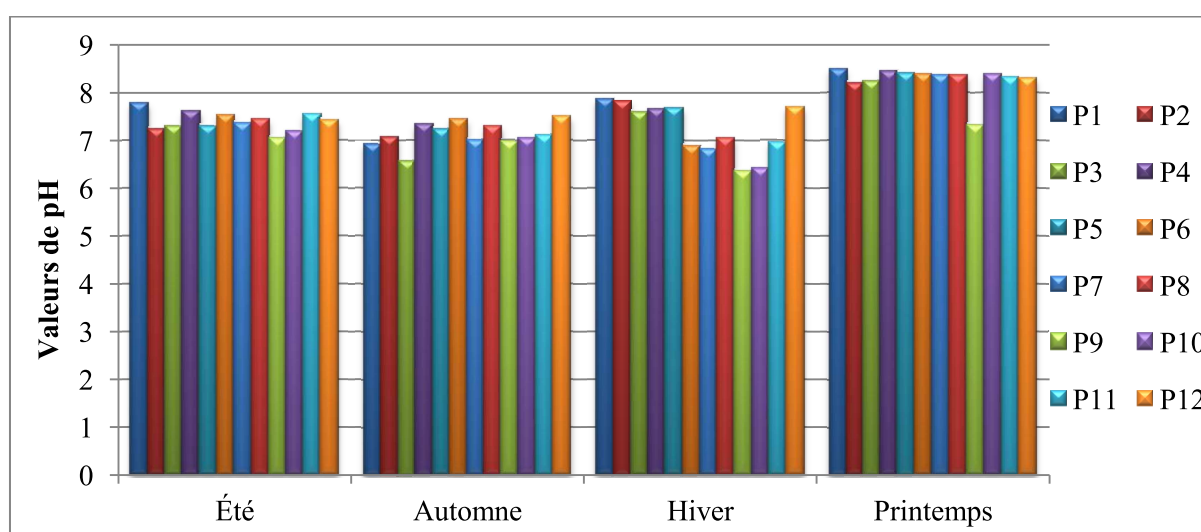


Figure 14 : Les variations de pH des échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de pH sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XI).

Tableau XI : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée au pH des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
pH	Été	12	41,94110	3,49509	2887,89	0,000
	Automne	12	7,37673	0,61473	69,88	0,000
	Hiver	12	14,38786	1,19899	844,05	0,000
	Printemps	12	3,29430	0,27452	104,35	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$):différences très hautement significatives.

I. 1. 3 La turbidité

Le paramètre turbidité est suivi tout particulièrement par les producteurs d'eau car il est aujourd'hui facile à mesurer en continu et permet d'évaluer rapidement la qualité de l'eau produite. En d'autres termes, c'est un excellent indicateur de traitement global (Ramseier et al., 2002).

Les résultats de la figure15, montrent des valeurs de turbidité de $16, 57 \pm 0,41$ NTU dans l'eau brute pendant l'automne. La diminution croissante des valeurs vont respectivement du 1^{er} point de prélèvement qui est l'eau brute suivi du 4^{ème} point qui est la sortie du station de traitement, et enfin les points correspondants aux robinets et ceci pour toute la période d'étude. Cette diminution est en dessous de la norme, cependant il y'a signaler une légère augmentation pour P11 ($7,34 \pm 0,05$) NTU en hiver et P12 ($5,55 \pm 0,01$) NTU au printemps. Ces valeurs peuvent s'expliquer par une contamination dans les réseaux de distribution.

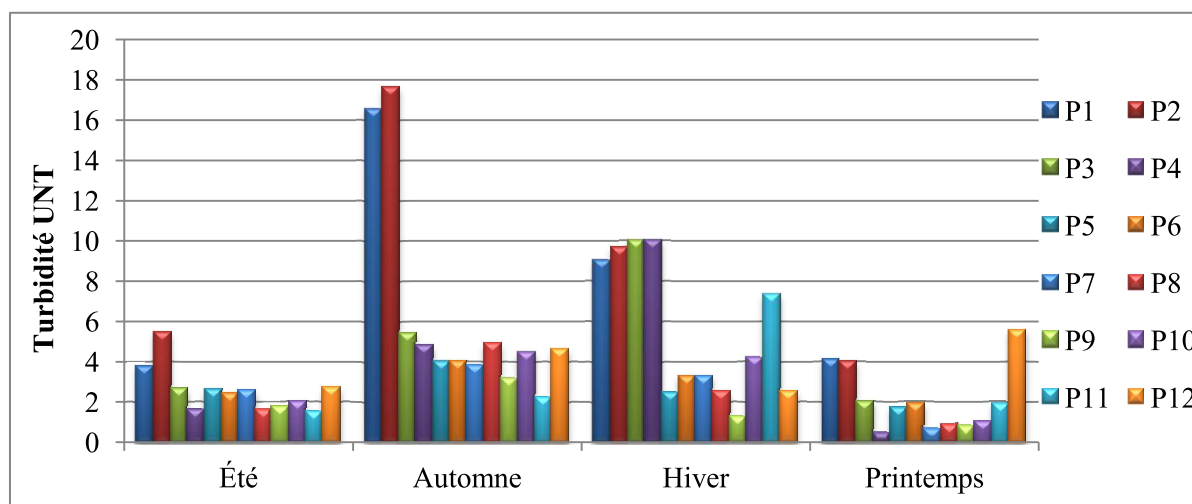


Figure 15 : Évolution de la turbidité des échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de la turbidité sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XII).

Tableau XII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la turbidité des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
Turbidité	Été	12	57,08847	4,75737	673,21	0,000
	Automne	12	869,6702	72,4725	1704,52	0,000
	Hiver	12	388,051	32,338	46,83	0,000
	Printemps	12	114,6795	9,5566	17918,67	0,000

ddl:degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) : différences très hautement significatives.

I. 1. 3 La conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique constitue une bonne appréciation du degré de minéralisation d'une eau où chaque ion agit par sa concentration et sa conductivité spécifique (Makhoukh et al., 2011). La norme algérienne concernant l'eau potable est inférieure à $2800 \mu\text{S}/\text{cm}$ par contre la norme française se situe entre $180 \mu\text{S}/\text{cm}$ et $1000 \mu\text{S}/\text{cm}$. Les résultats de la conductivité électrique de notre étude se situent dans cette fourchette (Fig.16).

La conductivité électrique présente une certaine stabilité à l'exception des valeurs mesurées au niveau du site P9 pendant les trois saisons (automne, hiver et printemps) qui présentent des valeurs élevées par rapport aux autres sites de prélèvement. Rodier et al., (2005), signalent que la variation de conductivité est induite par la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. Cette mobilité dépend de la nature des ions dissous et de leur concentration, tels que les ions de calcium, de sodium et de chlorure, etc.

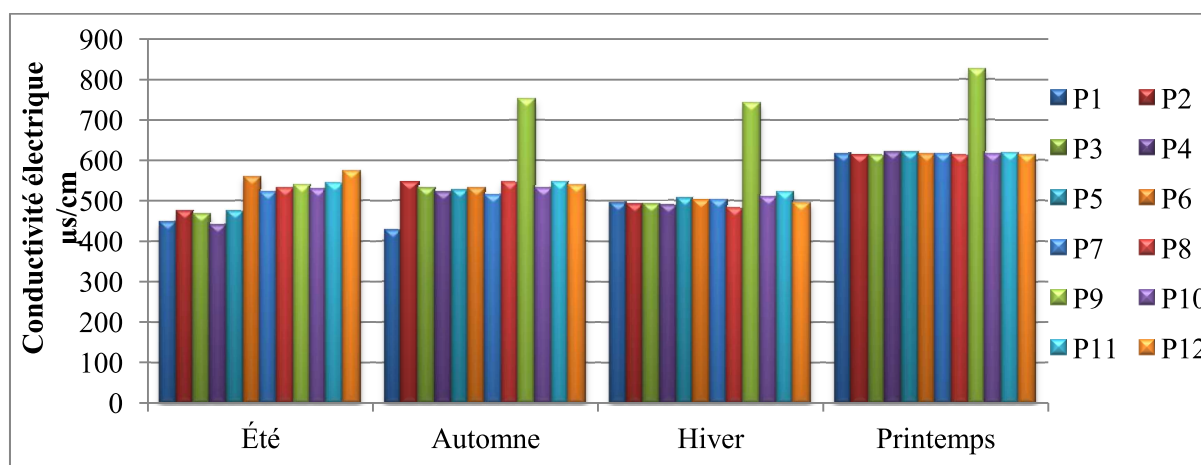


Figure 16 : Évolution de la conductivité électrique des échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de la conductivité sauf pour l'hiver qui présente un effet hautement significatif sur la qualité des eaux (Tab. XIII).

Tableau XIII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la conductivité électrique des eaux.

Variabes	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Conductivité	Été	12	19041274	1586773	219447,31	0,000***
	Automne	12	18499990	1541666	185570,88	0,000***
	Hiver	12	23567935	1963995	3,62	0,003**
	Printemps	12	17322293	1443524	274621,72	0,000***

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, ***($P < \alpha = 0,001$): différences très hautement significatives, **($P < \alpha = 0,01$) :différences hautement significatives.

I. 1. 4 L'Oxygène Dissous

L'oxygène est l'un des facteurs fondamentaux de la vie. Il entre pour 21% dans la composition de l'air atmosphérique, et représente 35% environ des gaz dissous dans l'eau à pression normale (Bremond et Perrodon, 1979). L'oxygène dissous est très important par le fait qu'il conditionne l'état de plusieurs sels minéraux et la dégradation de la MON (HCEFLCD, 2007).

Pour l'ensemble des prélèvements, la figure 17 montre que l'oxygène dissous présente des variations importantes d'un point à un autre, elle varie de $2,87 \pm 0,68 \text{ mg/l}$ à $4,26 \pm 0,07 \text{ mg/l}$ durant la période d'étude. Les résultats obtenus ne dépassent pas la limite de la norme algérienne (8 mg/l).

Nous constatons également que les teneurs en oxygène dissous enregistrées pendant la saison sèche sont légèrement inférieures à celles enregistrées pendant la saison des pluies, avec une légère augmentation de l'entrée de la station du traitement à la sortie, ensuite une légère diminution chez les consommateurs. Belghiti et al., (2013) ont expliqués cette diminution par la présence des réactions d'oxydation ou une prolifération bactérienne. Toute baisse de la teneur en oxygène dissous détectée sur le réseau peut alors être interprétée comme un signe de croissance biologique.

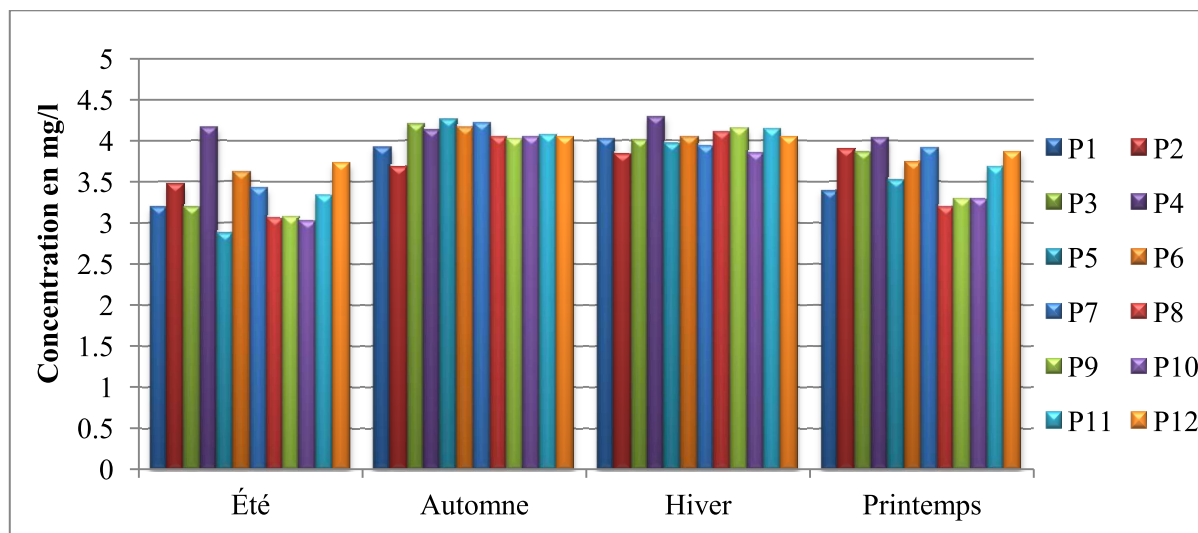


Figure 17 : Évolution de l'OD dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de l'OD sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XIV).

Tableau XIV : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à l'OD des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
OD	Été	12	64,3788	5,3649	106,38	0,000
	Automne	12	43,5904	3,6325	194,97	0,000
	Hiver	12	44,0890	3,6741	45,36	0,000
	Printemps	12	55,4703	4,6225	92,33	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$): différences très hautement significatives.

I. 1. 5 La dureté totale

La dureté totale d'une eau est produite par les sels de calcium et de magnésium qu'elle contient. La dureté est mesurée par le TH exprimée en °F (degré français); 1°F correspond à 10 mg de carbonate de calcium dans un litre d'eau.

Les valeurs obtenues de la dureté totale, vont de 20mg de CaCO_3/l à 27mg de $(\text{CaCO}_3)/\text{l}$ avec une certaine stabilité depuis l'entrée de l'eau brute à la station jusqu'au robinet consommateur et ceci quel que soit la période d'étude (Fig. 18). Hamdi (2011) a constaté une évolution de la dureté pendant les quatre saisons qui semble être liée à une augmentation en Ca^{++} et/ou Mg^{++} comme c'est le cas pour notre étude. Les normes algériennes et françaises fixent la dureté totale exprimée en degré hydrométrique à 200 et 150mg de CaCO_3/l respectivement (Rodier et al., 2005).

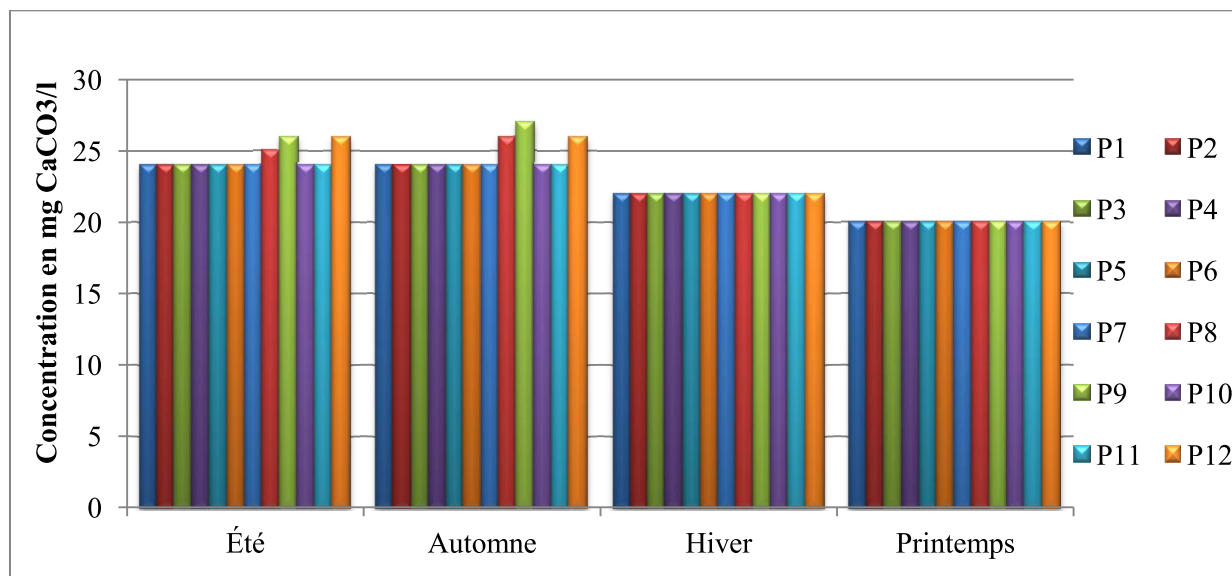


Figure 18 : Évolution de la dureté totale dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

Pour caractériser les eaux, les normes de l'OMS (1972) mentionnées dans le tableau XV, laissent remarquer que tous les échantillons d'eau de la présente étude, sont doux. La dureté d'une eau, constitue un risque notable dans l'entartrage des canalisations.

Tableau XV : Normes pour la dureté des eaux de boisson (OMS, 1972).

Paramètres	Titre hydrotimétrique (TH °F)				
	0-7	7-22	22-32	32-54	>54
Dureté de l'eau	Douce	Modérément douce	Assez douce	Dure	Très dure

L'analyse de la variance montre un effet hautement significatif de la dureté totale sur la qualité des eaux et ceci seulement pendant l'été et l'automne. Pour les deux autres saisons il existe un seul niveau pendant l'hiver et le printemps (22mg/l et 20mg/l respectivement) (Tab. XVI).

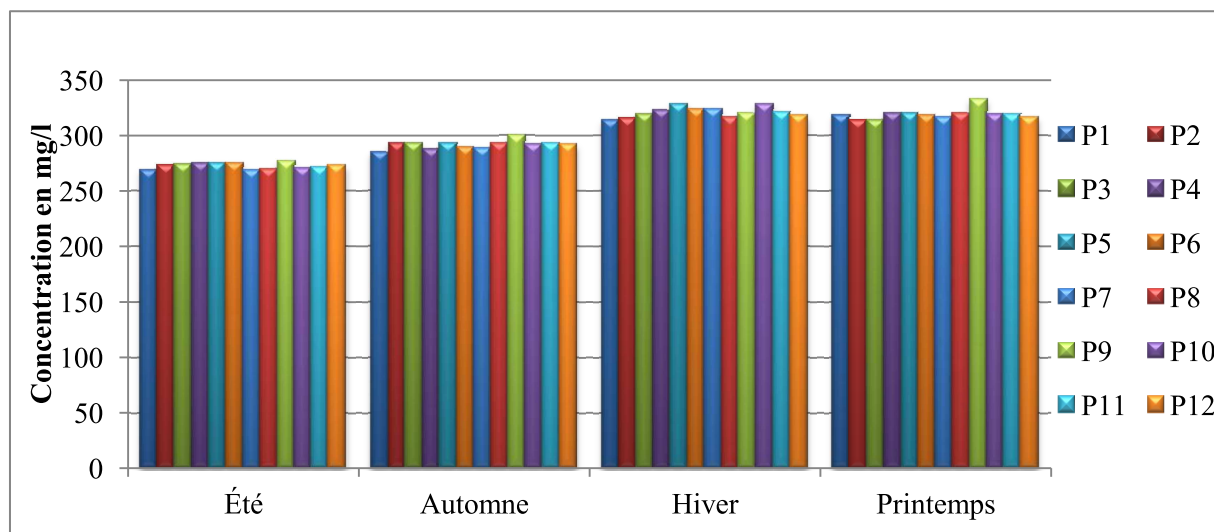
Tableau XVI : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la dureté totale des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P
TH	Été	2	132,83	66,42	7,40	0,002**
	Automne	2	122,33	61,17	6,58	0,004**
	Hiver	/	/	/	/	/
	Printemps	/	/	/	/	/

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, ** ($P < \alpha = 0,001$) : différences hautement significatives, / : Il n'existe pas une différence (un seul niveau)

I. 1. 6 Les TDS

Les concentrations des TDS dans les échantillons d'eau étudiés, sont variables. Elles sont de $269 \pm 1,53 \text{ mg/l}$ pendant l'été dans le site P7 et de $333 \pm 2,65 \text{ mg/l}$ pendant le printemps chez le consommateur P9 (Fig.19). Les valeurs des TDS présentent une cinétique similaire de celle des conductivités électriques obtenues qui sont inférieures à $1000 \mu\text{S/cm}$ (Fig. 16) ce qui indique une minéralisation moyenne des eaux avec des valeurs faible pendant l'été et des valeurs plus ou moins élevées pendant l'hiver sans toute fois dépasser les normes de potabilité de l'OMS (2011).

**Figure 19** : Évolution des TDS dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de la TDS sur la qualité des eaux sauf pour l'été qui ne représente aucune différence significative (Tab. XVII).

Tableau XVII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée à la TDS des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P
TDS	Été	11	225,6	20,5	1,08	0,414 ^{NS}
	Automne	11	39757,6	3614,3	115,35	0,000 ^{***}
	Hiver	11	86893,4	7899,4	309,11	0,000 ^{***}
	Printemps	11	32499,22	2954,47	470,62	0,000 ^{***}

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** (P< α = 0,001): différences très hautement significatives, ^{NS} (P> α = 0,05) : différences non significatives.

I. 1. 7 Les Résidus secs

Les résultats de la figure 20, montrent que les résidus secs pour les quatre saisons sont variables entre 286±0,0mg/l pendant l'été chez le consommateur P7 et 792.33±5.77mg/l pendant l'hiver chez le consommateur P9. Selon Figarella et Leyral, (2002) ; Rodier et al., (2005), la minéralisation déterminée par pesée de l'extrait sec, n'est pas rigoureusement identique à celle calculée à partir de la conductivité. En effet, l'évaporation de l'eau à 105°C peut entraîner des transformations de la structure de certains sels: hydrogénocarbonates dissociés donnant des carbonates ou par cristallisation des sulfates avec un certain nombre de molécules d'eau. Le poids de l'extrait sec ne représente pas toujours celui des sels dissous. Toutes les valeurs obtenues sont inférieures aux normes algériennes et françaises fixées à 1500mg/l.

Shoeller (1962) distingue une potabilité relative dépendant de la composition chimique minérale moyenne et maximale des eaux. Il a classé les eaux suivant le tableau XVIII (Rodier et al., 2005). Au vu du tableau XVIII, les eaux étudiées pendant les trois saisons (été, automne et printemps) sont classées dans la catégorie d'une bonne potabilité, sauf pendant l'hiver, l'été et le printemps pour les sites P8 et P9 et aussi en été pour les sites P10, P11 et P12 ayant une eau pouvant être considérée comme de potabilité passable.

Tableau XVIII : Classification des eaux potables selon l'extrait sec (Rodier et al.,2005).

Paramètres	Potabilité				
	Bonne	Passable	Médiocre	Mauvaise	Momentané
Extrait sec (mg/l)	0-500	500-1000	1000-2000	2000-4000	4000-8000

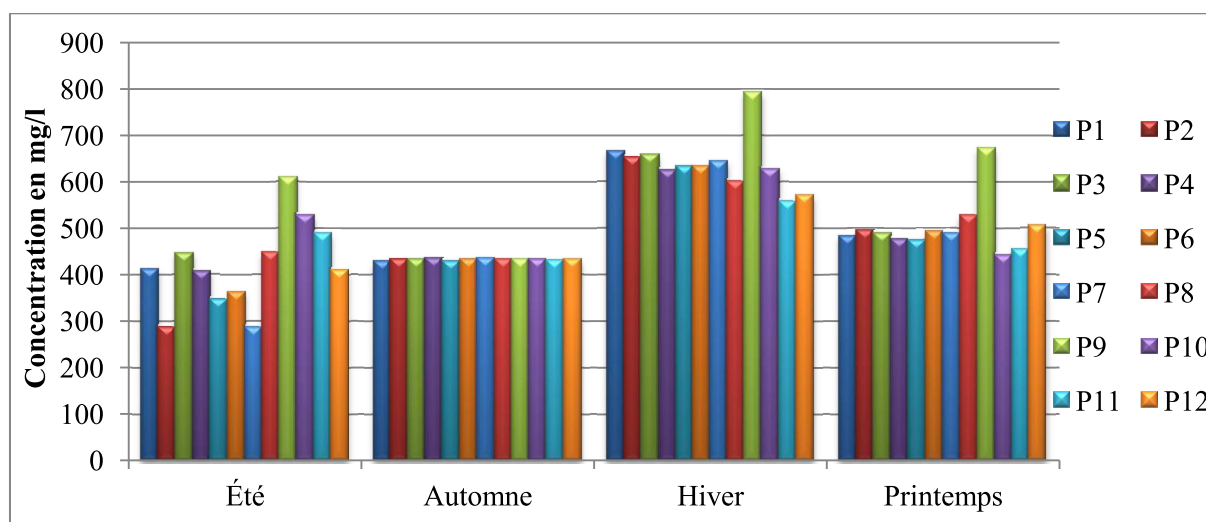


Figure 20 : Évolution des R/S dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif des résidus secs sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XIX).

Tableau XIX : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux R/S des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	F	P***
R/S	Été	12	7216874	601406	641489,39	0,000
	Automne	12	6802230	566852	88982,89	0,000
	Hiver	12	5246015	437168	38319,70	0,000
	Printemps	12	6344748	528729	5495,65	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) : différences très hautement significatives.

I. 1. 8 Les matières organiques naturelles

Les MON sont principalement issues de la décomposition des végétaux, des animaux et des micro-organismes. Elles peuvent donc être très diverses relativement à leur composition pour établir une description précise de leur composition moyenne. Elles ont beaucoup d'impact sur les paramètres de la qualité de l'eau et surtout la formation des SPC, donc il est important d'établir un portrait de leur évolution tout au long du traitement et à travers le réseau de distribution (Ramseier et al., 2002).

Les recommandations indiquent que la valeur ne doit pas dépasser 3mg/l. Cette recommandation a été fixée afin de ne pas engendrer des concentrations en sous-produits organochlorés trop importantes lors de la désinfection de l'eau potable par le chlore.

La figure 21 indique une concentration considérable de la MON pendant l'été et l'automne qui dépasse la norme même chez les consommateurs. Ces résultats concordent avec ceux obtenues par Le Curieux et al., (1996), qui ont observés des teneurs dépassant de 75% à 110% les valeurs obtenues au printemps, ils expliquent ces teneurs élevées par la décomposition des MON notamment après la chute des feuilles et même la formation des biofilms dans les réseaux de distribution.

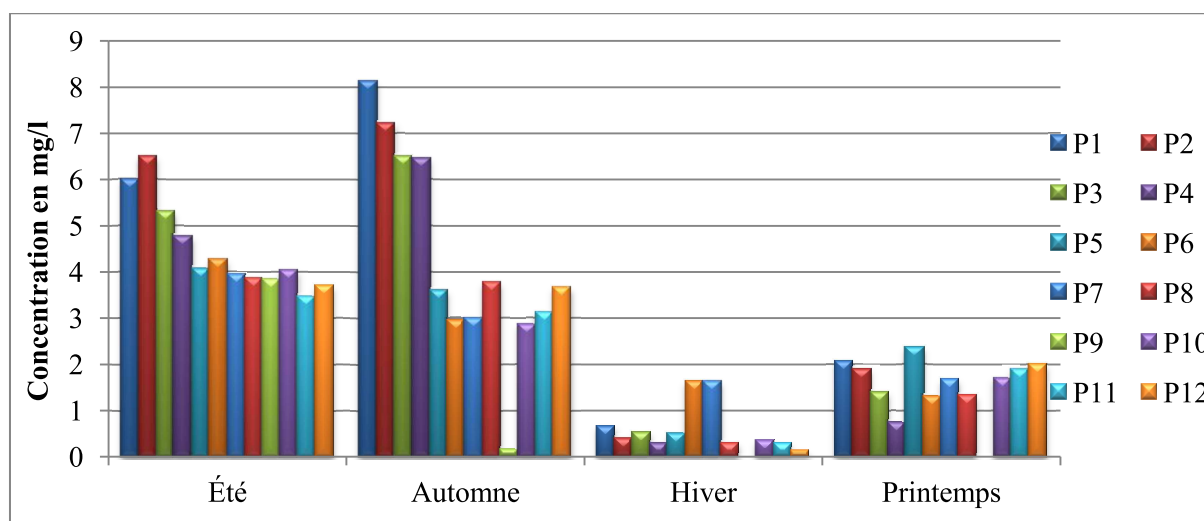


Figure 21 : Évolution des MON dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif des MON sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XX).

Tableau XX : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux MON des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
M/O	Été	12	37,9010	3,1584	33,47	0,000
	Automne	12	178,6265	14,8855	539,48	0,000
	Hiver	12	25,6774	2,1398	49,67	0,000
	Printemps	12	19,8226	1,6519	42,38	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) :différences très hautement significatives.

I. 1. 9 Le chlore résiduel

La dose de désinfectant appliquée à l'eau durant le traitement affecte directement la formation des sous-produits.

En plus de favoriser leur formation, la dose de désinfectant affecte la spéciation des SPD et leur importance relative (Singer, 1994). Le chlore résiduel libre dans le réseau de

distribution contribue directement à la formation des SPD. Il apparaît qu'à mesure que le chlore résiduel libre diminue dans le réseau, la concentration en SPD augmente. Cette observation est expliquée par le fait que la vitesse de formation des SPD dépend probablement de la concentration du chlore résiduel libre (Vinette, 2001).

Le tableau XXI montre une augmentation du chlore résiduel à la sortie de la station et ceci pendant les quatre saisons et diminue lorsque l'eau arrive chez le consommateur. Cette augmentation est due à l'ajout du chlore (post-chloration) afin d'assurer une meilleure désinfection de l'eau dans le réservoir et dans les réseaux de distribution pour empêcher les indicateurs de reviviscence bactérienne (Zidane et al., 2012).

Tableau XXI : Suivi du chlore résiduel.

	Station de traitement				Robinet consommateur							
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
Été	/	>1	0,3	0,9	Trace	Trace	0,1	00	00	Trace	Trace	Trace
Automne	/	Trace	Trace	0,8	Trace	0,1	0,6	0,4	Trace	Trace	Trace	Trace
Hiver	/	Trace	Trace	0,4	0,4	0,3	0,3	00	0,1	00	0,1	00
Printemps	/	0,4	0,3	>1	1	0,6	0,8	0,4	Trace	0,1	0,4	00

I. 1. 10 Le calcium (Ca^{++})

Le calcium est un métal alcalino-terreux extrêmement répandu dans la nature et en particulier dans les roches calcaires sous forme de carbonates. Composant majeur de la dureté de l'eau, le calcium est généralement l'élément dominant des eaux potables. Sa teneur varie essentiellement suivant la nature des terrains traversés. Il existe surtout à l'état d'hydrogénocarbonates et en quantité moindre, sous forme de sulfates, chlorures, etc (Fall, 2008).

Les résultats de la figure 22 montrent un écart entre les teneurs en calcium enregistrées dans les échantillons pendant les quatre saisons où l'été et l'automne présente les valeurs les plus élevées en calcium mais ne dépassent pas la norme algérienne fixée à 200mg/l par contre, ils sont dans les limites des normes de potabilité françaises 100mg/l. Ces teneurs dans l'eau de robinet sont plus ou moins homogènes et témoignent ici de la moindre influence des canaux sur les teneurs en calcium.

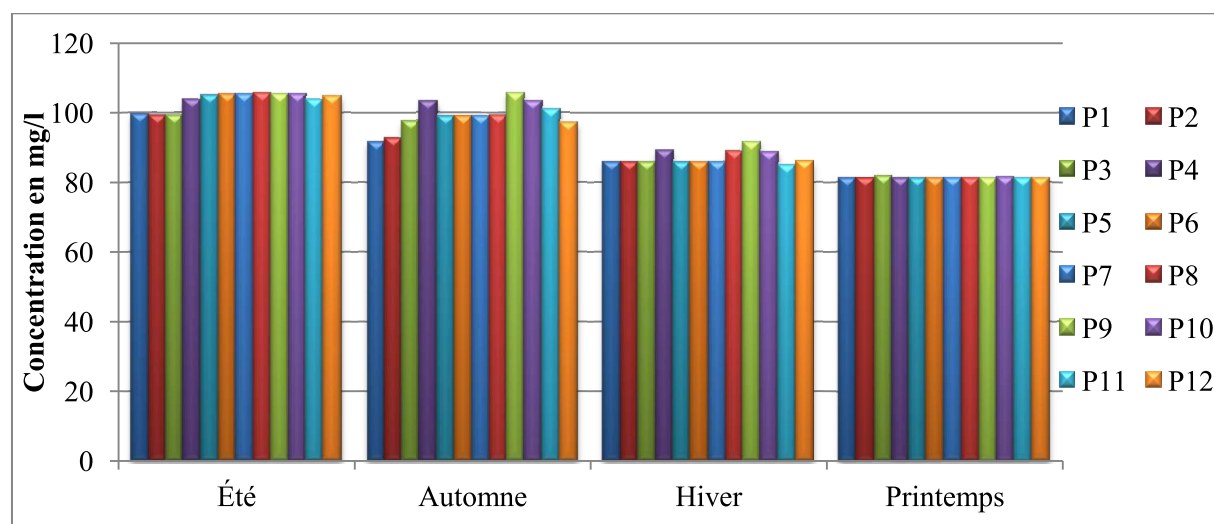


Figure 22 : Évolution de calcium dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de calcium sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XXII).

Tableau XXII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée au calcium des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
Ca ⁺⁺	Été	12	35520,70	2960,06	1088,27	0,000
	Automne	12	39095,41	3257,95	222990,64	0,000
	Hiver	12	30330,81	2527,57	27050,61	0,000
	Printemps	12	28821,22	2401,77	60365,39	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) : différences très hautement significatives.

I. 1. 11 Le magnésium (Mg⁺⁺)

Le magnésium est un élément indispensable pour la croissance, il intervient comme un élément plastique dans l'os et comme élément dynamique dans les systèmes enzymatiques et hormonaux. Le magnésium constitue un élément significatif de la dureté de l'eau. A partir d'une concentration de 100 mg/l et pour des sujets sensibles, le magnésium donne un goût désagréable à l'eau potable (Rodier et al., 2005).

Officiellement, l'OMS ne recommande aucune valeur pour le magnésium, mais les recommandations algériennes et françaises, indiquent comme teneurs dans l'eau destinée à la consommation humaine des niveaux guides de 150mg/l et 50mg/l respectivement.

Les résultats des échantillons qui sont présentés dans la figure 23 montrent des valeurs peu élevées et toutes se situent en dessous de 50mg/l. Les valeurs les moins élevées se

rencontrent dans les échantillons concernant la période de printemps alors les échantillons des robinets présentent des valeurs assez similaires partout et témoignent de la non influence des canaux de distribution sur cet élément (Fall, 2008).

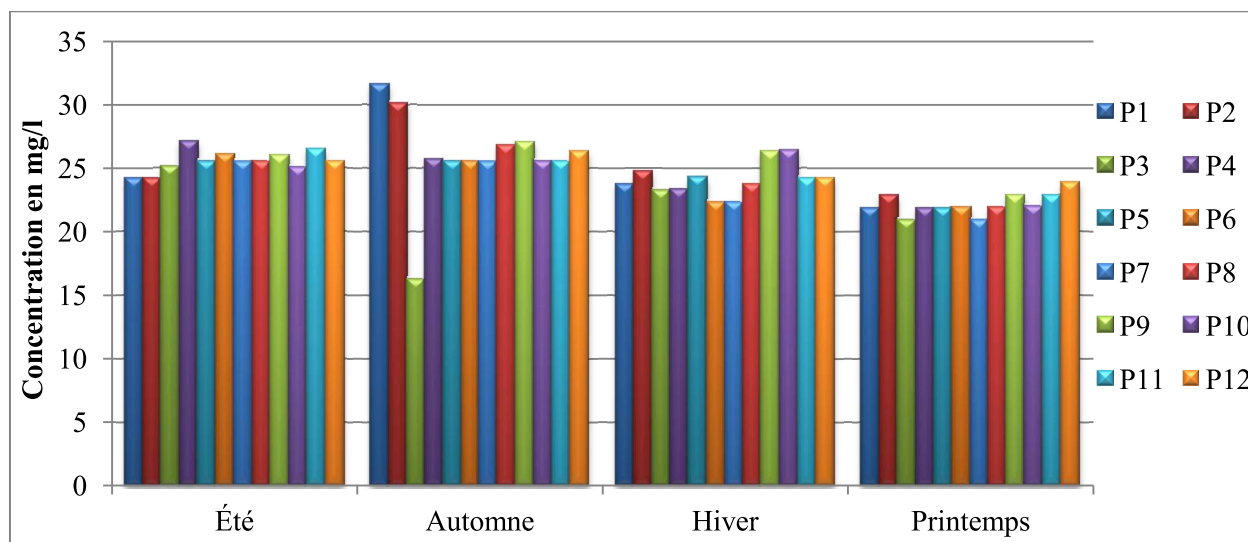


Figure 23 : Évolution de magnésium dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de magnésium sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XXIII).

Tableau XXIII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée au magnésium des eaux.

Variabiles	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
Mg ⁺⁺	Été	12	43971,19	3664,27	2331262,15	0,000
	Automne	12	45317,13	3776,43	3036714,62	0,000
	Hiver	12	42687,03	3557,25	17786261,53	0,000
	Printemps	12	41965,80	3497,15	1405,24	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) : différences très hautement significatives.

I. 1. 12 Les chlorures (Cl⁻)

Les teneurs en chlorures (Cl⁻) des eaux sont extrêmement variées et liées principalement à la nature des terrains traversés. Le gros inconvénient des chlorures est la saveur désagréable qu'ils communiquent à l'eau à partir de 250mg /l, surtout lorsqu'il s'agit de chlorures de sodium (Fall, 2008 ; Abdoulaye et al., 2013).

L'OMS et les recommandations françaises recommandent pour la teneur en chlorures dans une eau destinée à la consommation humaine (eau potable) une valeur guide de

250mg/let ceci pour des considérations gustatives et des risques de corrosion des canalisations et des réservoirs, par contre les recommandations algériennes fixent comme valeur limite 500mg/l.

La figure 24 montre que les échantillons d'eau présente des teneurs inférieures à la valeur de l'OMS et les valeurs limites fixées par les recommandations françaises et algériennes. Il apparaît que les chlorures, variant entre 71mg/l dans les échantillons d'eau pendant l'été et l'automne et 99,4mg/l pendant l'hiver et le printemps.

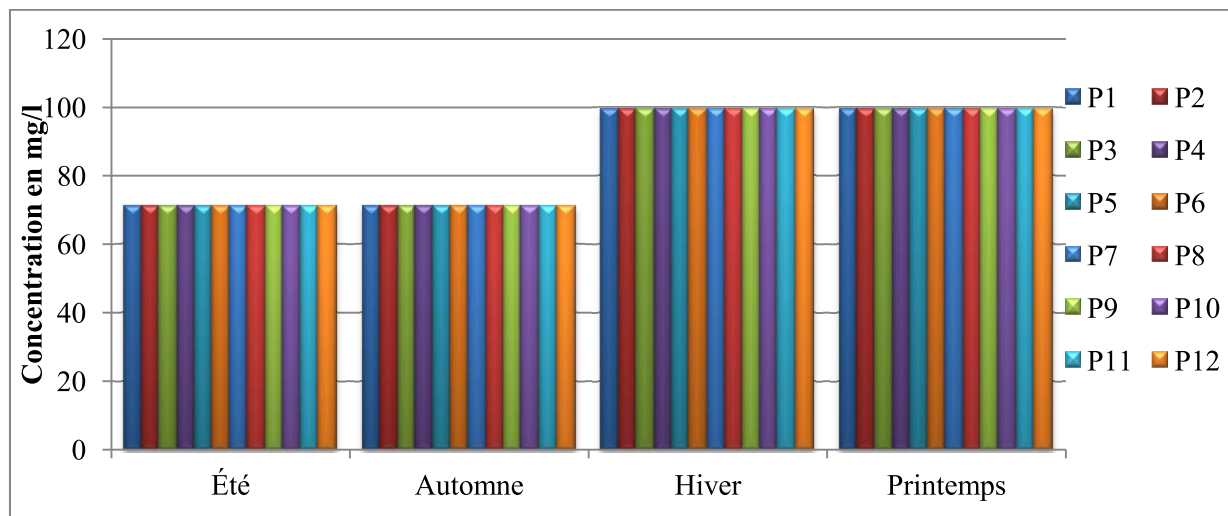


Figure 24 : Évolution des chlorures dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

Toutes les valeurs des chlorures sont identiques donc il existe un seul niveau et ceci pendant les quatre saisons.

I. 1. 13 Les Sulfates (SO_4^{2-})

Les sulfates proviennent du ruissellement ou d'infiltration dans les terrains à gypse. Ils résultent également de l'activité de certaines bactéries (chlorothiobactéries, rhodothiobactéries, etc.). Cette activité peut oxyder l'hydrogène sulfuré (H_2S) toxique en sulfate (HCEFLCD, 2006). D'après les résultats des échantillons analysés qui sont présentés dans la figure 25,

L'eau de la station présente des teneurs moins élevées par rapport aux eaux des robinets qui renferment des teneurs relativement élevées surtout pendant l'hiver qui présente les valeurs les plus élevées en sulfate.

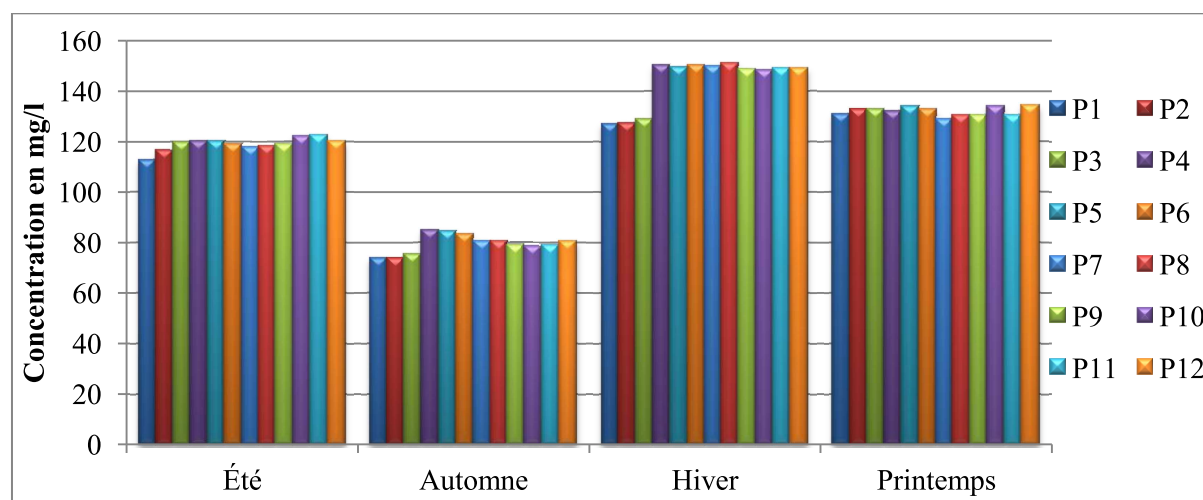


Figure 25 : Évolution des sulfates dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif des sulfates sur la qualité des eaux sauf pour l'été qui ne représente aucune différence significative (Tab. XXIV).

Tableau XXIV : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux sulfates des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P
SO ₄ ²⁻	Été	12	218769,1	18230,8	3133,60	0,414 ^{NS}
	Automne	12	284871,4	23739,3	13901,63	0,000 ^{***}
	Hiver	12	184334,8	15361,2	17834,30	0,000 ^{***}
	Printemps	12	198959,5	16580,0	1705,93	0,000 ^{***}

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, ^{***}(P<α = 0,001) : différences très hautement significatives, ^{NS}(P>α = 0,05) : différences non significatives.

I. 1. 14 Les ortho phosphates (PO₄³⁻)

Les ortho phosphates font partie des anions facilement fixés par le sol. Leurs présences dans les eaux, sont liées à la nature des terrains traversés et à la décomposition de la MON (Ladjel, 2009). La figure 26 présente une absence totale de cet élément dans les eaux de robinet (consommateurs) et ceci pendant l'été et le printemps, alors qu'il ya présence de cet élément dans tous les échantillons pendant l'automne et l'hiver sans toutefois dépasser les normes de potabilité des eaux (5mg/l).

Le phosphore joue un rôle important dans le développement des algues (Richard, 1996 ; Ladjel, 2009). Il est susceptible de favoriser leur multiplication dans les réservoirs, les canalisations de grand diamètre et les lacs, où il contribue à l'eutrophisation (Ladjel, 2009).

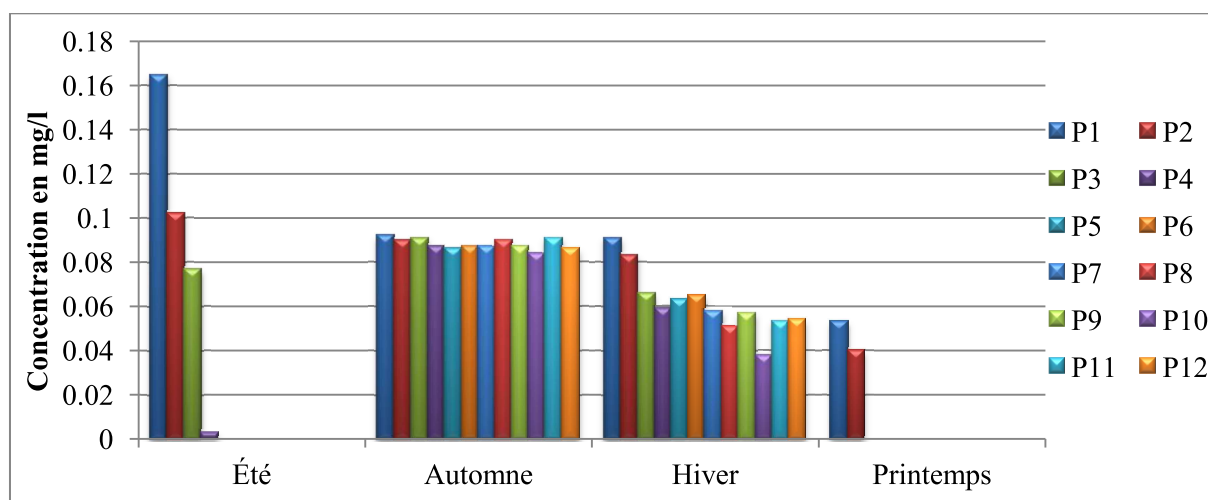


Figure 26 : Évolution des ortho phosphates dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif des ortho phosphates sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XXV).

Tableau XXV : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux ortho phosphates des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
PO ₄ ³⁻	Été	12	0,7151214	0,0595935	8154,89	0,000
	Automne	12	0,4689423	0,0390785	5817,03	0,000
	Hiver	12	0,5380488	0,0448374	4764,74	0,000
	Printemps	12	0,6820866	0,0568405	35754,54	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) : différences très hautement significatives.

I. 1. 15 Le Fer total (Fe²⁺)

Le fer (Fe²⁺) est l'élément métallique présent dans de nombreux types de roche. Cet élément est également fréquent dans l'eau et indispensable, en petites quantités, à tous les organismes vivant (Belghiti et al., 2013).

Les teneurs en fer dans les eaux étudiées qui sont présentées dans la figure 27 sont systématiquement réduites par les traitements mis en œuvre au sein de la station du traitement mais ce n'est pas le cas après la distribution pendant l'été et l'automne où nous avons constatés chez les consommateurs une faible augmentation qui ne dépasse pas 0,05mg/l. Toutes ces valeurs trouvées respectent donc les normes Algériennes : 0,3mg/l et Françaises : 0,2mg/l.

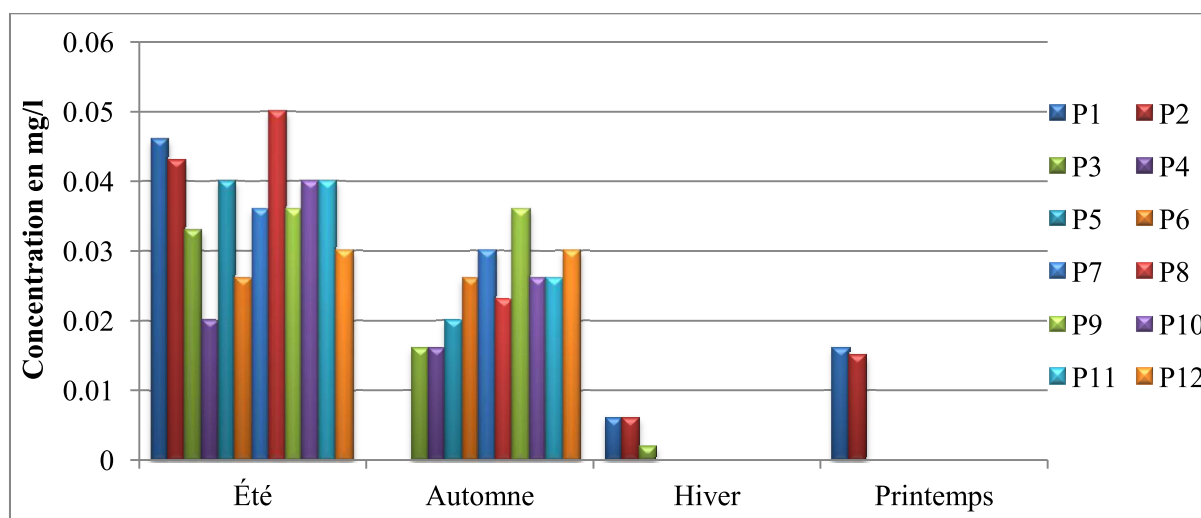


Figure 27 : Évolution de fer total dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de fer total sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XXVI).

Tableau XXVI : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée au fer total des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
Fe ²⁺	Été	12	0,193990	0,016166	43,78	0,000
	Automne	12	0,219677	0,018306	123,09	0,000
	Hiver	12	0,2473950	0,0206163	15170,45	0,000
	Printemps	12	0,298303	0,024859	93,22	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) : différences très hautement significatives.

I. 1. 16 L'ammonium (NH₄⁺)

L'ammonium constitue le produit de la réduction finale des substances organiques azotées et de la matière inorganique dans les eaux et les sols. Il provient également de l'excrétion des organismes vivants et de la réduction et la biodégradation des déchets, sans négliger les apports d'origine domestique, industrielle et agricole. (Udert et al., 2003 ; Bonté et al., 2008). Il est donc important d'éliminer l'ammonium avant l'introduction de l'eau dans le réseau parce que l'ammonium réagit avec le chlore pour produire des chloramines, qui sont des désinfectants moins efficaces et peuvent provoquer des goûts désagréables. Certaines bactéries prolifèrent aussi en transformant l'ammonium en nitrites puis en nitrates.

La figure 28 montre une absence totale de l'ammonium chez les consommateurs pendant les quatre saisons sauf pour les sites P8 et P10 pendant l'automne et le printemps respectivement sans toutefois dépasser les normes de potabilité algériennes et françaises ainsi

que celles recommandés par l'OMS. Ce résultat confirme que la chloration est faite d'une manière adéquate (la concentration en ammoniacque est nulle chez les consommateurs).

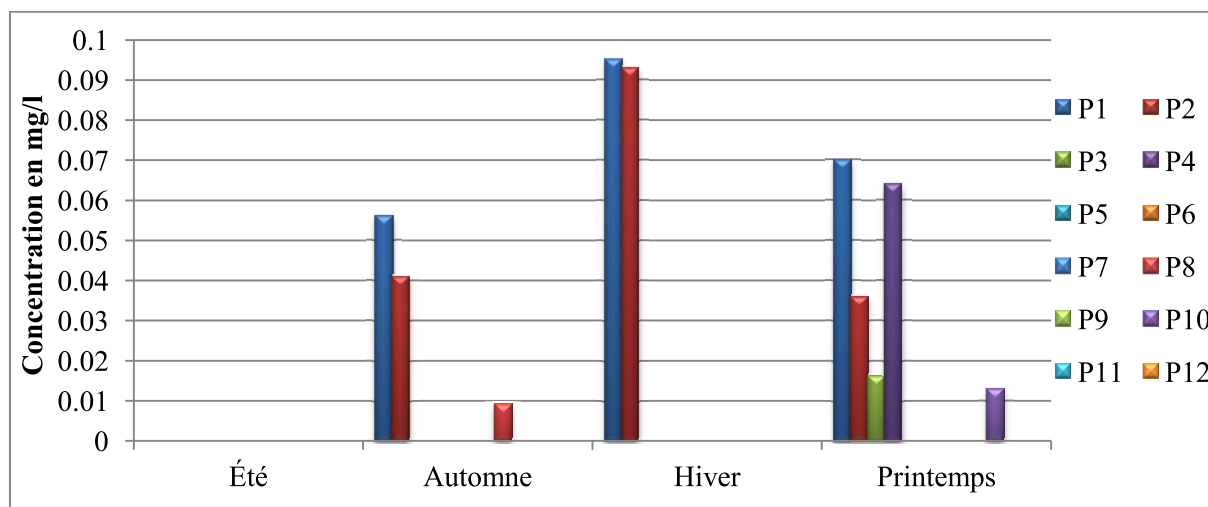


Figure 28 : Évolution des ions ammonium dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif des ions ammonium vu que $P < \alpha = 0,001$, par contre il n'y a pas de variation pendant l'été avec un carré moyen résiduel nul. Comme indique le tableau XXVII, tous les échantillons d'été présentent une homogénéité 0mg/l.

Tableau XXVII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux ions ammonium des eaux.

Variabes	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
NH ₄ ⁺	Été	12	0,6923077	0,0576923	/	/
	Automne	12	0,6798913	0,0566576	10422,86	0,000
	Hiver	12	0,6939536	0,0578295	13266,76	0,000
	Printemps	12	0,644025	0,053669	206,79	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) :différences très hautement significatives, / : il n'y a pas de variation

I. 1. 17 Les nitrites (NO₂⁻)

Au vu de la figure29, les échantillons d'eaux analysés ne renferment pas des nitrites et même s'ils existent, ce sont des taux ne dépassant pas 0,005mg/l. Rodier et al., (2005), ont montrés que dans les eaux potables il n'ya pas ou très peu de nitrites. Ils proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniacque, la nitrification n'étant pas conduite à son terme, soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiante des bactéries (phénomène de la dénitrification) (Rodier et al., 2005).

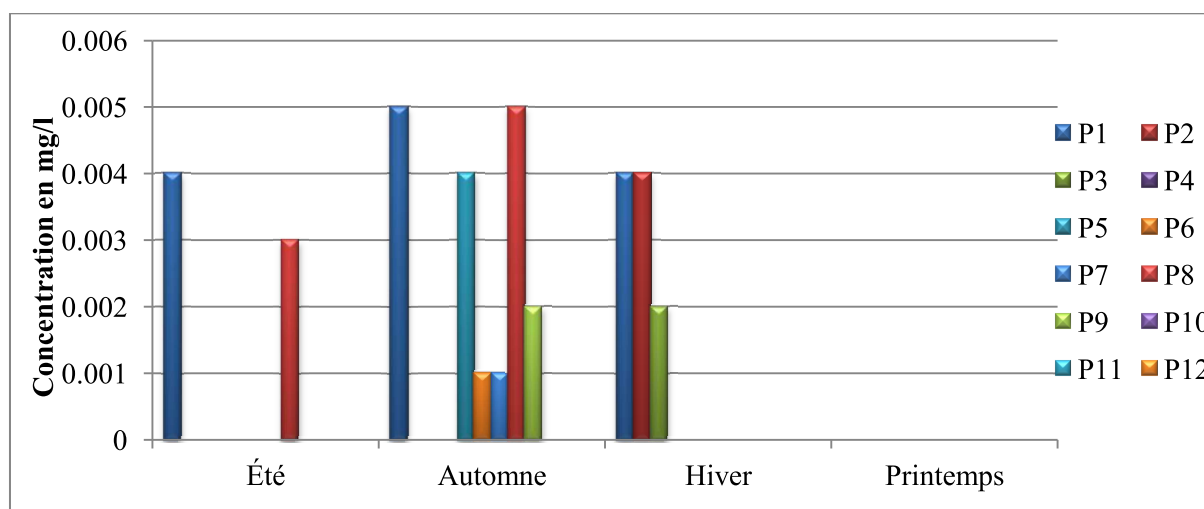


Figure 29 : Évolution des ions nitrites dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif des ions nitrites sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$, par contre il n'y a pas de variation pendant le printemps avec un carré moyen résiduel nul. Comme indique le tableau XXVIII, tous les échantillons de printemps présentent une homogénéité 0mg/l.

Tableau XXVIII : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux ions nitrite des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
NO ₂ ⁻	Été	12	0,0273973	0,0022831	1309,43	0,000
	Automne	12	0,0276783	0,0023065	118,21	0,000
	Hiver	12	0,0273071	0,0022756	2610,24	0,000
	Printemps	12	0,0276923	0,0023077	/	/

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) : différences très hautement significatives, / : il n'y a pas de variation.

I. 1. 18 Les nitrates (NO₃⁻)

Les nitrates sont présents dans l'eau par lessivage des produits azotés dans le sol, par décomposition des MON ou des engrais de synthèse ou naturels (Samake, 2002).

La figure 30 montre une légère variation de ces teneurs. Les teneurs maximales en nitrates enregistrées pendant l'automne, l'hiver et le printemps sont respectivement de $0,645 \pm 0,003 \pm \text{mg/l}$, $0,619 \pm 0,032 \text{mg/l}$ et $0,659 \pm 0,001 \text{mg/l}$. Par contre, les taux de nitrates enregistrés pendant l'été sont appréciables par rapport aux trois autres saisons. Ils vont de $1,081 \pm 0,006 \text{mg/l}$ dans le site P8 à $1,191 \pm 0,002 \text{mg/l}$ dans le site P3. Abdoulaye et al., (2013) ont expliqués cette augmentation par la fertilisation excessive des zones agricoles par les engrais qui sont une source non négligeable de pollution. La présence des nitrates dans une eau destinée à la consommation humaine est une consonance péjorative et souvent injustifiée

car les nitrates sont en général les composés azotés les plus importants du point de vue minéralogique (Fall, 2008).

Les teneurs enregistrées au niveau de tous les sites et pendant les quatre saisons sont très inférieures à 50mg/l considérée comme étant la valeur limite pour l'eau potable selon les normes algériennes, françaises et l'OMS. Ce qui indique que l'eau étudiée n'est pas assujettie à un risque de pollution par les nitrates.

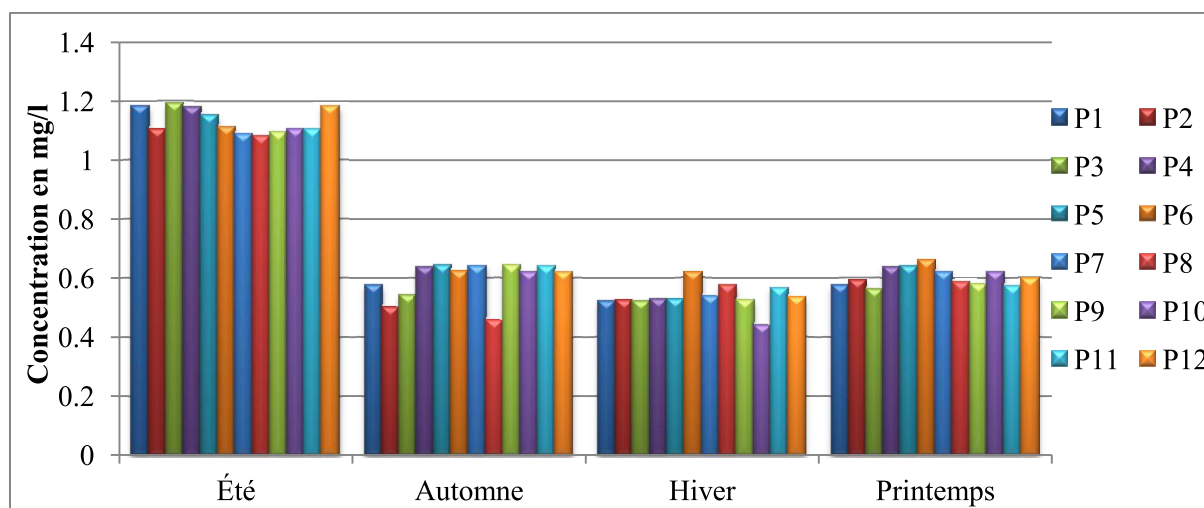


Figure 30 : Évolution des ions nitrates dans les échantillons d'eau étudiés pour les quatre saisons.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif des ions nitrates sur la qualité des eaux vu que $P < \alpha = 0,001$ (Tab. XXIX).

Tableau XXIX : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux ions nitrates des eaux.

Variables	Saisons	ddl	SCE	CM	Fobs	P***
NO ₃ ⁻	Été	12	6690,419	557,535	168597,59	0,000
	Automne	12	6759,247	563,271	52303700,50	0,000
	Hiver	12	6775,852	564,654	319810,62	0,000
	Printemps	12	6756,843	563,070	3641747,83	0,000

ddl: degrés de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, CM : carré moyen, Fobs : valeur observée de F de Fisher, P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, *** ($P < \alpha = 0,001$) :différences très hautement significatives.

I. 1. 19 Les sous-produits de chloration

Pour chaque système à l'étude, les THM ont été mesurés dans l'eau traitée ayant subi une post-chloration à l'unité de traitement et dans divers points du robinet chez les consommateurs. La figure31présente l'évolution des THM totaux.

Les résultats obtenus montrent que la somme des quatre sous-produits analysés de THM dans les eaux brutes varie entre (0.6 et 1.3)µg/l, ceci pourrait être attribué à une

pollution par des rejets ou des pesticides organochlorés. La figure 31 montre aussi que les THM majoritairement formés dès l'étape de pré-chloration, augmentent régulièrement jusqu'au robinet des consommateurs et dépassent la limite de qualité de l'eau de boisson ($100\mu\text{g/l}$) et ceci dans les robinets des consommateurs notamment celles qui ont subi une deuxième re-chloration ($106, 107.5, 109$ et $110\mu\text{g/l}$) et ceci pendant le printemps, l'hiver, l'été et l'automne respectivement. Cet aspect peut être relié à la plus forte valeur en MON des échantillons de l'automne (Fig. 21). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Dore et al.,(1989) et Mouly et al.,(2008), qui ont montrés la mise en évidence de l'effet de la chloration sur la formation des THM en présence de la MON.

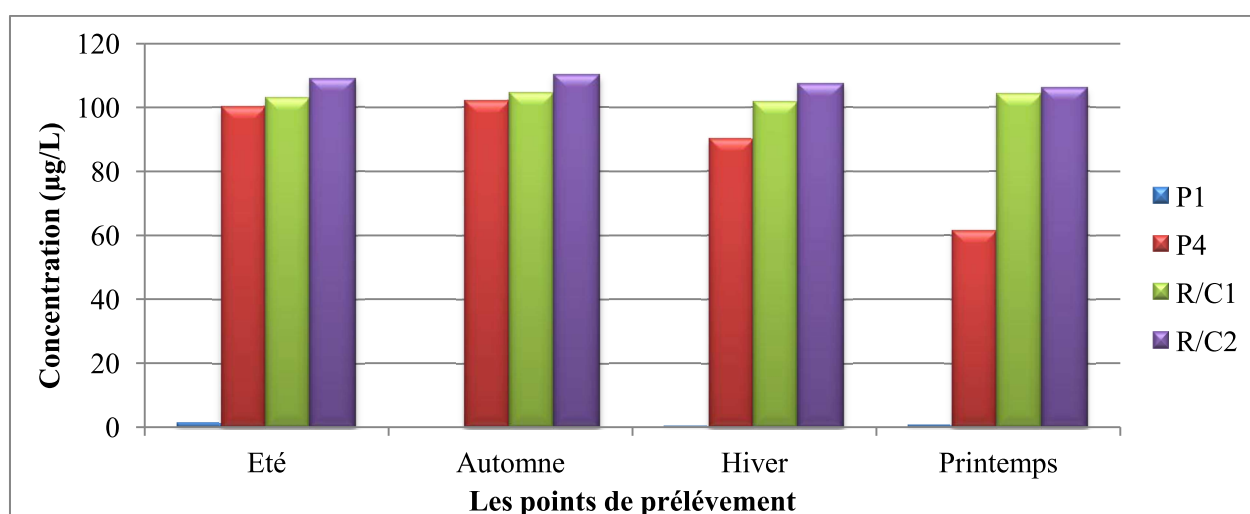


Figure 31 : Concentrations des THM dans l'eau collectée durant les quatre saisons.

P1: Eau brute

P4: Eau traitée post-chloration

R/C1: Robinet consommateurs (avec une seule re-chloration)

R/C2: Robinet consommateurs (avec une deuxième re-chloration)

La figure 32, présente les concentrations des quatre THM dans les eaux prélevées, elle montre que le chloroforme est le composé le plus abondant des THM suivi par le dichlorobromométhane, le dibromochlorométhane et le bromoforme. Cependant le chloroforme constitue le THM majoritaire vis-à-vis de l'ensemble des THM, peut varier selon la teneur de l'eau en bromure qui pourrait entraîner la formation des sous-produits bromés (Mills et al., 1998). Ainsi, pendant le printemps et contrairement à la tendance général où le chloroforme est généralement le composé majoritaire, le dibromochlorométhanea montré la plus forte concentration avec une valeur $36.71\mu\text{g/l}$ chez le consommateur pendant le printemps, fait remarqué par Baytak et al., (2008). Ceci est probablement dû à la présence d'une concentration importante en bromure d'origine naturelle ou anthropique (Guergazi et al., 2006) qui provoque la formation des THM bromés (El Attafia et Soraya, 2010).

Les teneurs en chloroforme dans les eaux de robinet augmentent par rapport à la sortie de la station de traitement. Cette augmentation peut être due à la réaction de chlore résiduel avec la MON (Tab. XXI). Rossman et al., (2001) ont montrés que la teneur en chloroforme augmente en présence du chlore résiduel et en fonction du temps de séjour. Les teneurs maximales de bromoforme se trouvent dans l'échantillon P4 pendant l'automne. Cela peut être dû à la présence des concentrations plus élevées des bromures dans l'eau. La présence des bromures affecte la spéciation des SPD et leur vitesse de formation (Tnissell et Umphress, 1978). Les bromures sont oxydés par l'acide hypochloreux pour former l'acide hypobromeux, lequel réagit ensuite en combinaison avec l'acide hypochloreux et la MON pour former des sous-produits bromés (Vinette, 2001).

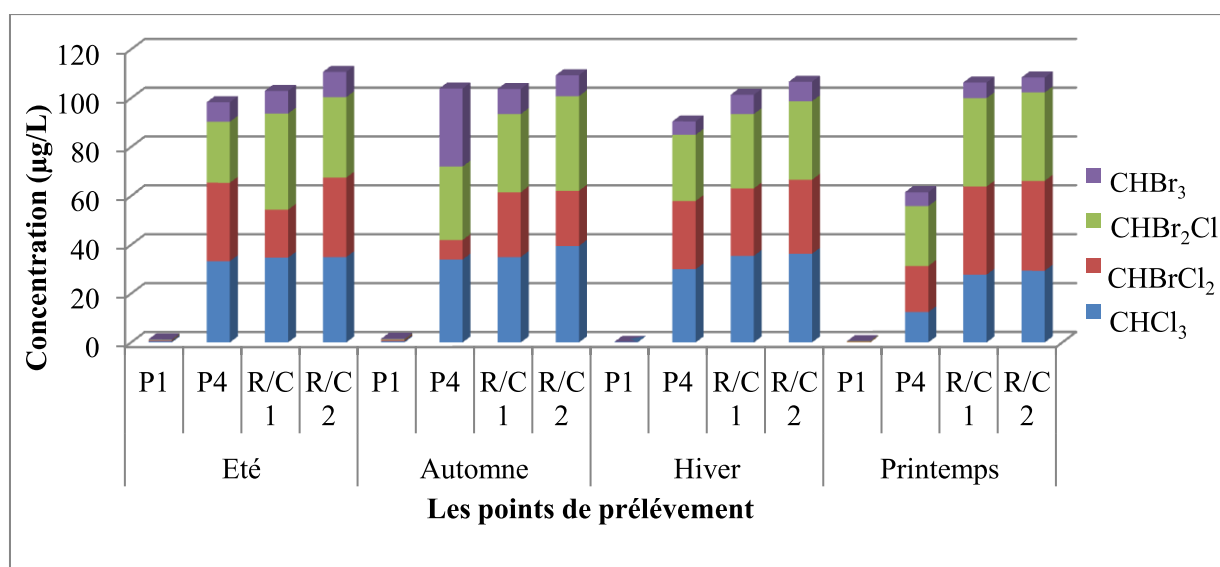


Figure 32 : Concentrations de chloroforme (CHCl₃), bromoforme (CHBr₃), bromodichlorométhane (CHBrCl₂), dibromochlorométhane (CHBr₂Cl) dans l'eau collectée durant les quatre saisons.

P1: Eau brute

P4: Eau traitée post-chloration

R/C1: Robinet consommateurs (avec une seule re-chloration)

R/C2: Robinet consommateurs (avec une deuxième re-chloration)

I. 2 Les paramètres Bactériologiques

Les références de la qualité bactériologique des eaux de distribution fixées doivent respecter les valeurs suivantes (Tab. XXX) :

Tableau XXX : Références de qualité des paramètres bactériologiques dans l'eau destinée à la consommation humaine.

Paramètres microbiologiques	Unités	Valeurs limites		
		Algérie ⁽¹⁾	France ⁽²⁾	OMS ⁽³⁾
Germes aérobies revivifiables à 22 °C et à 37 °C	UFC/ml	/	/	/
CT	CT UFC/100 ml	/	/	10
CF	CF UFC/100 ml	0	0	0
SF	SF UFC/100 ml	0	0	0
<i>S. Aureus</i>	SA UFC/100ml	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	PA UFC/100ml	0	0	0

⁽¹⁾ : Selon le décret du 22 mars 2011 (J.O.R.A.), Algérie

⁽²⁾ : Selon l'arrêté du 11 janvier 2007 (J.O.R.F.), France.

⁽³⁾ : Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.), 2011.

I. 2. 1 Résultats des dénombrements

Après une série d'analyses bactériologiques sur les échantillons d'eau prélevée, nous avons obtenu des résultats qui sont exprimés dans des tableaux et des graphes présentant les différentes variations des paramètres, soit:

- Les germes totaux
- Les coliformes totaux
- Les coliformes fécaux
- Les streptocoques fécaux
- Les staphylocoques
- Les Pseudomonas

I. 2. 1. 1 Les Germes totaux

Le dénombrement des bactéries mésophiles aérobies et anaérobies facultatives, vise à estimer la densité de la population bactérienne générale dans l'eau potable. Il permet ainsi une appréciation globale de la salubrité générale d'une eau, sans toutefois préciser les sources de contamination. D'une manière générale, la présence des germes totaux en quantité anormalement élevée, semble être indicatrice des difficultés de traitement ou d'un entretien inadéquat du réseau (Levallois, 2003). Les micro-organismes qui se développent à 22°C, sont des saprophytes présents naturellement dans l'eau d'origine résiduaire (environnementale).

Celles qui se développent à 37°C, température du corps humain, proviennent de l'homme ou d'animaux à sang chaud d'origine intestinale (humaine ou animale) (Figarella et Leyral, 2002; Figarella et al., 2007 ; El Haissoufi et al., 2011).

Durant une année d'étude, nous avons noté une variation importante du nombre des GT en fonction des différentes saisons. La comparaison entre le nombre des GT (Tab. XXXI), montre dans l'ensemble ; que l'été et l'automne révèlent les valeurs les plus élevées, et l'hiver et le printemps les valeurs les plus faibles. Cette variation du nombre peut être due à l'abaissement du niveau de l'eau durant la période estivale avec une T° élevée. Les paramètres contrôlant la prolifération bactérienne, sont nombreux et la température apparaît comme l'un des paramètres clés, pour l'explication d'une prolifération estivale des bactéries du réseau (Maul et al., 1989).

La présence des GT s'est révélée dans les eaux brutes (P1 : 142 UFC/ml à 22°C et 460UFC/ml à 37°C, 100UFC/ml à 22°C et 112UFC/ml à 37°C, 96 UFC/ml à 22°C et 6UFC/ml à 37°C et 100UFC/ml à 22°C et 35UFC/ml à 37°C pendant l'été, l'automne, l'hiver et le printemps respectivement) et diminue à la sortie de la station (P4 : 78UFC/ml à 22°C et 35UFC/ml à 37°C, 3UFC/ml à 22°C et 26UFC/ml à 37°C, 10UFC/ml à 22°C et 0UFC/ml à 37°C et 5UFC/ml à 22°C et 10UFC/ml à 37°C pendant l'été, l'automne, l'hiver et le printemps respectivement) ce qui montre une bonne désinfection, mais ce n'est pas le cas chez quelques consommateurs qui présentent des valeurs plus élevées à celle de P4. Ce phénomène se produit, en particulier, lorsque le résiduel de chlore libre disparaît de l'eau stockée (Haslay et Leclerc, 1993 ; Figarella et Leyral, 2002) et c'est le cas dans notre étude où ces échantillons ne contiennent aucune dose de chlore résiduel ou seulement des traces (Tab. XXXI).

Un réseau de distribution n'est malheureusement pas un simple outil de transport de l'eau potable (Celerier et Faby, 1998). Il se comporte comme un réacteur biologique dans lequel toutes les conditions sont réunies (Levi, 1995; Sibille, 1998). Dans le réseau, se forme également des biofilms, qui confèrent une résistance importante à différents stress: UV, toxicité de métaux, dessiccation, déplétion en nutriments et surtout aux antibiotiques (Costerton et al., 1999). Le biofilm constitue une source inépuisable des bactéries qui peuvent être relarguées périodiquement dans le réseau, ce qui explique que la concentration en micro-organismes puisse être plus élevée qu'à la sortie de la station du traitement (Maul et al., 1989; Figarella et Leyral, 2002).

Tableau XXXI : Évolution du nombre des GT à 22°C et à 37°C dans les eaux prélevées pendant les quatre saisons.

N °=		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
Été	22°C	142	118	91	78	400	140	38	536	35	44	170	120
	37°C	460	30	41	35	336	5	13	424	21	19	7	160
Automne	22°C	100	41	25	3	488	2	1	0	1	12	34	160
	37°C	112	30	200	26	32	72	24	0	3	137	408	132
Hiver	22°C	96	72	52	10	2	0	0	72	0	0	5	52
	37°C	6	9	12	0	0	2	0	13	0	0	10	21
Printemps	22°C	100	30	30	5	0	2	1	0	5	1	10	3
	37°C	35	27	4	10	13	40	30	0	2	156	14	17

I. 2. 1. 2 Les Coliformes totaux

Les CT sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale (Chevalier, 2003a). Figarella et Leyral, (2002), rapportent que la recherche et le dénombrement des coliformes à 37°C, est intéressant pour juger l'efficacité de la désinfection d'une eau. Ils sont d'un intérêt moindre pour déceler une contamination d'origine fécale, du fait que certains de ces coliformes peuvent faire partie de la flore naturelle des eaux et des sols non pollués.

Les résultats de la figure 33, montrent que la teneur en CT varie d'une saison à l'autre, ils laissent apparaître une absence des CT après traitement dans le site P4 et ceci pour les quatre saisons. L'OMS, 2011 exige un nombre inférieur à 10 CT UFC/100ml pour les eaux potables, mais ce n'est pas le cas dans cette étude où les valeurs des résultats obtenues à partir de quelques échantillons de consommateurs sont supérieures à la valeur indiquée. La présence de CT dans les eaux de robinet chez les consommateurs même après des étapes de re-chloration, n'implique pas nécessairement un risque pour la santé publique mais c'est un indicateur de risque très imprécis. Ces bactéries peuvent croître dans un réseau de distribution et cette croissance se produit habituellement à partir des biofilms microbiens qui se forment sur la paroi des canalisations, particulièrement en cas d'une faible concentration de chlore résiduel (Chevalier, 2003a).

Selon Barwick et al., (2000), il existe des cas où il est mis en évidence une association entre la détection de CT et l'apparition d'épidémies d'origine hydrique. Ils sont cependant très utiles comme indicateurs de l'efficacité du traitement, de l'intégrité du réseau de distribution

ainsi que comme indicateurs de la re-croissance bactérienne après traitement (Chevalier, 2003a).

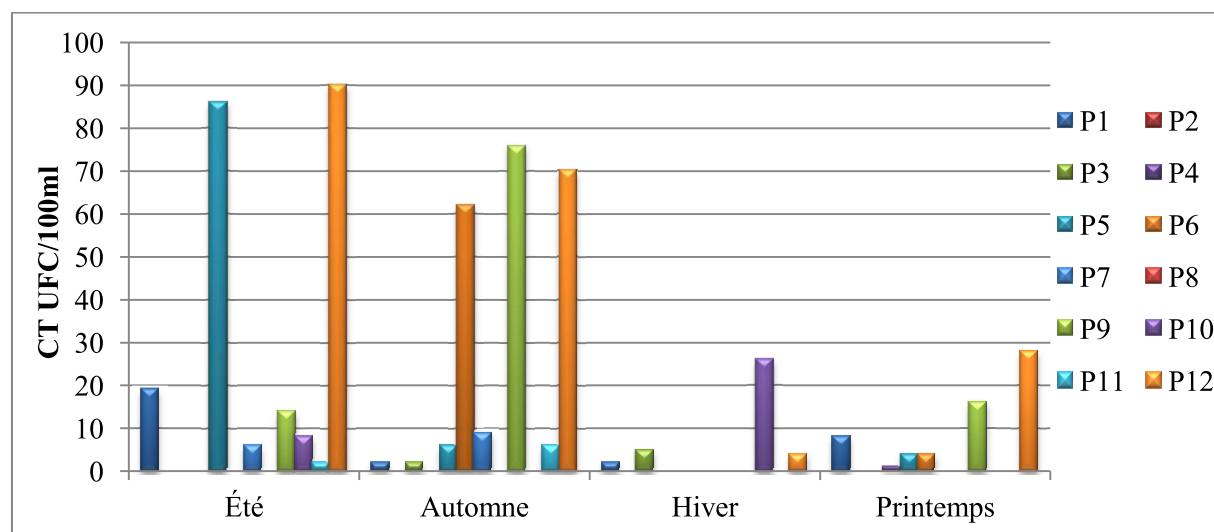


Figure 33 : Évolution du nombre des CT.

I. 2. 1. 3 Les Coliformes fécaux

Les coliformes thermotolérants ou CF, forment un sous-groupe de CT. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *E. coli* elle représente toutefois 80 à 90% des coliformes thermotolérants détectés (Chevalier, 2003b).

Les CF sont absents dans tous les échantillons d'eau prélevés dans la station de traitement pendant les quatre saisons et dans les eaux du robinet chez les consommateurs sauf pour les sites P9 (4UFC/100ml), P11 (2UFC/100ml) et P12 (19UFC/100ml) pendant l'été et P5 (5UFC/100ml), P10 (6UFC/100ml) et P12 (2UFC/100ml) pendant l'hiver (Fig. 34).

La présence des coliformes thermotolérants, signe l'existence quasi certaine de la contamination fécale d'une eau. Ils sont sensibles au traitement de désinfection et ces micro-organismes doivent être totalement absents dans l'eau de boisson (Richard, 1996 ; Figarella et Leyral, 2002 ; Rodier et al., 2005 ; El Haissoufi et al., 2011). Pour Chevalier (2003b), la présence de CF peut être une indication de la présence des micro-organismes entéropathogènes, comme les salmonelles. Leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales. De même puisque les CF ne prolifèrent habituellement pas dans un réseau de distribution, ils sont utiles pour vérifier son étanchéité, permettant de détecter une contamination fécale découlant par exemple d'infiltrations d'eau polluée dans les canalisations (Robertson, 1995).

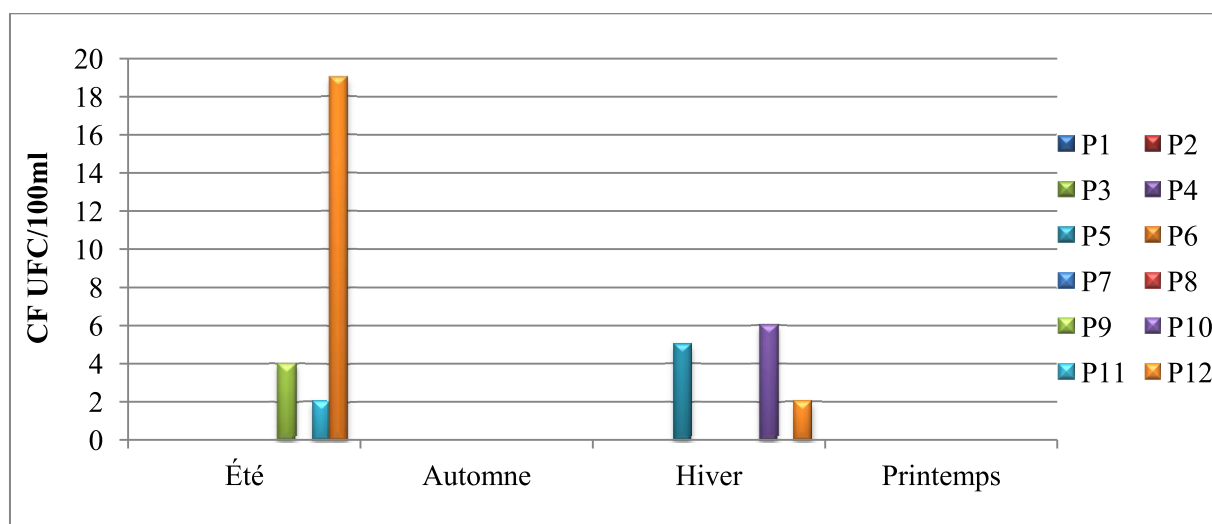


Figure 34 : Évolution du nombre des CF.

I. 2. 1. 4 Les Streptocoques fécaux

Les SF sont d'excellents indicateurs d'une contamination fécale récente par la matière fécale des animaux (Rodier, 1996). Les résultats des analyses des eaux recueillies durant les quatre périodes d'étude (Fig. 35), montrent l'absence des SF sauf pendant l'été dans les sites P1, P7, P8, P10, P11 et P12 (4UFC/100ml, 4UFC/100ml, 2UFC/100ml, 30UFC/100ml, 18UFC/100ml et 33UFC/100ml) respectivement, pendant l'automne P12 (10UFC/100ml) et pendant le printemps P1(6UFC/100ml).

Selon Figarella et Leyral (2002) ; Rodier et al., (2005), la présence des SF doit s'accompagner de la présence des CF pour être certaine d'une contamination fécale d'une eau d'alimentation. La persistance des entérocoques dans divers types d'eau peut être supérieure à celle des autres organismes indicateurs (OMS, 2000), notamment à cause de leur résistance notoire aux agents désinfectants (Haslay et Leclerc, 1993), ce qui fait d'eux des indicateurs privilégiés pour évaluer l'efficacité du traitement de l'eau(OMS, 2000).

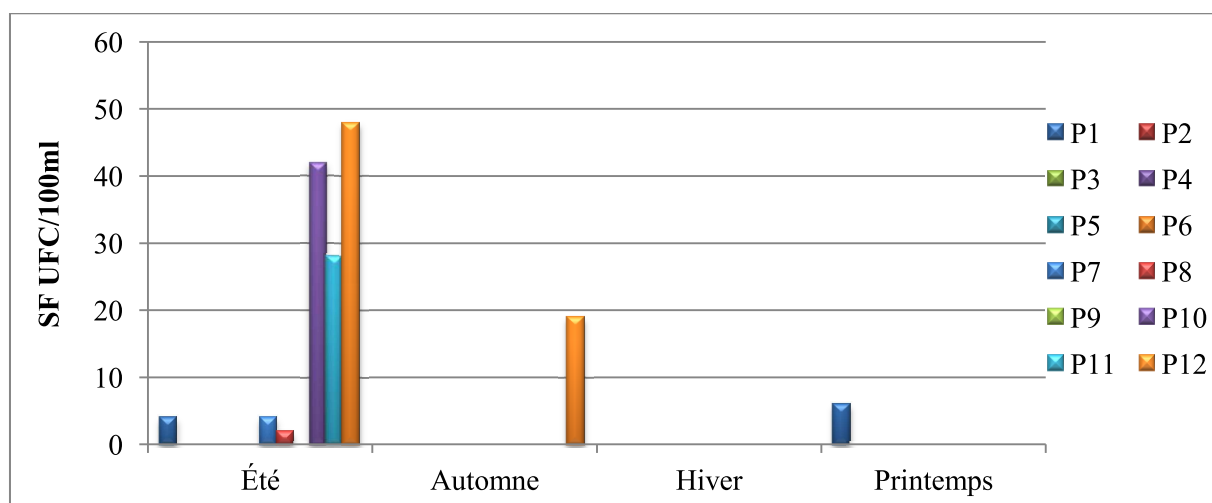


Figure 35 : Évolution du nombre des SF.

I. 2. 1. 5 Le rapport CF/SF

Le rapport CF/SF a été utilisé en 1982 par Borrego et Romero où un ratio supérieur à 4 ($CF/SF > 4$) indique une origine humaine, tandis qu'une valeur plus petite que 0,7 ($CF/SF < 0,7$) montre une origine animale de la pollution (Tab. XXXII).

Tableau XXXII : Origine de la pollution fécale selon le rapport CF/SF (Borrego et Romero, 1982).

Rapport CF/SF	Source de Contamination
$R < 0.7$	Principalement ou entièrement d'origine animale
$0.7 < R < 1$	Mixte à prédominance animale
$1 < R < 2$	Origine incertaine
$2 < R < 4$	Mixte à prédominance humaine
$R > 4$	Source exclusivement humaine

Les résultats montrent que les deux échantillons analysés P11=0,11 et P12=0,57 pendant l'été ont un rapport CF/SF inférieur à 0,7. Ceci explique bien que l'origine de la contamination des eaux est entièrement animale.

I. 2. 1. 6 Les staphylocoques

La figure 36 présente les résultats de l'évolution du nombre des staphylocoques dans les points de prélèvement. Elle montre une absence des Staphylocoques dans les échantillons prélevés dans la station du traitement pendant l'été et l'automne mais ce n'est pas le cas pendant l'hiver et le printemps où nous avons constaté des diminutions du nombre après chaque étape du traitement. En ce qui concerne les eaux des robinets, pendant les quatre saisons quelques échantillons présentent des valeurs élevées, cette présence a comme origine possible la formation des biofilms au niveau des réservoirs et des réseaux de distribution.

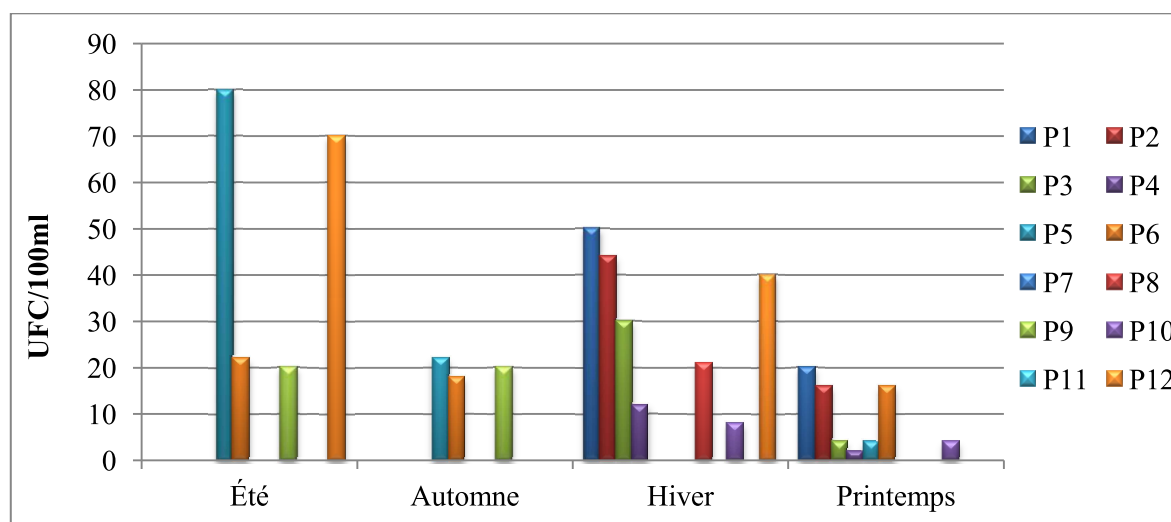


Figure 36 : Évolution du nombre des Staphylocoques.

I. 2. 1. 7 Les Pseudomonas

Les résultats du dénombrement des Pseudomonas sont présentés dans la figure 37 qui montrent une absence totale de ces bactéries pendant les deux saisons l'hiver et le printemps mais ce n'est pas le cas pendant l'été et l'automne qui présentent des quantités variables surtout dans les échantillons qui sont recueillies des robinets chez quelques consommateurs.

La différence quantitative des Pseudomonas peut être expliquée par la répartition non homogène des bactéries à l'intérieur du réseau de distribution de l'eau potable présente sous forme de biofilm. D'autre part, les réseaux peuvent être vétustes et la perte en chlore est rapide, ainsi même sur les réseaux en bon état, il est souvent difficile de maintenir un taux de chlore sur de grandes longueurs de canalisations surtout si ces derniers sont colonisés par des biofilms qui sont également des consommateurs de chlore en puissance (Bourafa et Boutefnouchet, 2008).

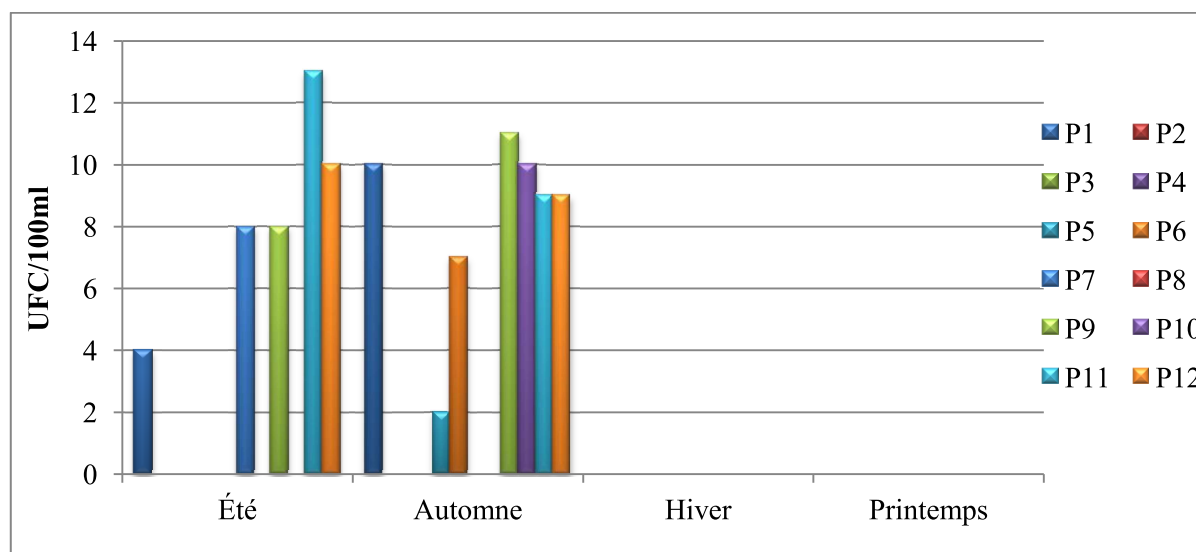


Figure 37 : Évolution du nombre des Pseudomonas.

I. 2. 2 Résultats de l'identification biochimique

Un nombre important d'espèces bactériennes ont été identifiées dans les échantillons étudiés. La figure 38 montre les huit familles qui ont été trouvées pendant l'identification des espèces bactériennes ; les *micrococaceae* (34,44%) constituaient la famille isolée la plus importante, suivi des *entérobacteriaceae* (23,35%), des *aeromonadaceae* (17,78%), des *vibrionaceae* (11,11%), des *pasteurellaceae* (6,66%), des *streptococcaceae* (5,55%), et des *pseudomonadaceae* (1,11%).

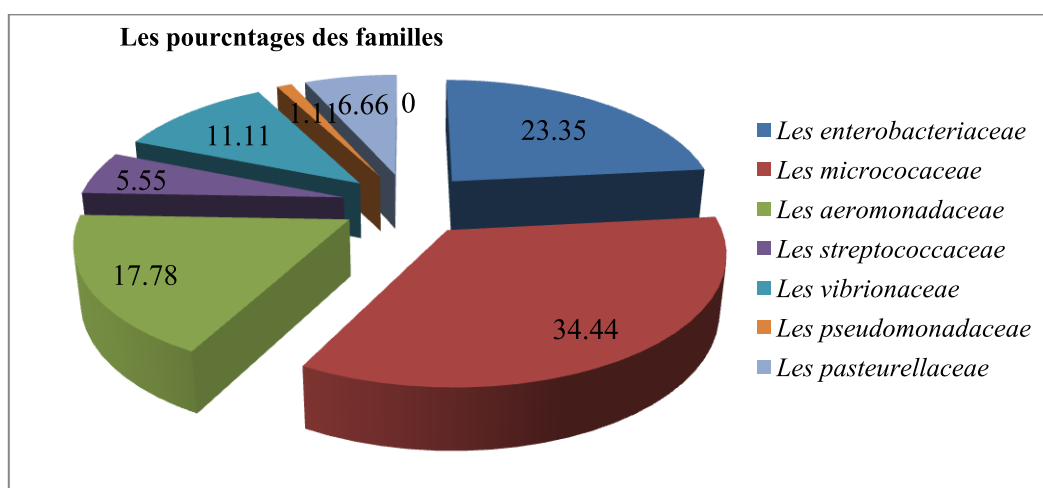


Figure 38 : Répartition des familles des germes isolés.

Les pourcentages des espèces rencontrés sont donnés dans le tableau XXXIII. Le tableau montre que dans l'ensemble des espèces d'*enterobacteriaceae* isolée, *Serratia odorifera* a montré une prédominance avec un pourcentage de 16.67% suivie d'*E.coli* avec 3.34%, d'*E. cloacae* 2.23% et de *Klebsiella pneumoniae* 1.11% par contre les *micrococaceae* présentent huit espèces bactériennes avec un pourcentage de 3.33% de *S.aureus*. *Aeromonas hydrophila* (14.45%), *Photobacterium damsela* (6.66%) et *Aerococcus viridans* (3.33%) constituaient les espèces isolées avec les pourcentages les plus élevés pour les trois familles *aeromonadaceae*, *vibrionaceae* et *streptococcaceae* respectivement. Les différentes espèces des *pseudomonadaceae* et des *pasteurellaceae* sont représentées par une seule espèce pour chaque famille (*Pseudomonas alcaligenes* 1.11% et *Pasteurella pneumotropica* 6.66% respectivement).

Tableau XXXIII : Pourcentage des germes isolés pendant les quatre saisons.

Germes isolés		Effectif (n=90)	Pourcentage (%)
Les enterobacteriaceae	<i>Serratia odorifera</i>	15	16.67
	<i>E.coli</i>	3	3.34
	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	2.23
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1.11
Les micrococaceae	<i>Staphylococcus lentus</i>	5	5.55
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	14	15.57
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3.33
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	1.11
	<i>Staphylococcus hymolyticus</i>	5	5.55
	<i>Staphylococcus hominis</i>	1	1.11
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1.11
	<i>Staphylococcus capitis</i>	1	1.11
Les aeromonadaceae	<i>Aeromonas hydrophila</i>	13	14.45
	<i>Aeromonas caviae</i>	3	3.33
Les streptococcaceae	<i>Aerococcus viridans</i>	3	3.33
	<i>Enterococcus faecium</i>	2	2.22
Les vibrionaceae	<i>Photobacterium damsela</i>	6	6.66
	<i>Vibrio flurialis</i>	3	3.33
	<i>Vibrio vulnificus</i>	1	1.11
Les pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	1	1.11
Les pasteuraceae	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	6	6.66

L'analyse bactériologique nous a permis d'identifier huit familles avec 21 types d'espèces bactériennes qui sont répartis dans les différents sites d'étude et le tableau XXXIV montre ces résultats qui sont en accords avec ceux de Bourbigot et al., 1984 ; De Constantin et al., 1986 et Le Chevallier et al., 1987 où l'été montre la présence des micro-organismes dans tous les sites étudiés.

Ces résultats permettent d'affirmer que les eaux de consommation humaine en général véhiculent des micro-organismes qui peuvent traverser la chaîne du traitement et même les étapes de re-chloration (Camper et al., 1987 ; Stewart et al., 1990) ou se détacher des biofilms qui se trouvent dans les réservoirs de stockage et dans les canalisations où certains micro-organismes potentiellement pathogènes ou d'origine fécale peuvent transitoirement trouver

des conditions favorables pour leur prolifération dans les réseaux et dans les réservoirs (Camper, 1994 ; Sibille, 1998).

Tableau XXXIV : Répartition des principales espèces bactériennes rencontrées dans les échantillons étudiés pendant les quatre saisons.

	Été	Automne	Hiver	Printemps
P1	<i>Serratia odorifera</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>E.coli</i> <i>Photobacterium damsela</i> <i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Staphylococcus horminis</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>	<i>Serratia odorifera</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>
P2	<i>Staphylococcus xylosus</i>		<i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>hymolyticus</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>
P3	<i>Staphylococcus lentus</i>	<i>Serratia odorifera</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Vibrio fluvialis</i> <i>Vibrio vulnificus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>	<i>E.coli</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>
P4	<i>Staphylococcus lentus</i>		<i>Staphylococcus</i> <i>hymolyticus</i> <i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Serratia odorifera</i> <i>Staphylococcus</i> <i>hymolyticus</i> <i>Aeromonas cariae</i>
P5	<i>Serratia odorifera</i> <i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Aeromonascariae</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Serratia odorifera</i> <i>Photobacterium damsela</i> <i>Staphylococcus</i> <i>hymolyticus</i>		<i>Serratia odorifera</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>
P6	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Serratia odorifera</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Pseudomonas alcaligen</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>		<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>
P7	<i>Serratia odorifera</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Enterococcus faecium</i>	<i>Serratia odorifera</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>		<i>Serratia odorifera</i>
P8	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Enterococcus faecium</i>		<i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis</i>	
P9	<i>Serratia odorifera</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>E.coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Photobacterium damsela</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>		<i>Aeromonas hydrophila</i>
P10	<i>Aerococcus viridans</i> <i>Aeromonas cariae</i>	<i>Photobacterium damsela</i> <i>Enterococcus faecium</i>	<i>Vibrio fluvialis</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>
P11	<i>Serratia odorifera</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Aerococcus viridans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Photobacterium damsela</i>		
P12	<i>Serratia odorifera</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus faecium</i>	<i>Aerococcus viridans</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Photobacterium damsela</i> <i>Staphylococcus lentus</i>	<i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Staphylococcus</i> <i>hymolyticus</i>	<i>Serratia odorifera</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>

II. Résultats des tests de génotoxicité

Pour le test *in vitro* (Test d'Ames), un système d'activation métabolique est utilisé. Les tests *in vivo* étant réalisés sur des organismes entiers pourvus de son métabolisme propre, ne nécessitent pas l'emploi de ce système d'activation métabolique. Dans chacun des trois tests, on a inclus un témoin négatif qui est l'eau distillée, un témoin positif systématiquement utilisé afin de contrôler la sensibilité des organismes utilisés.

II. 1 Test d'Ames

II. 1. 1 Résultats de la vérification des caractères génétiques

Les résultats de la vérification des caractères génétiques des bactéries TA100 et TA98 sont comme suit :

II. 1. 1. 1 Réclamation de l'histidine

Les résultats de cette vérification sont présentés dans la figure 39, qui montre après incubation une poussée bactérienne sur les boîtes contenant le mélange histidine/ biotine contrairement aux boîtes qui ne contiennent que la biotine (absence des bactéries). Ce résultat confirme que les souches sont auxotrophes à l'histidine (His⁻).

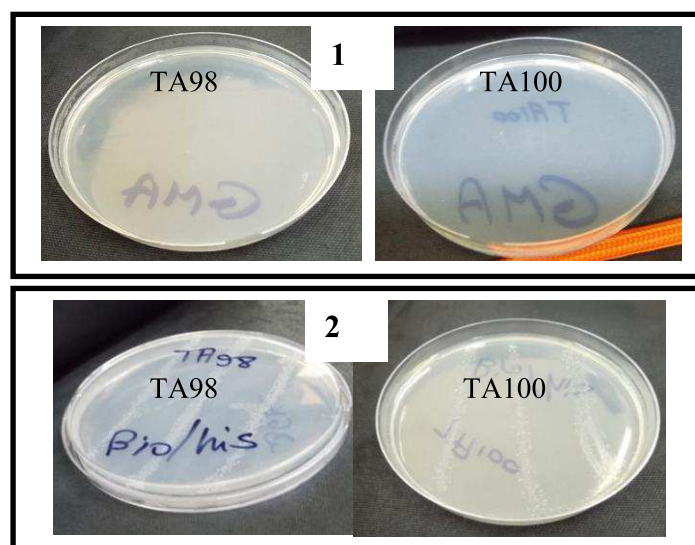


Figure 39 : Résultats de la réclamation de l'histidine (1-sans histidine/2-avec histidine).

II. 1. 1. 2 La sensibilité aux UV

La sensibilité des deux souches aux UV est montrée dans la figure 40. Après incubation, les bactéries mutées poussent uniquement dans la partie cachée tandis que la souche sauvage pousse tout au long de la boîte même dans la partie exposée aux UV grâce à la possession du système de réparation par excision (*uvrA*, *uvrB* et *uvrC*) ce qui n'est pas actif chez les deux souches du test d'Ames.



Figure40 : L'effet des UV sur les souches d'Ames et la souche sauvage.

II. 1. 1. 3 La résistance à l'AMP et la sensibilité au cristal violet

La figure 41 montre le résultat de vérification de la résistance des souches TA98 et TA100 à l'AMP et la sensibilité au cristal violet. Ce résultat montre une poussée bactérienne autour du disque de l'AMP, et la présence d'une zone claire uniquement autour du disque du cristal violet. Ces souches possèdent donc le plasmide PKM101 et sont portantes de la mutation rfa.

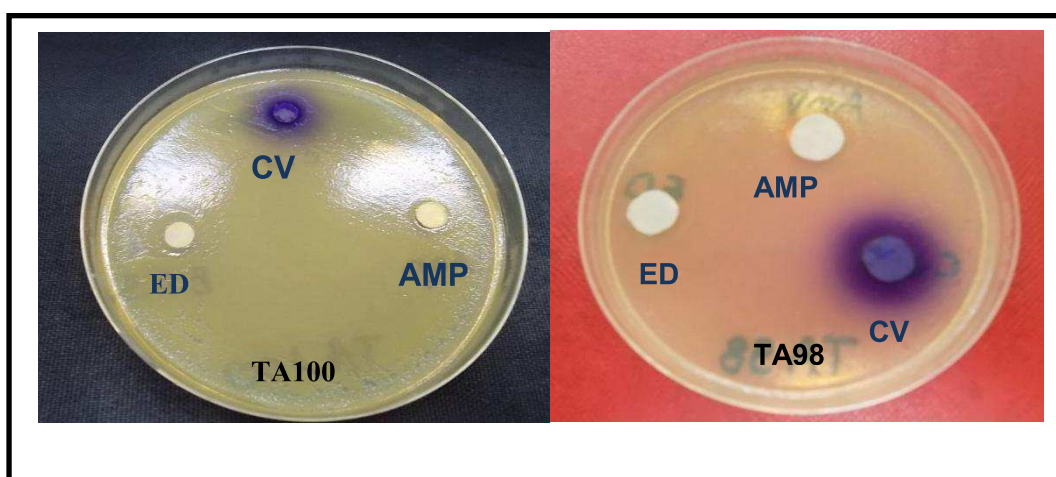


Figure 41 : L'effet de l'AMP et du cristal violet sur les souches d'Ames (TA100/TA98).

II. 1. 2 Résultats du test

L'activité mutagène des eaux prélevées a été analysée en utilisant les souches de *S. typhimurium* TA98 et TA100 en présence / absence de mélange S9-mix (tableaux XXXV, XXXVI, XXXVII et XXXVIII).

Tableau XXXV : L'activité mutagène des échantillons prélevés sur *S. typhimurium* TA98 en absence de S9-mix.

Les échantillons	Nombre de révertants / Boite moyenne±SD*			
	Été	Automne	Hiver	Printemps
P1	33.33±2.08*	39.66±4.5*	90.66±2.08 ^m	33.33±3.21*
P2	35±3.6*	47.33±5.03 ^m	85.66±4.5 ^m	77.33±4.16 ^m
P3	95±6.08 ^m	74.33±6.65 ^m	114±5.29 ^m	43±3*
P4	50.33±3.51 ^m	82±4.35 ^m	76.33±4.04 ^m	29±5.56
P5	27.33±3.78	73.33±4.61 ^m	69±2.64 ^m	36.66±2.88*
P6	67.66±7.5 ^m	75±6.08 ^m	96±5.56 ^m	38.33±3.51
P7	94.66±8.14 ^m	65.66±3.21 ^m	58.33±7.37 ^m	30±2.64
P8	58.33±5.5 ^m	65.33±3.05 ^m	62.33±2.51 ^m	23.66±2.08
P9	84.33±5.85 ^m	78.66±1.52 ^m	69.33±2.08 ^m	26.66±3.21
P10	94.33±5.68 ^m	71.66±1.56 ^m	66±1 ^m	27.33±2.51
P11	81.66±4.72 ^m	60±4.35 ^m	125.33±5.03 ^m	28±2
P12	106.33±7.09 ^m	105.33±6.8 ^m	178.66±11.05 ^m	27.66±2.88
Contrôle négatif	23.33±5.85	23.33±5.85	23.33±5.85	23.33±5.85
Contrôle positif	1485.4±134.61*	1485.4±134.61*	1485.4±134.61*	1485.4±134.61*
NPD-200				
µg/Boite				

*Statistiquement significative à $p < 0.05$ (Mann-Whitney test), ^m: Mutagène, SD: écart-type, NPD: 4-nitro-o-phénylènediamine.

Tableau XXXVI : L'activité mutagène des échantillons prélevés sur *S. typhimurium* TA98 en présence de S9-mix.

Les échantillons	Nombre de révertants / Boite moyenne ± SD*			
	Été	Automne	Hiver	Printemps
P1	32.33±3.21	62.66±3.78 ^m	87±3 ^m	64±6.92 ^m
P2	40±2*	64.66±5.68 ^m	83±6.24 ^m	67.33±4.93 ^m
P3	104.66±4.16 ^m	69±5.56 ^m	99.66±2.51 ^m	71±6.08 ^m
P4	80.66±5.5 ^m	84±6 ^m	71.33±8.08 ^m	52.33±2.08 ^m
P5	74±4.58 ^m	73.33±3.51 ^m	55.33±4.16 ^m	62±2 ^m
P6	85±5 ^m	86.33±3.78 ^m	85±6.08 ^m	32.66±3.05
P7	129.33±6.42 ^m	72±2 ^m	84.33±5.5 ^m	71.66±4.16 ^m
P8	53.33±6.11 ^m	86.66±5.85 ^m	52.66±3.05 ^m	26.66±6.11
P9	89.66±2.08 ^m	102.33±2.08 ^m	61.33±1.52 ^m	48.66±5.13*
P10	96.33±6.65 ^m	90.66±1.52 ^m	57.66±2.08 ^m	24.66±3.51
P11	94.33±4.16 ^m	84.66±5.13 ^m	92±5.56 ^m	40.33±2.51*
P12	96±6.08 ^m	113.33±5.85 ^m	103±6.55 ^m	24.66±5.03
Contrôle négatif	25.66±3.78	25.66±3.78	25.66±3.78	25.66±3.78
Contrôle positif				
2AA-5 µg/Boite	986.6±71.15*	986.6±71.15*	986.6±71.15*	986.6±71.15*

*Statistiquement significative à $p < 0.05$ (Mann-Whitney test), ^m: Mutagène, SD: écart-type, 2AF: 2-aminofluorène.

Tableau XXXVII : L'activité mutagène des échantillons prélevés sur *S. typhimurium*TA100 en absence de S9-mix.

Les échantillons	Nombre de révertants / Boîte moyenne $\pm$ SD*			
	Été	Automne	Hiver	Printemps
P1	116 $\pm$ 4	98.33 $\pm$ 4.72	177.33 $\pm$ 3.78*	132.66 $\pm$ 6.42*
P2	130.66 $\pm$ 4.04*	123.33 $\pm$ 5.13*	160 $\pm$ 2*	93 $\pm$ 3.6*
P3	122.33 $\pm$ 4.72*	131.66 $\pm$ 2.08*	163.33 $\pm$ 5.77*	129 $\pm$ 5.19*
P4	140.66 $\pm$ 4.16*	131.66 $\pm$ 3.05*	165.66 $\pm$ 4.04*	170 $\pm$ 8.88*
P5	147 $\pm$ 7*	142.33 $\pm$ 1.52*	161.66 $\pm$ 2.51*	105 $\pm$ 2.64*
P6	197 $\pm$ 7.21*	174 $\pm$ 5.29*	177 $\pm$ 4.35*	155 $\pm$ 7.93*
P7	179 $\pm$ 7.93*	169.66 $\pm$ 1.52*	154.33 $\pm$ 4.93*	125 $\pm$ 5*
P8	110.33 $\pm$ 4.04	130.66 $\pm$ 9.07*	154.33 $\pm$ 2.51*	166.33 $\pm$ 10.11*
P9	127.66 $\pm$ 5.13*	166.66 $\pm$ 5.03*	158 $\pm$ 2*	130.33 $\pm$ 6.5*
P10	183.33 $\pm$ 5.5*	171.66 $\pm$ 3.51*	161 $\pm$ 2*	182 $\pm$ 10.44*
P11	129.33 $\pm$ 5.85*	157.33 $\pm$ 2.51*	220.66 $\pm$ 3.05 ^m	184.66 $\pm$ 5.03*
P12	176.66 $\pm$ 5.03*	188 $\pm$ 9.53*	295 $\pm$ 7 ^m	173 $\pm$ 2.64*
Contrôle négatif	107.33 $\pm$ 6.42	107.33 $\pm$ 6.42	107.33 $\pm$ 6.42	107.33 $\pm$ 6.42
Contrôle positif				
SA-10 μg/Boîte	1876.2 $\pm$ 109.34*	1876.2 $\pm$ 109.34*	1876.2 $\pm$ 109.34*	1876.2 $\pm$ 109.34

* Statistiquement significative à $p < 0.05$ (Mann-Whitney test), ^m: Mutagène, SD : écart-type, SA : Azoture de sodium.

Tableau XXXVIII : L'activité mutagène des échantillons prélevés sur *S. typhimurium*TA100 en présence de S9-mix.

Les échantillons	Nombre de révertants / Boîte moyenne $\pm$ SD*			
	Été	Automne	Hiver	Printemps
P1	129.66 $\pm$ 1.52*	70.33 $\pm$ 2.51*	81.33 $\pm$ 1.52*	93 $\pm$ 2.64*
P2	127.66 $\pm$ 6.8*	81.66 $\pm$ 2.08*	85.33 $\pm$ 6.65*	75 $\pm$ 3*
P3	103.66 $\pm$ 6.65	81.66 $\pm$ 1.52*	61.66 $\pm$ 1.52*	86 $\pm$ 3.6*
P4	81 $\pm$ 2.64*	69 $\pm$ 5.56*	63.66 $\pm$ 6.02*	124.33 $\pm$ 8.08*
P5	90 $\pm$ 2*	68 $\pm$ 7*	67.66 $\pm$ 4.5*	99.33 $\pm$ 3.21
P6	158.66 $\pm$ 4.16*	88.66 $\pm$ 1.52*	82 $\pm$ 6*	146 $\pm$ 8.88*
P7	76.66 $\pm$ 5.5*	104.33 $\pm$ 4.5	66 $\pm$ 4*	94.66 $\pm$ 6.65
P8	117 $\pm$ 3.6*	99 $\pm$ 1	79.33 $\pm$ 3.05*	163.33 $\pm$ 2.57*
P9	116.33 $\pm$ 6.5*	93 $\pm$ 5	64 $\pm$ 2.04*	127 $\pm$ 9.64*
P10	135.33 $\pm$ 13.31*	105 $\pm$ 2.64	83.66 $\pm$ 4.72*	185.66 $\pm$ 11.59*
P11	131.33 $\pm$ 2.08*	100 $\pm$ 3	107.66 $\pm$ 11.59	192 $\pm$ 8.71*
P12	188 $\pm$ 12.52*	88.33 $\pm$ 8.02*	127.66 $\pm$ 5.85*	158 $\pm$ 8.54*
Contrôle négatif	101 $\pm$ 3.6	101 $\pm$ 3.6	101 $\pm$ 3.6	101 $\pm$ 3.6
Contrôle positif				
2AA-5 μg/Boîte	2384.2 $\pm$ 102.32*	2384.2 $\pm$ 102.32*	2384.2 $\pm$ 102.32*	2384.2 $\pm$ 102.32*

* Statistiquement significative à $p < 0.05$ (Mann-Whitney test), ^m: Mutagène, SD: écart-type, 2AA: 2-aminoanthracène.

Le nombre des révertants du contrôle négatif était de 23,33 $\pm$ 5,85 pour TA98 et 107,33 $\pm$ 6,42 pour TA100 en absence de mélange S9-mix, 25,66 $\pm$ 3,78 et 101 $\pm$ 3,6 en présence de mélange S9-mix respectivement. Les révertants spontanés ont été trouvés dans les valeurs normales pour les deux souches étudiées (Mortelmans et Zeiger, 2000).

La valeur la plus élevée observée avec le mélange S9-mix était avec la TA98 dans le site P12 en automne ($113,33 \pm 5,85$). La valeur la plus faible observée avec le mélange S9-mix était avec la TA98 dans le site P8 au printemps ($23,66 \pm 2,08$). Ces valeurs avec TA100 ont été trouvées dans le site P11 au printemps ($192 \pm 8,71$) et dans P12 en hiver (295 ± 7) respectivement. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à $p < 0,05$ avec les souches testées sauf dans les sites : P4, P6-P12 au printemps et p5 en été pour TA98 ; dans les sites P1 et P8 en été et P1 en automne pour TA100 ; et ceci sans le mélange S9-mix, également dans les sites : P1 en été, et P6, P8, P10 et P12 au printemps pour TA98 ; dans les sites P3 en été, P7-P11 en automne, P11 en hiver, et P5 et P7 au printemps pour TA100 ; et ceci avec le mélange S9-mix.

Les résultats de la présente étude ont montré que tous les échantillons d'eau, sauf pour : P1, P2, et P5 en été ; P1 en automne ; et P1 et P3-P12 au printemps sans mélange S9-mix, et pour : P1 et P2 en été ; et P6 et P8- P12 au printemps avec mélange S9-mix, ont été trouvés mutagènes avec *S. typhimurium* TA98. Cependant, seulement P11 ($220,66 \pm 3,05$) et P12 (295 ± 7) en hiver ont été trouvés mutagènes avec TA100 sans mélange S9-mix. En général, l'ajout de mélange S9-mix a provoqué une augmentation du nombre des colonies révertantes pour TA98 (sauf en hiver), mais pour TA100 une diminution du nombre de colonies révertantes. Ce résultat confirme la présence d'un type de SPD agissant spécifiquement sur TA100 (Kundu et al., 2004). La cinétique de l'activité mutagène des eaux sur TA 98 est similaire surtout pendant l'automne et l'hiver à celle obtenue dans nos résultats lors de l'analyse des THM (Fig. 31 et 32). Les résultats ont été expliqués par l'hypothèse qui résume que la souche TA100 est sensible aux AOX non volatils (acides acétiques, chlorophénols...), contrairement à la souche TA98 qui est sensible aux AOX volatils (THM) dont la concentration augmente en fonction de la distance de la station de traitement (Vartiainen et Liimatainen, 1986; Bilyk et al., 1996 ; Kundu et al., 2004).

II. 2 Test d'Allium

II. 2. 1 La longueur des racines

En plus de l'existence des paramètres cytogénétiques communs, comme l'IM et les AC, la croissance des racines a été aussi utilisée comme un paramètre macroscopique. Les résultats de la croissance des racines d'*A. cepa* sont présentés dans le tableau XXXIX. Les racines exposées à l'eau distillée pendant 24 h (contrôle négatif) avaient une longueur moyenne de 3.3 ± 0.67 cm et ont montrées une morphologie normale. Le tableau présente des réductions significatives de la longueur des racines d'*A. cepa* exposé aux échantillons d'eau

de la station de traitement par rapport au contrôle négatif, sauf pour P2 (2.8 ± 0.44 cm) et P4 (3.3 ± 0.44 cm) pendant l'été, et P2 (3 ± 0.61 cm), P3 (3cm) et P4 (3 ± 0.61 cm) pendant le printemps. Pour les racines exposées à l'eau du robinet, les résultats de la longueur des racines montrent qu'il y a une diminution significative par rapport au contrôle négatif pour les quatre saisons sauf pendant l'été dans les sites P5, P6, P7 et P10 (3.2 ± 0.83 , 2.7 ± 0.44 , 3.1 ± 0.22 et 2.7 ± 0.44)cm respectivement, et pendant le printemps P5, P6, P7, P9, P10 et P11 (2.9 ± 0.41 , 2.9 ± 0.22 , 2.8 ± 0.57 , 2.8 ± 0.44 , 3 et 2.7 ± 0.44)cm respectivement. Les résultats montrent une inhibition de la croissance des racines surtout celles qui sont exposées à l'eau de robinet par rapport aux celles qui sont exposées à l'eau de la station. Ces résultats sont justifiés par l'augmentation des concentrations des différents groupes de THM surtout chez les consommateurs où le printemps présente les valeurs les plus faibles (Yıldız et al., 2009). Cette diminution prouve l'existence d'une inhibition de la croissance des racines généralement liée à l'activité méristématique apicale, l'élongation cellulaire au cours de la différenciation, et l'inhibition de la synthèse des protéines (Liman et al., 2010).

Tableau XXXIX : Les résultats de la croissance des racines d'*A. cepa*.

Les échantillons	Été	Automne	Hiver	Printemps
	L (cm) $\pm$ SD*	L(cm) $\pm$ SD*	L(cm) $\pm$ SD*	L(cm) $\pm$ SD*
Contrôle négatif	3.3 ± 0.67 ae	3.3 ± 0.67 a	3.3 ± 0.67 a	3.3 ± 0.67 a
Contrôle positif	1.1 ± 0.22 b	1.1 ± 0.22 b	1.1 ± 0.22 b	1.1 ± 0.22 b
MMS				
P1	2.1 ± 0.22 cd	1.7 ± 0.44 bc	1.9 ± 0.22 cd	2.8 ± 0.75
P2	2.8 ± 0.44 ade	1.9 ± 0.65 cd	2.6 ± 0.54 e	3 ± 0.61 ac
P3	2.1 ± 0.41 cd	2 ± 0.5 cd	1.6 ± 0.41 bc	3ac
P4	3.3 ± 0.44 ae	2.5 ± 0.35 d	2.2 ± 0.57 cde	3 ± 0.61 ac
P5	3.2 ± 0.83 ae	2.5 ± 0.5 d	2.1 ± 0.22 cde	2.9 ± 0.41 ac
P6	2.7 ± 0.44 ade	2.6 ± 0.41 d	1.9 ± 0.41 cd	2.9 ± 0.22 ac
P7	3.1 ± 0.22 ae	1.9 ± 0.41 cd	2.3 ± 0.44 d	2.8 ± 0.57 ac
P8	2.3 ± 0.27 cd	2.5 ± 0.35 d	1.9 ± 0.41 cd	2.5 ± 0.35 cd
P9	1.9 ± 0.54 c	2.2 ± 0.75 cd	2.5 ± 0.35 de	2.8 ± 0.44 ac
P10	2.7 ± 0.44 ae	2 ± 0.5 cd	2.5 ± 0.5 de	3ac
P11	2.4 ± 0.22 cd	2.2 ± 0.27 cd	2.6 ± 0.41 e	2.7 ± 0.44 ac
P12	2.3 ± 0.27 cd	1.9 ± 0.41 cd	2.2 ± 0.27 cde	2 ± 0.5 d

les moyennes qui sont avec la même lettre ne diffèrent pas statistiquement au niveau de 0,05, SD: l'écart type, L : longueur des racines (cm) $\pm$ SD, MMS : méthyle méthanesulfonate.

II. 2. 2 L'Indice mitotique

Les teneurs de la cytotoxicité d'un composé a testé peut être déterminées sur la base de l'augmentation ou la diminution de l'IM, qui peut être utilisé en tant que paramètre de la cytotoxicité dans les études de surveillance biologique de l'environnement (Fernandes et al., 2007). Les effets des échantillons d'eau sur l'IM dans les racines d'*A. cepa* après 24h sont présentés dans le tableau XL. Le contrôle négatif ($20,82 \pm 1,07$) présente les valeurs les plus

élevés de l'IM, tandis que les cellules exposées à MMS ($6,81 \pm 0,89$) avaient la plus faible valeur au cours de cette étude. Il y avait une diminution statistiquement significative de l'IM dans tous les sites, sauf dans le site P1 pendant le printemps.

Le test a été effectué à différentes saisons afin d'évaluer l'influence des changements des caractéristiques chimiques de l'eau sur la génotoxicité. Le tableau XL montre des diminutions significatives de la division cellulaire présentes dans les racines de la plante d'*A. cepa* dans les échantillons d'eau au cours des quatre saisons où l'automne présente les valeurs les plus faibles suivie par l'été, l'hiver et le printemps, respectivement.

Ce résultat concorde avec ceux obtenu par Monarca et al., (2002, 2003), et confirme également les résultats de SPD qui ont révélés la formation de plusieurs THM génotoxiques (Fig.31 et 32) dérivés de la désinfection par le chlore. Ces résultats montrent des valeurs élevées des THM surtout en automne où la formation des SPD dans cette période a été confirmée dans nombreuses études (Monarca et al., 2003 ; Leme et Marin-Morales, 2009; Khallef et al., 2013). Ces THM étaient généralement présents à des concentrations plus élevées et, étaient susceptibles d'affecter le cycle cellulaire normal. Ceci pourrait empêcher un certain nombre de cellules de pénétrer dans la prophase et bloquer le cycle de la mitose pendant l'interphase (Rijstenbil et Poortvli, 1992 ; Yıldız et al., 2009), ou pourrait augmenter la durée de leur séjour au G2 et au prophase (Borboa et De la Torre, 1996). Il convient de souligner que la génotoxicité trouvée dans ces résultats pourrait être due non seulement à la présence des THM, mais peut aussi être attribuée à une contamination industrielle et/ou agricole de l'eau brute (Park et al., 2001)

Tableau XL : Les effets des échantillons d'eau sur l'IM dans les extrémités méristématiques des racines d'*A. cepa*.

Les échantillons	Été		Automne		Hiver		Printemps	
	NCC	MI± SD*	NCC	MI± SD*	NCC	MI± SD*	NCC	MI± SD*
Control négatif	5183	20.82±1.07a	5183	20.82±1.07a	5183	20.82±1.07a	5183	20.82±1.07a
MMS	5194	6.81±0.89b	5194	6.81±0.89b	5194	6.81±0.89b	5194	6.81±0.89b
P1	5103	13.37±0.4cd	5198	15.1±0.73c	5198	14.68±0.29c	5071	21.28±0.78a
P2	5160	12.99±0.71ce	5145	11.68±0.63de	5174	18.09±1.08d	5149	15.9±0.36c
P3	5148	15.89±0.86f	5139	15.41±0.44c	5271	14.73±0.8c	5187	18.74±0.39d
P4	5149	14.08±0.77d	5069	11.85±1.65ef	5201	13.3±0.49e	5040	18.37±0.57de
P5	5273	14.99±0.14g	5211	12.91±0.67fh	5238	13.15±0.41e	5172	16.26±0.68c
P6	5155	10.37±0.4h	5129	11.5±0.82de	5154	14.97±0.77cf	5123	17.8±0.39ef
P7	5132	13.99±0.08d	5175	11.02±1de	5141	14.49±0.71c	5075	15.57±0.6c
P8	5241	10.68±0.38h	5159	10.56±0.32dg	5160	16.12±1.02f	5108	17.16±0.51f
P9	5194	13.42±0.26cd	5104	10.84±0.71deg	5209	11.69±1.01g	5121	16.2±0.79c
P10	5091	11.76±0.28g	5206	9.79±0.92g	5292	15.13±0.39cf	5161	13.61±0.9g
P11	5175	12.27±0.76eg	5118	11.81±0.64ef	5147	15.28±1.15cf	5143	14.34±0.54g
P12	5346	13.82±0.26cd	5149	13.01±0.68h	5210	15.6±0.7cf	5186	15.62±0.56c

* les moyennes qui sont avec la même lettre ne diffèrent pas statistiquement au niveau de 0,05, SD : l'écart type, NCC: Nombre de cellules comptées, MMS :méthyle méthanesulfonate.

II. 2. 3 Les Aberrations chromosomiques

Dans le test des AC anaphase-télophase effectué sur les cellules de méristèmes de racine d'*A. cepa*, basé sur l'analyse statistique en utilisant le test de Duncan multiple ($P < 0,05$), le tableau XLI présente des résultats significatifs pour tous les échantillons d'eau prélevés. Le contrôle négatif présente quelques anomalies par rapport au contrôle positif et par rapport aux échantillons d'eaux prélevées où l'automne présente la valeur la plus élevée et ceci dans le site P7 ($10,4 \pm 1,41\%$) et la figure 42 montre les quatre types des AC.

Les résultats indiquent que les échantillons d'eau sont génotoxiques en se basant sur la présence des aberrations de type ponts, vagabonds, condensation des chromosomes et perturbation anaphase-télophase dans le test des AC anaphase-télophase d'*A. cepa*. Les résultats montrent que les valeurs les plus élevées sont obtenus pendant l'automne, où l'écoulement de l'eau de surface est généralement faible, ce qui conduit à la formation d'une concentration plus élevée de MON, puis une formation d'un taux élevé des SPD lors de la désinfection de l'eau avec le chlore. Le pourcentage des AC durant toute la période d'étude est observé surtout après la dernière étape de chloration dans la station (P4) et chez les consommateurs qui ont subi une deuxième re-chloration. Ces résultats confirment l'hypothèse que les THM (Fig. 31) sont les contaminants présents dans les échantillons d'eau et sont les responsables de la présence des AC dans les cellules des racines d'*A. cepa* où le type de

condensation des chromosomes et l'aberration ponts sont les plus importantes (Kabil et Branko, 1985; Mastsumoto et al., 2006 ; Khallef et al., 2013).

L'aberration de condensation des chromosomes est considérée comme un effet physiologique des protéines des chromosomes sous l'effet des THM (Khallef et al., 2013). A la suite de la réticulation de chromoprotéines, les THM peuvent provoquer une séparation incomplète des chromosomes filles (Kong et Ma, 1999; Tkalec et al., 2009 ; Silva et al., 2011).

L'aberration ponts peut être le résultat de la condensation des chromosomes et l'échec de la séparation des chromosomes au cours de l'anaphase. Ce type d'aberration (ponts) est généralement formé par la liaison entre les chromatides sœurs qui restent ensemble jusqu'à la fin de l'anaphase ou la télophase. Si ces liaisons deviennent très fortes, les chromatides peuvent se casser ou à proximité former des points de liaison à l'anaphase (Gömürge, 2005; Türkoglu, 2008 ; Yıldız et al., 2009).

L'aberration perturbation anaphase-télophase pourrait se produire par l'effet des THM sur la formation des microtubules qui peuvent se présenter en fonction de l'inhibition de la polymérisation de la tubuline (Kuriyama et Sakai, 1974 ; Kumari et al., 2009).

L'induction des chromosomes vagabonds conduit à la séparation d'un nombre inégal de chromosomes dans les noyaux des cellules filles et ensuite une formation des cellules filles avec des noyaux de tailles inégales ou des formes irrégulières à l'interphase (El-Ghamery et al., 2000 ; Tkalec et al., 2009).

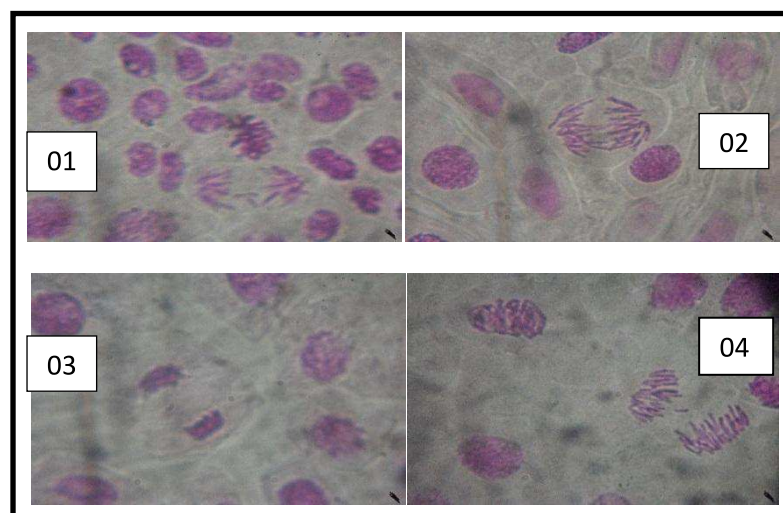


Figure 42 : Les différents types des AC dans les racines d'*A. cepa*.

01 : L'aberration vagabonds, 02 : L'aberration ponts, 03 : La condensation des chromosomes, 04 : Perturbation anaphase-télophase.

Tableau XLI : Pourcentage des AC des échantillons d'eau.

Échantillons	% Anomalies Anaphase-Télophase						
	NCC	PAT	V	C	AB	TA± SD*	
Controle négatif	546	1.47	0.73	0.92	0.54	3.66±0.65a	
Controle positif (MMS)	586	4.21	0.7	0.84	1.63	7.38±0.61b	
Été	P1	526	1.7	0.38	1.53	2.47	6.08±0.49c
	P2	548	0.73	0.9	2	2.56	6.19±0.62c
	P3	557	1.12	0.38	1.92	3.04	6.46±0.5cd
	P4	537	1.3	0.56	2.24	2.98	7.08±0.56 bde
	P5	564	0.89	0.35	2.13	3.85	7.24±0.59be
	P6	557	0.88	0.37	1.95	3.95	7.15±0.6bde
	P7	547	0.74	0.19	2	3.1	6.03±0.43c
	P8	553	0.17	-	2.52	3.28	5.98±0.53c
	P9	559	0.55	-	3.73	2.15	6.43±0.41cd
	P10	541	0.19	0.17	2.78	2.94	6.08±0.47c
	P11	550	0.91	0.36	2.55	2.73	6.55±0.64cde
	P12	554	0.95	0.35	2.48	2.9	6.48±0.33cde
Automne	P1	544	0.54	0.18	2.95	1.85	5.52±0.24c
	P2	539	0.56	0.93	2.6	1.68	5.77±1.13c
	P3	589	0.33	0.51	2.38	2.05	5.26±0.25c
	P4	549	1.09	1.27	2.75	1.09	6.2±0.71bc
	P5	562	0.52	1.26	3.4	1.78	6.96±1.1bf
	P6	563	1.27	0.56	3.89	3.34	9.05±1.44e
	P7	569	1.74	1.52	4.09	3.05	10.4±1.41g
	P8	516	1.14	1.56	3.71	1.91	8.32±0.83de
	P9	570	2.61	1.34	3.97	2.44	10.36±0.56g
	P10	563	1.59	1.04	2.84	2.17	7.64±0.67df
	P11	567	1.9	-	3.36	2.86	8.11±0.98def
	P12	575	1.9	0.2	2.64	2.75	7.49±0.73df
Hiver	P1	572	1.92	0.53	1.41	1.56	5.42±0.4cd
	P2	557	1.62	1.08	1.26	1.25	5.21±0.71c
	P3	587	0.87	1.05	1.84	2.03	5.8±0.63cd
	P4	552	1.47	0.56	1.99	1.96	5.98±0.4cd
	P5	544	1.1	1.29	2.24	2.74	7.36±0.95b
	P6	579	1.87	0.71	1.58	2.08	6.24±0.83d
	P7	531	1.16	0.2	3.34	2.64	7.33±0.46b
	P8	529	1.14	-	3.6	2.83	7.56±0.56b
	P9	547	1.47	0.73	2.72	2.75	7.67±0.57b
	P10	571	0.86	0.37	2.64	1.9	5.77±0.51cd
	P11	546	1.13	0.17	2.74	1.65	5.69±0.44cd
	P12	541	0.74	0.19	1.84	2.98	5.75±0.53cd
Printemps	P1	590	1.03	0.17	1.87	1.84	4.91±0.65cde
	P2	572	0.87	-	2.45	1.05	4.37±0.81ac
	P3	563	1.07	0.53	2.66	1.07	5.33±0.54de
	P4	521	1.15	0.19	2.5	1.92	5.77±0.27e
	P5	531	1.69	0.38	1.88	1.69	5.64±0.54de
	P6	535	1.5	-	2.24	1.12	4.84±0.53cd
	P7	542	0.92	0.18	2.05	2.21	5.36±0.85de
	P8	597	1.16	0.12	2.64	1.17	5.09±0.52cde
	P9	530	1.14	0.4	2.25	1.13	4.92±0.34cde
	P10	549	0.91	0.17	2.76	1.27	5.11±0.77cd
	P11	562	0.89	0.36	2.31	1.6	5.16±0.61cde
	P12	555	0.72	0.18	2.52	1.8	5.22±0.55cde

* les moyennes qui sont avec la même lettre ne diffèrent pas statistiquement au niveau de 0,05, SD: l'écart type, NCC: Nombre de cellules comptées. PAT: Perturbation Anaphase-Télophase, V: Vagabonds, C: Condensation, PA : Ponts Anaphasiques, TA: Total des Anomalies, MMS : méthyle méthanesulfonate.

II. 3 Test des micronoyaux

Les valeurs moyennes de la fréquence des MN et IP pour les échantillons d'eau sont présentées dans les Tableaux XLII et XLIII respectivement.

Tableau XLII : Les valeurs moyennes de la fréquence des MN dans les cellules binuclées des lymphocytes traités

Échantillons	Été	Automne	Hiver	Printemps
	MN/1000 BN (moyenne $\pm$ SD ^{***})	MN/1000 BN (moyenne $\pm$ SD ^{**})	MN/1000 BN (moyenne $\pm$ SD ^{NS})	MN/1000 BN (moyenne $\pm$ SD ^{***})
Contrôle négatif	1.50 $\pm$ 0.50	1.50 $\pm$ 0.50	1.50 $\pm$ 0.50	1.50 $\pm$ 0.50
P1	1.40 $\pm$ 0.10	1.20 $\pm$ 0.50	0.80 $\pm$ 0.20	0.58 $\pm$ 0.56
P2	1.50 $\pm$ 0.10	1.50 $\pm$ 0.30	1.00 $\pm$ 0.20	0.18 $\pm$ 0.09
P3	1.80 $\pm$ 0.10	1.70 $\pm$ 0.27	1.10 $\pm$ 0.10	0.80 $\pm$ 0.28
P4	1.70 $\pm$ 0.10	1.80 $\pm$ 0.50	1.30 $\pm$ 0.50	1.00 $\pm$ 0.60
P5	1.30 $\pm$ 0.10	1.50 $\pm$ 0.18	1.10 $\pm$ 0.10	1.20 $\pm$ 0.20
P6	2.00 $\pm$ 0.25	1.80 $\pm$ 0.20	1.10 $\pm$ 0.30	1.10 $\pm$ 0.10
P7	2.20 $\pm$ 0.22	2.70 $\pm$ 0.30	1.40 $\pm$ 0.20	1.20 $\pm$ 0.15
P8	1.90 $\pm$ 0.12	1.50 $\pm$ 0.09	0.50 $\pm$ 0.30	1.60 $\pm$ 0.20
P9	1.80 $\pm$ 0.12	1.80 $\pm$ 0.35	0.90 $\pm$ 0.40	1.50 $\pm$ 0.20
P10	1.90 $\pm$ 0.05	1.50 $\pm$ 0.20	1.40 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.20
P11	2.10 $\pm$ 0.10	1.80 $\pm$ 0.60	1.10 $\pm$ 0.70	1.50 $\pm$ 0.36
P12	2.41 $\pm$ 0.02	2.30 $\pm$ 0.30	1.40 $\pm$ 0.20	1.60 $\pm$ 0.30

* les moyennes qui sont avec la même lettre ne diffèrent pas statistiquement au niveau de 0,05, SD: l'écart type, BN : Cellules binuclées.

Tableau XLIII : Les valeurs moyennes des IP dans les cellules binuclées des lymphocytes traités

Échantillons	Été	Automne	Hiver	Printemps
	IP (moyenne $\pm$ SD ^{NS})	IP (moyenne $\pm$ SD ^{NS})	IP (moyenne $\pm$ SD ^{NS})	IP (moyenne $\pm$ SD ^{NS})
Contrôle négatif	1.40 $\pm$ 0.30	1.40 $\pm$ 0.30	1.40 $\pm$ 0.30	1.40 $\pm$ 0.30
P1	1.16 $\pm$ 0.34	1.30 $\pm$ 0.28	1.24 $\pm$ 0.04	1.25 $\pm$ 0.55
P2	1.01 $\pm$ 0.01	1.04 $\pm$ 0.46	1.28 $\pm$ 0.12	1.21 $\pm$ 0.49
P3	1.04 $\pm$ 0.26	1.02 $\pm$ 0.68	1.20 $\pm$ 0.27	1.19 $\pm$ 0.01
P4	1.12 $\pm$ 0.38	1.10 $\pm$ 0.20	1.22 $\pm$ 0.08	1.20 $\pm$ 0.19
P5	1.20 $\pm$ 0.70	1.29 $\pm$ 0.15	1.40 $\pm$ 0.20	1.58 $\pm$ 0.42
P6	1.23 $\pm$ 0.27	1.19 $\pm$ 0.01	1.30 $\pm$ 0.22	1.28 $\pm$ 0.08
P7	1.21 $\pm$ 0.23	1.20 $\pm$ 0.20	1.36 $\pm$ 0.24	1.27 $\pm$ 0.17
P8	1.22 $\pm$ 0.22	1.18 $\pm$ 0.38	1.50 $\pm$ 0.40	1.67 $\pm$ 0.47
P9	1.20 $\pm$ 0.80	1.15 $\pm$ 0.25	1.45 $\pm$ 0.35	1.39 $\pm$ 0.29
P10	1.21 $\pm$ 0.15	1.17 $\pm$ 0.17	1.70 $\pm$ 0.10	1.40 $\pm$ 0.10
P11	1.17 $\pm$ 0.23	1.13 $\pm$ 0.05	1.30 $\pm$ 0.20	1.30 $\pm$ 0.10
P12	1.27 $\pm$ 0.43	1.10 $\pm$ 0.40	1.25 $\pm$ 0.21	1.07 $\pm$ 0.43

* les moyennes qui sont avec la même lettre ne diffèrent pas statistiquement au niveau de 0,05, SD: l'écart type.

La fréquence des MN et des IP a donné un aperçu du potentiel génotoxique des échantillons d'eau *in vitro*. Le test MN est un paramètre bien connu et validé qui peut prédire un risque accru de cancer dans une population humaine (Bonassiet al., 2007). Ce test a un avantage sur les tests avec des bactéries, qui ne sont pas assez sensibles pour les évaluations de la génotoxicité de l'eau (Durgo et al., 2008).

Nous avons étudié une génotoxicité basé sur la fréquence des MN et les changements de l'IP des lymphocytes traités par les échantillons d'eau pendant les quatre saisons.

Le tableau XLII montre une augmentation très hautement significative des fréquences des MN pendant l'été et le printemps. L'automne présente une augmentation hautement significative mais ce n'est pas le cas pendant l'hiver qui ne présente aucune signification. Ces résultats montrent l'existence d'un changement saisonnier des fréquences des MN où l'automne et l'été (2.41 $\pm$ 0.02 et 2.70 $\pm$ 0.30 respectivement) présentent les valeurs les plus élevées par rapport aux fréquences des MN pendant l'hiver et le printemps (1.40 $\pm$ 0.20 et 1.60 $\pm$ 0.20 respectivement). Ces résultats prouvent l'effet des THM (Fig.31 et 32) sur la formation des MN surtout que ces résultats montrent une augmentation des fréquences de ces MN de la sortie de l'usine de traitement jusqu'aux derniers consommateurs avec une valeur maximale de 2.70 $\pm$ 0.30 pendant l'automne dans le point P7.

D'autre part, un effet saisonnier non significatif des échantillons d'eau sur l'IP est observé dans le tableau XLIII avec les valeurs les moins élevées sont présentées dans les périodes d'été et d'automne. Une diminution de la division cellulaire présente dans les cellules lymphocytaires des échantillons d'eau au cours des quatre saisons où l'automne présente les valeurs les plus faibles suivie par l'été, l'hiver et le printemps, respectivement.

En générale, ces résultats obtenus après un traitement de 24h dans le test de MN dans les lymphocytes humains concordent avec ceux obtenus par Marabini et al., 2007 ; Park et al., 2000 ; Bolognesia et al., 2004. Ces réponses de fréquence des MN et IP peuvent être dues à des mécanismes sous-jacents aux effets génotoxiques des produits formés pendant le traitement et/ou la distribution de l'eau détectés par ce test, qui détecte des aberrations structurelles et numériques des chromosomes (Amahdar et al., 2009).

D'une manière générale, les objectifs initiaux assignés à cette étude ont été atteints. L'objectif principal de cette étude visait à évaluer l'efficacité du traitement des eaux potables. Les méthodes utilisées pour atteindre cet objectif ont été basées sur la caractérisation physico-chimique, bactériologique et génotoxique des eaux prélevées. Pendant les essais, les échantillons d'eau ont été prélevés à intervalle bien déterminé de différents points d'eau de la station de traitement et de la ville de Guelma, pendant les quatre saisons.

Les résultats de cette étude font ressortir que :

- De point de vu physico-chimique :

Cette étude a démontré que les eaux traitées ne subissent aucune modification de pH et de turbidité jusqu'à l'arrivée chez les consommateurs. La conductivité électrique et la TDS montrent la même cinétique des résultats, elles sont en relation direct avec la présence des sels minéraux (Ca^{++} , mg^{++} , cl^- , Fe^{++} et So_4^{-2}), donc ces eaux étudiées ont une bonne minéralisation, de plus la dureté nous a permis de les classer dans la catégorie des eaux douces. Les résultats montrent aussi une bonne corrélation entre une augmentation ou une diminution de la T° qui est toujours accompagnée par une diminution ou une augmentation de l'OD respectivement. Les résultats des paramètres de la pollution montrent que les eaux étudiées ne présentent pas un risque de pollution par les nitrates, les nitrites, les phosphores et l'ammonium.

Cette étude a aussi démontré que l'injection du chlore dans les réservoirs de stockage SP1, SP2 et SP3, génère la formation d'une quantité importante des THM notamment pendant l'automne où les valeurs les plus élevées de la MON ont été révélées. La formation des THM est en relation direct avec la période d'étude et le site d'étude. Pour l'ensemble des systèmes étudiés, les concentrations des THM mesurées en automne et en été ont été supérieures à celles observées en hiver et au printemps. De plus, les THM formés avant distribution à la population (P4) peuvent constituer de 40 à 75% des THM observés chez les consommateurs. Les résultats ont démontrés, que les concentrations moyennes annuelles des THM à l'extrémité des réseaux étaient supérieures à $100\mu\text{g/L}$.

Ces démonstrations indiquent que la désinfection est faite d'une manière adéquate dans la station de traitement et pendant la distribution. Ces eaux répondent donc aux normes de la qualité physico-chimique. Elles sont en générale d'une bonne potabilité pendant les quatre saisons sauf pour les MON et les THM qui présentent des valeurs légèrement supérieur aux normes.

- De point de vu bactériologique

Les dénombrements bactériens ont révélés que les teneurs en germes indicateurs de contamination dépassent largement les normes de potabilité chez les consommateurs surtout pendant l'été et l'automne. Ce résultat peut émaner, soit de l'insuffisance ou inefficacité du traitement, soit d'une contamination du réseau de distribution par des biofilms existants, soit au vu de l'hydraulique instable du réseau de distribution par intrusion de l'extérieur. Ce résultat constitue un risque sanitaire.

A l'exception de quelques consommateurs, les eaux des robinets ne sont pas aptes pour la consommation humaine.

- De point de vu mutagène et/ou génotoxique

Dans cette étude, les résultats obtenus sont conformes à ceux des études précédentes sur la formation des mutagènes à action directe dans l'eau potable après chloration. En général, les effets mutagènes et/ou génotoxiques sont faibles par rapport aux control positifs utilisés pour chaque test ; mais il faut signaler que les eaux de consommation (surtout R/C2) peut constituer un danger pour le consommateur. La mutagénicité a été prouvée par la souche TA98 uniquement dans le test d'Ames. La diminution de l'IM dans les deux tests le test des MN et le test d'Allium montre une génotoxicité de ces eaux avec l'apparition d'un nombre important des MN et des AC caractérisées le plus souvent par une aberration condensation des chromosomes et aberration ponts.

A la lumière des résultats obtenus, il est permis de conclure que les paramètres physico-chimiques sont en relation direct d'une part avec la prolifération bactérienne dans les réseaux de distributions ; parmi les paramètres influençant la re-croissance bactérienne les fortes T°, les pH élevés et les fortes concentrations en MON, et d'autre part avec l'effet mutagène et/ou génotoxique des eaux potables surtout suit à la formation des THM par l'interaction de la MON avec le chlore résiduel.

Dans le but d'améliorer, dans les recherches futures, les méthodes d'analyse des différents paramètres pour une meilleure qualité des eaux, il est recommandé de mesurer systématiquement les THM à partir de la pré-chloration dans l'usine de traitement d'eau potable. En effet, il y avait en moyenne environ 50% des THM qui étaient déjà formés à la sortie de l'usine par rapport à l'extrémité du réseau de distribution. Il apparaît donc important de déterminer quelle est la contribution de la pré-chloration à ce pourcentage. De cette façon, il serait possible de juger de la pertinence de la pré-désinfection de l'eau brute par le chlore. Il semble aussi important de générer une meilleure connaissance des temps de séjour de l'eau à travers les réseaux de distribution.

Il semble aussi qu'il est important de déterminer des indicateurs plus spécifiques aux précurseurs des THM. En effet, la mesure de la fluorescence sous l'UV et la mesure du COT pourrait être une alternative intéressante.

Une approche génotoxique est aussi un outil à utilisé par les autorités de la santé publique pour mieux évaluer la qualité de l'eau potable et de surveiller les eaux avant leur distribution.

Finalement, il apparaît que les biofilms qui colonisent les conduites d'alimentation en eau potable, méritent une attention particulière. La microfiltration, une alternative à l'utilisation du chlore, bien que cette alternative est onéreuse.

- Abdoulaye, D. N., Khadijettou, M. M. S., & Mohamed, O.** (2013). Contribution à l'étude de la qualité physicochimique de l'eau de la rive droite du fleuve Sénégal. *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, n° 12, pp. 71-83.
- ADE.** (1999). Normes Algérienne et internationales (IZO) ; qualité de l'eau échantillonnages et analyses bactériologiques. *Algérienne des eaux*, 400P.
- ADE.** (2007). Normes Algérienne et internationales (IZO) ; qualité de l'eau échantillonnages et analyses bactériologiques. *Algérienne des eaux*, 43P.
- Amahdar, L., Anouar, A., Ababou, B., Verschaeve, L., & Hilali, A.** (2009). *In vitro* genotoxicity of settat town landfill leachate, Morocco. *Arh Hig Rada Toksikol*, 60:179-184.
- AWWA (american water works association).** (1990). Water quality and treatment, F. W. Ponitus editor, McGraw-Hill new York NY 1990.
- Bach-Campa, C.** (2011). Evaluation de la migration des constituants de l'emballage en poly vers l'eau, Thèse de Doctorat, Des facteurs d'influence et du potentiel toxique des migrât, institut national polytechnique de lorraine, 198 p.
- Backlund, P., Wondergem E., Voogd, K. & Dejong, A.** (1989). Mutagenic activity and presence of the strong mutagen 3- chloro-4- (dichloro methyl)-5- hydroxy-2- (5H)-furanone (MX) in chlorinated raw and drinking waters in the Netherlands. *Science Total environmental*, 84: 273-282.
- Barwick, R. S., Levy, D. A., Craun, G. F, Beach, M. J., & Calderon, R. L.** (2000). Surveillance for water borne-disease outbreaks- United States, 1997-1998. Mortality and Morbidity Weekly. *Review Surveillance Summaries*, 49 (SS04), 26 mai: 1-35.
- Baytak, D., Sofuoglu, A., Inal, F., & Sofuoglu, S. C.** (2008). Seasonal variation in drinking water concentrations of disinfection by-products in Izmir and associated human health risks. *Science of the Total Environment*, 407(1), 286-296.
- Belghiti, M.L., Chahlaoui, A., Bengoumi, D., & El Moustaine, R.** (2013). Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de la nappe plio-quaternaire dans la région de Meknès (Maroc). *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, n°14, pp. 21-36.
- Bilyk, A., Kolwzan. B., & Traczewska, T. M.** (1996). Evaluation of mutagenic activity in water disinfected with chlorine. *Annals of the National Institute of Hygiene*, 47(1), 77-85.
- Birane, Z., & Bouzid, B.** (1998). Analyse des trihalométhanes dans les eaux potables chlorées de la région d'Alger. *Tribune de l'eau*, n°596/6, 17-24.
- Bolognesia, C., Buschinib, A., Branchib, E., Carbonib, P., Furlinib, M., Martinob, A., Monteverdea, M., Polib, P., & Rossib, C.** (2004). Comet and micronucleus assays in zebra

mussel cells for genotoxicity assessment of surface drinking water treated with three different disinfectants. *Science of the Total Environment*, 333 ; 127– 136.

Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, W. P., Holland, N., Kirsch-Volders, M., Zeiger, E., Ban, S., Barale, R., Bigatti, M. P., Bolognesi, C., Cebulska-Wasilewska, A., Fabianova, E., Fucic, A., Hagmar, L., Joksic, G., Martelli, A., Migliore, L., Mirkova, E., Scarfi, M. R., Zijno, A., Norppa, H., & Fenech, M. (2007). An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*, 28:625-31.

Bonte, S. L., Pons, M., Potier, O., & Rocklin, P. (2008). Relation between Conductivity and Ion Content in Urban Wastewater. *Journal of Water Science*, vol. 21, n° 4, 429- 438.

Borboa, L., & De la Torre, C. (1996). The genotoxicity of Zn (II) and Cd (II) in *Allium cepa* root meristematic cells. *New Phytologist*, 134(3), 481–486.

Borrego, A. F., & Romero, P. (1982). Study of the microbiological pollution of a Malaga littoral area II. Relations chip between fecal coliforms and fecal streptococci. VI^e Journée Étude Pollutions, Cannes, France, 561-569.

Bourafa, N., & Boutefnouchet, N. (2008). Evaluation du risque de contamination des réseaux d'eau potable dans les établissements de sante par *pseudomonas aeruginosa* dans la ville d'Annaba Algérie. *Sciences & Technologie*, N°27 Volume-B, pp. 91-96.

Bourbigot, M. M., Dodin, A., & Lheritier, R. (1984). La flore bactérienne dans un réseau de distribution. *Water Research*, 18 (5) 585-591.

Bouziani, M. (2000). L'eau de la pénurie aux maladies. Edition IBN-Khaldoun, P247.

Bremond, R., & Perrodon, C. (1979). Paramètres de la qualité des eaux. Ministère de l'environnement et cadre de vie. Prévention des pollutions, 2ème ed : 259 p.

Bull, R. J. (1982). Toxocological problems associated with alternative methods of disinfection. *Journal American Water Works Association*, 74: 642-648.

Camper, A. K., Broadaway, S. C., Le Chevallier, M. W., & McFeters, G. A. (1987). Operational variables and release of colonized granular activated carbon particules in drinking water. *Journal. American Water Works Association*, 70-74.

Camper, A. K. (1994). Coliform regrowth and biofilm accumulation in drinking water systems : a review., in : Geesey G. G., Levandowski, M., Flemming, H. C. (eds), Biofouling andbio corrosion in industrial, water systems, Lewis publishers, NY, USA, pp. 91-105.

Cardot, C. (1999). Génie de l'environnement, des traitements de l'eau : Procédés physicochimiques et bactériologiques. Edition Ellipses, P247.

- Celerier, J. L., & Faby, J. A.** (1998). La dégradation de la qualité de l'eau potable dans les réseaux. Document technique FNDAE, Office International de l'Eau SNIDE, Paris, 98 p.
- Chan-Yuh, Y., Chiu, H. F., & Tsai, S. S.** (1998). Chlorination of drinking water and cancer mortality in Taiwan. *Environmental research*, section A, **78**, 1-6.
- Chen, W. J., & Weisel, C.P.** (1998). Halogenated DBP, concentrations in a distribution system. *Journal AWWA*. 90, issue 4, 151-163.
- Chevalier, P.** (2003)a. Coliformes totaux. Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. Groupe scientifique sur l'eau, Institut national de santé publique du Québec, 4 p.
- Chevalier, P.** (2003)b. Coliformes fécaux. Fiche synthèse sur l'eau potable et la santé humaine. Groupe scientifique sur l'eau, Institut national de santé publique du Québec, 3 p.
- Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P.** (1999). Bacterial biofilms : A common cause of persistent infections. *Science Journal*, Vol. 284 N° 5418 : 1318- 1322.
- Cotelle, S.** (1999). Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Thèse de doctorat, P257.
- Dernat, M., & Pouillot, M.** (1994). L'action du dioxyde de chlore en préoxydation et en désinfection des eaux. *Revue l'eau, l'industrie, les nuisances*, 172, 44-48.
- Doré, M.** (1989). Chimie des oxydants et traitement des eaux. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, France.
- Droste, R.L.** (1997). Theory and practice of water and waste water treatment. J. wiley and sous, newyork, Toronto, P 800.
- Duponta, S.** (1981). Hydroligue urbaine Tome I, 5eme edition eyrolles, P 147.
- Durgo, K., Orešćanin, V., Lulić, S., Kopjar, N., Želježić, D., & Franekić Čolić, J.** (2008). The assessment of genotoxicity effects of wastewater from a fertilized factory. *Journal Applied Toxicologie*, 29 : 42-51.
- De Constantin, S., Pascal, O., Block, J. C., & Dollard, M. A.** (1986). La flore bactérienne dans les réseaux de distribution : comparaison de deux études. *Water supply*, 4 199-215.
- De Meo, M., Laget, M., Di Giorgio, C., Guiraud, H., Botta, A., Castegnaro, M. & Dumenil, G.** (1996). Optimization of the salmonella / mammalian microsome assay for urine mutagenesis by experimental designs. *Mutation. Research*, 340:51-65.
- Evind, I., Yamzsakie, E., & Ames, B. N.** (1982). A new salmonella tester strain TA97, for detection of framshift mutagens. *Mutation. Research*, 94, 315-330.
- El Attafia, B., & Soraya, M.** (2010). Hyperchlorination of driking tap water and bladder cancer in the region of Mostaganem (west Algeria). *Journal African Cancer*, 2:20–24.

- El Blidi, S., Fekhaoui, M., El Abidi, A., Idrissi, L., & Benazzou, T.** (2006). Contamination des rizières de la plaine du Gharb (Maroc) par des métaux traces. *Vecteur environnement*, 46–53.
- El Ghamery, A. A., El-Nahas, A. I., & Mansour, M. M.** (2000). The action of atrazine herbicide as an indicator of cell division on chromosomes and nucleic acid content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia*, 65, 277–287.
- El Haissoufi, H., Berrada, S., Merzouki, M., Aabouch, M., Bennani, L., Benlemlih, M., Idir, M., Zanibou, A., Bennis, Y., & El Oualilalami, A.** (2011). Pollution des eaux de puits de certains quartiers de la ville de Fès, Maroc. *Review of industrial microbiology sanitary and enviromental*, Vol 5, N°1: 37-68.
- El Morhit, M.** (2009). Thèse de doctorat, Hydrochimie, éléments traces métalliques et incidences ecotoxicologiques sur les différentes composantes d'un écosystème estuarien. P35
- El Shahat, M.F., Abd El-Halim, S. H., & Hassan, G.** (1998). Evaluation of trihalomethanes in water treatment plants outputs in Cairo, Egypt, during 1991 to 1993. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60: 502-506.
- Fall, C.** (2008). Etude de la qualité de l'eau de robinet et de celle de la nappe phréatique dans les différentes Communes d'Arrondissement du département de Guédiawaye, Dakar, Sénégal. Mémoire de maitrise, 81 p.
- Fekhaoui, M.** (2005). Projet Gestion intégrée du complexe de Zones Humides du Bas Loukkos (Larache, Maroc) Phase du Diagnostic : Hydrologie. Projet financé par la fondation Ciconia, Lichtenstein et géré par le grepom, 40p.
- Fenech, M., & Morley, A. A.** (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research*, 147: 29-36.
- Fenech, M.** (1993). The cytokinesis-block micronucleus technique : a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutation Research*, 285: 35-44.
- Fernandes, T. C. C., Mazzeo, D. E. C., & Marin-Morales, M. A.** (2007). Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(3), 252–259.
- Figarella, J., & Leyral, G.** (2002). Analyse des eaux: Aspects réglementaires et techniques. Edition. Scérén CRDP d'Aquitaine, Paris, 360 p.
- Figarella, J., Leyral, G., & Terret, M.** (2007). Microbiologie générale et appliquée. Ed. Delagrave, Paris, 217 p.

- Fiskesjö, G.** (1988). The Allium test-an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Research*, 197(2), 243–260.
- Fournier, J. P.** (2006). Evaluation d'une technique compacte de production d'eau potable. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en science de l'environnement, Université du Québec à Montréal.
- Gibbons, J., & Laha, S.** (1994). Water purification systems: comparative analysis based on the occurrence of disinfection by products. *Environmental pollution*, 106, 425-428.
- Giller, S., Le Curuieux, F., Gauthier, L., Erb, F., & Marzin, D.** (1995). Genotoxicity assay of chloral hydrate and chloropicrine. *Mutation research*, 348, 147-152.
- Godet, F., & Vasseur, P.** (1994). Evaluation de la genotoxicité des effluents : Etude comparative des tests d'Ames et Micronoyau triton. P50.
- Gömürgen, A. N.** (2005). Cytological effect of the potassium metabisulphite and potassium nitrate food preservative on root tips of *Allium cepa*. *Cytologia*, 70(2), 119-128.
- Griffiths, A. J. F., Miller, J. M., Suzuki, D. T., Lewontin, R. C., & Gelbert, W. M.** (1997). Introduction à l'analyse génétique. Ed. DE BOECK université, P915.
- Guergazi, S., & Achour, S.** (2005). Caractérisation physicochimiques des eaux d'alimentation de la ville de biskra. Pratique de chloration.
- Guergazi, S., Harrat, N., & Achour S.** (2006). Paramètres organiques et potentiels de formation du chloroforme d'eaux de surface de l'Est Algérien, Courrier du Savoir Scientifique et Technique, 7, 45-50.
- Guzzelaa, L., Monarco, S., Zanic, C., Ferettic, D., Zerbanic, I., Buschinid, A., Polid, P., Rossid, C., Susan, D., & Richardson.** (2004). In vitro potential genotoxic effects of surface drinking water treated with chlorine and alternative disinfectans. *Mutation Research*, 564 179-193.
- Hamdi, W.** (2011). Qualité hygiénique et caractéristiques physicochimiques des eaux domestiques de quelques localités de la cuvette d'Ouargla. Thèse de doctorat, P44.
- Haslay, C., & Leclerc, H.** (1993). Microbiologie des eaux d'alimentation. Ed. Technique etdocumentation-Lavoisier, Paris : 70-72.
- Hatje, V.** (2003). Particulate traces metal and major element distributions over consecutive tidal cycles in Port Jackson Estuary, Australia, *Environmental Geology*, 44 : 231–239.
- HCEFLCD.** (2006). Haut Commissariat Aux Eaux et Forêt et la Lutte Contre la Désertification. Etude sur la pisciculture au barrage Almassira, CR dar Chafaai, Cercle d'Elbrouge, Province de Settat, 201p.

- HCEFLCD.** (2007). Haut-Commissariat Aux Eaux et Forêt et la Lutte Contre la Désertification. Etude diagnostique de la zone humide AL Massira- Faija, cercle d'EL Brouj et Cercle de Settat (Maroc), 242p.
- Hébert, S., & Légaré, S.** (2000). Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau. Québec, direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'environnement, enviro =ENV-2001-0141, rapport=QE-123,24p.
- Hubbard, S. A., Green, M. H. L., Gatehouse, D., & Bridges, J. W.** (1984). The fluctuation test in bacteria in Handbook of mutagenicity test procedures, ed, by Kilbey, B. J., Legator, M., Nichols, W., Ramelc, C. *Elsevier science publishers*.
- Iamarcovai, G.** (2008). Mutagenèse et cancérogenèse. Ed. Sens Public. Article. 516: 9 p.
- Kabil, A. S., & Branko, K.** (1985). Chromosomal Aberrations in Onion (*Allium cepa*) Induced by Water Chlorination By-Products. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 34(1), 80-88.
- Kerninon, E.** (2003). Utilisation du test des comètes dans l'étude des dommages sur l'ADN et de leur réparation après traitement par photochimiothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, 151P.
- Kettab, A.** (1992). Traitement des eaux (eaux potables). Office des publications universitaires.
- Khallef, M., Liman, R., Konuk, M., Hakkı, I. H., Benouareth, D. E., Tabet, M., & Abda, A.** (2013). Genotoxicity of drinking water disinfection by-products (bromoform and chloroform) by using both *Allium* anaphase-telophase and comet tests. *Cytotechnology* doi: 10616-013-9675-y.
- Kong, M. S., & Ma, T. H.** (1999). Genotoxicity of contaminated soil and shallow well water detected by plant bioassays. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 426, 221-228.
- Kroon, A. G. M., & VanMullem.** (1999). Genotoxiciteit van afval water, resultaten van SOS chromo, mutotox-en Umu-c. aquasense rapport nr.99.1337.
- Kumari, M., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N.** (2009). Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of the Total Environment*, 407(19), 5243–5246.
- Kundu, B., Richardson, S. D., Granville, C. A., Shaughnessy, D. T., Hanley, N. M., Swartz, P. D., Richard, A. M., & DeMarini, D. M.** (2004). Comparative mutagenicity of halomethanes and halonitromethanes in *Salmonella* TA100: structure–activity analysis and mutation spectra. *Mutation Research*, 554(1-2), 335–350.

- Kuriyama, R., & Sakai, H.** (1974). Role of tubulin-SH groups in polymerization to microtubules. Functional-SH groups in tubulin for polymerization. *The Journal of Biochemistry*, 76(3), 651–654.
- Kurokawa, Y., Takayama, S., Konoshi, Y., Hiasa, Y., Asahina, S., Taka Hashi, M., Maekawa, A. & Hayashi, Y.** (1986). Long term in vivo carcinogenicity tests of potassium bromate, sodium hypochlorite and sodium chlorine conducted in Japan. *Environmental Health perspectives*, 69, 221-235.
- Ladjel, S.** (2009). Contrôle des paramètres physico-chimiques et bactériologiques d'une eau de consommation. Les cahiers techniques du stage T 7. Centre de formation en métiers de l'eau, Tizi Ouzou, 101 p.
- Lafferrière, M., Levallois, P., & Gingras, S.** (1999). The problem of trihalomethanes in drinking water systems feeding surface water in the bottom St. Laurent. *Environment Vector. Scientific Section*, 32(3), 38–43.
- Lebel, G., Benoit, F. M., & Williams, D. T.** (1995). Etude d'un an sur les sous-produits de désinfection. Santé Canada, P27.
- Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A.** (2009). Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*, 682(1), 71–81.
- Levallois, P.** (2003). Bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies facultatives. Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. Groupe scientifique sur l'eau, Institut national de santé publique du Québec, 3 p.
- Levi, Y.** (1995). Les paramètres influençant le développement des germes dans les réseaux d'eau potable. Ed. Technique Science et Méthode, N°3 : 240-245.
- Leyral, G., Ronnefoy, C., & Guillet, F.** (2002). Microbiologie et qualité des industries agroalimentaire, Paris, 245P.
- Le Chevallier, M. W., Babcock, T. M., & Lee, R. G.** (1987). Examination and characterization of distribution system biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 53 (12) 27 14-2724.
- Le Curieux, F., Marzin, D., & Erb, F.** (1994). Study of the genotoxic activity of five chlorinated propanones, using the SOS chromotest, the Ames fluctuation test and the newt micronucleus test. *Mutation research*, 341, 1-15.
- Le Curieux, F., Giller, S., Gauthier, L., Erb, F., & Marzin, D.** (1995). Study of the genotoxic activity of six halogenated acetonitriles, using the SOS chromotest, the Ames fluctuation test and the newt micronucleus test. *Mutation research*, 341, 289-302.

- Le Curieux, F., Giller, S., Marzin, D., & Erb, F.** (1996). Utilisation des trois tests de génotoxicité pour l'étude de l'activité génotoxique de composés organohalogénés, d'acides fulviques chlorés et d'échantillon d'eau (non concentrés) en cours de traitement de potabilisation. *Revue des sciences de l'eau*, 1, 75-95.
- Le Curieux, F., Nesslany, F., Munter, T., Kronberg, L., & Marzin, D.** (1999). Genotoxic activity of chlorohydroxyfuranones in the microscale micronucleus test on mouse lymphoma cells and unscheduled DNA synthesis assay in the rat hepatocytes. *Mutagenesis*, 14, n°5, 457-462.
- Liimatainen, A., Muller, D., Vartianen, T., Jahn, F., Kleeberg, U., Klinger, W., & Hanninen, O.** (1988). Chlorinated drinking water is mutagenic and cause 3-methylchloranthren type induction of hepatic monooxygenase. *Toxicology*, 51(2-3): 281-289.
- Liman, R., Akyil, 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.
- Liman, R., Hakki,I., Akyil, D., Eren, Y., & Konuk, M.** (2011). Determination of genotoxicity of Fenominosulf by Allium cepa and comet tests. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99. 61–64.
- Lupi, S., Marconi, S., Paiaro, E., Fochesato, A., & Gregorio, P.** (2009). Mutagenicity evaluation with Ames test of hydro-alcoholic solution of terpens. *Journal of Preventive Medicine and hygiene*, 50:170-174.
- Makhoukh, M., Sbaa, M., Berrahou, A., & Van Clooster, M.** (2011). Contribution à l'étude physico-chimique des eaux superficielles de l'oued Moulouya (Maroc oriental). *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680. pp. 149-169.
- Malki, M., Marín, I., Essahale, A., Amils, R., & Moumni, M.** (2008). Physico-chemical parameters and bacterial diversity in the Moroccan's Sebou River. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 6 (1) : 172–176.
- Marabini, L., Frigerio, S., Chiesara, E., Maffei, F., Forti, G. C., Hrelia, P., Buschini, A., Martino, A., Poli, P., Rossi, C., & Radice, S.** (2007). *In vitro* cytotoxicity and genotoxicity of chlorinated drinkingwaters sampled along the distribution system of two municipal networks. *Mutation Research*, 634, 1–13.
- Maron, D., & Ames, B. N.** (1983). Revised methods for the salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, 113: 173-215.

- Martin, G.** (1985). Point sur l'épuration et le traitement des effluents (eau, air) volume 2.1:bactériologie des milieux aquatiques, aspects écologiques et sanitaires. Ed. Technique et documentation-Lavoisier, Paris : 54-85.
- Matsumoto, S. T., Mantovani, M. S., Malagutti, M. I. A., Dias, A. L., Fonseca, I. C., & Marin-Morales, M. A.** (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, 29(1), 148-158.
- Maul, A., Vagost, D., & Block, J. C.** (1989). Stratégie d'échantillonnage pour analyse microbiologique sur réseau de distribution d'eau, méthodes et programmes informatiques, Ed. Technique et documentation-Lavoisier, Paris : 1-9.
- Meyer, A., Deiana, D., & Benard, A.** (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. Ed. DOIN France, 423 p.
- Mills, C. J., Bull, R. J., Cantor, K. P., Reif, J., Hrudef, S. E., Huston, P. & Experts Group.** (1998). Workshop report of an expert working group. *Chronic Diseases in Canada*, 19(3), 103-115.
- MEFI.** (1997). **Ministère de l'Economie, des Finances et de l'Industrie.** Les eaux minérales et le gaz carbonique. Note technique n= 10.
- Monarca, S., Richardson, S. D., Feretti, D., Grottolo, M., Thruston, A. D., Zani, C., Navazio, G., Ragazzo, P., Zerbini, I., & Alberti, A.** (2002). Mutagenicity and disinfection by-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(2), 309–318.
- Monarca, S., Rizzoni, M., Gustavino, B., Zani, C., Alberti, A., Feretti, D., & Zerbini, I.** (2003). Genotoxicity of Surface Water Treated With Different Disinfectants Using In Situ Plant Tests. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 41(5), 353–359.
- Monod, I.** (1989). Mémento technique de l'eau Tome I 9ème édition du cinquantenaire, P1200.
- Mortelmans, K., & Zeiger, E.** (2000). The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 445(1-2), 29-60.
- Mouly, D., Joulin, E., Rosin, C., Beaudeau, P., Zaghoun, A., Ortar, A. O., & Munoz, J. F.** (2004). Santé Environnement : Les sous-produits de chloration dans l'eau destinée à la consommation humaine en France.
- Mouly, D., Joulin, E., Rosin, C., Beaudeau, P., Zaghoun, A., Olszewski-Ortar, A., & Munoz, J. F.** (2008). Rapport d'étude, Les sous-produits de chloration dans l'eau destinée à

la consommation humaine en France - Campagnes d'analyses dans quatre systèmes de distribution d'eau et modélisation de l'évolution des trihalomethanes, Saint-Maurice (Fra). Institut de veille sanitaire.

Ohe, T., Watanabe, T., & Wakabayashi, K. (2004). Mutagens in surface waters : a review. *Mutation Research*, 567, 109–149.

OMS. (1972). Normes internationales applicables à l'eau de boisson. 3ème édition. Ed. Organisation mondiale de la santé, Genève, 74 p.

OMS. (1994). Directives de qualité pour l'eau de boisson, 2ème édition, recommandations, Genève, OMS, 202.

OMS. (2000). Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 2 – critères d'hygiène et documentation à l'appui. Organisation mondiale de la Santé, Genève, 1050 p.

OMS. (2004). Directive de qualité pour l'eau de boisson, 3ème édition volume 2. Recommandation. Organisation mondiale de la santé, Genève.

Park, J.H., Lee, B.J., Lee, S.K., Kim, K., Lee, K.H., Che, J.H., Kang, K.S., & Lee, Y. S. (2000). Genotoxicity of drinking water from three Korean cities. *Mutation Research*, 466 ; 173–178.

Park, J. H., Kang, K. S., & Lee, Y. S. (2001). Mutagenicity of Water Samples from Five Cities in Korea. *The journal of Veterinary Medical Science*, 63(7): 767–771.

Quillardet, P., & Hofnung, M. (1982). SOS chromotest: a direct assay of a SOS functions in E.coli K-12 to measure genotoxicity. *Acad. Sci.* 79: 5971-5975.

Ramseier, S., Mantegazzi, D., & Bersier, Y. (2002). Quality of the drinking water produced from Lake Geneva. Rapp. Comm. Int. Prot. Eaux Léman contre pollut, 123-138.

RQEP. (2006). Recommandation pour la qualité de l'eau potable au canada. Document technique. Santé canada, CT/ *E. Coli*.

RQEP. (2010). Recommandations pour la qualité de l'eau potable au canada. Comité FPT sur l'eau potable.

RQEP. (2012). Recommandations pour la qualité de l'eau potable au canada. Comité FPT sur l'eau potable.

Richard, C. (1996). Les eaux, les bactéries, les hommes et les animaux. Ed. Edition Scientifiques et Médicales Elsevier, Paris, 115 p.

Rijstenbil, J. W., & Poortvliet, T. C. W. (1992). Copper and zinc in estuarine water: chemical speciation in relation to bioavailability to the marine planktonic diatom *Ditylumbrightwellii*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11(11), 1615–1625.

- Robertson, W.** (1995). Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. Ed. Presses de l'Université Laval : 179-193.
- Rodier, J., & al.** (1996). L'analyse de l'eau 8ème Edition.
- Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J. P., Chambon, P., Champsaur, H., & Rodi, L.** (2005). L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, chimie, physico-chimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats. Ed. Dunod, Paris, 1384 p.
- Rodier, J. & al.** (2009). L'analyse de l'eau 9ème Edition.
- Rossman, L. A., Brown, R. A., Singer, P. C., Nuckols, J. R., Dbp, P. C., & Schoeller, H.** (2001). Les eaux souterraines. Ed. Masson et Cie, Paris, 642 p. *Water Research*, 35(14), 3483-3489.
- Salghi, R.** (2000). Différents filières de traitement des eaux. Thèse d'habilitation. Université ibn zohr. P22.
- Samake, H.** (2002). Analyse physico-chimique et bactériologique au L.N.S. des eaux de consommation de la ville de Bamako durant la période 2000 et 2001. Thèse de Doctorat d'état en pharmacie. Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie Bamako, 73 p.
- Sanjeev, N., Madhu, K., & Srikanta, K. R.** (2006). Evaluation of apigenin using in vitro cytochalasin blocked micronucleus assay. *Toxicology in vitro*, 20. 1168-1172.
- Saxena, P. N., Chauhan, L. K. S., & Gupta, S. K.** (2005). Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum* : spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology*, 216(2-3), 244-252.
- Schmid, W.** (1997). Le test de micronoyaux sur les érythrocytes de mammifère. Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, 474 : 10 p.
- Schoeller, H.** (1962). Les eaux souterraines. Ed. Masson et Cie, Paris, 642 p.
- Sibille, I.** (1998). Stabilité biologique des réseaux de distribution d'eau potable. Année biologique, n°78 : 117-161.
- Singer, P.C.** (1994). Control of disinfection by-products in drinking water. *Journal of Environmental Engineering*, 120 (4): 727.
- Silva, D. S. B. S., Garcia, A. C. F. S., Mata, S. S., Oliveira, B., Estevam, C. S., Scher, R., & Pantaleao, S. M.** (2011). Genotoxicity and cytotoxicity of *Erythrina velutina* Willd. Fabaceae, on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21(1) : 92-97.
- Simpson, K. L., & Hayes, K.P.** (1998). Drinking water disinfection by products: an Australian perspective. *Water Research*, 32, n° 5. 1522-1528.

- Stewart, M. H., Wolfe, R. L., & Means, E. G.** (1990). Assessment of the bacteriological activity associated with granular activated carbon treatment of drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 56 (12) 3822-3829.
- Titenko-Holland, N., Windhan, G., Kalachana, P., Reinish, F., Paravatham, S., & Osorio, A. M.** (1997). Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay in vitro and in vivo: a study of malathion-exposed workers. *Mutation Research*, 388: 85-95.
- Tkalec, M., Malaric, K., Pavlica, M., Pevalek-Kozlina, B., & Vidakovic-Cifrek, Z.** (2009). Effects of radiofrequency electromagnetic fields on seed germination and root meristematic cells of *Allium cepa*. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 672(2), 76-81.
- Tremblay, L.** (1995). La production des trihalométhanes dans les systèmes de distribution d'eau potable au Québec.
- Trussel, R. R., & Umm, M. D.** (1978). The formation of trihalomethane. *Journal of the American Water Works Association*, 70 (1 1): 604.
- Türkoglu, S.** (2008). Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Food and Chemical Toxicology*, 46(6), 2035-2041.
- Udert, K. M., Larsen, T. A., Biebow, M., & Gujer, W.** (2003). Urea hydrolysis and precipitation dynamics in a urine-collecting system. *Water Research*, 37, 2571-2582.
- Vartiainen, T., & Liimatainen, A.** (1986). High levels of mutagenic activity in drinking water in Finland. *Mutation Research*, 169(1-2): 29-34.
- Vaubourdolle, M.** (2007). Toxicologie sciences mathématiques physique et chimiques. 3^{ème} édition, paris : 1023.
- Vilagines, R.** (2000). Eau environnement et santé publique, ED. Technique et documentation, P147.
- Vinette, Y.** (2001). Evolution spatio-temporelle et modélisation des trihalométhanes dans des réseaux de distribution d'eau potable de la région de Québec. Université Laval. P11.
- Van Overmeiren, G.** (2007). Thèse de doctorat, Comparaison de la potentialité et de la vulnérabilité de plusieurs sources dans le bassin du Viroin. P59.
- Yıldız, M., Cigerci, I. H., Konuk, M., Fidan, A. F., & 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(7), 934-938.

Zekkour, H., & Beron, P. (2001). Procédé innovateur de contrôle de la formation de composés organochlorés, Vecteur environnement, section scientifique, 34, n°6, 42-5.

Zidane, F., Cheggari, K., Blais, J. F., & Khlil, N. (2012). Effect of chlorination on trihalomethanes formation in feed water of Casablanca in Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 3:99–108.

Le Protocol expérimental pour les analyses physicochimiques :

I. La méthode volumétrique qui consiste à doser

1. Les Chlorures (Cl^-) Rodier

Principe

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrates d'argent en présence de chromate de potassium. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

Réactifs

- Solution de chromate de potassium à 10 %,
- Solution de nitrate d'argent N/10

Mode opératoire

Introduire 25 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large. Ajouter 02 à 03 gouttes de solution de chromate de potassium à 10%. Verser au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à apparition d'une teinte rougeâtre, qui doit persister 1 à 3 min. Soit V le nombre de millilitres de nitrate d'argent N/50 utilisés.

Expression des résultats Teneur (mg/l) = V (ml) x 142

2. Magnésium (Mg^{2+}) ISO 6058

Principe

Titration molaire des ions calcium et magnésium avec une solution de sel disodique de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) à pH 10. Le noir érichrome T, qui donne une couleur rouge foncé ou violette en présence des ions calcium et magnésium, est utilisé comme indicateur.

Réactifs

- Solution d'EDTA (N/50)
- Indicateur coloré : Noir Euriochrome T
- NH_4OH à pH = 10

Mode opératoire

Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large. Ajouter 02 ml de NH_4OH à pH = 10 et une pincée de Noir Euriochrome T

Titrer par EDTA (N/50) jusqu'au virage de la couleur bleu (V2)

Expression des résultats La détermination du mg/l de Magnésium est donnée par la formule suivante: $[\text{Mg}^{2+}] \text{ mg/l} = (\text{V}_2 - \text{V}_1) \times F \times 4.8$

V2 volume titré de calcium et de magnésium

V1 volume titré de calcium

Facteur (F) :

- 50 ml de solution mère de CaCl_2
- 02 ml de NaOH (2N)
- Une pincée de Murexide
- Titrer par EDTA (N/50) jusqu'au virage de la couleur violet $F = 12.5 / V \text{ (EDTA)}$

3. Calcium (Ca^{2+}) ISO 6058

Principe

Le principe est identique à celui de la méthode complexométrique décrite pour la dureté totale.

Comme le dosage se fait à un PH élevé, le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas. Par ailleurs, l'indicateur choisi ne se combine qu'avec le calcium.

Réactifs

- Indicateur colore : Murexide.
- Solution d'EDTA (N/50)
- Solution d'hydroxyde de sodium à 2N.

Mode opératoire

Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large. Ajouter 2 ml de solution d'hydroxyde et quelques graines d'indicateur colore.

Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rose au violet soit V le volume de solution d'EDTA Versé.

Expression des résultats

La détermination du mg/l de Calcium est donnée par la formule suivante:

D'où : V1 : Volume d'EDTA nécessaire pour une concentration donnée.

C : Concentration molaire d'EDTA (0,01 M/l).

$M_{\text{Ca}^{2+}}$: Masse molaire du calcium en g.

P.E : Prise d'essai (volume de l'échantillon nécessaire pour ce dosage).

F : Facteur

Donc :

$$(\text{Ca}^{2+})(\text{Mg/L}) = V1 \times F \times 8$$

4. Titre hydrotimétrique (TH) Rodier

Principe

Les alcalino-terreux présents dans l'eau sont amenés à former un complexe du type chélate par le sel disodique de l'acide éthylène-diaminetetracétique à pH =10.

La disparition des dernières traces d'éléments libres a dosé est décelée par le virage d'un indicateur spécifique en milieu convenablement tamponné pour empêcher la précipitation du magnésium, la méthode permet de doser la somme des ions calcium et magnésium.

Réactifs

- Indicateur noir l'Euriochrome T.
- Solution d'EDTA (0.2N).
- Solution tampon : ammoniacale 34%.

Mode opératoire

Prélever 100ml d'eau à analyser. Ajouter 2ml de solution tampon (PH=9.5-10) et quelques grains d'indicateur coloré. Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rouge vieux au bleu. Soit V le volume de solution d'EDTA versé.

Expression des résultats $TH\ 0f = V\ titre \times 10$

5. Matières organiques (MON) ISO 8467:1993 (F)

Principe

L'opération consiste à mesurer, en milieu acide et en milieu alcalin, la quantité d'oxygène utilisé pour la réduction du permanganate de potassium par les matières organiques d'origine animale ou végétale contenues dans une eau.

Réactifs

- Solution d'acide sulfurique 50%.
- Solution de permanganate de potassium N/80.
- Solution d'acide oxalique N/80.

Mode opératoire

Introduire dans un erlenmeyer de 500 ml, 100ml d'eau à analyser et 10 ml d'acide sulfurique à 50% ajouté 10 ml de solution de permanganate de potassium N/80. Porter l'échantillon à l'ébullition ménagée pendant 10 min à partir du moment où les bulles en formation au fond du ballon viennent crever la surface du liquide. Ajouter ensuite 10 ml d'acide oxalique N/80 pour décolorer. Revenir immédiatement à la teinte rose faible mais persistante à l'aide d'une burette graduée, la solution de permanganate de potassium N/80.

Faire un essai à blanc en opérant dans les mêmes conditions.

Expression des résultats $MO (O_2/l) = V_{ech} - V_{blan}$

6. Résidu sec (R/S) Rodier

Principe

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières par litre d'eau.

Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporée dans une capsule tarée. Le résidu desséché est ensuite pesé.

Mode opératoire

Tarer une capsule préalablement lavée, rincer avec de l'eau distillée et dessécher. Prélever 200 ml d'eau à analyser, porter à l'étuve à 105°C pendant 24 heures.

Laisser refroidir pendant ¼ heure aux dessiccateurs. Peser immédiatement et rapidement.

Expression des résultats $RS (Mg/L) = (PP - PV) \times 5 \times 1000$

PP : le poids plein de la capsule.

PV : le poids vide de la capsule.

II. La méthode spectrométrique avec un spectrophotomètre de type HACH(ODYSSEY) qui consiste à doser :

1. Le Fer (Fe^{+2}) par la méthode à l'orthophénanthroline (ISO 6332)

Principe

Après oxydation en milieu acide, le fer est réduit à l'état ferreux et dosé par spectrométrie en utilisant la coloration rouge donnée par les sels ferreux avec la phénanthroline 1,10 à une longueur d'onde de 510 nm.

Pour le dosage du fer total et du fer total dissous, du chlorhydrate d'hydroxylamine est ajouté pour réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} .

Réactifs

Tous les réactifs ont été préparés à partir d'eau distillée exempte de toute trace de fer

- Tampon Acétate,
- Chlorhydrate d'hydroxylamine à 10%,
- Solution de phénanthroline – 1,10.

Mode opératoire

Prendre 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer de 100 ml, ajouter 1 ml de la solution de chlorhydrate d'hydroxylamine. Mélanger soigneusement. Ajouter 2 ml de tampon acétate. Ajouter 2 ml de la solution 1.10 de phénanthroline et conserver à l'obscurité pendant 15 min. Effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 510 nm

Le résultat est donné en mg/l.

2. Les nitrates (NO_3^-) par la méthode au salicylate de sodium (NFT 90-012)

Principe

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium, coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique.

Réactifs

- Solution de salicylate de sodium à 0.5%,
- Solution d'hydroxyde de sodium 30%,
- H_2SO_4 concentré,
- Tartrate double de sodium et de potassium.

Mode opératoire

- Prendre 10 ml de l'échantillon à analyser
- Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30%
- Ajouter 1 ml de salicylate de sodium
- Evaporer à sec au bain marie ou à l'étuve 75-88°C. (Ne pas surcharger ni surchauffer très longtemps) laisser refroidir.
- Reprendre le résidu avec 2 ml H_2SO_4 laissé reposer 10 mn.
- Ajouter 15 ml d'eau distillée.
- Ajouter 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium puis passer au spectro au 415 nm.

Le résultat est donné directement en mg/l à une longueur d'onde de 415 nm.

3. Les ions nitrites (NO_2^-) (ISO5667)

Principe

Les ions nitrites réagissent en milieu acide ($\text{PH} = 1.9$) avec la sulfamilade en formant sel de diazonium (diazotation) qui forme avec le N-(1-naphyl)-éthylènediamine-dichlorohydraté un colorant azoïque rouge.

Réactifs

- Solution du réactif (réactif mixte).

Mode opératoire

- prendre 50 ml d'eau à analyser
- ajouter 1 ml du réactif mixte
- Attendre 10 min

L'apparition de la coloration rose indique la présence des NO_2

Le résultat est donné directement en mg/l à une longueur d'onde de 543nm.

4. L'ammonium (NH_4^+) [ISO 7150/1-1984 (F)]

Principe

Mesure spectrométrique à environ 655nm du composé bleu formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitroprussiate de sodium.

Réactifs

- Réactif coloré (RII),
- Réactif (RI) Dichloroisocyanurate de sodium.

Mode opératoire

- Prendre 40 ml d'eau à analyser
- Ajouter 4 ml du réactif I
- Ajouter 4 ml du réactif II et ajuster à 50 ml avec H_2O distillée et attendre 1h.30

L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence de : NH_4^+

Effectuer la lecture à 655 nm.

Le résultat est donné directement en mg/l.

5. Les sulfates (SO_4^{2-}) par la méthode Allemande : M.KERN

Principe

Les ions sulfates sont précipités et pesés à l'état de sulfate de baryum. $\text{BaCl}_2 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{BaSO}_4 + 2 \text{Cl}$

Réactifs

- Solution stabilisante,
- Solution de chlorure de baryum.

Mode opératoire

- Prendre 20 ml d'eau à analyser puis compléter à 100 ml d'eau distillée
- Ajouter 5 ml de la solution stabilisante
- Ajouter 2 ml de chlorure de baryum
- Agiter énergiquement pendant 1 min
- Passer au spectrophotomètre à $\lambda = 420 \text{ nm}$

Normes

Normes : PNA = 400 mg/l

: CMA = 400 mg/l

$\text{Mg/l SO}_4^{2-} = \text{La valeur lue sur le spectro-} \times \text{la dilution.}$

6. Les phosphates (PO_4^{3-}) (ISO 6878)

Principe

Formation en milieu acide d'un complexe avec le molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium. Réduction par l'acide ascorbique en un complexe coloré en bleu qui présente deux valeurs maximales d'absorption (l'une vers 700 nm, l'autre plus importante à 880 nm).

Réactifs

- Réactif- mixte,
- Acide ascorbique.

Mode opératoire

- Prendre 40 ml d'eau à analyser
- 1 ml d'acide ascorbique
- Ajouter 2 ml du réactif-mélange
- Attendre 10 mn.

L'apparition de la coloration bleue indique la présence des PO_4^{3-} .

Longueur d'onde λ à 700 ou 880 nm

Le résultat est donné directement en mg

Préparation des solutions des tests de génotoxicité**Solution violet de gentiane (1g/ml)**

C.V.....	0.1 g
L'eau distillé stériles	10 ml

Solution d'ampicilline (10mg/ml)

Amp.....	1g
H ₂ O distillé	100 ml

Gélose minimale agar

Agar.....	15g
H ₂ O distillé.....	930ml
VOGEL-BONNERE(V.B).....	20 ml
Glucose 40%.....	50 ml

Milieu histidine/ biotine

Agar	15g
H ₂ O distillé.....	9.4ml
50×V.B.....	20ml
40% glucose	50ml
Histidine.....	100mg (2g/400ml H ₂ O)
Biotine.....	6g

Solution biotine

Biotine.....	0.0013g
H ₂ O distillé.....	100g

Master Black (HBA)

Agar	15g
Glucose.....	20%
B.V×50.....	20ml
Histidine.....	10ml
Biotine (0.5Mm).....	6ml
H ₂ O distillé.....	860ml
(0.8/0.02 NaoH) Amp.....	3150ml (3.15ml)

Solution de Glucose

Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	20g
H ₂ O distillé.....	100ml

Milieu VOGEL- BONNERE (50×)

Magnesium sulfate ($\text{MgSO}_4\text{H}_2\text{O}$).....	10 g
Citric acid monohydrate.....	100 g
Potassium phosphate, dibasic, anhydrous (K_2HPO_4)	500 g
Sodium ammonium phosphate ($\text{Na}_2\text{NH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$).....	175 g
H_2O distille	670ml

Solution d'histidine

Histidine.....	0.5g
H_2O	100ml

Solution biotine

Biotine	0.0013g
H_2O	100ml

Solution NaOH/Amp

NaOH	0.002g
Amp.....	0.8g
H_2O distillé.....	100ml

Colorant Feulgen

Fushine basique.....	0,25g
H_2O distillée.....	50ml
HCl.....	5ml
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$	0,5g

Solution Carnoy

Acide Acétique glacial.....	1V
Ethanol100%.....	3V

Solution Ethanol 70%

H_2O Distillée.....	1V
Ethanol100%.....	70ml

Solution d'acide acétique glacial 45%

Utilisé durant la préparation des lames

Acide Acétique glacial.....	45ml
H_2O Distillée.....	55ml

Solution HCl 1N

Utilisé durant la préparation des lames

HCl.....	8,172ml
----------	---------

H₂O Distillée.....100ml

Milieu Ham F10

Milieu de culture préparé RPMI 1640500ml

Sérum de veau fœtal SVF15%75ml

Phytohémagglutinine (PHA)1%.....10ml/5mg

Antibiotiques.....3,96ml

Cytochalasine B

Cyto B.....1mg

DMSO.....0, 5ml

RPMI.....6,165

Conservation à -20°C

KCl

KCl.....5,6g

H₂O.....1000ml

ColorantGiemsa5%

Giemsa.....5ml

H₂O.....95ml

Préparation des solutions et des réactifs des paramètres physico-chimiques

Tampon Acétate

Acétate d'ammonium 40 g

Acide acétique cristallisable 50 ml

Q.S.P100 ml d'eau distillée.

Chlorhydrate d'hydroxylamine à 10%

Chlorhydrate d'hydroxylamine10g

Q.S.P100 ml d'eau distillée

Les nitrates (NO₃⁻)

Solution d'hydroxyde de sodium 30%

30g de NaOH..... 100ml d'eau distillée.

Tartrate double de sodium et de potassium

Hydroxyde de sodium NaOH 400 g.

Tartrate de sodium et de potassium 60 g.

Eau distillée Qsp 1000 ml.

Solution mère d'azote d'origine nitrique à 1000 mg/l

Nitrate de potassium anhydre	0.722 g.
Eau distillée	1000 ml.
Chloroforme	1ml

Les ions nitrites (NO_2^-)**Solution du réactif (réactif mixte)**

20g de Sulfamide, ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) à dissoudre dans un mélange de 50ml d'acide phosphorique ($d=1.71 \text{ g/ml} = 85\%$ de masse) et 250ml d'eau distillée. Dans cette solution dissoudre 1g de N-(1-naphtyl)-éthylènediamine-dichlorohydraté ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$).

Compléter avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée à un volume de 500ml, cette solution est stable pendant un mois si elle est gardée à l'obscurité (bouteille en verre marron bien fermée) et 4°C au frigo.

Solution d'acide phosphorique

Dans une fiole jaugée de 250 ml, dissoudre 25ml d'acide phosphorique ($d = 1.71 \text{ g/ml} = 85\%$ en masse) dans 150ml d'eau distillée. Après refroidissement à la température ambiante, on complète à l'eau distillée à 250ml.

L'ammonium (NH_4^+)**Réactif coloré (RII)**

Peser 13g de salicylate de sodium, 13g de citrate trisadiquedihydraté et 0.097g de sodium nitropentacyanoferrate (III) dihydraté à dissoudre dans 100ml d'eau distillée. Conserver dans un récipient en verre brun. Cette solution est stable pendant 2 semaines.

Réactif (RI) Dichloroisocyanurate de sodium

Prendre 3.2g d'hydroxyde de sodium dans 50ml d'eau distillée, + 0.2g de dichloroisocyanuratedihydraté. Dissoudre dans 100 ml d'eau distillée. Conserver dans un récipient en verre brun.

Les sulfates (SO_4^{2-})**Solution- mère de sulfates à 1 g/l à partir de Na_2SO_4**

Peser 1.47g de Na_2SO_4 1000 ml d'eau distillée.

Solution stabilisante

Acide chlorhydrique	60ml
Ethanol	200 ml
Chlorure de sodium	150 g
Eau distillée	1000 ml

Solution de chlorure de baryum

Chlorure de baryum	150 g
Acide chlorhydrique	5 ml
Eau distillée	1000 ml

Les phosphates (PO_4^{3-})**Réactif- mixte**

A- 13 g d'heptamolybdate d'ammonium	qsp 100 ml H_2O distillée.
B- 0.35 g de tartrate d'antimoine	qsp 100 ml H_2O distillée.
C- 150 ml d'acide sulfurique concentré	qsp 300 ml H_2O distillée.

Solution mère d'orthophosphate à 50mg/l PO_4^{3-}

A Partir de K_2HPO_4 dipotassiumhydrogène phosphate préalablement séché pendant 2 heures

A 105 °C

K_2HPO_4	0,281g
Eau Distillée.....	1000 ml
H_2SO_4 4,5 N	10 ml

L'aluminium (Al^{+3})**Solution tampon PH= 4,6**

Dissoudre 35 g d'acétate de sodium ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$) dans 125 ml d'eau distillée, ajouter 16 ml d'acide acétique 96 % ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) et compléter à 250 ml avec de l'eau distillée.

Rouge d'alizarine ($\text{C}_{14}\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7\text{S}$)

Dissoudre 0,05g de rouge d'alizarine dans un peu d'eau distillée, ajouter 1 goutte d'acide acétique glacial et compléter à 50 ml. Conserver dans une bouteille en verre foncée.

Magnésium (Mg^{+2}) :**Solution de noir d'ériochrome**

Noir d'ériochrome	0,5 g
Triéthanolamine.....	100 g

Résumé :

La bonne qualité de l'eau potable, est primordiale pour la santé humaine, surtout que les risques de pollutions existent à chaque étape du parcours de l'eau. Des études épidémiologiques ont montré une association entre les sous-produits de chloration présents dans l'eau potable et certains cancers chez l'homme. L'étude présentée dans cette thèse décrit l'évolution de la qualité physico-chimique, bactériologique et génotoxique des eaux de consommation. Cinq types d'échantillons différents ont été recueillis : l'eau brute, traitée après pré-chloration, traitée après décantation, traitée après post-chloration et les robinets des consommateurs et ceci au cours des quatre saisons. Les caractéristiques physico-chimiques de ces eaux sont bonnes sauf qu'il y a une formation des sous-produits de chloration notamment les THM. Pour l'étude bactériologique de ces échantillons, les résultats ont révélés la présence d'une contamination dans les échantillons d'eaux chez les consommateurs surtout pendant l'été et l'automne. Les effets mutagènes et/ou génotoxique des THM ont été étudiés par un test bactérien qui est le test d'Ames sans et avec activation métabolique, un test sur les racines d'*Allium cepa* et le test des micronoyaux sur les cellules lymphocytaires humaines. Le test d'Ames a donné des résultats positifs seulement avec la souche TA98 par contre dans les tests ; *Allium* et micronoyaux, les valeurs de l'indice mitotique ont été diminués dans tous les échantillons testés par rapport aux témoins négatifs. Donc ; pour une meilleure évaluation quantitative et qualitative des eaux potables, un contrôle régulier surtout génotoxique de l'eau doit être mené dans ce domaine.

Mots clés : Eau potable, Chloration, Trihalométhanés, Qualité physico-chimique, Qualité bactériologique, Activité génotoxique.

Abstract :

The excellent quality of drinking water, which is essential for human health, especially when pollution risks exist at each step of the journey of this water. Epidemiological studies have shown a clear relationship between the chlorination by-products found in drinking water and cancers. The study presented in this thesis describes the development of physicochemical, bacteriological and genotoxic quality of drinking water. Five types of different samples were collected : raw water , treated after pre-chlorination, , treated after decantation, treated post chlorination and taps consumers. The physicochemical characteristics of these waters are good except of the formation of chlorination by-products including THMs. For the bacteriological study of these samples, the results revealed the presence of contamination in water samples among consumers especially during the summer and autumn. Mutagenic and / or genotoxic effects of THMs were studied by a bacterial test called the Ames test with and without metabolic activation, a test on the roots of *Allium Cepa* and the micronucleus test on human lymphocyte cells. The Ames test showed positive results only with the strain TA980. On the other hand, in the tests of *Allium* and micronucleus, the values of the mitotic index were decreased in all tested samples compared to negative controls. Thus, for better quantitative and qualitative assessment of drinking water, a regular monitoring especially for genotoxicity of the water should be conducted in this area.

Keywords : Drinking water, Chlorination, Trihalomethanes, physicochemical quality, bacteriological characteristics, genotoxic effect.

الملخص

النوعية الجيدة لمياه الشرب ضرورية لصحة الإنسان، خصوصا أن هناك مخاطر التلوث المتواجدة اثناء انتقال الماء. أظهرت الدراسات الوبائية وجود ارتباط بين المواد الناتجة عن الكلور اثناء تعقيم المياه والسرطان عند الإنسان. وتصف الدراسة التي قدمت في هذه الأطروحة تطوير النوعية الفيزيوكيميائية، البكتريولوجية والسمية الوراثية لمياه الشرب. تم جمع خمسة أنواع مختلفة من العينات: المياه الخام، بعد مرحلة ما قبل المعالجة بالكلور، بعد الترقيد، بعد مرحلة ما بعد المعالجة بالكلور و مياه المستهلك خلال الفصول الأربعة. الخصائص الفيزيوكيميائية لهذه المياه جيدة تقريبا باستثناء تشكيل المواد الناتجة عن الكلور اثناء تعقيم المياه. بالنسبة للدراسة البكتريولوجية لهذه العينات، أظهرت النتائج وجود تلوث في عينات مياه المستهلكين وخاصة خلال فصلي الصيف والخريف. التأثيرات السمية الوراثية للمواد الناتجة عن الكلور اثناء تعقيم المياه درست من خلال اختبار على الخلايا البكتيرية، الألوم واختبار النواة الصغرى على الخلايا للمفاوية البشرية. اختبار أميس مع وبدون تفعيل التمثيل الغذائي اظهر نتائج ايجابية مع نوع واحد من البكتيريا المستعملة، اما بالنسبة لاختبار ألوم واختبارات النواة الصغرى، هناك انخفاض في الرقم القياسي للإنقسامات في جميع العينات مقارنة مع المراقبة السلبية من اجل رصد نوعية المياه قبل وبعد التوزيع، ينبغي إجراء الرصد المنتظم للمياه الصالحة للشرب في هذا المجال

الكلمات المفتاحية : مياه الشرب، التعقيم بالكلور، المواد الناتجة عن الكلور، الجودة الفيزيوكيميائية ، الجودة

البكتريولوجية، نشاط السمية الوراثية

Mutagenicity and genotoxicity of drinking water in Guelma region, Algeria

**Ahlem Abda, Djamel E. Benouareth,
Mouna Tabet, Recep Liman, Muhsin
Konuk, Messaouda Khallel & Ali Taher**

Environmental Monitoring and Assessment

An International Journal Devoted to
Progress in the Use of Monitoring Data
in Assessing Environmental Risks to
Man and the Environment

ISSN 0167-6369

Volume 187

Number 2

Environ Monit Assess (2015) 187:1-15
DOI 10.1007/s10661-014-4223-6

ENVIRONMENTAL MONITORING AND ASSESSMENT

An International Journal devoted to progress in the use of monitoring
data in assessing environmental risks to Man and the environment.

ISSN 0167-6369
CODEN EMASDH

Editor: G. B. Wiersma

Volume 186 No. 12 December 2014



Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer International Publishing Switzerland. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".

Mutagenicity and genotoxicity of drinking water in Guelma region, Algeria

Ahlem Abda · Djamel E. Benouareth · Mouna Tabet · Recep Liman · Muhsin Konuk · Messaouda Khallef · Ali Taher

Received: 20 June 2014 / Accepted: 10 December 2014
© Springer International Publishing Switzerland 2015

Abstract In this study, a battery of genotoxicity assays for monitoring drinking water was performed to assess the quality of the water resulting from the treatment plants. Five different types of samples were collected: raw water (P1), treated after pre-chlorination (P2), treated after decantation (P3), treated post-chlorination (P4), and consumers' taps (P5–P12). This study aims to evaluate the formation/occurrence of mutagenic and/or genotoxic compounds in surface drinking waters treated with chlorine disinfectant, during four seasonal experiments: summer, autumn, winter, and spring between 2012 and 2013 by bacterial reverse mutation assay in both *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains with or without metabolic activation system (S9 mix)

and *Allium cepa* root meristematic cells, respectively. All of water samples, except at P1, P2, and P5 in summer; P1 in autumn; and P1 and P3–P12 in spring without S9 mix, and at P1 and P2 in summer and P6 and P8–P12 in spring with S9 mix, were found to be mutagenic in *S. typhimurium* TA98. However, only P11 and P12 in winter were found to be mutagenic for TA100 without S9 mix. The tested preparations in *Allium* anaphase–telophase test revealed a significant decrease in mitotic index (MI) and a simultaneous increase in chromosome aberrations (CAs) compared to the control. The bridge, stickiness, vagrant chromosomes, and disturbed chromosome aberrations were observed in anaphase–telophase cells. Physicochemical analysis, trihalomethanes (THMs), bromoform (CHBr_3), chloroform (CHCl_3), bromodichloromethane (CHBr_2Cl), and dibromochloromethane (CHBrCl_2) levels in water samples were also determined. The results show also that this short-term battery tests are applicable in the routine monitoring of drinking water quality before and after distribution.

A. Abda · D. E. Benouareth · M. Tabet · M. Khallef
Biology Department, Faculty of Natural and Life Sciences,
Earth and Universe Sciences, University 8 Mai 1945 Guelma,
BP 401, 24000 Guelma, Algeria

R. Liman
Molecular Biology and Genetics Department, Faculty of Arts
and Sciences, Uşak University,
64300 Uşak, Turkey

M. Konuk (✉)
Molecular Biology and Genetics Department, Faculty of
Engineering and Natural Sciences, Üsküdar University,
Altunizade 34662 Istanbul, Turkey
e-mail: mkonuk@gmail.com

A. Taher
Biology Department, Faculty of Sciences, University Badji
Mokhtar Annaba,
BP 12, 23000 Annaba, Algeria

Keywords Drinking water · Trihalomethanes ·
Allium test · Ames test · Mitotic index

Introduction

Many chemical contaminants have been identified in surface drinking water, and they might derive from industrial and agricultural practices and from disinfection treatments (Monarca et al. 2002). In 1974, it was

first reported that water chlorination can form many mutagenic/cancerogenic by-products derived from the reaction of chlorine with organic compounds (humic and fulvic acids) naturally present in surface water (Rook 1974). Many subsequent studies showed the presence of mutagenic compounds in drinking water (Monarca et al. 2002; Zani et al. 2005). Since the 1980s, numerous studies have been carried out on chlorinated water and populations using disinfected water. In particular, it has been demonstrated that chlorination, which is the most widely used method for disinfecting water, leads to formation of disinfection by-products (DBPs) with mutagenic and/or cancerogenic activity (Rook 1974; Khallef et al. 2013) which has long-term human health implications (Zani et al. 2005). Several epidemiological studies found a correlation between chlorinated drinking water consumption and cancer of the urinary and gastrointestinal tracts (Basu et al. 1987; Komulainen 2004). Doyle et al. (1997) focused on damage that DBPs induce to the reproductive and nervous systems. Indeed, several studies were carried out to investigate alternative disinfectants to chlorine in order to reduce the impact on human health (Morris 1995; Zani et al. 2005). The formation of DBP depends on the type and quality of the water source and the water various parameters, such as disinfectant concentration, contact time and residue of disinfectants, total organic carbon (TOC), pH, and temperature (Zani et al. 2005). DBPs are related to the pollution of water supply, disinfection process before distribution, and presence of residues of disinfectant used to control the microbial contamination and to avoid the bacterial regrowth in the distribution system. Even if the exposure level is low, the presence of these compounds in drinking water may pose a human health hazard due to the daily and lifelong exposure (Doyle et al. 1997). To ensure good quality of distributed drinking water, the monitoring of microbial and chemical characteristics remains essential, thereby preventing adverse health effects; risk assessment is the cornerstone of the World Health Organization's guidelines for drinking water quality (Meier 1988).

The assessment of mutagenicity and/or genotoxicity of complex mixtures such as surface and drinking waters using a variety of biological assays could demonstrate that these environmental mixtures contain many unidentified and unregulated toxicants, which may have potential carcinogenicity and pose a health risk of unknown magnitude (Ohe et al. 2004). According to this,

Salmonella typhimurium mutant strains, obtained from *S. typhimurium* LT2 parental line in vitro, are used (Ames et al. 1975). This test is the most reliable short-term bacterial test systems and can also be carried out rapidly and cheaply (Maron and Ames 1983; Mortelmans and Zeiger 2000). As reported in recent papers (Shen et al. 2003; Ohe et al. 2004), the response of *Salmonella* strains that are sensitive to different chemicals could help in identifying classes of genotoxins present in surface and raw waters and could allow the identification of pollutants origin. Plant bioassays have several advantages over microbial and mammalian systems. These advantages include the similarity in the chromosomal morphology of plants and mammals as well as the fact that plants and mammals have a similar response to mutagens. Besides, plant systems are less expensive and less time consuming than mammalian systems because of the large size and small number of their chromosomes (Rank and Nielsen 1998; Leme and Marin-Morales 2009). *Allium* test is one of the best-established plant test systems for determining the toxicity in laboratories (Fiskesjö 1985; Kabil and Branko 1985; Tabrez et al. 2011; Khallef et al. 2013).

Because onions are easy to store and handle, also their macroscopic and microscopic parameters can be observed easily. Moreover, this system is well correlated with data obtained from eukaryotic and prokaryotic systems (Fiskesjö 1988).

The aim of this study was to set up a battery of in vitro tests to evaluate both the genotoxic activity of the distributed drinking water and the influence of the different steps of surface water treatment on drinking water quality.

Materials and methods

Water sampling

Treatment plant for drinking water is an establishment with a capacity of 500 L/s. The treatment process was finalized according to the physicochemical and bacteriological quality of raw water of Bouhamdane dam which feeds the station with raw water. The process consists of several stages, i.e., the first step is pre-chlorination, applied to water with sodium hypochlorite immediately after entering the treatment plant. In the pre-chlorination step, the chlorine is usually added directly

to raw water for eliminating algae and other forms of aquatic life so they will not induce problems in the later stages of water treatment. The second step is water clarification, when water flows into the basin of coagulation, with the coagulant (aluminium sulfate), and then the filtration by filters through which water passes after sitting in the sedimentation tank (decantation) and, finally, the post-chlorination step for preserving and maintaining good quality water at the outlet of the treatment plant according to Algerian standards (ISO 2007). To support and maintain the chlorine residual, the re-chlorination process is done within the distribution system to ensure that proper chlorine residual levels are maintained throughout the distribution system.

Several samples (48 exactly) were collected throughout drinking water supply system, from the plan entrance (P1) where there is raw water up to several points in the distribution network in different residence times (Mouly et al. 2008). This operation was carried out during summer, autumn, winter, and spring 2012/2013. The choice of the sampling site was defined according to the treatment by chlorine and the chlorine booster stations in the distribution networks. The choice of the seasons is justified by the contrasted situations, raw water quality and the treatment functioning. Table 1 shows the location of sampling points.

Chemicals

S9 from rat liver (Sprague Dawley), 2-aminoanthracene (2AA; CAS No. 613-13-8), methyl methanesulfonate (MMS; CAS No. 67-27-3), and basic fuchsin were purchased from Sigma-Aldrich. 4-Nitro-*o*-phenylenediamine (NPD; CAS No. 99-56-9) and 2-aminofluorene (2AF; CAS No. 153-78-6) were purchased from Fluka (European export). L-Histidine HCl, D-biotin, ampicillin trihydrate, and D-glucose-6-phosphate were purchased from Biochem Chemopharma (France). Citric acid monohydrate, potassium chloride, sodium chloride, and sodium hydroxide were purchased from Coprochim Eurl. (Algeria). Sodium azide (SA; CAS No. 26628-22-8) was purchased from Riedel (European export).

Physicochemical analysis

The parameters measured in situ are pH with a pH meter (Mettler Toledo MP220), turbidity with a nephelometric

infrared light turbidimeter (brand Hach Lange 2100 N), and temperature with a thermometer (brand Check Temp1). The specific conductivity was measured using a conductivity meter type Wissenschaftlich-Technische Werkstätten 1970i. The analysis of the organic matter (OM) was made using a volumetric method in the laboratory according to ISO 8467:1993 (F). The THMs, CHCl_3 , CHBr_3 , CHBr_2Cl , and CHBrCl_2 were determined in the regional laboratory of water in Algiers according to the ISO 10301 method.

Ames test

LT-2 TA98 and TA100 histidine-demanding auxotrophs of *S. typhimurium* were kindly obtained from Prof. Konuk, Afyon Kocatepe University, Turkey. While TA98 were used for determining the frame shift, TA100 was used to determine the base pair exchange type of mutations.

During the study, the Ames test was carried out according to the standard method with preincubation of *S. typhimurium* strains TA100 and TA98 with and without S9 mix (Maron and Ames 1983). These strains were selected on the basis of the associated genetic markers (Mortelmans and Zeiger 2000). One hundred microliters of the night culture was put in contact with 100 μL of the testing sample and 500 μL of solution S9 mix (or 500 μL phosphate buffers). The tubes were incubated in 37 °C during 20 min, and then, 2 mL of the top agar supplemented by 200 μL of the histidine-biotin solution was added into the tubes. The mixture was spread on the surface of the minimal agar boxes and brooded 72 h in 37 °C. Three replicates were performed for each sample in two independent parallel experiments as per method of Gatehouse et al. (1994). Distilled water was used as negative control. NPD for TA98 and SA for TA100 without S9 mix, 2AF, and 2AA for TA98 and TA100 with S9 mix were used respectively as a positive control (Liman et al. 2010).

Allium cepa anaphase–telophase test

A. cepa ($2n=16$) onion plant is a member of the Alliaceae family (Grant 1982). Onion bulbs were purchased from a supermarket according to their size and were cleaned in the distilled water, after removing the roots and first peel. After 2 days of contact with the distilled water in the darkness at 22 °C, bulbs which roots have a length from 1 to 2 cm were used for the test.

Table 1 Presentation of the sampling points

	Nature of collected water		Characteristics of collected water samples
F/C1, consumers taps (waters which underwent first re-chlorination); F/C2, consumer taps (waters which underwent second re-chlorination)	Water treatment		
	P1	Raw	The entrance of water from the Bouhamdane dam
			No contact with the chlorine
	P2	Treated after pre-chlorination	Contact of 0.5 h with the chlorine
	P3	Treated after decantation	Contact of 1 h or more with the chlorine
	P4	Treated post-chlorination	Contact of 2 h or more with the chlorine
			Reservoir SP1 (post-chlorination in treatment plant)
	Tap water of consumer		
	F/C1		
	P5	Drinking water/consumer	Distribution of water after the first re-chlorination in SP2 (storage reservoir 1) with contact time of 24 h
	F/C2		
	P6	Drinking water/consumer	Distribution of water after the second re-chlorination in SP3 (storage reservoir 2) with contact time of 48 h
	P7	Drinking water/consumer	
	F/C1		
	P8	Drinking water/consumer	Distribution of water after the first re-chlorination in SP2 (storage reservoir 1) with contact time of 24 h
	P9	Drinking water/consumer	
	P10	Drinking water/consumer	
	F/C2		
	P11	Drinking water/consumer	Distribution of water after the second re-chlorination SP3 (storage reservoir 2) with a contact time of 48 h
	P12	Drinking water/consumer	

This consists on placing each of the germinated seeds on a test tube containing water samples to be tested so that only roots are immersed. Distilled water and MMS (10 ppm) were employed as negative and positive control, respectively. After 24 h of exposure in the darkness, the last 2 cm of root was taken and fixed in Carnoy's solution at 4 °C for at least one night and then stored for long term in ethanol 70 % at 4 °C. These roots were then hydrolyzed in a solution 1 N HCl during 8–10 min and stained with Feulgen dye shielded from the light (Silva et al. 2011). The MI and the frequency of the CA were made according to Saxena et al. (2005). For each sample, five roots were prepared by crushing the root ends with 45 % acetic acid; 5000–6000 cells were counted for determining the different stages of mitosis. For the chromosome aberration test, 500–600 cells in anaphase or

telophase were examined. Two of them were expressed as a percentage.

Statistical analysis

The statistical analysis of physicochemical parameters was performed using the Minitab 16 software package. Data on physicochemical parameters were compared using analysis of variance (ANOVA) to confirm the variability of the data and the validity of results.

The results of Ames test and *Allium* anaphase–telophase test were analyzed statistically by using SPSS 18.0 for Windows. Mann–Whitney test was performed for Ames test. The data of MI and CA were expressed in percent, and the levels of significance in different

treatment groups were analyzed with Duncan multiple range tests using one-way ANOVA.

Results and discussion

Physicochemical analysis

Table 2 shows the results of the average of obtained physicochemical parameters and the influence of the variation of seasons on water quality. The content in OM, turbidity, conductivity, $T(^{\circ}\text{C})$, and pH of the water varies seasonally with very high significance except for the conductivity which is highly significant during the summer.

The obtained results are correlated with the seasonal change, which has an influence on the temperature that change from the hot season to the cold season and represents the key parameter in the reaction of chlorinated organic precursors (Khallef et al. 2014). The drinking water pH is generally related to the concentration of dissolved substances in water. However, the pH values are generally between 6.5 and 8.5, which are in accordance to drinking water standards. In this study, the highest value of pH is in the higher limit and was found in spring at P1 (8.49 ± 0.01) which can be explained by the increase of the proportion of dissolved aluminum by the formation of a soluble complex type $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ (Ramseier et al. 2002). Meanwhile, the pH can vary along the distribution according to a change in the concentration of bicarbonate. Fall (2008) found that high levels of bicarbonate lead to an acidic pH level in water samples from consumers as is the case at site P9 (6.36 ± 0.03). The water electrical specific conductivity is a simple and useful indicator of its salinity. Turbidity varies according to rainfall and organic matter content in raw water. The organic matter presents significant concentration notably during autumn. These results are conforming to those reported by Le Curieux et al. (1996). The decomposition of organic matter, especially after the leaves falling, is 75–110 % higher than that in the spring. The turbidity and organic matter are considered as parameters related to the presence of potential precursors of DBPs. Similar results were reported by Lafferrière et al. (1999) who showed by the correlation analysis the importance of these parameters in the formation of THMs as well as the concentration of residual chlorine in the treated water (Khallef et al. 2014).

The concentrations in THMs are given in Fig. 1. THMs mainly formed in the pre-chlorination step and increased steadily until the consumers' tap and could then exceed the quality limit of potable water ($100 \mu\text{g/L}$), especially during the autumn. This aspect seems to deal with the highest value of the organic matter of the autumn samples. These results are in agreement with those obtained by Dore et al. (Doré 1989) and Mouly et al. (2008) that highlighted the effect of chlorination on the formation of THMs in the presence of organic matter. The presence of THMs (0.6 and $1.3 \mu\text{g/L}$) in raw water, which has not undergone any treatment, can be attributed to pollution by discharges or organochlorinated pesticides (Le Curieux et al. 1996).

Figure 2 shows that the concentrations of the four THMs in the water samples such as CHCl_3 which was the most abundant compound of THMs and followed by CHBrCl_2 , CHBr_2Cl , and CHBr_3 , respectively. Although CHCl_3 constitutes the highest levels among THMs, its proportion through all THMs can vary significantly according to the amount of water. This could generate the formation of bromide by-products (Mills et al. 1998). As it is the case during the spring and contrary to the general trend, where CHCl_3 is usually the main compound, CHBr_2Cl showed the highest concentration as noted by Baytak et al. (2008) where the bromide (CHBr_3) forms were supposed to be derived from the adjoining Sea, but in this case, drinking water coming from Bouhamdane River (surface water), these species seem to be derived from a natural origin or anthropic activities (Guergazi et al. 2006).

The maximum CHBr_3 levels were found in the P4 samples in autumn. This may be due to the presence of higher concentrations of bromine in the water. Bromine ions can react with hypochlorous acid to create hypobromous acid. Hypobromous acid also has disinfectant properties and is more reactive than hypochlorous acid, and it will react with organic matter in the water and then create bromide species (Vinette 2001).

Ames test

Ames test, or the so-called *Salmonella*/microsome test, is one of the most reliable short-term bacterial test systems. This test is cheap and gives the results very rapidly for investigating the mutagenic effects of substances (Maron and Ames 1983; Mortelmans and Zeiger 2000). The interpretation of the Ames test results is done

Table 2 Physicochemical analysis of water samples collected

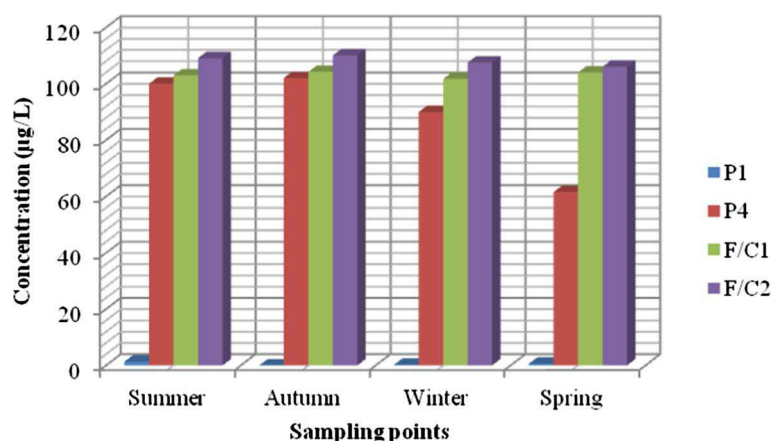
	Summer					Autumn				
	pH $\pm$ SD ^a	T (°C) $\pm$ SD ^a	OM (mg/l) $\pm$ SD ^a	Turb (NTU) $\pm$ SD ^a	Cond (μ S/cm) $\pm$ SD ^b	pH $\pm$ SD ^a	T (°C) $\pm$ SD ^a	OM (mg/l) $\pm$ SD ^a	Turb (NTU) $\pm$ SD ^a	Cond (μ S/cm) $\pm$ SD ^a
Treatment										
P1	7.77 $\pm$ 0.02	9.10 $\pm$ 0.26	6 $\pm$ 1	3.74 $\pm$ 0.06	446.33 $\pm$ 1.53	6.91 $\pm$ 0.19	8.6 $\pm$ 0.60	8.13 $\pm$ 0.14	16.57 $\pm$ 0.41	424.67 $\pm$ 3.06
P2	7.23 $\pm$ 0.03	10.1 $\pm$ 0.17	6.5 $\pm$ 0.3	5.45 $\pm$ 0.03	472.67 $\pm$ 0.57	7.07 $\pm$ 0.22	7.0 $\pm$ 0.87	7.23 $\pm$ 0.15	17.63 $\pm$ 0.2	544.67 $\pm$ 3.06
P3	7.29 $\pm$ 0.03	9.8 $\pm$ 0.1	5.3 $\pm$ 0.1	2.67 $\pm$ 0.01	465.67 $\pm$ 0.57	6.57 $\pm$ 0.12	8.5 $\pm$ 0.2	6.5 $\pm$ 0.3	5.37 $\pm$ 0.1	529.67 $\pm$ 2.08
P4	7.61 $\pm$ 0.01	10.78 $\pm$ 0.72	4.76 $\pm$ 0.15	1.63 $\pm$ 0.04	441 $\pm$ 1	7.33 $\pm$ 0.05	8.87 $\pm$ 0.11	6.46 $\pm$ 0.25	4.79 $\pm$ 0.01	520.67 $\pm$ 3.06
Faucet of the consumer										
P5	7.29 $\pm$ 0.02	10.6 $\pm$ 0.8	4.06 $\pm$ 0.05	2.63 $\pm$ 0.03	473.33 $\pm$ 3.51	7.24 $\pm$ 0.04	7.87 $\pm$ 0.06	3.6 $\pm$ 0.26	3.98 $\pm$ 0.56	526.33 $\pm$ 2.52
P6	7.54 $\pm$ 0.04	12.5 $\pm$ 1.55	4.26 $\pm$ 0.2	2.41 $\pm$ 0.01	559.67 $\pm$ 1.53	7.44 $\pm$ 0.01	9.67 $\pm$ 1.24	2.96 $\pm$ 0.05	4.01 $\pm$ 0.0	530 $\pm$ 2
P7	7.35 $\pm$ 0.05	11.7 $\pm$ 0.41	3.93 $\pm$ 0.11	2.57 $\pm$ 0.02	520.33 $\pm$ 2.52	7.01 $\pm$ 0.00	10 $\pm$ 1.11	3	3.81 $\pm$ 0.05	514.67 $\pm$ 3.79
P8	7.43 $\pm$ 0.05	12.87 $\pm$ 0.32	3.86 $\pm$ 0.05	1.6 $\pm$ 0.17	530.33 $\pm$ 2.08	7.3 $\pm$ 0.02	8.98 $\pm$ 0.08	3.76 $\pm$ 0.11	4.89	543.67 $\pm$ 6.51
P9	7.05 $\pm$ 0.04	10.67 $\pm$ 0.24	3.83 $\pm$ 0.05	1.76 $\pm$ 0.23	537.33 $\pm$ 1.53	6.97 $\pm$ 0.03	9 $\pm$ 0.60	0.16 $\pm$ 0.05	3.14 $\pm$ 0.06	751 $\pm$ 1
P10	7.20 $\pm$ 0.03	11.11 $\pm$ 1.69	4.03 $\pm$ 0.15	2.02 $\pm$ 0.01	527 $\pm$ 6.93	7.06 $\pm$ 0.02	10 $\pm$ 0.41	2.86 $\pm$ 0.05	4.46 $\pm$ 0.03	530 $\pm$ 2
P11	7.55 $\pm$ 0.04	12 $\pm$ 0.45	3.46 $\pm$ 0.05	1.54 $\pm$ 0.01	542 $\pm$ 2	7.11 $\pm$ 0.02	8.99 $\pm$ 0.16	3.13 $\pm$ 0.05	2.23 $\pm$ 0.03	543.67 $\pm$ 1.53
P12	7.41 $\pm$ 0.02	10 $\pm$ 1.48	3.7 $\pm$ 0.1	2.69	573.67 $\pm$ 3.21	7.49 $\pm$ 0.02	9 $\pm$ 0.1	3.66 $\pm$ 0.25	4.64 $\pm$ 0.04	538.67 $\pm$ 1.15
Winter										
	Winter					Spring				
	pH $\pm$ SD ^a	T (°C) $\pm$ SD ^a	OM (mg/l) $\pm$ SD ^a	Turb (NTU) $\pm$ SD ^a	Cond (μ S/cm) $\pm$ SD ^a	pH $\pm$ SD ^a	T (°C) $\pm$ SD ^a	OM (mg/l) $\pm$ SD ^a	Turb (NTU) $\pm$ SD ^a	Cond (μ S/cm) $\pm$ SD ^a
Treatment										
P1	7.85 $\pm$ 0.02	6.8 $\pm$ 0.91	0.66 $\pm$ 0.52	9 $\pm$ 1	493.67 $\pm$ 4.04	8.49 $\pm$ 0.01	8.9 $\pm$ 1.1	2.06 $\pm$ 0.05	4.10 $\pm$ 0.01	615 $\pm$ 1
P2	7.82 $\pm$ 0.03	7 $\pm$ 1.1	0.4 $\pm$ 0.26	9.67 $\pm$ 1.53	489 $\pm$ 2	8.21 $\pm$ 0.02	9.7 $\pm$ 1.17	1.9 $\pm$ 0.1	3.99 $\pm$ 0.01	610.33 $\pm$ 1.53
P3	7.60 $\pm$ 0.01	7.8 $\pm$ 1.99	0.53 $\pm$ 0.25	10 $\pm$ 1	490 $\pm$ 2	8.25 $\pm$ 0.01	9.5 $\pm$ 0.98	1.4 $\pm$ 0.1	2.02 $\pm$ 0.02	610 $\pm$ 1
P4	7.65 $\pm$ 0.1	9.9 $\pm$ 0.19	0.3	10 $\pm$ 2	487.67 $\pm$ 1.15	8.45 $\pm$ 0.15	9.6 $\pm$ 0.6	0.73 $\pm$ 0.55	0.47 $\pm$ 0.04	620 $\pm$ 1
Faucet of the consumer										
P5	7.68 $\pm$ 0.01	7.8 $\pm$ 1.21	0.5 $\pm$ 0.1	2.49 $\pm$ 0.79	506.67 $\pm$ 4.16	8.41 $\pm$ 0.08	8.7 $\pm$ 0.3	2.36 $\pm$ 0.05	1.71 $\pm$ 0.03	620 $\pm$ 1
P6	6.88 $\pm$ 0.03	6.9 $\pm$ 0.85	1.63 $\pm$ 0.05	3.31 $\pm$ 0.09	501 $\pm$ 1	8.39 $\pm$ 0.01	7.9 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.41	616.33 $\pm$ 2.52
P7	6.81 $\pm$ 0.01	7.8 $\pm$ 1.15	1.63 $\pm$ 0.55	3.31 $\pm$ 0.00	500.67 $\pm$ 1.53	8.37 $\pm$ 0.01	8.9 $\pm$ 3.12	1.66 $\pm$ 0.32	0.66 $\pm$ 0.01	616 $\pm$ 1.73
P8	7.05 $\pm$ 0.03	8.2 $\pm$ 1.3	0.3 $\pm$ 0.1	2.54 $\pm$ 0.04	480 $\pm$ 1	8.37 $\pm$ 0.02	9.55 $\pm$ 0.49	1.33 $\pm$ 0.05	0.88 $\pm$ 0.01	612 $\pm$ 2
P9	6.36 $\pm$ 0.03	9.4 $\pm$ 0.53	0 $\pm$ 0	1.28 $\pm$ 0.1	741 $\pm$ 1	7.32 $\pm$ 0.02	10 $\pm$ 0.26	0	0.8 $\pm$ 0.02	826 $\pm$ 5.29
P10	6.41 $\pm$ 0.01	10 $\pm$ 0.45	0.36 $\pm$ 0.15	4.19 $\pm$ 0.01	508.67 $\pm$ 2.08	8.38 $\pm$ 0.02	9.78 $\pm$ 0.25	1.7 $\pm$ 0.2	1.06 $\pm$ 0.03	617 $\pm$ 2
P11	6.95 $\pm$ 0.03	8.9 $\pm$ 0.36	0.3 $\pm$ 0.1	7.34 $\pm$ 0.05	521 $\pm$ 1.11	8.33 $\pm$ 0.03	8.98 $\pm$ 0.07	1.9 $\pm$ 0.1	1.88 $\pm$ 0.02	617.33 $\pm$ 2.08
P12	7.70 $\pm$ 0.02	8.88 $\pm$ 0.2	0.13 $\pm$ 0.05	2.54 $\pm$ 0.05	495.33 $\pm$ 5.03	8.30 $\pm$ 0.02	9.98 $\pm$ 0.37	2 $\pm$ 0.1	5.55 $\pm$ 0.01	613.67 $\pm$ 3.51

SD standard deviation, NTU nephelometric turbidity unit, Turb turbidity, Cond conductivity, OM organic matter

^a Statistically significant at $p < 0.001$ (ANOVA)

^b Statistically significant at $p < 0.01$ (ANOVA)

Fig. 1 THM levels in water collected during the four seasons expressed in $\mu\text{g/L}$. *P1* Raw water. *P4* Water treated post-chlorination. *F/C1* Consumer taps (waters which underwent first re-chlorination). *F/C2* Consumer taps (waters which underwent second re-chlorination)



according to EPA (United States Environmental Protection Agency 1996) for genotoxicity testing of chemicals. Indeed, a mutagenic potential is assumed, if the revertant frequency is 2.0 or higher over the solvent control or dose-related, to increase in the number of revertant colonies in one or more strains (Mortelmans and Zeiger 2000).

The mutagenic activity of collected waters was analyzed using *S. typhimurium* strains TA98 and TA100 with or without S9 mix (Tables 3 and 4). The number of revertants of the negative control was 23.33 ± 5.85 for TA98, 107.33 ± 6.42 for TA100 in the absence of S9 mix, and 25.66 ± 3.78 and 101 ± 3.6 in the presence of S9 mix. Spontaneous revertants were found within normal values for both studied strains. The highest value observed with S9 mix was in the TA98 at P12 in autumn (113.33 ± 5.85). The lowest value observed with S9 mix was in the TA98 at P8 in spring (23.66 ± 2.08). These values for TA100 were found at P11 in spring (192 ± 8.71) and at P12 in winter (295 ± 7). The results were

considered statistically significant at $p < 0.05$ in the examined strains except at P4 and P7–P12 in spring for TA98; P1 in summer and autumn for TA100 without S9 mix; P1 in summer; P6, P8, P10, and P12 in spring for TA98 with S9 mix; P8–P11 in autumn; P11 in winter; and P5 and P7 in spring for TA100 with S9 mix. The result of the present study showed that all water samples, except at P1, P2, and P5 in summer; P1 in autumn; P1 and P3–P12 in spring without S9 mix, P1 and P2 in summer; and P6 and P8–P12 in spring with S9 mix, were found to be mutagenic in *S. typhimurium* TA98. However, only P11 (220.66 ± 3.05) and P12 (295 ± 7) in winter were found to be mutagenic for TA100 without S9 mix. In general, adding S9 mix caused an increase of revertant colony numbers for TA98 (except in winter), but a decrease of revertant colony numbers for TA100. This result confirmed the presence of the DBPs acting specifically on TA100 (Kundu et al. 2004). The kinetics of mutagenic activity of waters on the TA98 is similar especially during autumn and winter such as obtained in

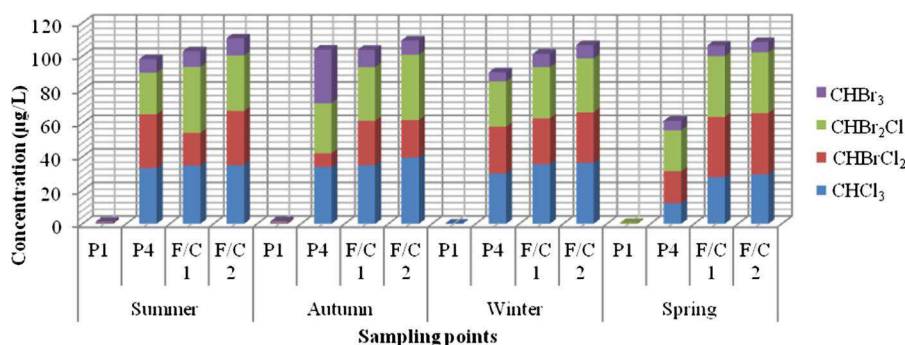


Fig. 2 Levels of chloroform (CHCl_3), bromoform (CHBr_3), bromodichloromethane (CHBrCl_2), dibromochloromethane (CHBr_2Cl) collected in water expressed in micrograms per liter.

P1 Raw water. *P4* Water treated post-chlorination. *F/C1* Consumer taps (waters which underwent first re-chlorination). *F/C2* Consumer taps (waters which underwent second re-chlorination)

Table 3 Mutagenicity of water samples towards *S. typhimurium* TA98 strain with or without S9 mix

Treatments	No. of His ⁺ revertants/plate, mean±SD							
	-S9				+S9			
	Summer	Autumn	Winter	Spring	Summer	Autumn	Winter	Spring
P1	33.33±2.08 ^a	39.66±4.5 ^a	90.66±2.08 ^{a,b}	33.33±3.21 ^a	32.33±3.21	62.66±3.78 ^{a,b}	87±3 ^{a,b}	64±6.92 ^{a,b}
P2	35±3.6 ^a	47.33±5.03 ^{a,b}	85.66±4.5 ^{a,b}	77.33±4.16 ^{a,b}	40±2 ^a	64.66±5.68 ^{a,b}	83±6.24 ^{a,b}	67.33±4.93 ^{a,b}
P3	95±6.08 ^{a,b}	74.33±6.65 ^{a,b}	114±5.29 ^{a,b}	43±3 ^a	104.66±4.16 ^{a,b}	69±5.56 ^{a,b}	99.66±2.51 ^{a,b}	71±6.08 ^{a,b}
P4	50.33±3.51 ^{a,b}	82±4.35 ^{a,b}	76.33±4.04 ^{a,b}	29±5.56	80.66±5.5 ^{a,b}	84±6 ^{a,b}	71.33±8.08 ^{a,b}	52.33±2.08 ^{a,b}
P5	27.33±3.78	73.33±4.61 ^{a,b}	69±2.64 ^{a,b}	36.66±2.88 ^a	74±4.58 ^{a,b}	73.33±3.51 ^{a,b}	55.33±4.16 ^{a,b}	62±2 ^{a,b}
P6	67.66±7.5 ^{a,b}	75±6.08 ^{a,b}	96±5.56 ^{a,b}	38.33±3.51	85±5 ^{a,b}	86.33±3.78 ^{a,b}	85±6.08 ^{a,b}	32.66±3.05
P7	94.66±8.14 ^{a,b}	65.66±3.21 ^{a,b}	58.33±7.37 ^{a,b}	30±2.64	129.33±6.42 ^{a,b}	72±2 ^{a,b}	84.33±5.5 ^{a,b}	71.66±4.16 ^{a,b}
P8	58.33±5.5 ^{a,b}	65.33±3.05 ^{a,b}	62.33±2.51 ^{a,b}	23.66±2.08	53.33±6.11 ^{a,b}	86.66±5.85 ^{a,b}	52.66±3.05 ^{a,b}	26.66±6.11
P9	84.33±5.85 ^{a,b}	78.66±1.52 ^{a,b}	69.33±2.08 ^{a,b}	26.66±3.21	89.66±2.08 ^{a,b}	102.33±2.08 ^{a,b}	61.33±1.52 ^{a,b}	48.66±5.13 ^a
P10	94.33±5.68 ^{a,b}	71.66±1.56 ^{a,b}	66±1 ^{a,b}	27.33±2.51	96.33±6.65 ^{a,b}	90.66±1.52 ^{a,b}	57.66±2.08 ^{a,b}	24.66±3.51
P11	81.66±4.72 ^{a,b}	60±4.35 ^{a,b}	125.33±5.03 ^{a,b}	28±2	94.33±4.16 ^{a,b}	84.66±5.13 ^{a,b}	92±5.56 ^{a,b}	40.33±2.51 ^a
P12	106.33±7.09 ^{a,b}	105.33±6.8 ^{a,b}	178.66±11.05 ^{a,b}	27.66±2.88	96±6.08 ^{a,b}	113.33±5.85 ^{a,b}	103±6.55 ^{a,b}	24.66±5.03
Control	23.33±5.85	23.33±5.85	23.33±5.85	23.33±5.85	25.66±3.78	25.66±3.78	25.66±3.78	25.66±3.78
2AF, 200 µg/plate					986.6±71.15 ^a	986.6±71.15 ^a	986.6±71.15 ^a	986.6±71.15 ^a
NPD, 200 µg/plate	1485.4±134.61 ^a	1485.4±134.61 ^a	1485.4±134.61 ^a	1485.4±134.61 ^a				

SD standard deviation, 2AF 2-aminofluorene, NPD 4-nitro-*o*-phenylenediamine^a Statistically significant at $p<0.05$ (Mann–Whitney test)^b Mutagen

Table 4 Mutagenicity of water samples towards *S. typhimurium* TA100 strain with or without S9 mix

Treatments	No. of His ⁺ revertants/plate, mean±SD							
	-S9				+S9			
	Summer	Autumn	Winter	Spring	Summer	Autumn	Winter	Spring
P1	116±4	98.33±4.72	177.33±3.78 ^a	132.66±6.42 ^a	129.66±1.52 ^a	70.33±2.51 ^a	81.33±1.52 ^a	93±2.64 ^a
P2	130.66±4.04 ^a	123.33±5.13 ^a	160±2 ^a	93±3.6 ^a	127.66±6.8 ^a	81.66±2.08 ^a	85.33±6.65 ^a	75±3 ^a
P3	122.33±4.72 ^a	131.66±2.08 ^a	163.33±5.77 ^a	129±5.19 ^a	103.66±6.65	81.66±1.52 ^a	61.66±1.52 ^a	86±3.6 ^a
P4	140.66±4.16 ^a	131.66±3.05 ^a	165.66±4.04 ^a	170±8.88 ^a	81±2.64 ^a	69±5.56 ^a	63.66±6.02 ^a	124.33±8.08 ^a
P5	147±7 ^a	142.33±1.52 ^a	161.66±2.51 ^a	105±2.64 ^a	90±2 ^a	68±7 ^a	67.66±4.5 ^a	99.33±3.21
P6	197±7.21 ^a	174±5.29 ^a	177±4.35 ^a	155±7.93 ^a	158.66±4.16 ^a	88.66±1.52 ^a	82±6 ^a	146±8.88 ^a
P7	179±7.93 ^a	169.66±1.52 ^a	154.33±4.93 ^a	125±5 ^a	76.66±5.5 ^a	104.33±4.5	66±4 ^a	94.66±6.65
P8	110.33±4.04	130.66±9.07 ^a	154.33±2.51 ^a	166.33±10.11 ^a	117±3.6 ^a	99±1	79.33±3.05 ^a	163.33±2.57 ^a
P9	127.66±5.13 ^a	166.66±5.03 ^a	158±2 ^a	130.33±6.5 ^a	116.33±6.5 ^a	93±5	64±2.04 ^a	127±9.64 ^a
P10	183.33±5.5 ^a	171.66±3.51 ^a	161±2 ^a	182±10.44 ^a	135.33±13.31 ^a	105±2.64	83.66±4.72 ^a	185.66±11.59 ^a
P11	129.33±5.85 ^a	157.33±2.51 ^a	220.66±3.05 ^{a,b}	184.66±5.03 ^a	131.33±2.08 ^a	100±3	107.66±11.59	192±8.71 ^a
P12	176.66±5.03 ^a	188±9.53 ^a	295±7 ^{a,b}	173±2.64 ^a	188±12.52 ^a	88.33±8.02 ^a	127.66±5.85 ^a	158±8.54 ^a
Control	107.33±6.42	107.33±6.42	107.33±6.42		101±3.6	101±3.6	101±3.6	101±3.6
SA, 10 µg/plate	1876.2±109.34 ^a	1876.2±109.34 ^a	1876.2±109.34 ^a					
2AA, 5 µg/plate					2384.2±102.32 ^a	2384.2±102.32 ^a	2384.2±102.32 ^a	2384.2±102.32 ^a

SD standard deviation, SA sodium azide, 2AA 2-aminoanthracene

^a Statistically significant at $p<0.05$ (Mann–Whitney test)

^b Mutagen

our results when the THMs were analyzed (Figs. 1 and 2). This study supports the hypothesis summarizing that TA100 strain is more sensitive to nonvolatile unlike TA98 which is much more sensitive to volatile organohalogen (THMs) which concentration increases with the distance from the treatment plant (Vartiainen and Liimatainen 1986; Bilyk et al. 1996; Kundu et al. 2004).

Allium test

Characterization of the cytotoxicity and genotoxicity of collected water samples were monitored by the analysis of MI and by the frequency of CA, respectively, using the *A. cepa* plant model.

The cytotoxicity level of a tested compound can be determined on the basis of the increase or decrease in MI, which can be used as a parameter of cytotoxicity in the environmental biomonitoring studies (Fernandes et al. 2007). The effects of water samples on the MI are given in Table 5. The negative control (20.82 ± 1.07) exhibited the highest MI, while cells exposed to MMS (6.81 ± 0.89) had the lowest average during this study. There was a statistically significant decrease in the MI in all sites except at P1 in spring. The experiments were carried out in different seasons in order to evaluate the

influence of changes of water chemical characteristics on genotoxicity. The significant decreases of cell division found in root-tip meristems of plants were recorded in water samples over the four seasons where autumn presents the highest decline followed by summer, winter, and spring, respectively. This finding is consistent with Monarca et al. (2002, 2003) and also supports the data of DBPs which revealed the formation of several THMs (Figs. 1 and 2). Some of these THMs are genotoxic, derived from disinfection with chlorine. The values of THM increased especially in autumn where the formation of DBPs in this period was affirmed in many reports (Monarca et al. 2003; Leme and Marin-Morales 2009; Khallef et al. 2013). These DBPs were generally present at higher concentrations and were capable of affecting the normal cell cycle. This could prevent a number of cells from entering the prophase and block the mitosis cycle during the interphase (Rijstenbil and Poortvliet 1992; Yıldız et al. 2009) or could increase the time they stay at G2 and prophase (Borboa and de la Torre 1996). It should be pointed out that the genotoxicity found in these investigations could be due not only to the presence of DBPs but also to industrial and/or agricultural contamination of raw water (Park et al. 2001).

Table 5 The effects of water samples on mitotic index (MI) in the root tips of *A. cepa*

Treatments	Autumn		Winter		Spring		Summer	
	CCN	MI $\pm$ SD ^a	CCN	MI $\pm$ SD ^a	CCN	MI $\pm$ SD ^a	CCN	MI $\pm$ SD ^a
Control	5183	20.82 $\pm$ 1.07a	5183	20.82 $\pm$ 1.07a	5183	20.82 $\pm$ 1.07a	5183	20.82 $\pm$ 1.07a
MMS, 10 ppm	5194	6.81 $\pm$ 0.89b	5194	6.81 $\pm$ 0.89b	5194	6.81 $\pm$ 0.89b	5194	6.81 $\pm$ 0.89b
P1	5198	15.1 $\pm$ 0.73c	5198	14.68 $\pm$ 0.29c	5071	21.28 $\pm$ 0.78a	5103	13.37 $\pm$ 0.4 cd
P2	5145	11.68 $\pm$ 0.63de	5174	18.09 $\pm$ 1.08d	5149	15.9 $\pm$ 0.36c	5160	12.99 $\pm$ 0.71ce
P3	5139	15.41 $\pm$ 0.44c	5271	14.73 $\pm$ 0.8c	5187	18.74 $\pm$ 0.39d	5148	15.89 $\pm$ 0.86f
P4	5069	11.85 $\pm$ 1.65ef	5201	13.3 $\pm$ 0.49e	5040	18.37 $\pm$ 0.57de	5149	14.08 $\pm$ 0.77d
P5	5211	12.91 $\pm$ 0.67fh	5238	13.15 $\pm$ 0.41e	5172	16.26 $\pm$ 0.68c	5273	14.99 $\pm$ 0.14 g
P6	5129	11.5 $\pm$ 0.82de	5154	14.97 $\pm$ 0.77cf	5123	17.8 $\pm$ 0.39ef	5155	10.37 $\pm$ 0.4 h
P7	5175	11.02 $\pm$ 1de	5141	14.49 $\pm$ 0.71c	5075	15.57 $\pm$ 0.6c	5132	13.99 $\pm$ 0.08d
P8	5159	10.56 $\pm$ 0.32dg	5160	16.12 $\pm$ 1.02f	5108	17.16 $\pm$ 0.51f	5241	10.68 $\pm$ 0.38 h
P9	5104	10.84 $\pm$ 0.71 deg	5209	11.69 $\pm$ 1.01 g	5121	16.2 $\pm$ 0.79c	5194	13.42 $\pm$ 0.26 cd
P10	5206	9.79 $\pm$ 0.92 g	5292	15.13 $\pm$ 0.39cf	5161	13.61 $\pm$ 0.9 g	5091	11.76 $\pm$ 0.28 g
P11	5118	11.81 $\pm$ 0.64ef	5147	15.28 $\pm$ 1.15cf	5143	14.34 $\pm$ 0.54 g	5175	12.27 $\pm$ 0.76eg
P12	5149	13.01 $\pm$ 0.68 h	5210	15.6 $\pm$ 0.7cf	5186	15.62 $\pm$ 0.56c	5346	13.82 $\pm$ 0.26 cd

SD standard deviation, CCN counting cell number

^a Means with the same letter do not differ statistically at the level of 0.05

Table 6 Percentage of chromosome aberrations of water samples obtained for the *A. anaphase–telophase* test in summer, autumn, winter, and spring

Treatments	Anaphase–telophase anomalies %					
	CCN	DAT	V	S	AB	TA±SD ^a
Summer						
Control	546	1.47	0.73	0.92	0.54	3.66±0.65a
MMS, 10 ppm	586	4.21	0.7	0.84	1.63	7.38±0.61b
P1	526	1.7	0.38	1.53	2.47	6.08±0.49c
P2	548	0.73	0.9	2	2.56	6.19±0.62c
P3	557	1.12	0.38	1.92	3.04	6.46±0.5 cd
P4	537	1.3	0.56	2.24	2.98	7.08±0.56bde
P5	564	0.89	0.35	2.13	3.85	7.24±0.59be
P6	557	0.88	0.37	1.95	3.95	7.15±0.6bde
P7	547	0.74	0.19	2	3.1	6.03±0.43c
P8	553	0.17	—	2.52	3.28	5.98±0.53c
P9	559	0.55	—	3.73	2.15	6.43±0.41 cd
P10	541	0.19	0.17	2.78	2.94	6.08±0.47c
P11	550	0.91	0.36	2.55	2.73	6.55±0.64cde
P12	554	0.95	0.35	2.48	2.9	6.48±0.33cde
Autumn						
Control	546	1.47	0.73	0.92	0.54	3.66±0.65a
MMS, 10 ppm	586	4.21	0.7	0.84	1.63	7.38±0.61b
P1	544	0.54	0.18	2.95	1.85	5.52±0.24c
P2	539	0.56	0.93	2.6	1.68	5.77±1.13c
P3	589	0.33	0.51	2.38	2.05	5.26±0.25c
P4	549	1.09	1.27	2.75	1.09	6.2±0.71bc
P5	562	0.52	1.26	3.4	1.78	6.96±1.1bf
P6	563	1.27	0.56	3.89	3.34	9.05±1.44e
P7	569	1.74	1.52	4.09	3.05	10.4±1.41 g
P8	516	1.14	1.56	3.71	1.91	8.32±0.83de
P9	570	2.61	1.34	3.97	2.44	10.36±0.56 g
P10	563	1.59	1.04	2.84	2.17	7.64±0.67df
P11	567	1.9	—	3.36	2.86	8.11±0.98def
P12	575	1.9	0.2	2.64	2.75	7.49±0.73df
Winter						
Control	546	1.47	0.73	0.92	0.54	3.66±0.65a
MMS, 10 ppm	586	4.21	0.7	0.84	1.63	7.38±0.61b
P1	572	1.92	0.53	1.41	1.56	5.42±0.4 cd
P2	557	1.62	1.08	1.26	1.25	5.21±0.71c
P3	587	0.87	1.05	1.84	2.03	5.8±0.63 cd
P4	552	1.47	0.56	1.99	1.96	5.98±0.4 cd
P5	544	1.1	1.29	2.24	2.74	7.36±0.95b
P6	579	1.87	0.71	1.58	2.08	6.24±0.83d
P7	531	1.16	0.2	3.34	2.64	7.33±0.46b
P8	529	1.14	—	3.6	2.83	7.56±0.56b
P9	547	1.47	0.73	2.72	2.75	7.67±0.57b

Table 6 (continued)

Treatments	Anaphase–telophase anomalies %					
	CCN	DAT	V	S	AB	TA±SD ^a
P10	571	0.86	0.37	2.64	1.9	5.77±0.51 cd
P11	546	1.13	0.17	2.74	1.65	5.69±0.44 cd
P12	541	0.74	0.19	1.84	2.98	5.75±0.53 cd
Spring						
Control	546	1.47	0.73	0.92	0.54	3.66±0.65a
MMS, 10 ppm	586	4.21	0.7	0.84	1.63	7.38±0.61b
P1	590	1.03	0.17	1.87	1.84	4.91±0.65cde
P2	572	0.87	–	2.45	1.05	4.37±0.81 ac
P3	563	1.07	0.53	2.66	1.07	5.33±0.54de
P4	521	1.15	0.19	2.5	1.92	5.77±0.27e
P5	531	1.69	0.38	1.88	1.69	5.64±0.54de
P6	535	1.5	–	2.24	1.12	4.84±0.53 cd
P7	542	0.92	0.18	2.05	2.21	5.36±0.85de
P8	597	1.16	0.12	2.64	1.17	5.09±0.52cde
P9	530	1.14	0.4	2.25	1.13	4.92±0.34cde
P10	549	0.91	0.17	2.76	1.27	5.11±0.77 cd
P11	562	0.89	0.36	2.31	1.6	5.16±0.61cde
P12	555	0.72	0.18	2.52	1.8	5.22±0.55cde

SD standard deviation, CCN counting cell number, DAT disturbed anaphase–telophase, V vagrant, S stickiness, AB anaphase bridge, TA total anomalies

^a Means with the same letter do not differ statistically at the level of 0.05

In the anaphase–telophase CA test conducted with root meristem cells of *A. cepa*, based on the statistical analysis using the Duncan multiple range test ($p < 0.05$), significant results were found for all collected water samples. The negative control exhibited few abnormalities when compared with the positive control and collected water samples (Table 6). The highest value was obtained in autumn at P7 (10.4 ± 1.41 %), and the lowest one was obtained in control group (3.66 ± 0.65 %). Water samples were found to be genotoxic by causing the bridge, stickiness, vagrant chromosomes, and disturbed chromosome in the anaphase–telophase CA of *A. cepa*. The strongest genotoxic effect detected here was recorded during the period in autumn, where the surface water flow is usually low, resulting in a higher concentration of organic matter and then high formation of DBPs during the disinfection of water with chlorine. Unlikely, the effect in the spring, where the level of DBPs was determined, is lower (Matsumoto et al. 2006). The total CA during each sampling period was observed especially after the last injection of

chlorine P4 and in most of the consumers' point that has undergone a second re-chlorination. These results support the hypothesis that THMs (Fig. 1) are the contaminant present in the water samples and are responsible for the CA action on onion root–tip cells which stickiness and anaphase bridges are the most important (Kabil and Branko 1985; Matsumoto et al. 2006; Khallef et al. 2013). Chromosome stickiness is regarded as a physiological effect caused by the affected proteins of the chromosome which was attributed to the effect of THMs especially CHCl_3 (Khallef et al. 2013). It may cause incomplete separation of daughter chromosomes as a result of the cross-linkage of chromoproteins (Kong and Ma 1999; Tkalec et al. 2009; Silva et al. 2011). Chromosome bridges may be due to chromosomal stickiness and the subsequent failure of free anaphase separation. These bridges are usually formed by joined sister chromatids that stay together until late anaphase or telophase. If these connections become very strong, chromatids can break at or near the points of connection at anaphase (Gömürgen 2005; Türkoglu 2008; Yıldız

et al. 2009). Disturbed anaphase–telophase and chromosome laggards could occur by the effect of THMs on microtubule formations that may arise according to the inhibition of tubulin polymerization (Kuriyama and Sakai 1974; Kumari et al. 2009). The induction of vagrant chromosomes leads to the separation of unequal number of chromosomes in the daughter nuclei and, subsequently, the formation of daughter cells with unequal sized or irregularly shaped nuclei at interphase (El-Ghamery et al. 2000; Tkalec et al. 2009).

The difficulties encountered in performing chemical analyses, long-term carcinogenicity tests, and epidemiological studies have encouraged the analysis of drinking water using short-term mutagenicity tests, such as the Ames test. Genotoxicity has also been measured directly in treated water using in vivo tests with plants (*Vicia faba*, *A. cepa*, and *Tradescantia* spp.) (Monarca et al. 2004).

In this study, the obtained results were in accordance with those of a previous study on the formation of direct-acting mutagens in drinking water after chlorination (Monarca et al. 1985; Vartiainen and Liimatainen 1986; Koivusalo et al. 1994; Monarca et al. 1998; Kundu et al. 2004). In general, the mutagenic/genotoxic effects of end water after re-chlorination were higher than those for raw water. The results obtained from the Ames and *Allium* test will be compared with the results of the THM analyses. The strongest genotoxic was detected during autumn with a higher concentration of organic matter and then high formation of DBPs during the disinfection of water with chlorine.

This combination of chemical and genotoxicological approach is also a tool to be used by health authorities to better evaluate water supplies and to monitor drinking waters before their supply.

Acknowledgments Our special thanks due to Mehdi Boukardine Laboratory in Algerian waters for the help in the realization of this work.

References

- Ames, B. N., McCann, J., & Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, 31(6), 347–364.
- Basu, D. K., Saxena, J., Stross, F. W., Santodonato, J., Neal, M. W., & Kopfler, F. C. (1987). Comparison of drinking water mutagenicity with leaching of polycyclic aromatic hydrocarbons from water distribution pipes. *Chemosphere*, 16(10–12), 2595–2612.
- Baytak, D., Sofuoglu, A., Inal, F., & Sofuoglu, S. C. (2008). Seasonal variation in drinking water concentrations of disinfection by-products in Izmir and associated human health risks. *Science of the Total Environment*, 407(1), 286–296.
- Bilyk, A., Kolwzan, B., & Traczewska, T. M. (1996). Evaluation of mutagenic activity in water disinfected with chlorine. *Annals of the National Institute of Hygiene*, 47(1), 77–85.
- Borboa, L., & De la Torre, C. (1996). The genotoxicity of Zn (II) and Cd (II) in *Allium cepa* root meristematic cells. *New Phytologist*, 134(3), 481–486.
- Doré, M. (1989). *Chimie des oxydants et traitement des eaux*. Paris, France: Technique et Documentation Lavoisier.
- Doyle, T. J., Zheng, W., Cerhan, J. R., Hong, C. P., Sellers, T. A., Kushi, L. H., & Folsom, A. R. (1997). The association of drinking water source and chlorination by-products with cancer incidence among postmenopausal women in Iowa: a prospective cohort study. *Am. Journal of Public Health*, 87(7), 1168–1176.
- El-Ghamery, A. A., El-Nahas, A. I., & Mansour, M. M. (2000). The action of atrazine herbicide as an indicator of cell division on chromosomes and nucleic acid content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia*, 65, 277–287.
- Fall, C. (2008). Etude de la qualité de l'eau de robinet et de celle de la nappe phréatique dans les différentes Communes d'Arrondissement du département de Guédiawaye, Dakar. *Sénégal*, P61.
- Fernandes, T. C. C., Mazzeo, D. E. C., & Marin-Morales, M. A. (2007). Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(3), 252–259.
- Fiskesjö, G. (1985). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102(1), 99–112.
- Fiskesjö, G. (1988). The *Allium* test—an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Research*, 197(2), 243–260.
- Gatehouse, D., Haworth, S., Cebula, T., Gocke, E., Kier, L., Matsushima, T., et al. (1994). Recommendations for the performance of bacterial mutation assays. *Mutation Research*, 312(3), 217–233.
- Gömürgen, A. N. (2005). Cytological effect of the potassium metabisulphite and potassium nitrate food preservative on root tips of *Allium cepa*. *Cytologia*, 70(2), 119–128.
- Grant, W. F. (1982). Chromosome aberration assays in *Allium cepa*. A report of the U. S. Environmental Protection Agency Gene-Tox program. *Mutation Research*, 99(3), 273–291.
- Guergazi, S., Harrat, N., & Achour, S. (2006). Organic parameters and chloroform formation potentials of eastern Algerian surface waters. *Tribune de l'eau*, 7, 45–50.
- Kabil, A. S., & Branko, K. (1985). Chromosomal Aberrations in Onion (*Allium cepa*) Induced by Water Chlorination By-Products. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 34(1), 80–88.

- Khallef, M., Liman, R., Konuk, M., Hakki, I. H., Benouareth, D. E., Tabet, M., & Abda, A. (2013). Genotoxicity of drinking water disinfection by-products (bromoform and chloroform) by using both *Allium* anaphase-telophase and comet tests. *Cytotechnology*. doi:10.1007/s10616-013-9675-y.
- Khallef, M., Merabet, R., & Benouareth, D. E. (2014). Undesirable effects of drinking water chlorination byproducts. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*. doi:10.5897/JTEHS2014.
- Koivusalo, M. T., Jaakkola, J. J. K., & Vartiainen, T. (1994). Drinking water mutagenicity in past exposure assessment of the studies on drinking water and cancer: application and evaluation in Finland. *Environ. Res*, 64, 90–101.
- Komulainen, H. (2004). Experimental cancer studies of chlorinated by products. *Toxicology*, 198(1–3), 239–248.
- Kong, M. S., & Ma, T. H. (1999). Genotoxicity of contaminated soil and shallow well water detected by plant bioassays. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 426, 221–228.
- Kumari, M., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2009). Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of the Total Environment*, 407(19), 5243–5246.
- Kundu, B., Richardson, S. D., Granville, C. A., Shaughnessy, D. T., Hanley, N. M., Swartz, P. D., Richard, A. M., & DeMarini, D. M. (2004). Comparative mutagenicity of halomethanes and halonitromethanes in *Salmonella* TA100: structure–activity analysis and mutation spectra. *Mutation Research*, 554(1–2), 335–350.
- Kuriyama, R., & Sakai, H. (1974). Role of tubulin-SH groups in polymerization to microtubules. Functional-SH groups in tubulin for polymerization. *The Journal of Biochemistry*, 76(3), 651–654.
- Lafferrière, M., Levallois, P., & Gingras, S. (1999). The problem of trihalomethanes in drinking water systems feeding surface water in the bottom St. Laurent. *Environment Vector: Scientific Section*, 32(3), 38–43.
- Le Curieux, F., Giller, S., Marzin, D., Brice, A., & Erb, F. (1996). Using three genotoxicity tests for the study of the genotoxic activity of organohalogen compounds, chlorinated fulvic acids and water samples (not concentrated) during drinking water treatment. *Journal of Water Sciences*, 1, 75–95.
- Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*, 682(1), 71–81.
- Liman, R., Akyil, 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.
- Maron, D., & Ames, B. N. (1983). Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, 113(3–4), 173–215.
- Matsumoto, S. T., Mantovani, M. S., Malagutti, M. I. A., Dias, A. L., Fonseca, I. C., & Marin-Morales, M. A. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, 29(1), 148–158.
- Meier, J. R. (1988). Genotoxic activity of organic chemicals in drinking water. *Mutation Research*, 196(3), 211–245.
- Mills, C. J., Bull, R. J., Cantor, K. P., Reif, J., Hrudey, S. E., Huston, P., & Experts Group. (1998). Workshop report of an expert working group. *Chronic Diseases in Canada*, 19(3), 103–115.
- Monarca, S., Pasquini, R., & Arcaleni, P. (1985). Detection of mutagens in unconcentrated and concentrated drinking water supplies before and after treatment using a microscale fluctuation test. *Chemosphere*, 14, 1069–1080.
- Monarca, S., Zanardinia, A., Ferettia, D., Dalmigliob, A., Falistoccoc, E., Manicaa, P., & Nardia, G. (1998). Mutagenicity of extracts of lake drinking water treated with different disinfectants in bacterial and plant tests. *Water Research*, 32, 2689–2695.
- Monarca, S., Richardson, S. D., Feretti, D., Grottolo, M., Thruston, A. D., Zani, C., Navazio, G., Ragazzo, P., Zerbini, I., & Alberti, A. (2002). Mutagenicity and disinfection by-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(2), 309–318.
- Monarca, S., Rizzoni, M., Gustavino, B., Zani, C., Alberti, A., Feretti, D., & Zerbini, I. (2003). Genotoxicity of surface water treated with different disinfectants using in situ plant tests. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 41(5), 353–359.
- Monarca, S., Zani, C., Richardson, S. D., Thruston, A. D., Moretti, M., Feretti, D., & Villarinia, M. (2004). A new approach to evaluating the toxicity and genotoxicity of disinfected drinking water. *Water Research*, 38, 3809–3819.
- Morris, R. D. (1995). Drinking water and cancer. *Environmental Health Perspectives*, 103, 225–232.
- Mortelmans, K., & Zeiger, E. (2000). The Ames *Salmonella* microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 445(1–2), 29–60.
- Mouly, D., Joulin, E., Roosin, C., Beauudeau, P., Zeghnoun, A., Olszewski-Ortar, A., & Munoz, J. F. (2008). Rapport d'étude, Les sous-produits de chloration dans l'eau destinée à la consommation humaine en France - Campagnes d'analyses dans quatre systèmes de distribution d'eau et modélisation de l'évolution des trihalomethanes, Saint-Maurice (Fra). Institut de veille sanitaire.
- Ohe, T., Watanabe, T., & Wakabayashi, K. (2004). Mutagens in surface waters: a review. *Mutation Research*, 567, 109–149.
- Park, J. H., Kang, K. S., & Lee, Y. S. (2001). Mutagenicity of water samples from five cities in Korea. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 63(7), 767–771.
- Ramseier, S., Mantegazzi, D., & Bersier, Y. (2002). Quality of the drinking water produced from Lake Geneva. *Rapp. Comm. Int. Prot. Eaux Léman contre pollut*, 123–138.
- Rank, J., & Nielsen, M. H. (1998). Genotoxicity testing of wastewater using the *Allium cepa* anaphase telophase chromosome aberration assay. *Mutation Research*, 418(2–3), 113–119.
- Rijstenbil, J. W., & Poortvliet, T. C. W. (1992). Copper and zinc in estuarine water: chemical speciation in relation to bioavailability to the marine planktonic diatom *Ditylum brightwellii*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11(11), 1615–1625.
- Rook, J. (1974). Formation of haloforms during chlorination of natural waters. *Water Treatment and Examination*, 23, 234–243.
- Saxena, P. N., Chauhan, L. K. S., & Gupta, S. K. (2005). Cytogenetic effects of commercial formulation of

- cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology*, 216(2–3), 244–252.
- Shen, L., Wu, J. Y., Lin, G. F., Shen, J. H., Westendorf, J., & Huehnerfuss, H. (2003). The mutagenic potentials of tap water samples in Shanghai. *Chemosphere*, 52(9), 1641–1646.
- Silva, D. S. B. S., Garcia, A. C. F. S., Mata, S. S., Oliveira, B., Estevam, C. S., Scher, R., & Pantaleao, S. M. (2011). Genotoxicity and cytotoxicity of *Erythrina velutina* Willd. Fabaceae, on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21(1), 92–97.
- Tabrez, S., Shakil, S., Urooj, M., Damanhour, G.A., Abuzenadah, A.M., & Ahmad, M. (2011) Genotoxicity testing and biomarker studies on surface waters: an overview of the techniques and their efficacies. *Journal of Environmental Science and Health Part C Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*. 250–75. doi: [10.1080/10590501.2011.601849](https://doi.org/10.1080/10590501.2011.601849).
- Tkalec, M., Malaric, K., Pavlica, M., Pevalak-Kozlina, B., & Vidakovic-Cifrek, Z. (2009). Effects of radiofrequency electromagnetic fields on seed germination and root meristematic cells of *Allium cepa*. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 672(2), 76–81.
- Türkoglu, S. (2008). Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Food and Chemical Toxicology*, 46(6), 2035–2041.
- United States Environmental Protection Agency (1996). Health effects tests guidelines: OPPTS.
- Vartiainen, T., & Liimatainen, A. (1986). High levels of mutagenic activity in drinking water in Finland. *Mutation Research*, 169(1–2), 29–34.
- Vinette, Y. (2001). Evolution spatio-temporelle et modélisation des trihalométhanes dans des réseaux de distribution d'eau potable de la région de Québec. *Université Laval*, P11.
- Yıldız, M., Cigerci, I. H., Konuk, M., Fidan, A. F., & 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(7), 934–938.
- Zani, C., Feretti, D., Buschini, A., Poli, P., Rossi, C., Guzzella, L., Di Caterino, F., & Monarca, S. (2005). Toxicity and genotoxicity of surface water before and after various potabilization steps. *Mutation Research*, 587(1–2), 26–37.