

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Djilali Bounaama Khemis Miliana
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département : biologie



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Science de la Nature et de la Vie
Filière: Biotechnologies
Spécialité: Biotechnologie Microbienne

Thème : Impact environnemental et sanitaire des polluants émergents dans les eaux usées hospitalières de l'EPH Fares Yahia Miliana

Présenté par :

BOUSSOUEL Malha Farah

SEMMAR Nour El Houda

◆ Soutenu le 18/09/2024 devant les jurys :

- | | | |
|---------------------|--------------|-------------------------|
| - Mme Itatahine . A | Président | MAB |
| - Mme Aissioui. S | Promotrice | MCB |
| - Mr Dahdouh. M | Co-promoteur | Ingénieur géochimie CRD |
| - Mme Cartelo. L | Examinatrice | MAA |

Année Universitaire: 2023-2024

Remerciements

Aujourd'hui, marque un moment important de notre vie. Nous nous sommes réunis ici pour célébrer la fin de nos études, un accomplissement dont nous pouvons tous être fiers en regardant en arrière sur notre parcours, nous réalisons que nous n'aurions pas pu y arriver sans le soutien inestimable de , nombreuses personnes.

En tout premier lieu et avant tous, nous remercions ***DIEU*** tout-puissant de nous avoir donné la force, la patience d'accomplir ce travail dans les meilleures conditions ainsi que la volonté pour dépasser toutes les difficultés.

À nos chers parents , nous vous remercions du fond du cœur pour votre soutien, votre amour et votre dévotion durant tout notre parcours.

Nous exprimons également nos profonds remerciements à ***Mme BOUCHAMA Manel*** pour l'aide qu'elle nous a apportée, pour son encouragement et sa patience et son œil critique qui a été très précieux pour améliorer et structurer notre travail.

Un grand Merci à notre promotrice ***Mme AISSIOUI Souad*** et notre co-promoteur ***Mr DAHDOUH Mouloud*** pour leur contribution à l'encadrement de ce mémoire.

On tient à remercier tous nos enseignants qui nous ont orienté et soutenu et ceux qui ont participer de près ou de loin tout au long de la réalisation de ce modeste travail. Précisément : ***Mr BOUSSOUBEL Abdalkader***, ***Mr ACHEK Rachid*** , ainsi que ***Mme GHOMARI Faiza*** et ***Mme KELLACI Samira***.

Nos vifs remerciements vont également aux ***membres de jurys*** pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre mémoire en acceptant de l'examiner et de l'évaluer.

Nous remercions aussi tout le personnel du ***Laboratoire Géochimie au département de Géologie de SONATRACH Boumerdes*** . Pour toutes les connaissances et le savoir qu'ils nous ont transmis durant notre stage pratique. Ainsi que ***l'ADE de la wilaya d' Ain Defla*** surtout ***le chef de laboratoire Mr BENALI Hamid*** et ***le chimiste LABDOUNI Zoheyr*** pour leur aide.

Dédicaces

Avec pleine d'amour, Je dédie ce modeste travail.

À ma source de motivation qui veille à mon bonheur qui m'a toujours encouragé et soutenu chère ***Maman*** que Dieu te protège et te procure la santé et une longue vie.

À mon cher ***Papa*** qui nous a quitté très tôt que Dieu t'accueille dans son vaste paradis .
Que ton âme repose en paix, tu es dans mon cœur et tu resteras pour toujours.

Aucun mot ne pourrait exprimer votre valeur, la gratitude et l'amour que je vous porte, grâce
à vous, je suis là.

À mes chères sœurs que j'aime énormément ; ***Meriem, Karima et Yasmine*** pour leur soutien moral durant la réalisation de ce projet de fin d'études.

Je dédie ce travail à mon binôme et âme sœur ***Houda*** qui a été une véritable source d'inspiration et de soutien tout au long de ce projet . Merci, nous avons travaillé dur ensemble pour relever chaque défi et je suis fière de ce que nous avons accompli malgré toutes les difficultés.

À ***Mme BOUCHAMA Manel*** pour son aide et ses précieux conseils et son professionnalisme ainsi que sa disponibilité , grâce à elle, on a pu améliorer notre travail

À ma chère et meilleure copine ***Mounia*** qui a été toujours à mes côtés avec qui j'ai partagé le mauvais et le bon.

À mes enseignants ***Mr BOUSSOUBEL Abdelkader*** et ***Mme GHOMMARI Faiza*** et ***Mme KELLACI Samira*** qui ont été toujours comme source de soutien et d'encouragement pour nous durant l'élaboration de ce travail.

BOUSSOUEL Malha Farah

Dédicaces

À ma chère maman

Je te dédie ce travail avec tout mon amour a mon refuge et ma force, merci pour ton amour inconditionnel, ta patience infinie et ton soutien sans faille tout au long de mon parcours. Ta force et ton courage m'inspirent chaque jour.

À mon papa,

Ton absence laisse un vide immense, mais ton amour et tes enseignements continuent de m'accompagner chaque jour. Ce travail est le reflet de tes valeurs, de ta sagesse, et de tout ce que tu m'as appris. Je te dédie ce mémoire avec une pensée profonde et un cœur rempli de gratitude.

À mes sœurs **Yasmine et Anfel** Pour tous les éclats de rire, les encouragements silencieux, et les innombrables moments de complicité. À mes frères **Chemsidine et Malek**, et mes soeurs **Nassima Lela Chahra Saliha Hafida**.

À ma grand-mère **YEMA**, Pour ta présence chaleureuse et tes précieux conseils resteront gravés dans nos cœurs pour toujours. Merci pour t'es douaa et pour l'amour que tu as partagé avec nous.

À mon binome et ma meilleure amie **Farah** , Pour ta bienveillance, ton écoute, et tes mots d'encouragement qui m'ont aidé à surmonter les moments de doute. Merci d'avoir été là à chaque étape. Merci de toujours croire en moi, même quand je doutais de moi-même.

À **Mme BOUCHAMA Manel** Ton aide et ton soutien m'ont été d'une aide précieuse. Ta générosité et ton amitié ont apporté une lumière dans les moments sombres, et je te remercie de tout cœur pour ta présence constante . À mon ame soeur **Mounia** merci d'être mon pilier dans les moments difficiles et ma source de joie dans les moments heureux

À mes enseignants **Mr BOUSSOUBEL Abdelkader** et **Mme GHOMMARI Faiza** et **Mme KELLACI Samira**. Pour leur sagesse, leur patience et leurs enseignements précieux. Votre dévouement et votre passion pour la transmission du savoir ont été essentiels dans la réalisation de ce mémoire

Je dedi mon traveil A ma chere tente **Zina** et mes **oncles Sidahmed Zouhir Baghdadi sidek Kamro et islam** ,pour leur présence réconfortante, leur humour et leur soutien constant.

SEMMAR Nour El Houda

ملخص

يركز هذا البحث على التأثير البيئي والصحي للملوثات الناشئة في مياه الصرف الصحي بالمستشفى فارس يحيى في مليانة، مع التركيز على التلوث المحتمل لمصادر المياه. تم إجراء الدراسة باستخدام منهجية تجمع بين التحاليل الفيزيائية-الكيميائية، والسمية، والميكروبيولوجية. تم أخذ العينات من مياه الصرف الصحي للمستشفى وكذلك من مصدر مياه عين بركوك، الواقع بالقرب من المستشفى، للكشف عن أي تلوث محتمل للمواد العالقة، (BOD) أظهرت النتائج مستويات تلوث تتجاوز المعايير فيما يتعلق بالطلب البيوكيميائي للاكسجين والنتريت في مياه الصرف الصحي بالمستشفى، مما يؤكد وجود ملوثات مثل الجراثيم الممرضة بما في ذلك *Escherichia coli* و *Salmonella* ومع ذلك، لم تظهر مياه عين بركوك أي تلوث كبير. خلصت الدراسة إلى أهمية الإدارة السليمة لمياه الصرف الصحي في المستشفيات للحد من تأثيرها على البيئة والصحة العامة، مع تقديم توصيات لتحسين معالجة النفايات السائلة في المستشفيات.

الكلمات المفتاحية: الملوثات الناشئة، مياه الصرف الصحي في المستشفيات، التحاليل الفيزيائية-الكيميائية، المعادن الثقيلة، الجراثيم الممرضة، التلوث، إدارة النفايات السائلة

Resume

Le présent mémoire porte sur l'impact environnemental et sanitaire des polluants émergents dans les eaux usées hospitalières de l'EPH Fares Yahia à Miliana, en mettant l'accent sur la contamination potentielle des ressources en eau. L'étude a été réalisée à travers une approche méthodologique combinant des analyses physico-chimiques, toxicologiques et microbiologiques. Les prélèvements ont été effectués sur les eaux usées hospitalières ainsi que sur l'eau de la source Ain Berkouk, proche de l'hôpital, afin de détecter une éventuelle contamination.

Les résultats obtenus montrent des niveaux de pollution dépassant les normes en matière de demande biochimique en oxygène (DBO), matières en suspension (MES) et nitrites dans les eaux usées hospitalières, confirmant la présence de contaminants des germes pathogènes, dont *Salmonella* et *Escherichia coli*. Toutefois, l'eau de la source Ain Berkouk n'a montré aucune contamination majeure.

L'étude conclut sur l'importance d'une gestion adéquate des rejets hospitaliers afin de limiter leur impact sur l'environnement et la santé publique, tout en proposant des recommandations visant à améliorer le traitement des effluents hospitaliers.

Mots clés : Polluants émergents, eaux usées hospitalières, analyses physico-chimiques, métaux lourds, pathogènes, contamination, gestion des effluents.

Abstract

This thesis focuses on the environmental and health impact of emerging pollutants in the hospital wastewater of EPH Fares Yahia in Miliana, emphasizing the potential contamination of water resources. The study was conducted using a methodological approach combining physico-chemical, toxicological, and microbiological analyses. Samples were taken from the hospital wastewater as well as from the Ain Berkouk water source, located near the hospital, to detect any potential contamination.

The results show pollution levels exceeding the standards in terms of biochemical oxygen demand (BOD), suspended solids (SS), and nitrites in the hospital wastewater, confirming the presence of contaminants such as pathogenic germs, including *Salmonella* and *Escherichia coli*. However, the water from the Ain Berkouk source showed no major contamination.

The study concludes on the importance of proper hospital wastewater management to limit its impact on the environment and public health, while proposing recommendations to improve the treatment of hospital effluents.

Keywords: Emerging pollutants, hospital wastewater, physico-chemical analyses, heavy metals, pathogens, contamination, effluent management.

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction..... 1

Chapitre I : Généralités

I. Les polluants émergents	5
I.1. Définition.....	5
I.1.1. Distribution et sources	5
I.2. Eaux usées.	6
I.2.1. Définition.....	6
I.2.2. Origine.....	7
I.2.2.1. Eaux usées d'origine domestique.....	7
I.2.2.2. Eaux usées d'origine industrielle.	8
I.2.2.3. Eaux usées d'origine agricole.....	8
I.2.2.4. Eaux pluviales	9
I.3. Les polluants émergents présents dans les eaux usées.....	9
I.4. Les eaux usées hospitalières.....	10
I.4.1. Origine des eaux usées hospitalières	10
I.4.1.1. Les rejets d'origine domestique.....	10
I.4.1.2. Les rejets assimilables à des effluents industriels.....	10
I.4.1.3. Les rejets spécifiques aux établissements de santé.....	10
I.4.1.3.1. Les rejets des services de soins	11
I.4.1.3.1.1. Les rejets des produits désinfectants et détergents.....	11
I.4.1.3.1.2. Les rejets médicamenteux	12
I.4.1.3.1.3. Les rejets contenant les métaux lourds	12
I.4.1.3.1.4. Les rejets contenant les germes pathogènes	12
I.4.1.3.2. Les rejets des services médico-techniques.	12
I.4.1.3.2.1. Salles d'opération.	13

I.4.1.3.2.2. L'hémodialyse.....	13
I.4.1.3.2.3.La radiologie.	13
I.4.1.3.2.4.Les laboratoires d'analyses et Pharmacie	14
I.4.1.3.2.5.La médecine nucléaire.	14
I.5.Impact environnemental et sanitaire des eaux usées hospitalières	15
I.5.1. Les risques infectieux ou biologiques	15
I.5.2. Les risques chimiques et toxiques.	17
I.5.3. Le risque toxique liés aux médicaments.....	17
I.5.4. Les risques liés aux métaux lourds.	19
I.5.5. Les risques radioactifs	21
I.6. Les eaux de source souterraine.....	21
I.6.1.Définition	21
I.6.2. Les polluants émergeant présentent dans les eaux de sources	21
I.6.2.1. Produits Pharmaceutiques.	21
I.6.2.2. Produits chimiques utilisées dans l'agriculture.....	22
I.6.2.3. Rejets Industriels.....	22
I.6.2.4. Rejets Hospitaliers	22
I.6.2.5. Décharges et Sites d'Enfouissement	22
I.6.2.6. Ruissellement Urbain	22
I.7.Caractérisation des eaux usées hospitalières et l'eau de source	22
I.7.1.Caractérisation physico-chimiques	22
I.7.1.1. Température	23
I.7.1.2. Le potentiel hydrogène (pH)	23
I.7.1.3. La conductivité électrique.....	23
I.7.1.4. La Salinité	23
I.7.1.5. La turbidité.....	24
I.7.1.6. Les résidus secs.....	24
I.7.1.7. La demande biologique en oxygène (DBO5)	24
I.7.1.8. La demande chimique en oxygène (DCO)	24
I.7.1.9. Matières en suspension (MES)	25

I.7.1.10. Teneur en Calcium	25
I.7.1.11. Teneur en Magnésium	25
I.7.1.12. Dureté ou titre hydrométrique (TH)	25
I.7.1.13. Sodium et Potassium	26
I.7.1.14. Chlorure	26
I.7.1.15. Sulfates.....	26
I.7.1.16. Nitrates (NO ₃ ⁻).	26
I.7.1.17. Nitrites (NO ₂ ⁻).	27
I.7.1.18. L'ammonium (NH ₄ ⁺)	27
I.7.1.19. Phosphates	27
I.7.1.20. Matières organiques	27
I.7.2. Caractérisation toxicologique (métaux lourds)	28
I.7.2.1. Métaux essentiels	28
I.7.2.1. Métaux essentiels	28
I.7.3. Caractérisation microbiologique	28
I.7.3.1. La flore aérobie mésophile total.	29
I.7.3.2. Anaérobies sulfite-réducteur (ASR)	29
I.7.3.3. Les coliformes	30
I.7.3.4. Streptocoque fécaux	31
I.7.3.5. les bacteries pathogenes	31

Chapitre II : Cadre général de la zone d'étude

II.1. Choix des sites	37
II.1.1. Situation géographique	37
II.1.2. Relief.....	37
II.1.3. Climat	37
II.1.4. Population	37
II.2. L'hôpital Fares Yahia	37
II.2.1. Présentation de la structure hospitalière d'accueil	38
II.2.2. Les missions de l'EPH.....	38
II.2.3. Capacité des services et des unités constitutives au sein de l'EPH Fares Yahia.....	39

II.2.4. Le personnel biomédical de l'EPH Fares Yahia.....	40
II.3 . La Source Ain Berkouk	40
II.3 .1. Situation géographique	41

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III. Prélèvement.....	43
III.1. Méthode de prélèvement	44
III.2. Conservation et le transport.....	45
III.3. Caractérisation des eaux usées hospitalières et l'eau de source	45
III.3.1. Caractérisation physico-chimique.....	45
III.3.1.1. Caractérisation des paramètres in situ.....	45
III.3.1.2. Turbidité	46
III.3.1.3. Résidu sec (RS).....	46
III.3.1.4. La demande biochimique en oxygène (DBO)	47
III.3.1.5. Matière en suspension (MES).....	48
III.3.1.6. Calcium et magnésium (Ca ²⁺ /Mg ²⁺)	49
III.3.1.7. Sodium et Potassium (Na ⁺ /K ⁺)	50
III.3.1.8. Chlorures (Cl ⁻)	50
III.3.1.9. Sulfates (SO ₄ ²⁻)	51
III.3.1.10. Nitrates (NO ₃ ⁻)	51
III.3.1.11. Nitrites (NO ₂ ⁻)	52
III.3.1.12. Ammonium (NH ₄ ⁺)	52
III.3.1.13. Phosphates (PO ₄ ⁻).....	52
III.3.1.14. Matières organiques (MO).....	53
III.4. Caractérisation toxicologiques (métaux lourds)	54
III.5. Caractérisation microbiologiques des eaux usées hospitalières et l'eau de source.....	57
III.5.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale.....	58
III.5.2. Recherche et dénombrement des spores Anaérobies Sulfite-Réducteurs (ASR)	59
III.5.3. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale.....	62
III.5.3.1 Recherche et dénombrement des Coliformes Totaux et Coliformes Fécaux.....	63
III.5.3.2. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.....	68
III.5.4. Recherche des bactéries pathogènes dans les eaux usées hospitalières.....	68

III.5.4.1. Recherche des Staphylocoques.....	69
III.5.4.2. Recherche des Salmonelles.....	70
III.5.4.3. Recherche des Vibrions.....	71
III. 5.4.4. Recherche des levures et moisissures	72
III.6. Dénombrement.....	72
III.7. Repiquage	72
III.8. Identification des bactéries isolées.....	73
III.8.1. Examen macroscopique des caractères culturaux.....	73
III.8.2. Examen microscopique.....	74
III.8.3. Examen lié aux caractères biochimiques	74
III.8.3.1. Test d'oxydase.....	74
III.8.3.2. Test catalase	75
III.8.3.3. La Galerie API 20E.....	76
III.8.3.4. La galerie API Staph	78

Chapitres IV : Résultats et Discussions

IV. Résultats et Discussion de la caractérisation physico-chimique microbiologique et toxicologique des eaux usées hospitalières et l'eau de source	80
IV.1. Caractérisation physico-chimique	86
IV.2. Caractérisation toxicologique	88
IV.3. Caractérisation microbiologique	89
IV.3.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale	90
IV.3.2. Recherche d'Anaérobie Sulfite-Réducteur (ASR)	91
IV.3.3. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux	92
IV.3.4. Recherche et dénombrement des Coliformes Fécaux	94
IV.3.5. Recherche et dénombrement des Streptocoques	95
IV.3.6. Recherche des bactéries pathogènes.....	95

Conclusion.....

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Risques sanitaires liés aux métaux lourds	20
Tableau 02	Services, unités et nombres de lits de l'EPH Fares Yahia	39
Tableau 03	Effectif biomédical affecté à l'EPH (source : EPH Fares Yahia, 2018)	40
Tableau 04	sites ,dates et heures des prelevements	43
Tableau 05	resultats des parametres in situ (rejet/source)	80
Tableau 06	resultats des parametres physico-chimiques (rejet/ source)	81
Tableau 07	resultats des metaux lourds (rejet/source)	87
Tableau 08	Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées.	96
Tableau 09	résultats et identification des champignons et levures	98
Tableau 10	Résultats de l'identification biochimique par les API systèmes des germes isolés.	99

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	schéma représentatif des sources des polluants émergeant	6
Figure 02	eaux usées	6
Figure 03	Eaux usées de type domestique	7
Figure 04	Eaux usées de type industrielle	8
Figure 05	Eaux usées de type agricole	8
Figure 06	Eaux usées de type pluviales	9
Figure07	schéma représentatif des conséquences des eaux usées sur l'environnement et la santé humaine.	11
Figure 08	Circuit d'élimination des médicaments par les patients (L.THEBAULT)	17
Figure 09	Situation géographique de l'EPH Fares Yahia – Miliana (Google Earth, 2018)	38
Figure 10	la source de Ain Berkouk (photo originale,2024)	40
Figure 11	carte géographique du site de la source	41
Figure 12	Carte géographique présente la distance entre l'hôpital Fares Yahia et la source	41
Figure 13	multi paramètre	45
Figure 14	Turbidimètre -TL2300-(photo original, 2024)	46
Figure 15	Séchage des capsules dans l'étuve (Photo originale, 2024)	46
Figure 16	enceinte thermostat a 20 °C (Photo originale, 2024)	47
Figure 17	flacon et capteur DBO (Photo originale, 2024)	47
Figure 18	rampe de filtration + pompe a vide (Photo originale, 2024)	47
Figure 19	Préparation des echantillons a titrer (Photo originale, 2024)	48
Figure 20	Titration par EDTA du calcium (Photo originale, 2024)	48
Figure 21	Titration par EDTA du calcium magnesium (Photo originale, 2024)	49
Figure 22	photometre a flamme (Photo originale, 2024)	49
Figure 23	titrage des chlorures (Photo originale, 2024)	50

Figure 24	Dosage du sulfates (Photo originale, 2024)	50
Figure 25	spectrométrie de masse associée à un plasma d'argon à couplage inductif (LCP-MS) (Photo originale, 2024).	54
Figure 26	Etapas d'analyse par ICP-MS.	55
Figure 27	Recherche de la flore aérobie mésophile totale.	58
Figure 28	Recherche et dénombrement des spores d'Anaérobies Sulfito-réductrices.	59
Figure 29	rompe de filtration	60
Figure 30	Préparation des dilutions	62
Figure 31	Recherche et dénombrement des coliformes.	64
Figure 32	Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.	67
Figure 33	Ensemencement dans les différents milieux de culture.	68
Figure 34	Recherche des Staphylocoques.	69
Figure 35	Enrichissement et isolement du Salmonella .	70
Figure 36	Enrichissement et isolement du Vibrio .	71
Figure 37	Recherche des levures et moisissures.	72
Figure 38	Réalisation d'un test d'oxydase.	74
Figure 39	Réalisation d'un test catalase.	75
Figure 40	Réalisation d'un API système 20E.	77
Figure 41	représentation graphique de la flore aérobie mésophiles totale dans l'eau usée.	89
Figure 42	Variations de la flore aérobie mesophile totale dans l'eau de source	89
Figure 43	Représentation graphique des anaérobie sulfito-réducteur dans l'eau usée	91
Figure 44	représentation graphiques des coliformes totaux dans l'eau usée.	92
Figure 45	représentation graphique des coliformes fécaux dans l'eau usée.	93
Figure 46	représentation graphique des streptocoques fécaux des eaux usées.	94

Liste des abréviations

EPH	établissement public hospitalier
OMS	l'Organisation mondiale de la santé
PEm	polluants émergents
Ph	potentiel d'hydrogène
Mes	matière en suspension
RS	résidu sec
MO	matière organique
DBO	demande biochimique en oxygène
DCO	demande chimique en oxygène
TH	titre hydrométrique
°C	degré Celsius
ICP-MS	spectromètre de masse à source ionisante au plasma d'argon
ASR	bactérie Anaérobie Sulfito-Réductrice
Npp	méthode d'ensemencement sur milieu liquide (nombre le plus probable)
CT	coliformes totaux
CF	Coliformes fécaux
GT	germes totaux
Bcpl	Bromo-Cresol Pourpre Lactose.
NTU	l'Unité de Turbidité Néphélométrique
Milieu GNAB	gélose nutritive alcaline et biliee
Milieu SS	gélose salmonella shigella
Milieu TGEA	Glucose-Tryptone-Extrait de Levure
Gelose VF	Gelose viande foie
UFC	unité formatrice de colonies
DAS	Déchets d'activité de soin
Milieu BEA	bile-esculine-azoture
CaCO ₃	carbonate de calcium

Introduction

L'environnement est "la clé d'une meilleure santé", déclare l'OMS (L'Organisation mondiale de la santé), à la Conférence ministérielle "santé et environnement" à Londres en juin 1999. Elle inclut dans le terme Environnement des paramètres physiques liés aux milieux (pollution de l'eau, impact des déchets...) et à l'ensemble des activités humaines (air ambiant, accidents domestiques, violences urbaines...).

Parmi les différentes causes responsables de la dégradation de l'environnement, la génération de déchets issus de diverses activités de production et de consommation et leur mauvaise gestion constituent un facteur majeur de déséquilibre écologique dans un pays en voie de développement comme l'Algérie (**Ladenla Lama, 2016**).

Depuis maintenant plusieurs années, l'Algérie commence à s'intéresser de plus en plus aux problèmes d'environnement. En effet, une multitude de textes de lois ont vu le jour, faisant le bonheur des écologistes et de toutes les personnes consciencieuses de l'environnement.

Cependant, malgré tous ces efforts, il existe encore des secteurs d'activité où aucune législation n'est disponible, et où les rejets sont déversés dans la nature ou bien dans le réseau d'assainissement urbain sans aucun prétraitement. C'est le cas par exemple des hôpitaux et des centres hospitaliers.

Les effluents générés par les activités hospitalières présentent un danger potentiel pour la santé et l'environnement, qui pourrait être à l'origine d'une pollution dont il faut tenir compte dans une démarche générale d'évaluation de ce risque.

Les eaux usées des hôpitaux contiennent de diverses substances toxiques ou persistantes telles que les produits pharmaceutiques, les radionucléides, les solvants et les désinfectants à usage médical dans une large gamme de concentrations (**Chonova et al., 2016 ; Santos et al., 2013 ; Verlicchi et al., 2012**). Des germes bactériologiques, viraux et parasitaires peuvent être évacués avec les eaux ainsi que les produits d'analyses des laboratoires et des salles de soin. les concentrations de micropolluants (par exemple, antibiotiques, analgésiques, métaux lourds) dans les eaux usées des hôpitaux sont entre 4 et 150 fois plus élevées que celles des eaux usées urbaines (**Maheshwari et al., 2016**).

L'établissement public hospitalier Fares Yahia de Miliana, compte parmi les plus importants EPH au niveau de la wilaya d'Ain Defla, de par ses nombreux services, sa capacité litière (210 lits) ainsi que son emplacement qui est considéré comme propice pour la santé des

malades (air frais, calme...). De ce fait le nombre de malade augmente chaque année et c'est ce qui conduit à l'augmentation de la quantité des déchets hospitaliers produite qui a atteint 114226,20Kg/an avec un nombre d'admission de 22728 pour l'année 2024, ce qui finit par constituer une occupation majeure pour les gestionnaires de l'EPH et plus spécialement pour le service d'hygiène responsable de la gestion des déchets hospitaliers qui doivent adopter une politique efficace concernant le circuit de gestion de ces déchets (tri, collecte, stockage, transport, traitement et élimination) considérés comme une source de contamination pour la santé humaine et pour l'environnement.

Les eaux usées de l'hôpital sont déversés dans le réseau d'assainissement de la ville et dégagés à ciel ouvert où ils peuvent se mélanger avec les eaux usées urbaines sans aucun traitement préalable. Ce qui nous a conduit à suivre le long de leur parcours où elles seront acheminées, durant les périodes pluviales, vers un oued situé en aval (**Oued Guergour**) et à analyser une source d'eau potable pas loin de l'hôpital à **Zougala** nommée **Ain Berkouk** ; afin de vérifier s'il y a une éventuelle contamination.

Dans le présent travail, nous présentons une étude sur l'impact environnemental et sanitaire des polluants émergents, précisément dans les eaux usées hospitalières afin, d'une part, de synthétiser les informations nécessaires sur la caractérisation physico-chimique et microbiologique des rejets liquides provenant de l'établissement de santé de la région de Miliana EPH Fares Yahia et, d'autre part, d'évaluer les risques de ces déchets sur la santé humaine et l'environnement.

Afin d'atteindre notre objectif, nous avons développé quatre chapitres :

- Le premier chapitre donne un aperçu bibliographique constitué de deux parties, dont la première comporte des généralités sur les polluants émergents et leurs présence dans les eaux usées hospitalières et dans l'eau de source, et les caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et microbiologiques de ces derniers ; alors que la deuxième partie est consacrée aux impacts de ces déchets sur la santé humaine et l'environnement.
- Le deuxième chapitre Cadre général de la zone d'étude, consacré à la présentation de la zone d'étude de point de vue géographique, hydrographique, géologique, climatologique; et la présentation de la structure hospitalière étudiée (organigramme, services, personnel...).

Introduction

- Le troisième chapitre Matériel et méthodes montre la stratégie de prélèvement dans les deux sites l'eau usée hospitalier et l'eau de source Ain berkouk , les méthodes d'échantillonnage et de conservation des échantillons, les équipements et les méthodes scientifiques utilisées pour faire les analyses physicochimiques et microbiologiques.
- Le quatrième chapitre résultats et discussions particularise la présentation de nos résultats obtenus, qu'on va discuter par la suite.
- Enfin, on termine par une Conclusion générale.

Chapitre I

Généralités

I. Les polluants émergents

I.1. Définition:

Les polluants émergents sont de nature chimique ou biologique. Ces substances non surveillées, présentes dans l'environnement peuvent être d'origine industrielle, agricole, domestique ou naturelle, elles peuvent aussi être le résultat de traitements de dépollution.

La terminologie des polluants « émergents » est issue des travaux du National Research Council dès 1990. Ces travaux ont conduit à définir comme « polluants émergents » des substances n'ayant pas de statut réglementaire et susceptibles d'avoir des effets sur la santé et sur les écosystèmes. Elles peuvent entraîner par exemple des effets neurotoxiques, cancérigènes, mutagènes et des perturbations hormonales. Pour autant, il n'en existe pas de classification normalisée internationalement reconnue.

Parmi les polluants chimiques, on trouve par exemple les substances pharmaceutiques et cosmétiques, les pesticides et les plastifiants. Certains polluants biologiques comme par exemple le prion, l'ADN des bactéries résistantes aux antibiotiques, les virus, les hormones, les toxines font partie de cette catégorie.

I.1.1. Distribution et sources :

Les PEm se retrouvent dans les milieux terrestres et aquatiques du monde entier. Plusieurs études approfondies ont révélé que ces composés se retrouvent dans les eaux de rivière, les eaux municipales et les effluents industriels. La concentration et la détection fréquente des PEm suscitent de sérieuses inquiétudes quant à leurs toxicité et risques potentiels pour l'environnement.

Une fois qu'un polluant émergent est libéré dans l'environnement, par effet de ruissellement par exemple, il peut subir des processus biologiques, physiques ou chimiques. Ces processus dépendent des propriétés chimiques et physiques intrinsèques du PEm, mais également des propriétés du sol et des conditions climatiques.

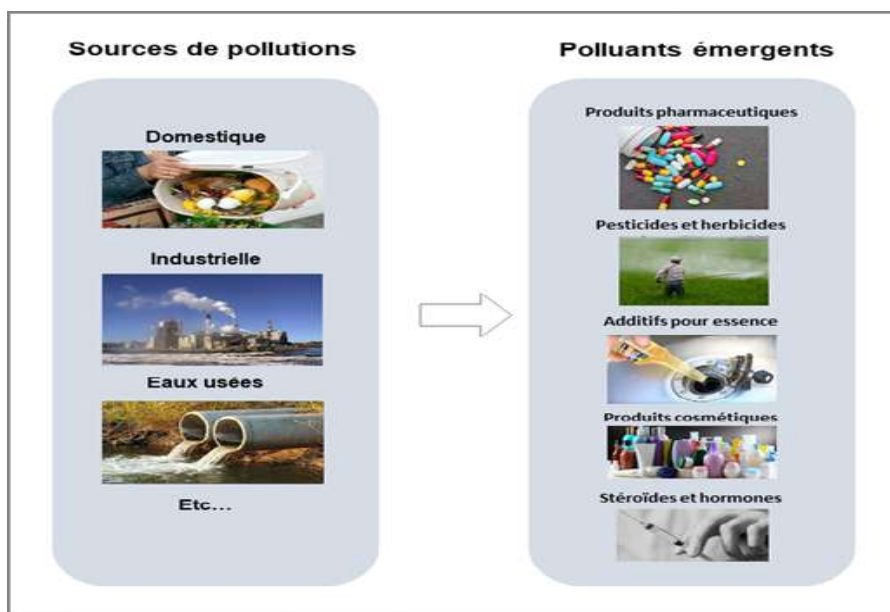


Figure 01: schéma représentatif des sources des polluants émergents

I.2. Eaux usées :

I.2.1. Définition:

Les eaux usées résultent de la pollution tant physico-chimique que bactériologique des eaux de consommation de bonne qualité, du fait des activités humaines, qu'elles soient domestiques, industrielles ou agricoles (**Belokda, 2009**).

Les eaux usées, sont des eaux utilisées et souillées par différentes substances telles que les détergents, les microorganismes (bactéries, virus, parasites), les pesticides, etc.



Figure 02 : eaux usées

Ces eaux usées sont collectées dans un réseau d'égout ; apparaissent comme un liquide trouble généralement grisâtre ; contenant des matières grasses et des autres en suspension d'origine minérale et organique à des teneurs extrêmement variables **(Rodier, 2009)**.

I.2.2. Origine:

La composition des eaux usées est extrêmement variable en fonction de leur origine (industrielle, domestique, agricole ...etc). Suivant l'origine des substances polluantes, on distingue trois catégories d'eaux usées en plus des eaux pluviales **(Abessa et Tabet, 2014)**.

I.2.2.1. Eaux usées d'origine domestique:

Les eaux usées domestiques comprennent :

- Eaux ménagères : provenues de l'évacuation des cuisines et salle de bains. Elles contiennent des détergents, des solvants, des agents de blanchissage et des adoucissants... Les produits nettoyants domestiques sont constitués de milliers de produits chimiques.



Figure 03: Eaux usées de type domestique

- Eaux de vannes (d'évacuation des toilettes) : ces eaux souillées sont chargées de fèces et d'urines, elles sont constituées de matières organiques dégradables et de matières minérales. Ces substances sont sous forme dissoute et en suspension. **(Bengouga, 2010)**.

I.2.2.2. Eaux usées d'origine industrielle :

Tous les rejets résultant d'une utilisation de l'eau autre que domestique sont qualifiés de rejets industriels. ces rejets ont généralement une composition plus spécifique et directement liée au type d'industrie considérée (**Moumene et Djemame, 2011**).

Les déchets et les effluents industriels définissent largement la qualité et le taux de pollution de ces eaux usées. Les industries utilisent une quantité importante d'eau qui tout en restant nécessaire à leur bonne marche, n'est réellement consommée qu'en très faible partie le reste est rejeté (**Bengouga, 2010**).

Ces eaux peuvent être troubles, colorées, et peuvent contenir des matières en suspension, des matières organiques ou minérales dissoutes, des produits acides ou alcalins, des sucres, des huiles, des métaux lourds et des hydrocarbures (**Bedouh, 2014**).

I.2.2.3. Eaux usées d'origine agricole:

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

- Des fertilisants (engrais minéraux ou déjections animales) ;
- Des produits phytosanitaires (herbicides, fongicides, insecticides..etc.). (**Bengouga, 2010**).



Figure 05 :Eaux usées de type agricole

I.2.2.4. Eaux pluviales :

Elles ne sont considérées comme des eaux usées que si elles sont mélangées avec des effluents urbains au niveau des égouts. (**Belokda, 2009**).

Elles correspondent aux eaux ruisselantes sur les routes et les toitures. Elles peuvent constituer la cause de pollution importante de cours d'eau ; notamment pendant les périodes orageuses. Ces eaux sont polluées soit en contact de l'air (fumée industrielle) ; soit en

recupérant les résidus de toitures et de chaussées (huile vidange ; carburant ; morceau de pneu ;...) .elles sont de même nature que les eaux usées domestiques ; avec en plus des métaux lourds et toxiques (plomb ; zinc ; hydrocarbures) provenant essentiellement de la circulation automobile. Lors de précipitations importantes ; les eaux pluviales peuvent arriver en grandes quantité au niveau de la station d'épuration (**Moumene et Djemame, 2011**).

I.3. Les polluants émergents présents dans les eaux usées :

Bon nombre de polluants émergents présents dans les eaux usées sont des perturbateurs endocriniens. Ils entrent dans la composition des pesticides, des médicaments, des produits cosmétiques ou encore des matières plastiques. Ils sont aussi responsables de beaucoup de dommages environnementaux, surtout lorsqu'ils s'accumulent. Le degré de gravité s'est accru au regard de la diversité chimique croissante des composants, de leurs propriétés mais surtout de leurs effets biologiques. Ils n'ont généralement pas encore de statut réglementaire et les traitements conventionnels des eaux usées ne permettent guère de gérer leur élimination. Ces molécules n'ont souvent en commun que leur capacité à perturber le système hormonal des organismes qui y sont exposés.



Figure 04 : Eaux usées de type industrielle

I.4. Les eaux usées hospitalières :

Les substances chimiques utilisées dans les hôpitaux pour les activités de soins et de recherche médicale sont pour une part importante retrouvées dans les eaux usées . Cette forme d'évacuation n'est pas exempte de risques pour les espèces vivantes des écosystèmes qui sont exposés.

Les hôpitaux sont de grands consommateurs d'eau potable. Cette importante consommation en eau des hôpitaux donne naissance à de grands volumes de rejets liquides chargés de micro organismes (dont certains sont multi-résistants aux antibiotiques), de métaux lourds (en particulier le mercure et l'argent) et de produits chimiques toxiques (résidus médicamenteux,

réactifs antiseptiques, détergents, révélateurs et fixateurs de radiographies...), parfois radioactifs. (Darsy, C. *et al* ;2002).

Par rapport aux eaux usées urbaines, les eaux usées des hôpitaux contiennent de diverses substances toxiques ou persistantes telles que les produits pharmaceutiques, les radionucléides, les solvants et les désinfectants à usage médical dans une large gamme de concentrations (Chonova *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2013 ; Verlicchi *et al.*, 2012).

I.4.1.Origine des eaux usées hospitalières :

Les rejets hospitaliers peuvent être classés en trois grandes catégories (Deloffre-Bonnamour, 1995; Emmanuel, 2004) :

I.4.1.1.Les rejets d'origine domestique :

Dans cette catégorie on retrouve les rejets de cuisine , les rejets résultant de l'hygiène des patients non contagieux et du personnel.

I.4.1.2 Les rejets assimilables à des effluents industriels :

ils sont générés par certains équipements spécifiques comme les blanchisseries, chaufferies, climatisations, ateliers, garages .

I.4.1.3 Les rejets spécifiques aux établissements de santé :

Ils sont générés par les activités de soins, d'analyse et de recherche. Cette dernière catégorie est responsable de la singularité des effluents hospitaliers .

- Les rejets liquides spécifiques aux activités médicales comprennent principalement :

I.4.1.3.1. Les rejets des services de soins :

On retrouve dans cette catégorie :

- Les désinfectants et les détergents.
- Les médicaments .
- Les métaux lourds.
- Les germes pathogènes.



Figure 06 : Eaux usées de type pluviales

I.4.1.3.1.1. Les rejets des produits désinfectants et détergents:

L'hôpital est un gros consommateur de produits désinfectants et détergents , compte tenu des problèmes d'hygiène qu'on y rencontre.

Les principaux produits utilisés pour la désinfection des sols , des surfaces et des instruments sont :

- produits chlorés (l'eau de javel).
- produits contenant des aldéhydes (glutaraldéhyde pour la désinfection de matériels médico-chirurgicaux , Formaldéhyde pour la désinfection des circuits d'hémodialyse).

I.4.1.3.1.2 Les rejets médicamenteux :

Les médicaments utilisés dans les établissements de santé sont variés et représentent des quantités importantes. On peut citer : les analgésiques, les antipyrétiques, les antibiotiques, les antiviraux, les antifongiques, les immunodépresseurs et les anticancéreux

On distingue deux voies d'élimination des médicaments, la première et la plus conséquente concerne les excréta et les liquides biologiques, la seconde le circuit d'élimination des médicaments non utilisés et du matériel souillé.

Le circuit d'élimination des médicaments par les patients peut-être représenté par le schéma suivant:

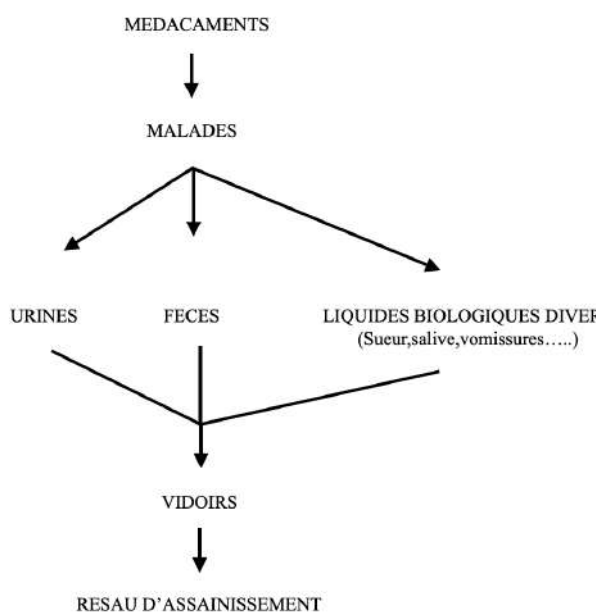


figure 07: Circuit d'élimination des médicaments par les patients (L.THEBAULT)

Suivant la voie d'administration du médicament, il sera plus ou moins métabolisé par l'organisme et on retrouve donc en partie les médicaments et les métabolites dans le réseau des eaux usés. Pour certains médicaments cela peut poser de graves problèmes de santé publique et d'environnement si aucune précaution n'est prise quant à leur rejet notamment. pour les anticancéreux.

I.4.1.3.1.3. Les rejets contenant les métaux lourds :

Les métaux lourds sont des révélateurs et fixateurs de radiographies, on peut les retrouver dans les rejets hospitaliers principalement l'argent et le mercure.

Le mercure étant un métal très dangereux puisqu'il est très toxique. On le retrouve accidentellement dans les eaux usées suite à des thermomètres cassés. Certaines sondes gastriques, certains antiseptiques et la colonne des tensiomètres manuels...contiennent également du mercure.

I.4.1.3.1.4. Les rejets contenant les germes pathogènes :

L'hôpital est un lieu où sont concentrées des personnes potentiellement porteuses de germes pathogènes et où peuvent se développer des infections nosocomiales causées par (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, etc.).

En effet, il peut exister plusieurs sources de rejet d'éléments pathogènes à l'hôpital. Des germes bactériologiques, viraux et/ou parasitaires peuvent être évacués avec les eaux vannes et avec les produits d'analyses des laboratoires s'il n'existe pas de systèmes de récupération ou de traitement spécifiques.

L'utilisation intensive d'antibiotiques à l'hôpital de certaines souches bactériennes peuvent développer des facultés de polyrésistance aux antibiotiques.

Le danger de pollution peut donc être accentué par la présence de ces germes dans le réseau d'assainissement public.

I.4.1.3.2. Les rejets des services médico-techniques:

Les services concernés sont :

- Salles d'opération
- L'hémodialyse
- La radiologie
- Les laboratoires d'analyses et Pharmacie
- La médecine nucléaire

I.4.1.3.2.1. Salles d'opération :

dans lesquels on retrouve entre autres des liquides biologiques très chargés en matières organiques : sang, urines, selles, liquide gastrique, aspiration trachéo-bronchite, liquides d'épanchement péritonéal ou pleural, de drainage ou d'irrigation, etc.

I.4.1.3.2.2. L'hémodialyse :

Les rejets de ce service sont de deux types:

- rejet consécutif au traitement du malade : le principe des appareils d'hémodialyse fonctionne par des procédés de transfert de toxines à travers une membrane depuis le sang du patient vers le circuit de dialysat. Des rejets liquides seront donc générés et qui dans la majorité des cas se déversent à l'égout. Or ils peuvent être chargés en produits chimiques (médicaments...) et facteurs infectieux.
- rejet de désinfection des appareils: les protocoles de désinfection du matériel utilisent des produits chimiques tels que le formol ou l'eau de javel. Les rejets s'effectuent directement dans le réseau à l'égout.

I.4.1.3.2.3. La radiologie :

Il s'agit des effluents photographiques générés lors du développement des films radiologiques sur support papier ou film. La technique utilise des produits chimiques de contraste et consomme une grande quantité d'eau en particulier pour les bains de rinçage chargés en résidus argentiques (les sels d'argent) dans les eaux usées. Or ces produits sont des sources de pollution importante.

I.4.1.3.2.4. Les laboratoires d'analyses et Pharmacie :

Dans le cadre de leurs activités (travaux et analyses, nettoyage des appareils), les laboratoires utilisent différents produits chimiques (solvants, acides, bases, produits radioactifs, produits de rinçage...) et manipulent des liquides biologiques (sang, urines, selles, expectorations, cellules...) plus ou moins infectieux. Ces produits présentent des dangers pour l'environnement et pour l'homme rendant nécessaire des mesures particulières d'utilisation et d'élimination.

Les rejets provenant de la pharmacie (préparation de la teinture d'iode, désinfectants, etc.).

La pharmacie utilise également dans ses activités des produits chimiques dangereux pour l'environnement et la santé publique. Cependant, de part sa fonction de pharmacovigilance celle-ci est plus apte à évaluer les risques et par conséquent à prendre des mesures adaptées pour éviter ces risques de pollution.

I.4.1.3.2.5. La médecine nucléaire :

Pour le diagnostic et les thérapies ou pour des finalités thérapeutiques, ce service manipule des éléments radioactifs (iode 131, technétium 99m, etc.) sont susceptibles de dispersion, même si leur évacuation est soumise à réglementation.

Ce service génère des déchets solides mais aussi des déchets liquides provenant :

- des laboratoires de préparation et de manipulation.
- des sanitaires de l'unité
- des chambres protégées réservées à l'hospitalisation des patients faisant l'objet d'une thérapie anticancéreuse.

I.5. Impact environnemental et sanitaire des eaux usées hospitalières :

Les effluents générés par l'activité hospitalière peuvent présenter un danger potentiel pour l'homme et son environnement compte tenu de la nature, la quantité et la qualité des substances spécifiques qu'ils contiennent et en raison de leur évacuation, au même titre que les rejets urbains classiques, vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable.

Le rejet de ces effluents dans le réseau d'assainissement communal ou dans le milieu naturel représente une contribution significative à la contamination générale de l'environnement, et plus particulièrement des milieux aquatiques (**Jolibois et al. ,2002**).

Le contact des polluants hospitaliers avec les éléments des écosystèmes aquatiques conduit à un risque dit "écotoxicologique" lié à l'existence de substances qui ont la potentialité d'exercer des effets négatifs sur l'équilibre biologique des milieux naturels (**Emmanuel et al., 2004**)

-On peut répartir les risques des effluents hospitaliers en plusieurs catégories :

1. Les Risques infectieux ou biologiques
2. Les Risques chimiques et toxiques
3. Les risques lie aux médicaments
4. Les risques lie aux métaux lourds
5. Les Risques radioactifs

I.5.1. Les Risques infectieux ou biologiques

Ce risque est lié aux différents micro-organismes pouvant être véhiculés par le sang et les liquides biologiques. La flore hospitalière est composée à la fois de la flore des malades et des germes de l'environnement (sols, surfaces, matériels, eau, air...etc.) .Ainsi, les germes pathogènes que l'on trouve dans les eaux usées hospitalières peuvent être :

- Des bactéries présentes dans les selles ou les urines (Salmonelles, Shigellaspp.Coliformes, etc).
- Des bactéries responsables d'infections nosocomiales (Staphylocoques, Streptocoques, Pseudomonas...).
- Des virus (entérovirus, rota virus...); Des parasites (amibes, taenia, ascaris, champignons...).
- Les agents infectieux strictement pathogènes responsables d'infections contagieuses.

Ils proviennent des patients atteints de tuberculose, varicelle, infections à méningocoques, sida etc....

On trouve aussi des agents pathogènes dans les liquides biologiques des malades (sang...etc.) provenant des blocs opératoires et laboratoires d'analyse, les effluents chargés de matières organiques, de microorganismes, d'antiseptiques, de détergents et de désinfectants ainsi que de solutions chlorées.

Ces risques infectieux peuvent être liés soit aux malades ou bien aux activités de soin.

a. Les risques infectieux liés au malade

Certains patients sont plus à risques de contracter une infection nosocomiale. Il s'agit de patients porteurs de pathologies chroniques :

- Diabète

- Insuffisance rénale
- Insuffisance hépatique
- Incontinence urinaire
- Immunodépression (aplasie, leucopénie, leucémie, cancer, SIDA).

Certaines pathologies aiguës motivant l'hospitalisation :

- Polytraumatismes
- Brûlures
- Défaillance viscérale aiguë

b. Les risques infectieux liés aux soins :

La nature et la qualité des soins qu'ils soient diagnostiques ou thérapeutiques, influent sur le risque de contracter une infection nosocomiale. Nous retrouvons notamment:

- Les interventions chirurgicales: Le risque d'infection de plaie opératoire est inégal selon le type d'intervention pratiquée.
- Les actes invasifs: Dans le cadre de l'activité des actes en obstétrique et néonatalogie, on retrouve surtout le sondage urinaire, le cathétérisme veineux, la ponction, l'intubation-ventilation, la coelioscopie, le drainage de liquide amniotique Toute insuffisance dans l'organisation des soins créent de nouvelles portes d'entrée potentielles d'infection.

Le personnel de soin qui au quotidien en contact des déchets d'activité de soin , est le plus susceptible de contracter des infections virales comme les hépatites B et C par l'intermédiaire des objets piquants et/ou tranchants contaminés.

I.5.2. Les risques chimiques et toxiques:

Ces risques sont liés aux produits chimiques rejetés sans précaution et contribuent à la pollution du réseau de rejet d'eaux usées. Certains produits peuvent avoir un pouvoir toxique allergisant, mutagène, tératogène. Ils peuvent se trouver en très faible quantité compte-tenu de la dilution dans les eaux usées. Le risque toxique concerne à la fois l'environnement et la santé publique.

Le contact avec ces produits se fait par différentes voies d'expositions : par inhalation d'aérosols, par contact cutané ou sur les muqueuses ou par ingestion (**Ahmed Fassi Fihri, 2016**).

Les eaux hospitalières peuvent être contaminées par des métaux lourds et par des molécules organiques.

Les composés chimiques présents dans les eaux usées hospitalières peuvent altérer la qualité du sol, affectant ainsi sa capacité à maintenir la biodiversité et la productivité agricole.

I.5.3. Le risque toxique liés aux médicaments

les médicaments administrés aux humains et aux animaux domestiques (antibiotiques, hormones, antalgiques, tranquillisants et radioéléments) ont été mesurés dans les eaux de surface, dans les eaux souterraines, et dans l'eau potable.

Des études réalisées en Angleterre révèlent la présence de médicaments à des concentrations supérieures à 1µg/L dans les écosystèmes aquatiques. (**WATTS, C 2001**)

Les médicaments dans les écosystèmes aquatiques peuvent adopter, en termes de devenir, l'un des 3 trois principaux états possibles:

une substance totalement oxydée: elle aboutit au dioxyde de carbone et à l'eau (l'aspirine ,et presque tous les analgésiques) .Cet état peut être assimilé à l'éco compatibilité de la substance.

La substance est lipophile: difficilement dégradable, mais une partie de la substance est adsorbée par les boues de la station d'épuration des eaux usées (STEP). (l'Oxytetracycline et certains antibiotiques).

Une substance métabolisée qui donne naissance à des métabolites hydrophiles différente des molécules mères (lipophiles).

Cependant les deux molécules mère et fille sont rémanentes et passent au travers des mécanismes épuratoires de la STEP pour se retrouver dans les milieux récepteurs, ce qui peut

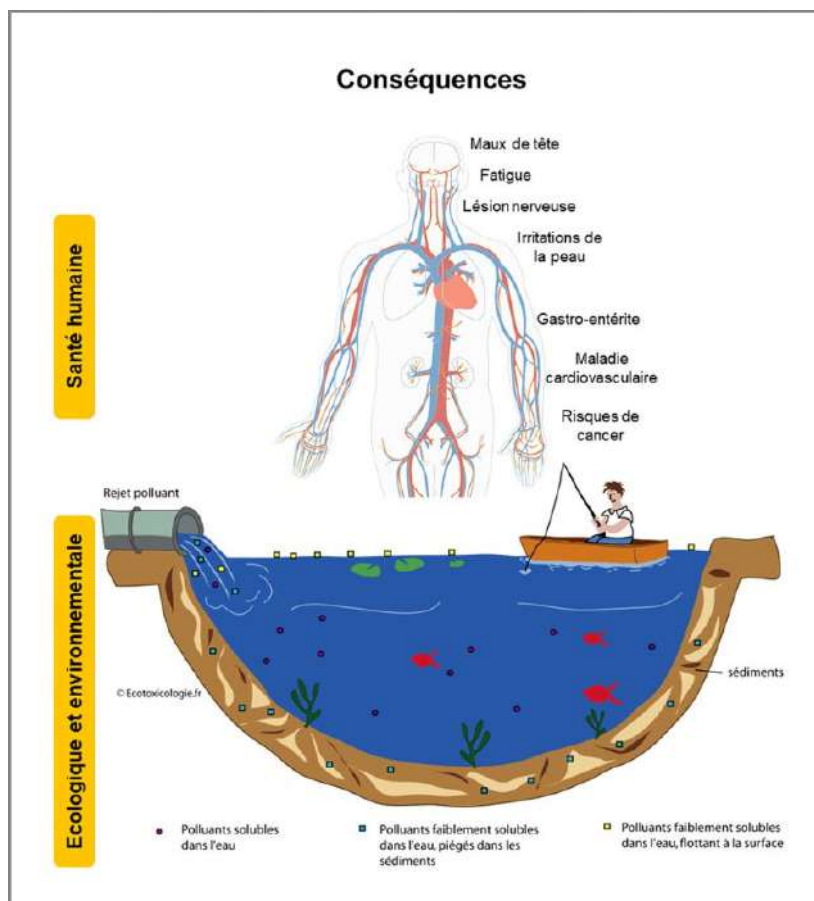


Figure 08 : schéma représentatif des conséquences des eaux usées sur l'environnement et la santé humaine.

donner naissance à un risque pour les organismes aquatiques au cas où les métabolites sont actifs.

Dans la littérature, de nombreuses études, (**Emmanuel *et al.*, 2004**) ont portées sur l'action de trois grands groupes de médicaments:

- les hormones sexuelles qui sont des perturbateurs endocriniens, ont des effets sur les organismes aquatiques à des concentrations inférieures à $1\mu\text{g/L}$.
- les antibiotiques (**Branchereau, V., Fauchon, N., &Thibert,S 2006**) parce qu'ils contribuent au développement de la multi résistance des bactéries, ils posent de sérieuses menaces à la santé publique pour le traitement et pour le contrôle de certaines maladies infectieuses
- les antitumoraux ou agents cytostatiques pour leur génotoxicité,et leur impact potentiel sur la santé et sur l'environnement (**Besse, J. P., &Garric, J 2007**).ils sont reconnus comme les

médicaments les plus toxiques (Emmanuel, Evens.).ils sont pratiquement non biodégradables, ils restent omniprésents dans les STEP et dans les milieux naturels avec tous les risques de génotoxicité qu'ils présentent.

I.5.4. Les risques liés aux métaux lourds:

Le mercure est un métal lourd, liquide à température ambiante, est très utilisé en milieu hospitalier via les thermomètres. Aujourd'hui, étant donné le risque toxique qu'il représente, son utilisation tend à décroître fortement (en moyenne 6 thermomètres/lit/an soit 2g de Hg). Il présente un risque lorsqu'il se casse, il se disperse sous forme de petites billes difficilement récupérables.

En Algérie, les rejets de mercure sont éliminés par le réseau d'eau usée et contribuent à la contamination diffuse de l'atmosphère et du milieu aquatique. Dans les sédiments des rivières où il est stocké, le mercure métal est transformé en mercure organique par les bactéries. Il est alors absorbé par le plancton puis s'accumule dans les poissons.

Ce phénomène de bioaccumulation dans la chaîne alimentaire est considérable : la concentration dans les poissons prédateurs est de plusieurs milliers de fois celle de l'eau. La consommation régulière de poissons fortement contaminés peut provoquer des désordres neurologiques graves.

Le mercure est aussi présent dans divers réactifs et facteurs chimiques. Il est ajouté à certains produits en tant qu'ingrédient actif ou agent de conservation, et il peut être présent dans d'autres en tant que contaminant. Même les appareils, le matériel et les instruments de laboratoire qui ont été en contact avec des réactifs contenant du mercure peuvent être des sources de contamination au mercure qu'il est difficile de mettre en évidence en raison de la longue période de rétention du mercure.

L'argent et les produits de traitement et de développement des surfaces photosensibles à base argentiques peuvent aussi se trouver dans les eaux résiduaires. Pour ce, les installations

doivent être soumises aux normes des teneurs en Argent. Les sels d'argent seront alors, récupérés au niveau des bains de développement.

Selon l'organisation mondiale de santé, les organes cibles des métaux lourds sont variés:

- Les ions métalliques se fixent sur les globules rouges (Pb, Cd, CH₃Hg).
- Les métaux s'accumulent dans le foie et les reins (organes très vascularisés).
- Les dents et les os accumulent le plomb.

D'autre part, les métaux solubles dans les lipides comme le plomb tétraéthyl ou le méthylmercure peuvent pénétrer dans le système nerveux central et causer des troubles dans diverses fonctions.

Tableau 1 : Risques sanitaires liés aux métaux lourds

Métaux lourds	toxicité
plomb	troubles du système nerveux, affection du foie et des reins
cadmium	Affections respiratoires et troubles rénaux.
mercure	Troubles du système nerveux (mémoire, fonctions sensorielles de coordination)
Nickel	Maladies respiratoires, asthme, malformations congénitales et cancers.

I.5.5. Les Risques radioactifs :

Correspond aux risques d'irradiations par des éléments radioactifs qui sont généralement utilisé dans certains diagnostics et thérapies. (Ahmed Fassi Fihri, 2016).

La médecine nucléaire est génératrice de déchets radioactifs. La réglementation concernant les conditions d'utilisation et d'élimination des produits radioactifs étant très stricte, les risques sont minimes. En effet, la collecte et le stockage des effluents contaminés doivent être effectués dans des cuves tampons. Les temps de séjour dans les cuves sont variables suivant la nature et l'origine du produit. L'évacuation des effluents dans le réseau se fait à partir d'un certain seuil d'activité résiduelle fixé. Des cuves de stockage reçoivent les effluents provenant des sanitaires spéciaux (services de radiothérapie). Les urines des malades

chargés en iode 131 sont stockées pendant un temps correspondant à 10 périodes. Avant le rejet manuel, des mesures de radioactivité doivent être réalisées.

La pollution radioactive arrivant en station d'épuration intervient en cas de fuite ou d'accidents. Il existe également un risque de pollution avec des patients injectés non soumis à un contrôle particulier après leur injections.

I.6. Les eaux de source souterraine :

I.6.1.Définition :

Les eaux de source sont définies comme étant des eaux d'origine exclusivement souterraine, adaptées à la consommation humaine, microbiologiquement saines et protégées contre le risque de pollution (**Hazzab, 2011**).

Les eaux de sources sont des eaux qui doivent répondre à l'émergence, aux critères de potabilité et ne peuvent subir des traitements (DEGREMONT, 1989). Selon le décret exécutif N° 04-195 du 15 Juillet 2004, article 2 chapitre 1 de la législation algérienne, une eau de source est une eau d'origine souterraine, apte à la consommation humaine, microbiologiquement saine et protégée contre les risques de pollution.

I.6.2. Les polluants émergents présentent dans les eaux de sources:

Les polluants émergents dans les eaux de sources sont des substances chimiques qui n'étaient pas précédemment surveillées ou réglementées, mais qui sont devenues préoccupantes en raison de leur présence croissante et de leurs effets potentiels sur la santé humaine et l'environnement. Parmi les polluants émergents souvent observés dans les eaux souterraines: (**Kümmerer, K. 2009**).

I.6.2.1. Produits Pharmaceutiques :

Les médicaments consommés par les humains, tels que les antibiotiques, les analgésiques, les contraceptifs hormonaux, et les médicaments psychiatriques, sont souvent excrétés en partie non métabolisée dans les urines et les selles. Ces résidus se retrouvent dans les systèmes d'assainissement et, lorsque les stations d'épuration ne sont pas entièrement efficaces, ils peuvent contaminer les sources d'eau. (**Berryman, D. et al .2014**).

I.6.2.2. Produits chimiques utilisées dans l'agriculture:

Les produits chimiques utilisés dans l'agriculture, tels que les pesticides, les herbicides (comme le glyphosate) et les engrais, peuvent être lessivés par les pluies et le ruissellement, se retrouvant dans les rivières et les nappes phréatiques qui alimentent les sources d'eau. (Lapworth, D. et al .2012).

I.6.2.3. Rejets Industriels:

Les effluents industriels peuvent contenir des produits chimiques comme les phtalates, le bisphénol A (BPA), et d'autres composés organiques persistants. Ces produits peuvent se retrouver dans les systèmes d'assainissement et contaminer les sources d'eau si les installations de traitement ne les éliminent pas complètement.(Lapworth, D. et al .2012).

I.6.2.4. Rejets Hospitaliers:

Les hôpitaux génèrent des effluents contenant des résidus de médicaments, des agents pathogènes, et des produits chimiques désinfectants. Lorsque ces effluents ne sont pas correctement traités, ils peuvent se retrouver dans les sources d'eau.(Pal, A., et al .2010)

I.6.2.5. Décharges et Sites d'Enfouissement:

Les sites de décharges, où les déchets municipaux et industriels sont enfouis, peuvent produire des lixiviats contenant divers polluants. Ces lixiviats peuvent s'infiltrer dans le sol et contaminer les nappes phréatiques et les sources d'eau. (Aliouche, S. Et al.2017)

I.6.2.6. Ruissellement Urbain :

Les zones urbaines peuvent générer des polluants tels que les hydrocarbures, les métaux lourds, et les résidus de produits chimiques utilisés dans l'entretien des espaces verts. Lors de pluies, ces polluants peuvent être transportés par le ruissellement vers les cours d'eau et les sources.(Tedoldi, D. 2017).

I.7.Caractérisation des eaux usées hospitalières et l'eau de source :**I.7.1.Caractérisation physico-chimiques:**

I.7.1.1. Température :

La température est un facteur écologique important pour la vie aquatique. Elle est également importante pour certains usages industriels (refroidissement) et pour l'eau potable (**VALIRON, 1989**). Elle joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissouts, donc sur la conductivité électrique dans la détermination du pH, pour la connaissance de l'origine de l'eau et les mélanges éventuels. D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et ceci d'autant plus que leurs origines est moins profonde (**RODIER, 1996**).

I.7.1.2. Le potentiel hydrogène (pH) :

Le pH mesurant l'acidité d'une solution, est défini par l'expression $\text{pH} = -\log \text{H}^+$ où (H^+) est l'activité de l'ion hydrogène H^+ dans la solution (**Ramade, 1998**).

Les équilibres physicochimiques sont conditionnés par le pH. Il intervient avec d'autres paramètres comme la dureté, l'alcalinité et la température, (**Bremond et Vuichard, 1973**).

I.7.1.3. La conductivité électrique :

La conductivité est la propriété que possède l'eau pour favoriser le passage d'un courant électrique. Elle est due à la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. Elle dépend de la nature de ces ions dissouts et de leurs concentrations.

La concentration de l'espèce ionique dans la solution est directement proportionnelle à la conductivité.

La plupart des sels minéraux en solution sont de bons conducteurs. Par contre, les composés organiques sont de mauvais conducteurs.

La mesure de la conductivité constitue une bonne appréciation du degré de minéralisation d'une eau où chaque ion agit par sa concentration et sa conductivité spécifique. Elle s'exprime généralement en millisiemens par mètre (mS /cm).

I.7.1.4. La Salinité :

La salinité totale d'une eau correspond à la somme des cations et des anions présents exprimée en mg/l.

I.7.1.5. La turbidité :

La turbidité d'une eau est due à la présence des matières en suspension finement divisés : argile, limons, grains de silice, matières organiques, etc.

La mesure de turbidité a donc un grand intérêt dans le control de l'épuration des eaux brutes. (RODIER, 1996).

I.7.1.6. Les résidus secs :

Les Résidus secs obtenus par évaporation, représentent les matières dissoutes et en suspensions d'une eau .

I.7.1.7. La demande biologique en oxygène (DBO5):

C'est la quantité d'oxygène que les bactéries utilisent pour décomposer partiellement ou pour oxyder totalement en CO₂ les substances organiques dans l'eau, en un temps donné, à l'aide de leur système enzymatique

La demande biochimique en oxygène est la quantité d'oxygène en mg/l consommée dans les conditions de l'essai de l'incubation à 20 °C et pendant 5 jours à l'obscurité pour assurer par voie biologique l'oxydation des matières organiques biodégradables présents dans l'eau usée (TARADAT et HENRY, 1992).

I.7.1.8. La demande chimique en oxygène (DCO):

La demande chimique en oxygène est la quantité d'oxygène consommée par les matières existantes dans l'eau et oxydable dans des conditions opératoires bien définies (RODIER,1996).

Elle est d'autant plus élevée qu'il y'a des corps oxydables dans le milieu. L'oxygène affecte pratiquement la totalité des matières organiques biodégradables et non biodégradables présents dans l'eau usée.

La DCO est mesuré en mg d'O₂/l (TARADAT et HENRY, 1992).

I.7.1.9. Matières en suspension (MES) :

C'est la quantité de pollution organique et minérale non dissoute dans l'eau (Gomella et Gueree, 1978). Les matières en suspension, et particulièrement la fraction décantable de celles-ci, peuvent constituer à l'aval du rejet des dépôts qui empêchent la vie d'une faune et d'une flore et dégradent la qualité de l'eau sous-jacente par le produit des fermentations. Les MES contribuent aussi à déséquilibrer le milieu aquatique en accroissant la turbidité, elles peuvent avoir un effet néfaste direct sur l'appareil respiratoire des poissons (**Gaid, 1993**)

I.7.1.10. Teneur en calcium :

Composant majeur de la dureté de l'eau, le calcium est généralement l'élément dominant des eaux potables. Il existe surtout à l'état d'hydrogénocarbonates et en quantité moindre, sous forme de sulfates, chlorure...etc.

Les eaux potables de bonne qualité renferment de 100 à 140 mg/l de calcium soit 150 à 200 mg en CaO ou 250 à 350 mg en CaCO₃, les eaux qui dépassent les 500 mg/l présente de sérieux inconvénient pour les usages domestique et pour l'alimentation des chaudières (**RODIER et al 2005**).

I.7.1.11. Teneur en Magnésium :

Le magnésium est un des éléments les plus répandus dans la nature. Il constitue environs 2.1% de l'écorce terrestre. Il est un élément indispensable pour la croissance. Il intervient comme élément plastique dans l'os et comme élément dynamique dans les systèmes enzymatique et hormonaux. Le magnésium constitue un élément significatif de dureté de l'eau (**Rodier 2009**). La dureté magnésienne de l'eau représente ordinairement le tiers de la dureté totale. Le magnésium en excès donne un goût amer à l'eau (**Kettab 1992**).

I.7.1.12. Dureté ou titre hydrométrique (TH):

La dureté ou titre hydrotimétrique d'une eau est une grandeur reliée à la somme des concentrations en cations métalliques, à l'exception de ceux des métaux alcalins (Na⁺, K⁺), dans la plupart des cas, la dureté est surtout due aux ions calcium Ca²⁺ et magnésium Mg²⁺.

I.7.1.13. Sodium et Potassium:

Le sodium est un élément dont la concentration dans l'eau varie d'une région à une autre. Pour les doses admissibles de sodium dans l'eau. Il faut qu'il ne dépasse pas 200 mg/l. cependant les eaux trop chargées en sodium devienne saumâtre et prennent un goût désagréable (**TARDAT 1992**).

Le potassium est un métal alcalin, étroitement rattaché au sodium à tel point, qu'il est rarement analysé comme un constituant à part dans les analyses de l'eau (**MARCIER 2000**). La teneur en potassium dans les eaux naturelles est de l'ordre de 10 à 15 mg/l. A cette concentration, le potassium ne présente pas d'inconvénients pour la santé des individus (**RODIER 2009**).

I.7.1.14. Le chlorure :

Les chlorures sont présents en grande quantité dans l'eau de mer. Leur concentration dans l'eau de pluie est approximativement de 3mg/l. Les chlorures sont très répandus dans la nature généralement sous forme de sels du sodium (NaCl), de potassium (KCl) et de calcium (CaCl₂) (**Ayad, 2016**).

Les teneurs en chlorures (Cl⁻) des eaux sont extrêmement variées et liées principalement à la nature des terrains traversés. Ainsi, les eaux courantes non polluées ont souvent une teneur en chlorure. Elles peuvent également provenir d'une pollution organique par les pesticides organochlorés et les détergents. Dans l'eau, le chlorure n'a ni odeur, ni couleur, mais peut procurer un goût salé (**Chelli, Djouhri et al, 2013**).

I.7.1.15. Sulfates :

Elles sont rencontrées sous forme de sulfates de magnésium et sous forme calcique dans les eaux dures. A fortes concentrations, ils peuvent provoquer des troubles gastro-intestinaux (en particulier chez les enfants). Ils peuvent aussi conférer à l'eau un goût désagréable (**TARDAT 1992**).

I.7.1.16. Nitrates (NO₃⁻) :

Les nitrates constituent la forme oxydée finale de l'azote. Leur présence dans l'eau atteste d'une bonne récupération en cas de pollution organique. L'activité humaine est indubitable

dès que l'on observe des concentrations dépassant 12 mg/l. Les NO_3^- peuvent aussi provenir des eaux usées domestiques et parfois même des eaux industrielles (**Gueroui, 2015**).

I.7.1.17. Nitrites (NO_2^-) :

Considéré comme un élément toxique, le NO_2^- est la forme la moins stable dans le cycle de l'azote. Il est issu de la réduction de l'ammonium NH_4^+ . Son origine est liée à l'agriculture et aux rejets urbains. Le nitrite étant toxique pour l'organisme humain la présence en quantité importante dégrade la qualité de l'eau (**Benoughidene et Bouteffas, 2016**).

I.7.1.18. L'ammonium (NH_4^+) :

L'ammonium représente la forme ionisée de l'azote ammoniacal, on les trouve souvent à des teneurs variant entre 0.1 et 0.2 mg/l, il n'a pas d'effet appréciable sur la santé des consommateurs, mais sa présence dans l'eau 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 distribution (**Benoughidene et Bouteffas, 2016**).

I.7.1.19. Phosphates :

Les phosphates sont généralement responsables de l'accélération du phénomène eutrophisation dans les lacs ou les rivières. S'ils dépassent les normes, ceux-ci sont considérés comme indice de contamination fécale entraînant une prolifération des germes (**Rodier et al 2005**). Concentration maximale admissible de phosphate en eau potable est 0.5 mg/l (TARDAT 1992).

I.7.1.20. Matières organiques :

Les matières organiques susceptibles d'être rencontrées dans les eaux sont constituées par des produits de décomposition d'origine animale ou végétale, élaborés sous l'influence des microorganismes. L'inconvénient des matières organiques est de favoriser l'apparition de mauvais goût qui pourra être augmentés par la chloration (**BERNE. F et al 1991**).

Une eau riche en matière organique doit toujours être suspectée de contamination bactériologique ou chimique. Leur teneur est appréciée, le plus souvent, par des tests tels que la réduction du permanganate de potassium en milieu acide et en milieu alcalin.

I.7.2.Caractérisation toxicologiques (métaux lourds):

Les métaux lourds peuvent être définis comme tout métal ayant une densité supérieure à 5 g/cm³, tout métal ayant un numéro atomique élevé, en général supérieur à celui du Sodium (Z=11), tout métal pouvant être toxique pour les systèmes biologiques (**Ghali Souad,2008**) tels que l'arsenic, le cadmium, le chrome, le cuivre, le plomb, mercure, nickel et zinc (**Paulina A.K. et al**)et présentant un danger pour l'environnement. Ils sont naturellement présents dans l'environnement - que ce soit dans les réservoirs d'eau, dans l'atmosphère ou dans le sol (**Paulina A.K. et al**). Selon l'effet physiologique et toxique, on distingue deux types des métaux lourds, métaux essentiels et métaux toxiques (**Sedira N .2012-2013**).

I.7.2.1.Métaux essentiels :

Les métaux essentiels sont des éléments indispensables, à l'état de traces, pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en très faible proportions dans les tissus biologique. Par ailleurs lorsque ils atteignent des taux très élevés ou ils dépassent certain seuil, ils peuvent devenir très toxiques pour l'organisme c'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe).

I.7.2.2.Métaux toxiques :

Les métaux non essentiels n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule mais présentent un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration, c'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg) et du cadmium (Cd) .(**Kadouche S. 2013**).

I.7.3 Caractérisation microbiologiques:

I.7.3.1 La flore aérobie mésophile total:

- Caractères généraux :

comprend l'ensemble de micro-organismes, y compris des bactéries, des levures et des moisissures, qui poussent dans des conditions aérobies (en présence d'oxygène) et à des températures mésophiles (température modérée). Ils peuvent être présents dans divers environnements tels que le sol, l'eau, l'air, les aliments, etc. Ces bactéries sont souvent utilisées comme indicateurs pour évaluer la qualité microbiologique et l'hygiène des aliments, de l'eau, et d'autres produits. Ils renseignent aussi sur le degré de protection des nappes souterraines d'où provient l'eau à analyser.

- Pouvoir pathogène :

Certaines bactéries de cette flore peuvent être pathogènes, mais la plupart sont non pathogènes ou saprophytes (elles se nourrissent de matière organique morte). Les pathogènes potentiels dans cette catégorie peuvent inclure des bactéries comme *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens*, qui peuvent causer des intoxications alimentaires. Ces bactéries peuvent produire des toxines, provoquer des gastro-entérites, et, dans certains cas, des infections plus graves, surtout si les conditions de stockage ou de préparation des aliments sont inappropriées.

I.7.3.2. Anaérobies sulfite-réducteur (ASR) :

- Caractères généraux :

Les Anaérobies sulfite-réducteur sont des germes capables de sporuler et de se maintenir longtemps dans l'eau. Ils sont donc les témoins d'une pollution ancienne. Plus difficilement tués que les coliformes par les désinfectants (Larpen, 1988). Elles se développent en conditions anaérobies forment des colonies dénombrables typiques dans un milieu au sulfite de fer (**Dromgny, 2012**). Elles réduisent les sulfites en sulfures dans des conditions anaérobies. La présence de spores de bactéries ASR dans les eaux, sans flore d'accompagnement un véritable indice de contamination ancienne. (**Lalami, et al**).

- Pouvoir pathogène :

peuvent causer diverses infections et maladies telles que les Infections Gastro-intestinales (comme la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse.) et les abcès intra-abdominaux, les infections pelviennes et les infections postopératoires.

I.7.3.3. Les coliformes:

Sous les termes coliformes sont regroupées certaines espèces bactériennes appartenant à la famille des enterobacteriaceae.

Selon l'organisation internationale de standardisation (ISO) se sont des: bacilles à gram négatif, non sporogène, oxydase négative, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaire ou d'autres agents de surface possèdent des activités inhibitrices des croissances similaires et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhydes en 48 heures (**Franck, 2002**).

On distingue dans l'analyse des eaux deux groupes au plan nosologique. (**Ramade, 1998**).

a. les coliformes fécaux :

- Caractères généraux :

Les coliformes thermotolérants sont un sous-groupe des coliformes et sont capables de survivre et de croître à 44°C. La détection d'un seul coliforme fécal/100 ml entraîne un avis immédiat de faire bouillir l'eau. En période estivale, en particulier lorsque la température de l'eau dépasse 15°C, des proliférations de bactéries sont parfois observées de manière récurrente dans certains réseaux de distribution (**Chevalier, 2003**).

sont des indicateurs de contamination fécale et de la présence potentielle de pathogènes dans l'eau ou les aliments.

- Pouvoir pathogène :

Ils peuvent causer de graves infections gastro-intestinales, se manifestant par des diarrhées, des crampes abdominales, et parfois des complications sévères comme le syndrome hémolytique et urémique (SHU) (le cas des *E. coli*); Ces bactéries peuvent aussi être responsables d'infections urinaires, de septicémies et de méningites, en particulier chez les jeunes enfants, les personnes âgées, et les individus immunodéprimés.

b. les coliformes totaux :**- Caractères généraux :**

Elles sont largement répandues dans les eaux de distribution et peuvent donc être confondues avec les coliformes fécaux, leur température optimale de croissance se situant entre 30°C. Elles sont incapables de se multiplier à haute température (supérieure à 42°C) mais capable de se multiplier à 4°C. (Franck, 2002).

- Pouvoir pathogène :

peuvent être indicateurs de contamination fécale et de la présence potentielle de pathogènes dans l'eau ou les aliments, pouvant causer des gastro-entérites, des infections urinaires, et d'autres maladies infectieuses.

I.7.3.4. Streptocoques fécaux:**- Caractère généraux :**

Bactéries de gram positive, sphériques à ovoïdes, formant des chaînettes. Sporulées, catalase négative, cultivant en anaérobiose à 44°C et capable d'hydrolyser l'exuline en présence de 40% de bile. (Franck, 2002).

Parmi les streptocoques, seules les espèces de streptocoques des groupes D constituent des indicateurs témoins de contamination fécale dans les eaux .

-Pouvoir pathogène :

Elles peuvent causer des **Infections cutanées** Comme l'impétigo, la cellulite, et l'érysipèle, principalement causées par *S. pyogenes*. Ou des **Infections respiratoires** (*Streptococcus pneumoniae*) et des **Pharyngites streptococcique** (angine streptococcique) une infection fréquente de la gorge causée par l'agent pathogène *Streptococcus pyogenes* .

I.7.3.5. les bacteries pathogenes :**a. Staphylocoques :****- Caractères généraux :**

Les staphylocoques sont des cellules sphérique de 0.5 à 25 um, généralement regroupées en amas, ils sont immobiles et ne forment pas de spores, ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, Gram (+), catalase (+), fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique, il

est à noter que les staphylocoques sont ubiquistes, très largement distribués dans l'environnement (**Marchal *et al.*, 1982**).

- Pouvoir pathogène :

C'est un agent pathogène opportuniste, pouvant être une cause fréquente d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées, et dans certains cas extrêmes, d'infections potentiellement mortelles.

Le *Staphylococcus* est un genre de bactéries pathogènes capable de provoquer diverses infections chez l'homme, allant des infections cutanées mineures aux infections plus graves comme les pneumonies ou les septicémies. Il produit des toxines et peut résister à certains antibiotiques, rendant le traitement difficile.

b. Salmonella :

-Caractères généraux:

Les salmonelles (genre *Salmonella*) sont des bactéries de la famille des Enterobacteriaceae, parasites du tube digestif de l'homme et des animaux. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs. (**Robinson *et al.*; 2000**).

- Pouvoir pathogène

Les Salmonelles sont des bactéries entéro-pathogènes invasives responsables de gastroentérites et de septicémies (La fièvre typhoïde et paratyphoïde). Leur virulence est liée à une endotoxine située sur la paroi appelée le lipopolysaccharide LPS (**Brahmia *et al.*, 2013**).

c. Vibrio:

- Caractères généraux :

Vibrio est un genre de bactéries gram-négatives. Les cellules mesurent typiquement environ **1,5 à 3 µm** de long et **0,6 à 1,0 µm** de large. Parmi les espèces les plus connues, *Vibrio cholerae* est l'agent causal du choléra, une maladie diarrhéique sévère souvent contractée par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés.

-Pouvoir pathogène :

Parmi les espèces les plus connues, *Vibrio cholerae* est l'agent causal du choléra, une maladie diarrhéique sévère souvent contractée par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés.

Vibrio parahaemolyticus et *Vibrio vulnificus* sont également notables pour causer des infections gastro-intestinales et des septicémies, souvent associées à la consommation de fruits de mer crus ou mal cuits. Ces bactéries possèdent des flagelles qui leur confèrent une grande mobilité et sont capables de former des biofilms, augmentant ainsi leur résistance dans l'environnement.

b. Escherichia coli :

- Caractères généraux

E. coli est une bactérie normalement présente parmi la microflore digestive de l'homme et des animaux à sang chaud. Mais certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes car elles ont acquis des facteurs de virulence (**Verhaegen, 2004**)

- Pouvoir pathogène

E. coli provoque 40 à 50% des IN (**Verhaegen, 2004**). Les souches pathogènes d'*E. coli* sont responsables d'infections intestinales et extra-intestinales, et sont classées dans des variétés selon leur facteur de pathogénicité. Parmi les principaux facteurs de virulence d'*E. coli* on distingue : la capsule polysaccharidique, les adhésines qui permettent l'adhésion à des globules rouges et aux cellules épithéliales (**Nauciel, 2000**).

c. Citrobacter :

- Caractères généraux

Les *Citrobacter* sont des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi saprophytes de l'environnement (sol, eaux usées, aliments). Ce sont des bacilles droits, isolés ou groupés en paire, mobiles par ciliature péritriche, non capsulés, sauf l'espèce *C. freundii*. *Citrobacter* donne sur gélose nutritive des colonies généralement lisses, légèrement convexes, translucides ou opaques, à contour régulier et leur diamètre est de 2 à 4 mm, les colonies peuvent avoir un aspect rugueux ou muqueux (**Holmes et al., 1996; Doran, 1999**).

- Pouvoir pathogène

Les Citrobacter sont essentiellement responsables d'IN, surtout chez les patients présentant une immunodépression, pneumopathies, surinfections de plaies chirurgicales, bactériémies essentiellement associées à des infections sur cathéter (**Brenner et al., 2005**).

d.Serratia :

- Caractères généraux :

Serratia est une bactérie appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, ce sont des bacilles gram-négatif ,anaérobie facultative (1-5 microm). Elle est présente dans l'environnement, notamment dans l'eau, le sol et les plantes, ainsi que dans les environnements hospitaliers, où elle peut coloniser les équipements médicaux et résister aux désinfectants.

(Mahlen, S. D. 2011)

- Pouvoir pathogène:

certaines souches sont responsables d'infections nosocomiales (infections urinaires, suppurations diverses, septicémies, endocardites...etc.). La plus connue de ces bactéries est Serratia marcescens (anciennement Bacillus prodigiosus) est isolée du sol, de l'eau, des aliments, de l'environnement hospitalier et d'échantillons cliniques (**Chiguer, 2013**).

e.Shigella :

- Caractères généraux

Ces bacilles à Gram négatif, sont immobiles, asporulés, non capsulé, aéro-anaérobie facultatif, appartient à la famille des Enterobacteriaceae.

- Pouvoir pathogène:

Les Shigella sont des Entérobactéries à tropisme exclusivement digestif, très proche de Escherichia coli (> 90 % d'homologie), elles sont les agents d'une maladie diarrhéique aiguë dont la forme la plus complète est représentée par la dysenterie bacillaire (ou la Shigellose). Ces bactéries pathogènes spécifiques du tube digestif, ne se rencontrent que chez l'homme. Elles sont responsables de maladies interhumaines à partir des selles des malades ou des porteurs sains (**Brahmia et al. ,2013**).

d. Klebsiella :

- Caractères généraux
- Les Klebsiella sont des Entérobactéries gram négatif immobiles et capsulées. Mesure de (1-2 de longueur d'un diamètre(0,5-0,8 micro m).Ce situe dans le tube digestif et dans l'appareille respiratoire on la trouve également dans la nature .(Podschun, R., & Ullmann, U. 1998)
- Pouvoir pathogène:

Chez l'homme, elles peuvent être responsables d'infections diverses : infections suppuratives, infections urinaires, infections respiratoires, infections biliaires, infections hépatique, infections intra-abdominales, bactériémies, septicémies. Elles sont responsables d'environ 5 à 10 % des infections nosocomiales .

f. Pseudomonas :

- Caractères généraux :

Ce sont des bacilles à Gram négatif, aérobies stricts, oxydase positive, non fermentaires, mobiles par une ciliature polaire (quelques exceptions), respirant ou non les nitrates, oxydant ou non le glucose. Les espèces les plus fréquemment isolées en milieu médical sont : Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas stutzeri, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas putida.

- Pouvoir pathogène :

Ils peuvent causer des infections graves, notamment chez les personnes immunodéprimées. Elle peut entraîner des infections des voies respiratoires, des plaies, des voies urinaires et des septicémies. Sa résistance naturelle à de nombreux antibiotiques complique le traitement des infections qu'elle provoque.

Chapitre II

Cadre général de la zone d'étude

II.1.Choix des sites:**II.1.1. Situation géographique:**

La ville de Miliana est située au flanc du mont Zaccar, à 114 km au sud-ouest de la capitale (Alger) et à 25km au nord du chef-lieu de la wilaya d'Ain Defla. La région a une superficie de 55km². La commune de Miliana est limitée au nord et à l'est par la commune d'Ain Turki, au sud par la commune de Khemis Miliana et à l'ouest par la commune de Ben Allel (**Zitoun & Zougari, 2015**).

II.1.2.Relief:

La ville est bâtie à 740 mètres d'altitude sur une plate-forme rocheuse aux contours abrupts en saillie sur le penchant méridional du mont Zaccar qui la couvre entièrement au nord. Elle domine, à l'est et au sud la vallée du Chéelif et à l'ouest un grand plateau qui s'étend jusqu'à la chaîne de l'Ouarsenis. L'altitude maximale est de 1000m et minimale 400m (**Zitoun & Zougari, 2015**).

II.1.3.Climat:

La ville de Miliana est caractérisée par un climat froid et neigeux en hiver et tempéré en été. Les précipitations atteignent ou dépassent 800 mm par an (**Zitoun & Zougari, 2015**).

II.1.4.Population:

Miliana est la quatrième commune la plus peuplée de la wilaya de Aïn Defla après Khemis Miliana, Aïn Defla et El Attaf, selon le recensement général de la population et de l'habitat de 2018 la population de la commune de Miliana est évaluée à 49131 habitants contre 44 201 habitants en 2008 et 22 528 en 1977 (**Zitoun & Zougari, 2015**).

II.2. L'hôpital Fares Yahia:**II.2.1. Présentation de la structure hospitalière d'accueil:**

L'hôpital Fares Yahia est un établissement publique hospitalier (EPH) dépendant du secteur sanitaire de Ain Defla, il est considéré comme le plus ancien EPH au niveau de la wilaya, il a

été mis en service de la population en 1936. L'hôpital occupe une superficie de 115 hectares et a une structure à architecture monobloc.

Il compte un ensemble de services médicaux, chirurgicaux, radiologie, laboratoire d'analyses médicales, ainsi qu'un service d'administration. La capacité de l'établissement est de 210 lits répartis sur les différents services.



Figure09: Situation géographique de l'EPH Fares Yahia – Miliana (Google Earth, 2018)

II.2.2. Les missions de l'EPH :

Selon l'article 4 du décret exécutif n°07-140 du 19 mai 2007 du journal officiel de la république Algérienne n°33, l'EPH a pour mission de prendre en charge, de manière intégrée et hiérarchisée, les besoins sanitaires de la population. Dans ce cadre, il a notamment pour taches :

D'assurer l'organisation et la programmation de la distribution des soins curatifs, de diagnostic, de réadaptation médicale;

Appliquer les programmes nationaux de santé;

D'assurer l'hygiène la salubrité et la lutte contre les nuisances et les fléaux sociaux;

D'assurer le perfectionnement et le recyclage des personnels des services de santé.

II.2.3. Capacité des services et des unités constitutives au sein de l'EPH Fares Yahia :

L'établissement dispose d'un plateau technique et services d'hospitalisation qui sont présentés dans le tableau ci-dessous:

Tableau 02 : Services, unités et nombres de lits de l'EPH Fares Yahia

Services	Lits techniques	Unités
Chirurgie générale	23 20 15	1. Hospitalisation hommes 2. Hospitalisation femmes 3. Réanimation
Gynécologie obstétrique	17	1. Gynécologie 2. Obstétrique
Maladies infectieuses	20	1. Hospitalisation hommes 2. Hospitalisation femmes
Médecine interne	20 20	1. Hospitalisation hommes 2. Hospitalisation femmes
Oro-Rhino-Laryngologie	8 12	1. Hospitalisation hommes 2. Hospitalisation femmes
Pédiatrie	23	1. Pédiatrie 2. Néonatal
Pneumo-phtisiologie	13 13	1. Hospitalisation hommes 2. Hospitalisation femmes
Urgence médico-chirurgicales	7	1. Accueil et tri 2. Hospitalisation

II.2.4. Le personnel biomédical de l'EPH Fares Yahia :

L'hôpital de Miliana compte 411 employés biomédicaux, répartis selon leurs fonctions (Tableau 02). En effet l'OMS recommande 13 médecins et 28 paramédicaux pour 10 000 habitants (OMS, 2009), l'EPH dispose de 80 médecins et de 329 paramédicaux pour 49131 habitants ce qui est largement correcte

Tableau 03: Effectif biomédical affecté à l'EPH (source : EPH Fares Yahia, 2024)

Spécialité	Nombres
Médecin généralistes	50
Médecin spécialistes	40
Pharmaciens	2
Paramédicaux	270

II.3 . La Source Ain Berkouk :

A travers le territoire de la wilaya, environ 368 sources naturelles sont répertoriées avec un débit de 221,81 l/s , l'une des source la source de Ain Berkouk



Figure10: la source de Ain Berkouk
(photo originale,2024)

II.3 .1.Situation géographique:

La source Aïn Berkouk est située à proximité de la ville Miliana , à Zougala à une Latitude 36,29861° ou 36° 17' 55" Nord et Longitude 2,22875° ou 2° 13' 44" Est.

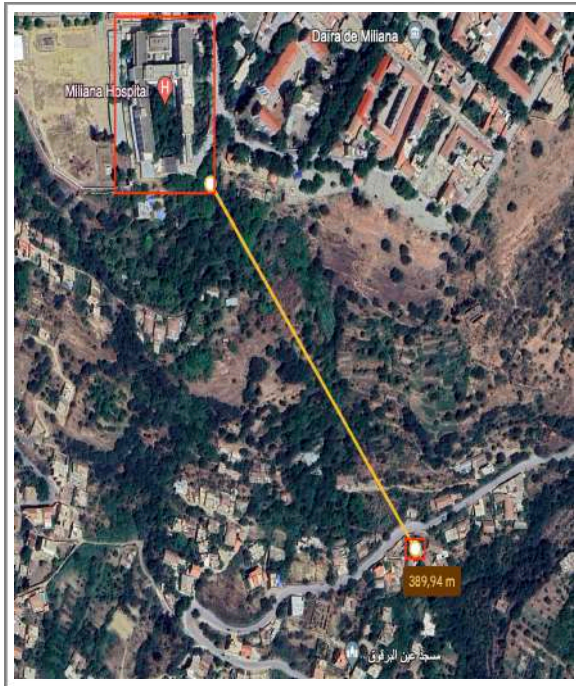


Figure 12: carte géographique représente la distance entre l'hôpital Fares Yahia et la source



Figure11:carte géographique du site de la source

Chapitre III

Matériel et Méthodes

III. Prélèvement

Les prélèvements sont étalés sur une période de deux mois entre **Avril et Mai**, le rythme d'échantillonnage est d'**un prélèvement par mois**, les prélèvements sont effectués entre **8h30 et 12h30** dans des conditions d'asepsie rigoureuse.

Au niveau de **chaque site un prélèvement d'eau a été effectué** pour l'analyse **microbiologique**. Les échantillons sont prélevés à l'aide de **flacons en verre boro-silicaté** stérile de quantités différentes de 250 ml, 500 ml , 1litre.

Tableau 04 : sites , dates et heures des prelevements

Sites	Hopital		Source
	Prélèvement 1		
Date	07 Avril		08 Avril
heure	08h30	12h30	8h30
	Prélèvement 2		
Date	05 Mai		06 Mai
heure	08h30	12h30	12h30

III.1. Méthode de prélèvement:

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté ; il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée, L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau (gaz dissous, matières en suspension). Globalement, il est donc nécessaire de mettre en place une organisation structurée, de développer une méthodologie adaptée à chaque cas, de procéder à un choix judicieux des points de prélèvements et d'utiliser le matériel convenable.

Quelque soit la méthode adoptée, on doit obéir aux principes de bases suivants :

- Localisation des points de prélèvement
- Définir les quantités à prélever

- Stabiliser l'échantillon en le conditionnant dans un récipient hermétique approprié
- Les prélèvements seront effectués dans des flacons bien propre en polyéthylène ou en verre borosilicaté, bouchés émeri ou au téflon.

Pour une meilleure conservation des échantillons, certains matériels sont à déconseiller comme les bouteilles en plastique ou en caoutchouc, leur réemploi poserait des problèmes de contamination résiduelle. Ainsi que certaines matières sont à proscrire pour éviter toutes contaminations comme la graisse.

* Dans notre travail nous avons procédé au prélèvement dans deux sites différents l'eau usée hospitalier et l'eau de source Ain Berkouk comme suit :

➔ Avant de faire le prélèvement on est passé par le service de prévention pour demander à faire des prélèvements répétitifs pour arrêter le traitement de la source pour avoir des résultats fiables.

- Les prélèvements ont été effectués à partir d'une conduite des rejets située à quelques mètres de l'établissement hospitalier public EPH Fares Yahia à Miliana et de la source Ain Berkouk.

- le volume nécessaire pour une analyse complète est de 5 litres

- Utiliser des flacons en verre qui sont lavés et séchés de la manière suivante :

- 1- Porter des gants

- 2- Lavage au détergent avec de l'eau chaude plusieurs fois.

- 3- La verrerie est ensuite abondamment rincée avec de l'eau distillée, puis séchée à l'étuve à 105°C pendant deux heures.

- 4- Avant remplissage, rincer les flacons avec l'eau à analyser.

- 5- Eviter toutes bulles d'air dans les flacons

- 6- Identifier les flacons, le nom de chaque site, la date et l'heure de prélèvement.

III.2. Conservation et le transport:

A chaque prélèvement, les flacons doivent être conservés immédiatement dans une glacière portative avec une réserve de froid suffisante pour garder une température inférieure à 4 °C, jusqu'à l'arrivée au laboratoire, dans un laps de temps ne dépassant pas 24 heures. Toutefois,

un certain nombre d'analyses sont pratiqués sur place (température, pH, salinité , conductivité).

III.3. Caractérisation des eaux usées hospitalières et l'eau de source :

III.3.1. Caractérisation physico-chimique:

Les analyses physico-chimiques de l'eau de source ont été effectués au niveau du laboratoire physico-chimique de l'ALGERIENNE DES EAUX (ADE) de la wilaya Ain Defla .



III.3.1.1. Caractérisation des paramètres in situ :

La mesure des paramètres physiques (Température, pH, Conductivité et Salinité) a été effectuée à l'aide d'un multi paramètre de type WTW 3320

Ces paramètres ont été mesurée en même temps que le prélèvement des échantillons eaux usées hospitalier et eau de source .

La lecture a été faite après une immersion de 5 minutes des électrode sa environ 15 cm de profondeur dans l'eau à analyser .



Figure13: multi paramètre

III.3.1.2. Turbidité:

➡ Mode opératoire: (ISO 7027).

- Mettre en marche le turbidimètre;
- Agiter l'échantillon à analyser et remplir la cuvette de mesure;

- Bien essuyer la cuvette avec papier hygiénique;
- Introduire la cuvette dans son emplacement dans l'appareil et fermer le couvercle;
- Noter la valeur maximale affichée.

➔ **Expression des résultats**

L'appareil donne la valeur de turbidité en NTU.



Figure 14 :Turbidimètre -TL2300- (photo original, 2024)

III.3.1.3.Résidu sec (RS) :

➔ **Mode opératoire: (Rodier et al 2005).**

- Tarer une capsule préalablement lavée, rincée à l'eau distillée et séchée .
- Prélever 100ml d'eau à analyser et la déverser dans la capsule.
- Placer la capsule dans l'étuve à 105°C pendant 24 h pour le séchage.
- Ensuite mettre la capsule dans le dessiccateur pendant 15 minutes afin d'absorber tout l'humidité.

- Puis peser immédiatement

➔ **Expression des résultats**

Les résultats sont donnés en mg/l.

$$(PP - PV) \times 1000 = \text{mg/l de RS}$$

D'ou: PP: est le poids plein de la capsule.

PV : est le poids Vide de la capsule.



Figure 15: Séchage des capsules dans l'étuve (Photo originale, 2024)

III.3.1.4. La demande biochimique en oxygène (DBO) :

➔ **Mode opératoire :**

1. Mesurer la prise d'essai et l'introduire dans un flacon brun ;
2. Introduire un barreau aimanté dans le flacon ;

3. Placer dans le col de la bouteille, le support en caoutchouc qui contiendra une à deux pastilles de NaOH ;
4. Fermer le bouchon du flacon ;
5. Noter la date et l'heure de la mise en marche ;
6. Lire après 5 jours les valeurs indiquées sur l'échelle. Ce résultat correspond à la



Figure 16: enceinte thermostat a 20 °C (Photo originale, 2024)



Figure 17: flacon et capteur DBO (Photo originale, 2024)

consommation d'oxygène en mg.L-1.

III.3.1.5. Matière en suspension (MES):

➔ Mode opératoire : (T 90 - 105)

- Mouiller le filtre avec de l'eau distillée.
- Mettre le dans l'étuve pendant quelques minutes.
- Sortir le filtre, puis le mettre dans le dessiccateur pour le refroidissement.
- Puis peser le filtre sur la balance jusqu'à obtention d'un poids stable.
- Prendre une fiole de 100 ml, laver abondamment avec de l'eau du robinet, puis avec de l'eau distillée.
- Prendre une prise d'essai de 100 ml, placer le filtre dans la rampe de filtration.
- Verser le volume d'eau (100 ml) jusqu'à filtration complète.
- Récupérer le filtre et le mettre à l'étuve à 150°C pendant 2 heures.



Figure 18: rampe de filtration + pompe a vide (Photo originale, 2024)

- Mettre le filtre dans le dessiccateur pendant 15 minutes jusqu'à refroidissement total.
- Peser le filtre.

➔ Expression des résultats:

$$\text{mg/IM.E.S} = \frac{P_p - P_v}{100} * 100000 = (P_p - P_v) * 10000$$

III.3.1.6. Calcium et magnésium (Ca²⁺/Mg²⁺):

➔ Mode opératoire : (ISO 6058).

(V1) Ca²⁺ :

- Prendre 10 ml d'eau à analyser ;
- 40ml eau distillée
- Ajouter 2 ml de NaOH à 2 N ;
- Ajouter du Murexide ;
- Et titrer avec l'EDTA jusqu'au virage (violet).

(V2) Ca²⁺+Mg²⁺ :

- Prendre 10 ml d'eau à analyser ;
- 40ml eau distillée
- Ajouter 2 ml de NH₄OH (tampon pH=10,1) ;
- Ajouter noir Eriochrome (NET) ;
- Et titrer avec l'EDTA jusqu'au virage (bleu).

➔ Expression des résultats:

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

$$\text{Ca}_{2+} \text{ en mg/l} = V1 * 40$$

D'Où :

V 1: Volume d'EDTA nécessaire pour une concentration donnée.



Figure 19 :Préparation des échantillons à titrer (Photo originale, 2024)



Figure 20 :Titration par EDTA du calcium (Photo originale, 2024)

40 :masse molaire de calcium

La détermination du Magnésium en mg/l est donnée par la formule suivante:

$$\text{Mg}^{2+} \text{ en mg/l} = (V2 - V1) \times 24,3$$

D'Où :

V2: Volume total d'E.D.T.A

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

24,3 : masse molaire Magnésium



Figure 21: Titrage par EDTA du calcium magnésium (Photo originale, 2024)

III.3.1.7. Sodium et Potassium (Na⁺ /K⁺) :

➔ Mode opératoire : (ISO 9964/3)

-Allumer l'appareil et allumer la flamme à l'aide du bouton "IGNITION" .

-Pipeter de l'eau distillée remplie dans une cuvette .

-Optimiser la flamme si elle est jaune à l'aide du bouton " fuel " jusqu'à ce que la couleur devienne bleu violacée .

-Optimiser à zéro à l'aide du bouton "Blank" .

-Laisser se stabiliser 5 à 10 minutes .

-Une fois qu'elle se stabilise à zéro, activer la cuvette d'eau distillée et la remplacer par une

autre cuvette remplie par une solution étalon de Na⁺ ou du K⁺ à 10 mg/l .

-Optimiser à 10 mg/l à l'aide du bouton "FINE" .

-Retirer la cuvette remplie par une solution étalon de "Na⁺" ou de "K⁺" à 10 mg/l et la remplacer par une cuvette remplie d'eau distillée et vérifier si l'écran affiche zéro (0.00) .

-Retirer la cuvette remplie par l'eau distillée et la remplacer par une



Figure22: photometre a flamme (Photo originale, 2024)

cuvette remplie par une solution étalon de "Na+" ou de "K+" à 10 mg/l et vérifier si l'écran affiche (10) .

-Retirer la cuvette et la remplacer par une autre cuvette remplie d'eau distillée .

-A la fin, passer aux échantillons inconnus jusqu'à ce que la valeur affichée sur l'écran est stable (3 essais pour chaque échantillon).

➔ **Expression des résultats**

Le résultat est donné directement en mg/l.

III.3.1.8. Chlorures (Cl-) :

➔ **Mode opératoire : (ISO 9297).**

- Prendre 5 ml d'eau à analyser .

- Ajouter 2 gouttes de K₂CrO₄ (coloration jaunâtre) ;

- Titrer avec AgNO₃ à 0,01 N jusqu'à coloration brun rougeâtre

➔ **Expression des résultats:**

$$[Cl^-] \text{ en mg/l} = V_{AgNO_3} \times 71 \times F$$

Où :

V_{AgNO₃} : Volume d'AgNO₃ nécessaire pour le dosage de l'échantillon.

M_{Cl⁻} : Masse molaire des chlorures.

F : facteur de correction du titre d'Ag NO₃.

III.3.1.9.Sulfates (SO₄²⁻):

➔ **Mode opératoire : (ISO 9280)**

-Prendre 20 ml d'eau à analyser puis compléter à 100 ml d'eau distillé ;

-Ajouter 5 ml de la solution stabilisante ;

-Ajouter 2 ml de chlorure de baryum ;

-Agiter énergiquement pendant 1 mn ;



Figure23:titrage des chlorures (Photo originale, 2024)



Figure 24: sulfates (Photo originale, 2024)

- Laisser 15 minutes ;
- Passer au spectrophotomètre à une longueur d'onde 420 nm.

➔ **Expression des résultats:**

[SO₄²⁻] mg/l = la valeur lue sur le spectrophotomètre x facteur de la dilution.

III.3.1.10. Nitrates (NO₃⁻):

➔ **Mode opératoire : (RODIER 1971).**

- 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 ;
- laisser refroidir ;
- Reprendre le résidu avec 2 ml H₂SO₄ laisser reposer 10 minutes ;
- Ajouter 15 ml d'eau distillée ;
- Ajouter 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium puis passer au spectrophotomètre au 420 nm.

➔ **Expression des résultats:**

Le résultat est donné directement en mg/l.

III.3.1.11. Nitrites (NO₂⁻):

➔ **Mode opératoire : (ISO 6777)**

- Prendre 50 ml d'eau à analyser ;
- Ajouter 1 ml du réactif mixte ;
- Attendre 10mn ;
- L'apparition de la coloration rose indique la présence des NO₂⁻. puis passer au spectrophotomètre

➔ Expression des résultats:

Le résultat est donné directement en mg/l

III.3.1.12.ammonium (NH₄⁺):**➔ Mode opératoire : (ISO N7150)**

- 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 H₂O distillée et attendre 1h. 30

* L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence de : NH₄⁺. Effectuer la lecture à $\lambda=655$ nm.

➔ Expression des résultats :

Le résultat est donné directement en mg/l.

III.3.1.13.Phosphates (PO₄⁻) :**➔ Mode opératoire : (ISO 6878).**

- Prendre 40 ml d'eau à analyser ;
- Ajouter 1 ml acide ascorbique ;
- Ajouter 2 ml du réactif mixte ;
- Attendre 10 min le développement de la couleur bleue ;
- Effectuer la lecture à une longueur d'onde de 880 nm.

➔ Expression des résultats:

Le résultat est donné directement en mg/l.

III.3.1.14.Matières organiques (MO):**➔ Mode opératoire: (Degremonts 2005).**

- Prendre 100 ml d'eau à analyser
- Ajouter 20 ml de H₂SO₄ dilué et porter à ébullition pendant 1 mn
- Ajouter 20 ml de KMnO₄ à 0.01N avec 10 mn d'ébullition régulière et douce

- Ajouter 20 ml d'acide oxalique à 0.01 N
- Titrer à chaud avec KMnO_4 à 0.01 N jusqu'à coloration rose claire qui persiste 15 à 20 secondes.

➔ **Expression des résultats:**

$$\text{En mg O}_2/\text{l} = (V_{\text{échantillon}} - V_0 / 19) \times 16$$

III.4. Caractérisation toxicologiques (métaux lourds):

Ce travail a été effectué au niveau du service géologie, laboratoire géochimie du centre de recherche et de développement (CRD) de la SONATRACH à Boumerdès pour l'analyse des métaux lourds.



Le dosage des métaux lourds se fait par spectrométrie de masse associée à un plasma d'argon à couplage inductif (ICP-MS) en utilisant un spectromètre de masse de type Agilent Technologies (série 7700x) qui est adapté à la norme NF EN ISO 17294-2.

Cet appareil est équipé d'une pompe péristaltique, d'un nébuliseur concentrique type Meinhardt, et d'une chambre de nébulisation type Scott, ainsi que d'une torche en quartz. La puissance est fournie par un générateur de haute fréquence de 27 MHz.

L'alimentation en gaz est réalisée à partir d'argon en bouteilles à 99,999% minimum de pureté et d'hélium en bouteilles à 99,999% minimum de pureté.

L'ensemble du système est piloté par le logiciel MassHunter.



Figure25: spectrométrie de masse associée à un plasma d'argon à couplage inductif (ICP-MS) (Photo originale, 2024)

Principe:

La spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) est une nouvelle technique analytique, basée sur le couplage d'une torche à plasma ICP (Inductively Coupled Plasma) pour générer des cations et d'un spectromètre de masse quadripolaire ,pour ensuite séparer et détecter ces ions .

Elle permet la séparation, l'identification et la quantification des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction de leur masse. Cette technique est très sensible , elle est capable de détecter les métaux et plusieurs non-métaux à des concentrations très faibles.

L'analyse des échantillons par ICP-MS peut être divisée en quatre étapes : introduction-nébulisation, ionisation, séparation en masse et enfin, détection.

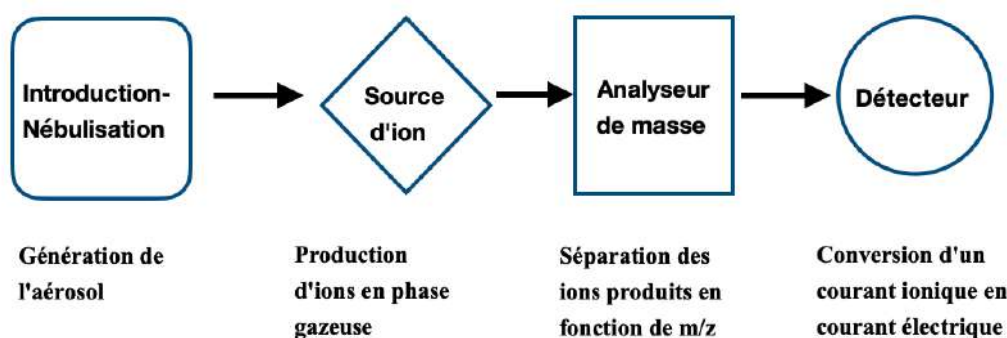


Figure 26: Etapes d'analyse par ICP-MS.

Avant chaque utilisation de l'appareil, on doit procéder par les étapes suivantes :

- Ouvrir les bouteilles de gaz Argon et Hélium et vérifier les pressions de sortie (5 à 7 bar) pour l'argon et (0.9 à 1.3 bar) pour l'hélium ;
- Allumer le refroidisseur ;
- Accéder au logiciel MassHunter ;
- Allumer le plasma et laisser chauffer 21 mn « temps de préchauffe »
- Lancer le test automatique de performance de l'équipement ;
- Vérifier l'état de l'appareil en procédant à un test quotidiennement appelé, tune, recommandé par le fabricant ;
- Elaborer une séquence de calibration et d'analyse ;

a) Préparation des échantillons

Avant d'effectuer les analyses par ICP MS, on passe par la préparation des échantillons :

- Pour les eaux de consommation: l'échantillon passe directement à l'appareil après étalonnage.
- Pour les rejets industriels: l'échantillon passe d'abord par une filtration (on fait une lixiviation).

b) Analyse des échantillons :

Les échantillons qu'on a analysés sont les métaux essentiels cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe). Et les métaux toxiques plomb (Pb), du mercure (Hg) et du cadmium (Cd).

Les échantillons ont été acidifiés avec 2% d'acide nitrique concentré et filtrés 10 ml d'échantillon avant l'analyse avec des filtres à membrane en nitrate de cellulose (\varnothing 0,45 μ m). Puis placées les solutions étalons de différentes concentrations (5 ppb, 10 ppb, 20 ppb, 50 ppb ...) se fait par dilution d'une solution intermédiaire. Cette dernière est préparée à l'aide de deux étalons multi élémentaire et d'étalon mono-élément de mercure (Hg) fournis par Agilent. les échantillons à analyser dans l'auto sampler ensuite procéder à l'analyse.

Dosage du mercure :**principe:**

Le dosage est effectué à l'aide d'un spectromètre de masse à source ionisante au plasma d'argon (ICP-MS).

L'échantillon est entraîné dans un plasma d'argon par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique et d'un nébuliseur, où le mercure contenu dans l'échantillon est atomisé puis ionisé.

Les ions ainsi formés dans le plasma sont introduits dans le spectromètre de masse par l'interface, et transmis par une série de lentilles électrostatique vers le quadripôle pour être séparés selon leur ratio masse/charge, et enfin captés par le détecteur.

La concentration est déterminée directement à l'aide d'une courbe d'étalonnage.

préparation de l'échantillon :

- filtré 10ml de l'échantillon
- ajouté 0,1 ml de HCL pure
- ajouté 0,1 ml de solution d'or (10mg/l)
- Ensuite agiter pour homogéniser

Puis placées les solutions étalons de différentes concentrations (5 ppb, 10 ppb, 20 ppb, 50 ppb ...) se fait par dilution d'une solution intermédiaire. Cette dernière est préparée à l'aide de deux étalons multi élémentaire et d'étalon mono-élément de mercure (Hg) fournis par Agilent.

- les échantillons à analyser dans l'auto sampler ensuite procéder à l'analyse.

Expression des résultats :

Les résultats sont obtenus directement avec le logiciel ; ils sont calculés en ug/l à l'aide d'une régression linéaire de la réponse des étalons, en tenant compte du facteur de dilution éventuellement.

III.5. Caractérisation microbiologiques des eaux usées hospitalières et l'eau de source :

Les analyses microbiologie de l'eau de source Ain el berkouk on été effectués au niveau du laboratoire microbiologie de l'ALGERIENNE DES EAUX (ADE) de la wilaya de Ain Defla .

Pour les eaux usées hospitalières, ils ont été effectués au niveau du laboratoire microbiologie pathogene au niveau de notre Université Djilali Bounaama .



III.5.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale :

Cette méthode consiste à la recherche et le dénombrement des microorganismes revivifiables dans les eaux. Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes mésophiles capables de se multiplier en aérobie à des températures optimales de croissance (après 24h à 37°C) (**Kéleké et al., 2004**).

➔ **Mode opératoire:**

◆ **Pour les eaux usées hospitalières et l'eau de source :**

-A partir d'une solution mère (l'eau à analyser), porter aseptiquement une quantité de 1 ml au fond d'une boîte de pétri vide.

- ensuite, compléter la boîte avec une quantité d'environ 15 à 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45\pm 2^{\circ}\text{C}$.

-Laisser le milieu 10 minutes sur la paillasse pour se solidifier, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose.

-Incuber à 37°C pendant 48 heures (**Lebres, 2006**).

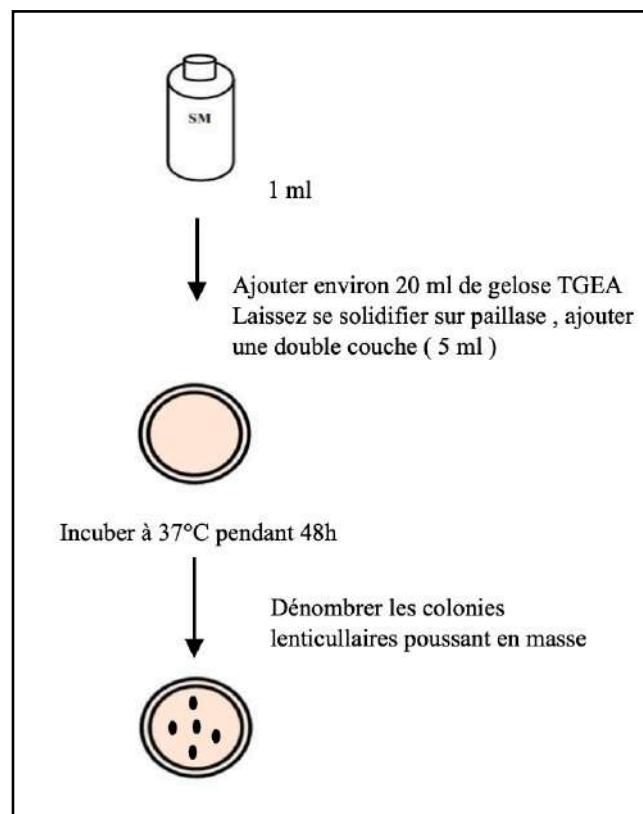


Figure 27: Recherche de la flore aérobie mésophile totale.

➔ **Lecture :**

Les germes se présentent dans les boîtes de pétri sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse, pour le dénombrement de ces derniers, on prend en considération les remarques suivant :

- Dénombrer seulement les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;
- Les résultats sont exprimés en unités formatrice de colonie (UFC) par ml d'eau à analyser.

III.5.2. Recherche et dénombrement des spores Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR) :

◆ **Pour les eaux usées hospitalières :**

Cette recherche concerne les bactéries anaérobies strictes. Les ASR se développent sur une gélose viande foie (VF) en donnant des colonies typiques de couleur noire en réduisant les sulfites en sulfures, et en présence de Fe^{2+} (ion de fer) donne FeS (**Rejsek, 2002**).

➔ **Mode opératoire :**

- On prélève 1ml de l'échantillon qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 10 min, dans le but de détruire toutes les formes végétatives présentes .
- Après chauffage, on réalise un refroidissement brutal du tube en question , sous l'eau de robinet (choc thermique) .
- On le fait ensemencer dans le tube contenant 19 ml de milieu de gélose VF fondue
- Après homogénéisation, le milieu est incubé à 37°C pendant 24h .

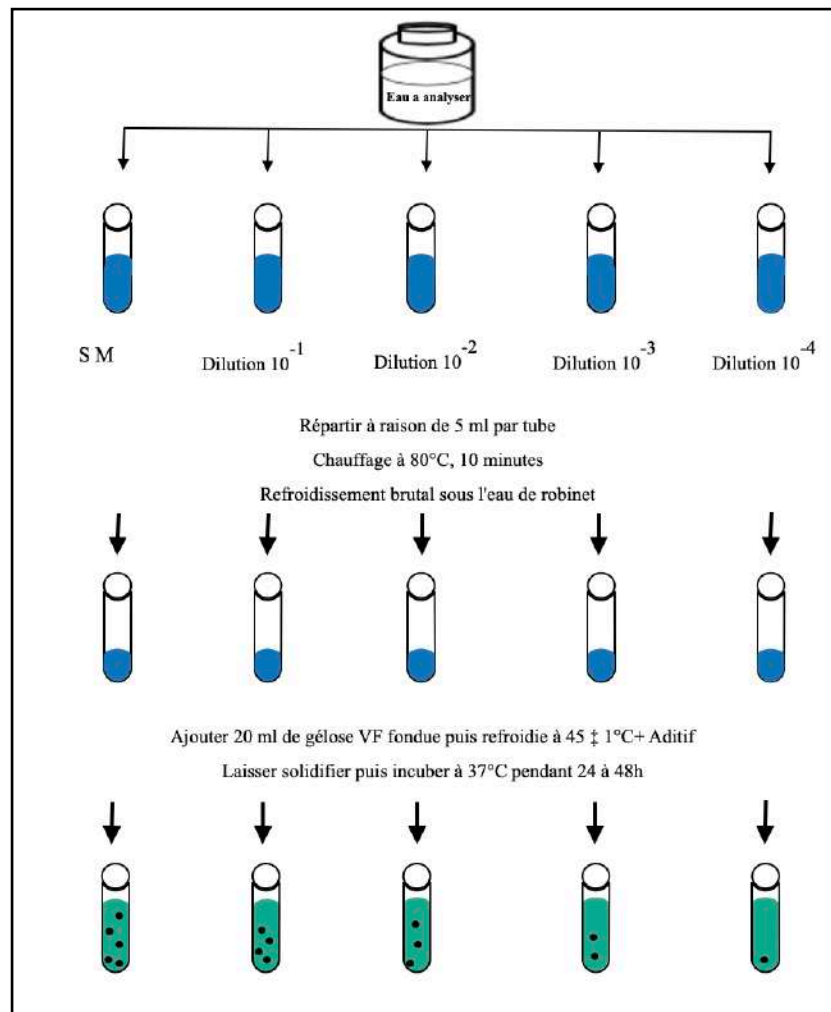


Figure28: Recherche et dénombrement des spores d'Anaérobies Sulfito-réductrices.

◆**Pour l'eau de source** : le principe est le même , pour le mode opératoire on réalise une filtration sur membrane en milieu solide

- **Principe de la technique par filtration sur membrane en milieu solide**

Cette technique consiste à faire passer un liquide à travers un appareil de filtration sur membrane (la rampe de filtration). Cette membrane est en esters de cellulose de porosité de 0,45/0,22 μm , les micro-organismes sont trop gros pour passer et sont donc retenus par la membrane.

La membrane ayant servi à stopper les micro-organismes est déposée par la suite sur un milieu de culture solide afin de permettre la multiplication des germes. Après incubation, on compte le nombre de colonies exprimé en UFC /100ml .



Figure 29: rompe de filtration

- les étapes de la filtration sur membrane :

- Stériliser la rampe de filtration par bec bunsen; et la laisser refroidir;
- Passer la pince à la flamme 2 à 3 secondes;
- Prendre à l'aide d'une pince une membrane stérile de porosité 0,45/0,22 μm)
- Déposer la membrane sur le support de filtration refroidi; et fixer l'entonnoir sur le support;
- Agiter l'échantillon à analyser et flamber légèrement la partie supérieure du flacon;
- Déposer ensuite aseptiquement 100 ml de l'échantillon à analyser (l'eau de source) dans l'entonnoir devant un bec bunsen;
- Actionner ensuite la pompe sous vide pour absorber l'eau à travers la fiole;
- Après fermeture de la pompe à vide, prélever la membrane avec une pince stérile;
- Déposer la membrane sur le milieu de culture sélectif
- Après incubation, on compte le nombre de colonies.

-Mode opératoire : (Recherche et dénombrement des ASR)

- Porter dans un flacon de 250 ml de l'échantillon à analyser.

- Elaborer pour le flacon un chauffage à 80°C, pendant 10 mn.
- Réaliser un refroidissement brutal sous l'eau de robinet.
- Filtrer 100ml de l'eau à analyser sur la rampe de filtration en traversant la membrane stérile de porosité 0,22 µm.
- Retirer la membrane filtrante et la déposer dans une boîte pétrie.
- Verser le milieu de culture refroidi Viande-foie (VF) et le laisser solidifier.
- Incuber à 37°C pendant 24 h.

➔ **Lecture :**

La lecture sera par le dénombrement des colonies noires de 0.5 mm de diamètre poussant en masse (**Rejsek, 2002**).

La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les colonies de ASR sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile et l'analyse sera à refaire en utilisant des dilutions décimales.

La deuxième lecture se fera à 24 heures et la dernière à 48 heures.

III.5.3. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale

◆ **Pour les eaux usées hospitalières :**

La recherche et le dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale se fait par méthode d'ensemencement sur milieu liquide (NPP) qui consiste à ensemercer nombreuses prises d'essai d'un même échantillon et/ou des dilutions de celui-ci dans des tubes de milieu de culture. Cette méthode est une estimation statistique du nombre de micro-organismes supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire (**Elarfi et al., 2009**).

✓ **Préparation des dilutions :**

Une série de dilutions a été effectuée en cascades de 10^{-1} à 10^{-4}

- Nous prélevons du flacon contenant 1ml des eaux usées (solution mère) que nous déposons dans un des tubes contenant 9 ml de l'eau distillé stérile (la première dilution est marquée par le chiffre 10^{-1}), nous homogénéisons le tube par un léger mouvement.

- Nous prélevons 1 ml du premier tube pour le mettre dans un deuxième tube qui contient 9ml de l'eau distillé stérile (la deuxième dilution est marquée par le chiffre 10^{-2}) nous homogénéisons le tube par un léger mouvement.
- Nous continuons à suivre la même technique pour les deux derniers tubes des dilutions 10^{-3} et 10^{-4}

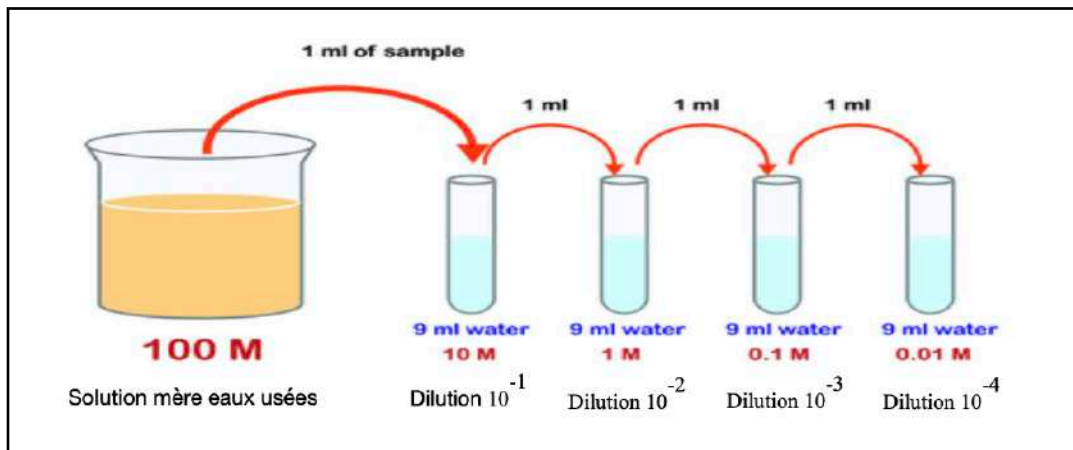


Figure 30: Préparation des dilutions

III.5.3. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale

III.5.3.1 Recherche et dénombrement des Coliformes Totaux et Coliformes Fécaux:

Les coliformes totaux sont des bacilles à Gram(-), non sporulé, oxydase (-), aérobies et anaérobies facultatifs. Ils se multiplient à 37°C pendant 48h. Ce type de germes peut être recherché et dénombré dans le milieu de culture BCPL (Tefyeche, 2014).

Le terme de « coliformes fécaux » ou de « coliformes thermo-tolérants » correspond à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés que les coliformes totaux après incubation à la température de 44 °C. Ce type de germes peut être recherché et dénombré dans l'eau peptonée exempte d'indole (Rodier, 2009).

Afin d'examiner ces 2 types de germes on réalise les 2 tests suivants :

➡ Test de présomption

A partir de l'eau usée à analyser, porter aseptiquement :

- Trois fois 0.1 ml de la solution mère dans trois tubes contenant 10ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;
- Trois fois 0,1 de la première dilution 10^{-1} dans trois tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;
- Trois fois 0.1 de la deuxième dilution 10^{-2} dans trois tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;
- Trois fois 0.1 de la troisième dilution 10^{-3} ml dans trois tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;
- Trois fois 0.1 de la quatrième dilution 10^{-4} ml dans trois tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;
- Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

➡Lecture :

Après 48 Heures d'incubation à 37°C et en absence d'air, seront considérés comme positifs les tubes qui présentent à la fois un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu) et un dégagement gazeux se considèrent comme positifs.

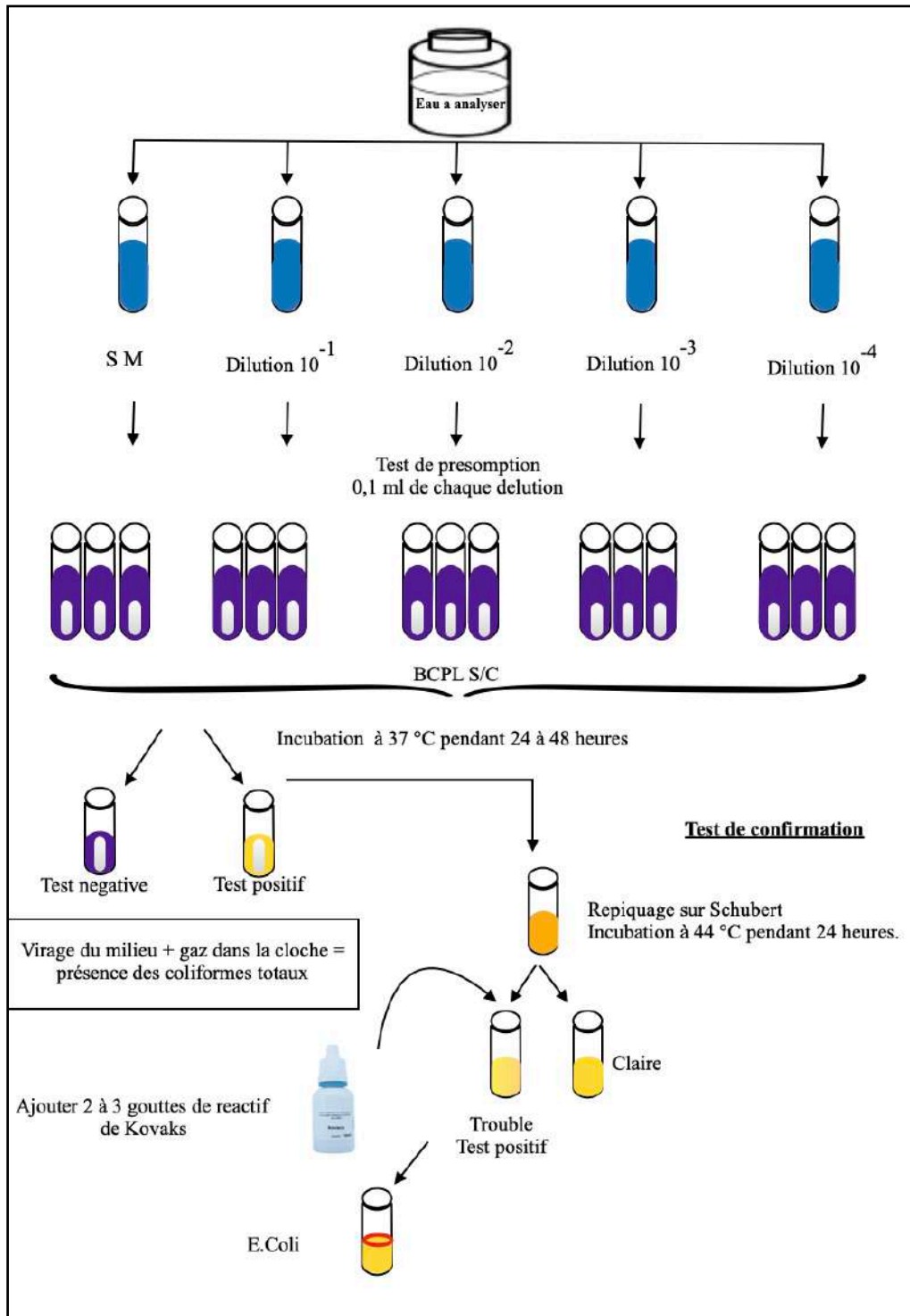
➡Test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur la recherche de coliformes thermo tolérants.

- Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide des tubes contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.
- On chasse le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum.
- L'incubation se fait cette fois-ci à 44 °C pendant 24 heures.

➡ Lecture

- Les tubes qui présentent trouble microbien et un anneau rouge en surface (Témoin de la production d'indole par Escherichia Coli), après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs et un dégagement gazeux se considèrent comme positifs
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP, le nombre de coliformes totaux et fécaux sont par 100 ml de l'eau analysé. (Rejsek, 2002).



64
Figure 31: Recherche et dénombrement des coliformes.

◆ Pour l'eau de source :**- Mode opératoire :**

- Filtrer 100ml de l'eau à analyser sur la rampe de filtration en traversant la membrane stérile de porosité 0,45 μm ;
- Retirer la membrane filtrante et la déposer dans une boîte pétrie.
- Verser le milieu de culture refroidi sélectif gélose lactosée au Tergitol et au T.T.C et le laisser solidifier.
- Placer les boîtes de Pétri en position inversée dans un incubateur à 37 °C pour la recherche des coliformes totaux, et à 44 °C pour les coliformes fécaux pendant 24 à 48 heures.

- Lecture et interprétation

- Compter les colonies à l'aide d'un compteur de colonies présentes dans chaque boîte, Après 24 heures d'incubation.
- Les coliformes totaux et fécaux apparaissent sous forme de petites colonies jaunes orangé.
- Après dénombrement des colonies, les résultats obtenus pour les deux paramètres sont traduits en n /100 ml (nombre des colonies par 100ml d'eau à analyser).

III.5.3.2. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux**◆ Pour les eaux usées hospitalières :**

La recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

➡ Test de présomption

A partir de l'eau usée à analyser, porter aseptiquement :

Trois fois 0.1 ml de solution mère dans trois tubes contenant 10ml de milieu ROTHE S/C ;

- Trois fois 0.1 de la première dilution 10^{-1} dans trois tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C ;
- Trois fois 0.1 de la deuxième dilution 10^{-2} dans trois tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C .

- Trois fois 0.1 de la troisième dilution 10^{-3} dans trois tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.
- Trois fois 0,1 de la quatrième dilution 10^{-4} dans trois tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (**Rejsek, 2002; Délarras, 2008**)

➔ **Lecture:**

Les tubes présentant un trouble microbien seront considérés comme positifs et la lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP (**Rejsek, 2002; Délarras, 2008**).

➔ **Test de confirmation:**

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption. Les tubes de ROTHE positifs feront l'objet d'un repiquage à l'aide des tubes contenant le milieu Eva-Litsky, bien mélangé le milieu et l'inoculum (**Rejsek, 2002**).

L'incubation se fait cette fois-ci à 37 °C, pendant 24 heures (**Délarras, 2003**).

- **Lecture:**

Les tubes considérés comme positifs, présentent à la fois :

- Un trouble microbien ;
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes ;
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP, le nombre de Streptocoques fécaux sont par 100 ml de l'eau analysée. (**Lebres, 2006**).

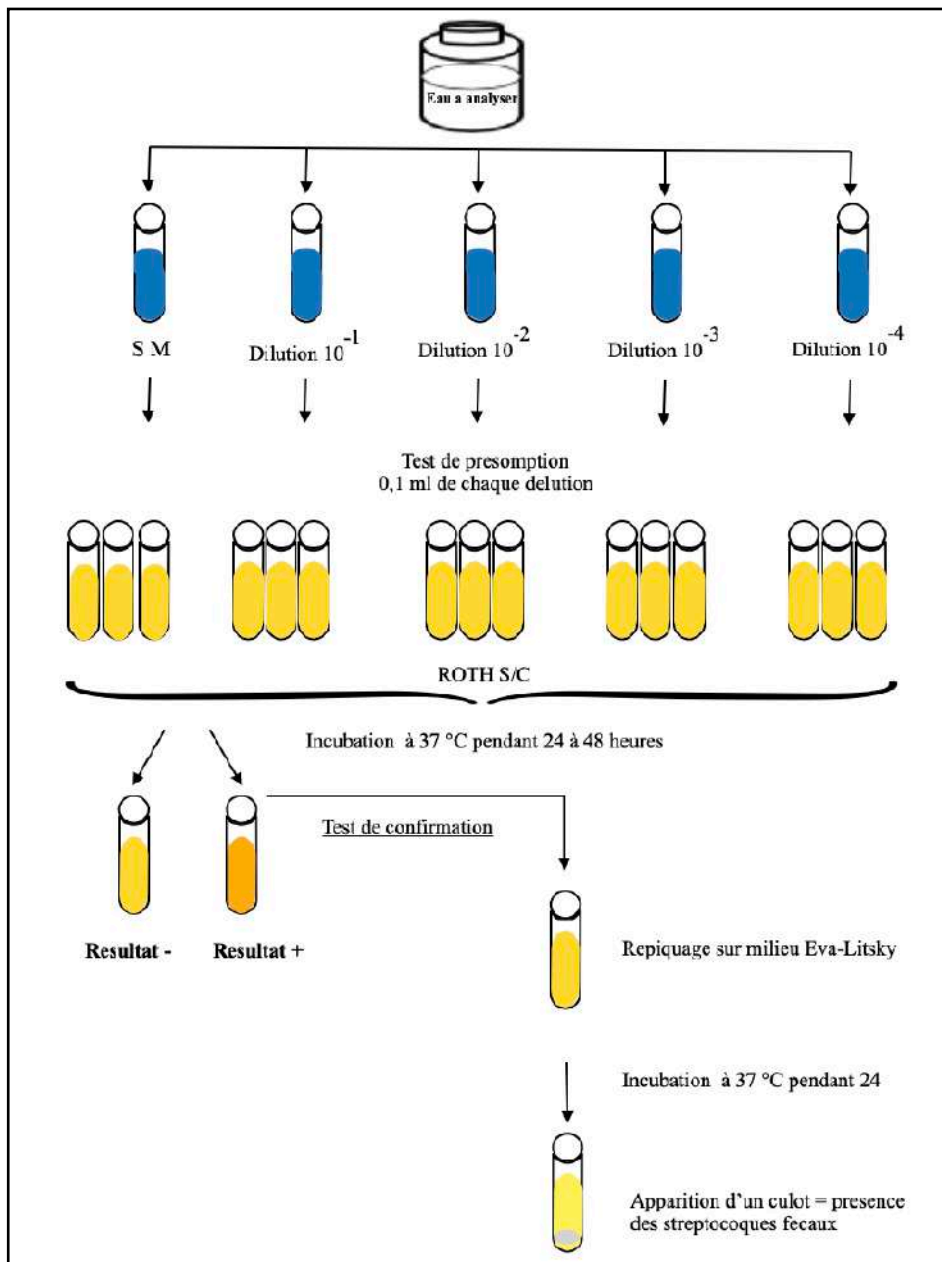


Figure 32: Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.

◆ Pour l'eau de source :

Mode opératoire :

- Filtrer 100ml de l'eau à analyser sur la rampe de filtration en traversant la membrane stérile de porosité 0,45 μm ;
- Retirer la membrane de son support et la placer sur une boîte de pétri qui contient le milieu de Slanetz et Bartley;

- Incuber les boites pendant 48 heures à 37°C;
- Après l'incubation compter toutes les colonies présentes une coloration rouge, marron ou rose soit à leur centre, soit à leur périphérie.

Test confirmatif:

- On transfère la membrane sur le milieu Bile Esculine Azoture (BEA) , et on incube la boîte de pétri à 44°C pendant 2 heures .

Lecture :

- La lecture se fait après 2 à 3 heures. La présence de noircissement implique la présence des streptocoques fécaux.
- Toutes ces colonies sont comptées.
- Le résultat est donné en nombre de germe par 100 ml.

III.5.4.Recherche des bactéries pathogènes dans les eaux usées hospitalières:

Pour chercher et identifier les bactéries, nous avons utilisé la technique d'ensemencement par râteau sur gélose coulée dans des boites de pétri. Les milieux utilisés sont : Hektoen, Chapman, SS, GNAB, et Sabouraud (**Bouchaala, 2010**).

A partir de chaque prélèvement des deux prises matin et à 12h30 , prendre 0.1ml gouttes à l'aide d'une pipette pasteur et l'ensemencer dans les boites de pétri qui contiennent les milieux de culture. Incuber les boites dans une étuve à 37°C pendant 24



heures.

Hektoen

Chapman

Sabouraud

SS

GNAB

figure 33 : Ensemencement dans les différents milieux de culture.

III.5.4.1. Recherche des Staphylocoques:

Mode opératoire:

À partir de la solution mère, on ensemence 0.1 ml par râteau toute la surface des boîtes de pétri contenant le milieu Chapman. Par la suite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h, les colonies développées à la surface seront dénombrées (**Rodier, 2009**).

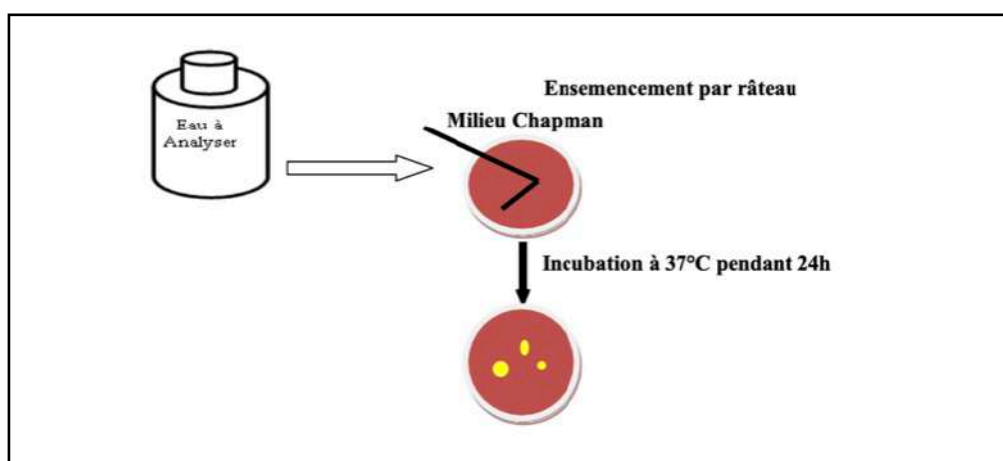


Figure 34 : Recherche des Staphylocoques.

Identification:

- Si le milieu reste rouge, les colonies sont mannitol (-) car elles ne fermentent pas le mannitol, légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique.
 - Si le milieu devient jaune, les colonies sont mannitol (+) car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu
- Les colonies suspectes sont confirmées par :
- Un examen microscopique après coloration de Gram.
- Un test à la catalase (**Aberkane et al., 2011**).

III.5.4.2. Recherche des es salmonelles:

Parmi les entérobactéries on a choisis les Salmonelles pour les étudier. Ces dernières se présentent sous forme de bacilles à Gram (-), lactose(-), qui fermente le glucose avec production de gaz et de H₂O (Aberkane *et al* ., 2011).

Ce type de germes peut être recherché et dénombré dans le milieu de culture Hektoen, SS.

- Mode opératoire:

● Enrichissement des Salmonelles:

Introduire 1ml de l'échantillon d'eau dans un tube de 5 ml de sélénite cystéine. Incuber à 37°C pendant 24h. (Navoun, 2005)

● Isolement:

À partir du bouillon d'enrichissement, effectuer des isolements sur le milieu SS. Incuber à 37°C pendant 24h à 48h.

● Identification:

Après 24 heures, des salmonelles se présentent sous forme des colonies incolores à centre noir (H₂S positif) sur SS et colonies verdâtre ou bleuâtres à centre noir sur Hektoen (Navoun, 2005).

III.5.4.3. Recherche des Vibrions:

Les Vibrionaceae se présentent sous forme de Bacilles Gram Négatifs droits ou incurvés (BGN), très mobiles, possédant une oxydase, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans production de gaz ni d'H₂S (Bazine et Bourenane, 2011).

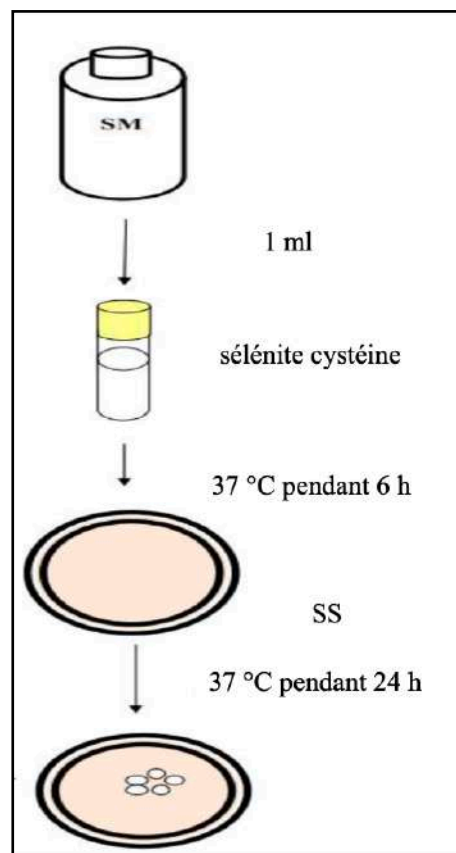


Figure 35 : Enrichissement et isolement du Salmonella

- Mode opératoire:**● Enrichissement des Vibrions:**

- Ajouter 1ml de l'eau à analyser dans un tube de 5 ml d'eau peptonée alcaline (EPA).

-Incuber à 37°C pendant 24h (**Lebres *et al.*, 2008**).

● Isolement:

Prélever de la surface du milieu d'enrichissement et ensemercer dans une boîte de pétri sur gélose GNAB

Incuber à 37° C pendant 24 h en tenant compte de fait que les vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses, transparentes et très caractéristiques (**Lebres, 2008**).

● Identification :

- Coloration de Gram (bacilles Gram -) et Oxydase (+).

- Identification par l'API 20 NE (**Délaras, 2000**)

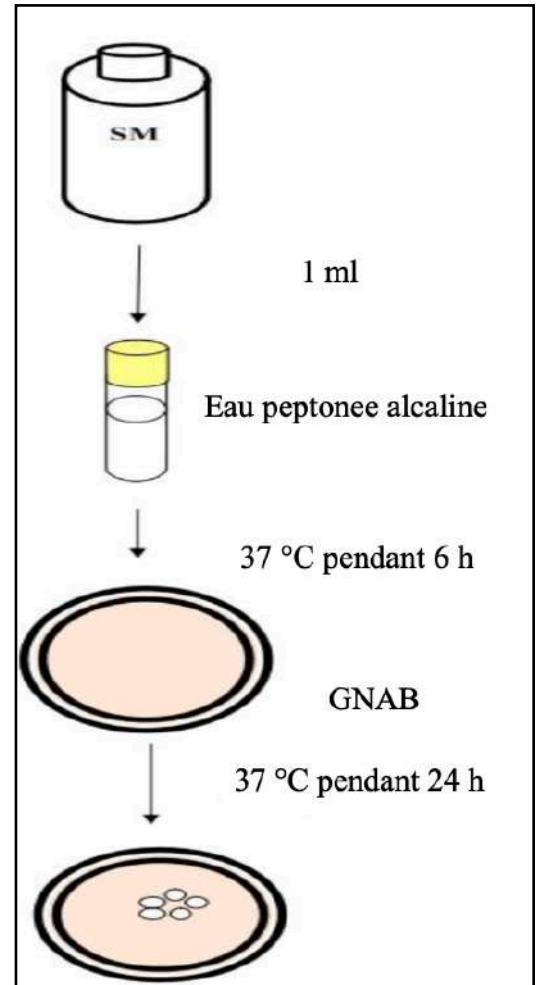


Figure 36: Enrichissement et isolement du Vibrio

III. 5.4.4. Recherche des levures et moisissures :

L'isolement des levures et divers champignons peut être pratiqué sur le milieu Sabouraud qui constitue un milieu classique pour la culture et rendu sélectif par addition de chloramphénicol ou de gentamicine qui inhibe les bactéries (**Abessa et Tabet, 2014**).

- Mode opératoire:

Ensemencer 0.1 ml de la solution mère à la surface du milieu Sabouraud simple sans l'addition d'antibiotiques. Incuber à 30°C pendant une semaine .

- Lecture :

La lecture se fait après une semaine.

- Les colonies *Candida albicans* apparaissent bombées, crémeuses et blanchâtres. Elles sont lisses et peuvent se plisser en vieillissant (Abessa et Tabet, 2014).
- les moisissures se développeront sous forme de colonies filamenteuses de différentes couleurs

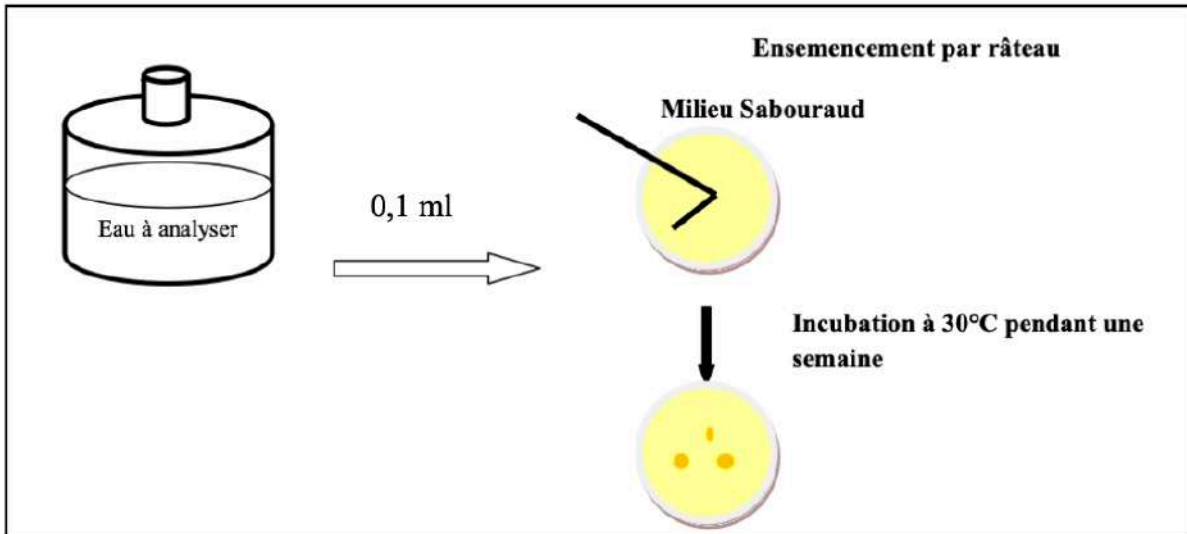


Figure37: Recherche des levures et moisissures

III.6. Dénombrement:

Le dénombrement se fait selon deux types :

- Dénombrement direct : par comptage de colonies après ensemencement sur milieu de culture solide.
- Dénombrement indirect : par calcul statistique après répartition de l'inoculum dans un milieu de culture liquide.

III.7. Repiquage:

- Repérer sur les boîtes de chaque milieu les colonies identiques ;
- Repiquer les colonies identiques sur les mêmes milieux de cultures ;
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures.

III.8. Identification des bactéries isolées**III.8.1. Examen macroscopique des caractères cultureux**

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées.

La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

- La taille.
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- Pigmentation (**Delarras, 2003**).

III.8.2. Examen microscopique:**- L'état frais**

Une méthode rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif 40. Les renseignements obtenus par cette observation concernent principalement la mobilité, la morphologie, le mode de groupement et la quantité approximative de bactéries (**Gueroui, 2015**).

- Coloration de Gram:

C'est la coloration de références en bactériologie (**Denis et al. ,2007**), elle permet de diviser le monde des bactéries en deux groupes distincts, mais certaines bactéries peuvent présenter un Gram variable, cette coloration permet en général d'apprécier la pureté des souches bactériennes avant toute identification (**Delarras, 2007**).

*** Les étapes de coloration de Gram**

- Préparer un frottis d'une culture bactérienne pure ;
- Réaliser une coloration simple au violet de Gentiane ou Cristal de violet , laisser agir pendant 1 minute, rincer à l'eau distillé.
- Verser du Lugol et le laisser agir pendant 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes ; rincer à l'eau distillée .

- Recolorer avec la Fuchsine ou la Safranine, laisser agir pendant 30 secondes, rincer à l'eau distillée.

Lecture:

Observer au microscope :

- Les bactéries Gram(-) sont roses.
- Les bactéries Gram(+) sont de coloration violette (**Delarras, 2003**).

III.8.3 Examen lié aux caractères biochimiques:**III.8.3.1. Test d'oxydase:**

L'oxydase est une enzyme catalysant une réaction d'oxydo-réduction impliquant une molécule de dioxygène (O_2) comme accepteur d'électron. Dans ces réactions, l'oxygène est réduit en eau (H_2O) ou en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

- **Principe** : Sur une lame propre et stérile déposer un disque d'oxydase ensuite préparer une suspension bactérienne à partir de la colonie voulue et déposer une goutte de la suspension sur le disque.

- **Lecture**: Considérer comme oxydase + toute colonie qui changent la couleur du disque en violet (**Bara, 2016**).

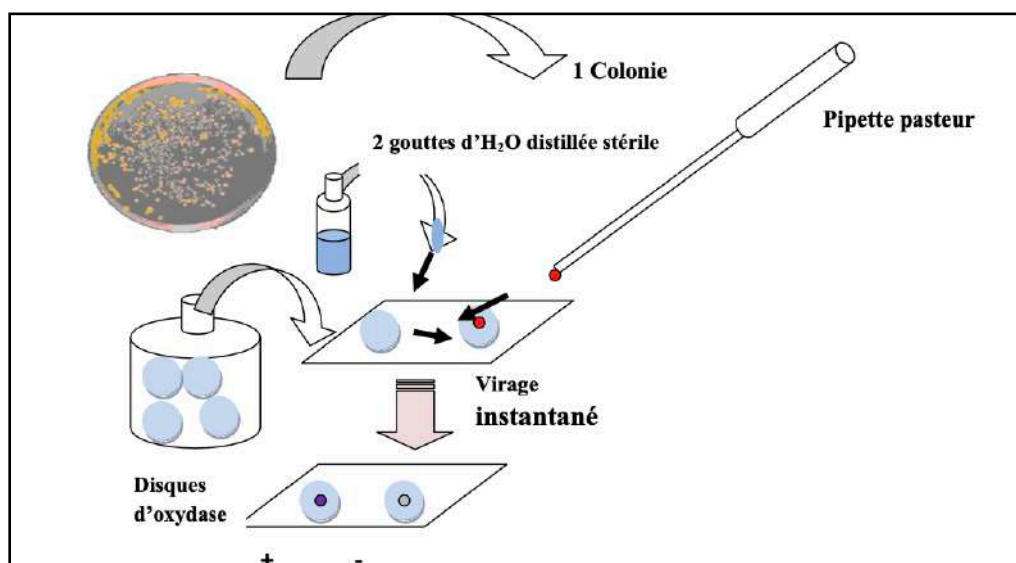


Figure 38: Réalisation d'un test d'oxydase

III.8.3. 2. Test catalase :

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. La catalase permet la dégradation de l'H₂O oxygénée en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse.

- **Principe** : La technique consiste à déposer sur une lame une colonie de la culture à tester sur une goutte d'eau oxygénée (**Delarras, 2003**).

- Lecture

Si les bactéries examinées possèdent une catalase, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses et le test est dit positif (**Delarras, 2003**).

III.8.3.3. La Galerie API 20E:**- Principe**

La galerie API 20E est un système pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles Gram négatifs, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

La galerie API 20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. 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 de réactifs (**Delarras, 2000**).

- **Mode opératoire** : L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

- Remplir les tubes et les cupules des tests : |CIT|, |VP|, |GEL|, avec la suspension bactérienne.

- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.

- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.

- Incuber à 37 °C pendant 18-24 heures (**Delarras, 2000**).

- Lecture

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées et révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

- Test VP : ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif de kovacks. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive.

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

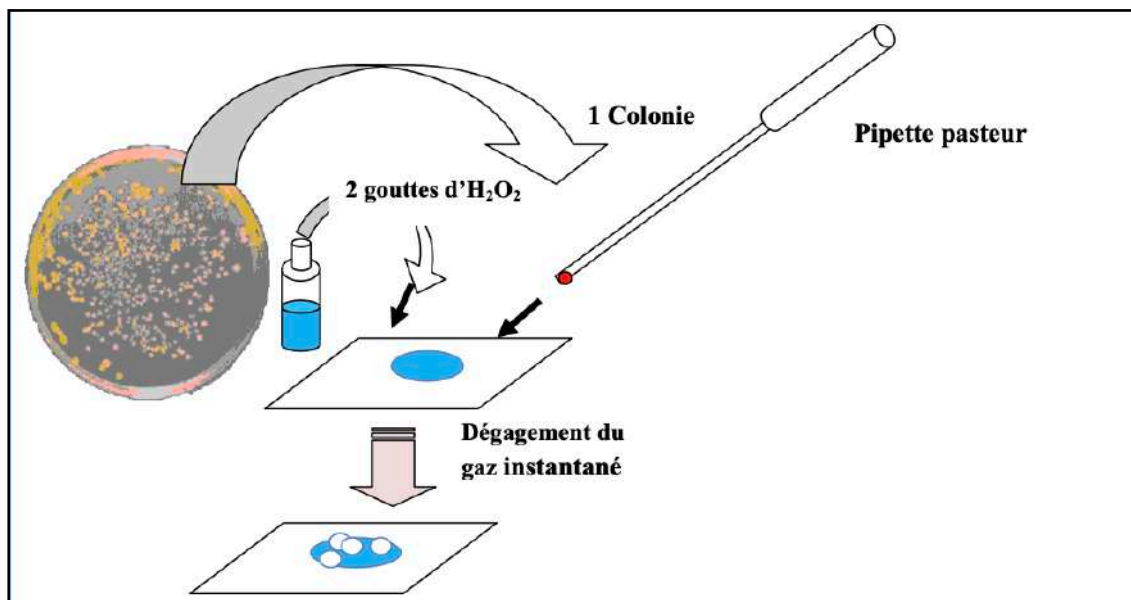


Figure39: Réalisation d'un test catalase

API 20E (Delarras, 2000).

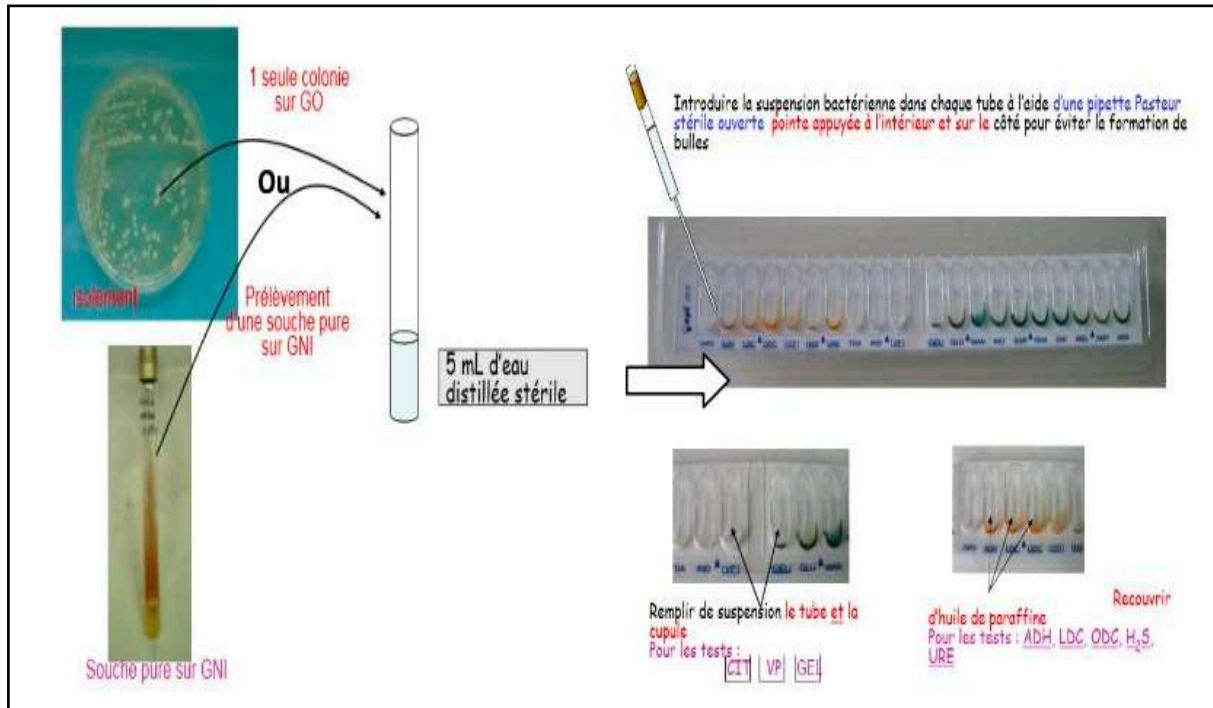


Figure 40: Réalisation d'un API système 20E

III.8.3.4 .La galerie API Staph :

- Principe :

La galerie API Staph comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux (Aouissi, 2010).

- **Mode opératoire** : L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

✓ préparation de la galerie :

- Inscrire la référence de la souche sur languette latérale du biote.
- Réunir fond et couvercle du biote d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide.
- Sortir la galerie de son emballage individuel et la placer dans la boîte d'incubation .

✓ Préparation de l'inoculum:

A l'aide d'une anse de platine on prélève 2 ou 3 colonies et les ensemence dans l'ampoule d'API Staph medium (Aouissi, 2010).

✓ L'inoculation de la galerie :

- A l'aide d'une pipette remplir les tubes de la galerie avec API Staph Medium ensemencé des tests NO₃ à PNPG. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube.
- Les tests ADH, URE vont être complété avec l'huile de vaseline.
- Renfermer la boîte d'incubation puis incubé à 37°C pendant 24 heures

- **Lecture :**
- Les résultats doivent être notés sur la fiche de résultat.
- La lecture se fait à l'aide d'un tableau de lecture et d'un logiciel d'identification (**Aouissi, 2010**).

Chapitre IV

Resultats et discussions

IV. Résultats et Discussions de la caractérisation physico-chimique microbiologique et toxicologique des eaux usées hospitalières et l'eau de source :

IV.1. Caractérisation physico-chimiques :

✓La température :

Les résultats obtenus montrent une température comprise entre 17,1°C et 18 °C dans les deux sites , eaux usées hospitalières et l'eau de source . Ces valeurs reste simultanément conformes à la norme internationale établie par l'OMS (2009) qui fixait la température maximale à 30 °C.

La mesure de la température est nécessaire puisqu'elle joue un rôle important dans la solubilité des gaz, la dissociation des sels dissous , la détermination du pH et dans l'augmentation des activités chimiques, bactériennes et de l'évaporation de l'eau.

✓ PH:

Les résultats du pH présentés dans cette étude ont montré que ces effluents hospitaliers ont un pH qui oscille entre 7,33 et 8. Ainsi que l'eau de source qui présente un PH de 7,74 en mois d'avril et 7,83 en mois de Mai Ce résultat est conforme à celui de l'OMS (6,5-8,5)

Les bactéries d'une manière générale se développent dans une gamme de pH qui se rapproche de la neutralité.

✓ La conductivité:

La conductivité électrique constitue un critère d'évaluation de la salinité et de la minéralisation globale des eaux .elle varie en fonction de la température et la concentration des ions. Elle est probablement l'un des plus simples et le plus important indicateur de contrôle de la qualité des effluents hospitaliers.

- Les valeurs mesurées dans les eaux usées hospitalières montrent des valeurs entre 925 et 1103 $\mu\text{S}/\text{cm}$, globalement inférieures à la norme 2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ce qui indique une minéralisation moyenne, car plus y'a des ions dans l'eau plus la conductivité est élevée.

- Pour les eaux des sources, ils ont une minéralisation très faible avec des valeurs de la conductivité électrique inférieures à 2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$; entre 916 et 969 $\mu\text{S}/\text{cm}$. ces eaux ont un

caractère acide. Cette acidité liée à l'absence de minéraux facilement altérables et à un recyclage efficace des éléments nutritifs par la végétation.

✓la salinité les résultats obtenus varient entre (0,3% et 0,54%) dans les eaux usées

Tableau 05: résultats des paramètres physico-chimiques des eaux usées hospitalières et source

	Eau usées hospitalière					Eau de source		
	Avril		Mai		Les normes	Avril	Mai	Les normes
	08h30	12h30	08h30	12h30		08h30	12:30	
Temperature (°C)	17,1	18	17,5	17,4	Inférieur à 30°C	18,1	17, 1	25
Ph	7,33	8	7,74	7,83	6,5/8,5	7,04	7,65	> 6,5 et < 9
Conductivité (µS/cm)	1103	1082	925	1099	2000	969	916	2800
Salinité (%)	0,54	0,3	0,46	0,54	0	0,48	0,46	/

hospitalières et entre(0,48% et 0,46 %) en eau de source .

Tableau 06: résultats des paramètres physico-chimiques (rejet/source)-1

	Eaux usées hospitalières					Eau de source		
	Avril		Mai		Les normes	Avril	Mai	Les normes
	08h30	12h30	08h30	12h30		08h30	12h30	
Turbidite (Ntu)	94,5	98,8	77,1	88,4	/	0,46	0,75	5
RS (mg/l)	161	472	172	488	<100	68	72	<500
DBO (mg/l)	222	198	203	196	35	0	9	3
MES (mg/l)	89,879	122,356	95.772	128,06	35	3,789	4,943	10
Calcium (mg/l)	92	87	80	80	/	84	88	200 (mg/l)
Magnésium (mg/l)	53,4	52,1	53,46	53,46	300	46,17	38,88	30-150(mg/l)

	Eaux usées hospitalières					Eau de source		
	Avril		Mai		Les normes	Avril	Mai	Les normes
	08h30	12h30	08h30	12h30		08h30	12h30	
La dureté T. H. (°F)	45	44	32	30	/	40	38	500(mg/l)
Sodium (mg/l)	51,1	52,2	50	50	/	63	73,5	20-200(mg/l)
Potassium (mg/l)	15	14	11,3	15,9	/	15,5	16,5	12(mg/l)
Chlorure (mg/l)	101,17	102	67,45	80,94	500	80,94	67,45	350(mg/l)
Sulfate (mg/l)	104	105	71,31	76,05	400	71	76,59	400(mg/l)
Nitrate (mg/l)	4,02	4,1	6,07	5,12	50	48,3	46,34	25-50(mg/l)
Nitrite (mg/l)	0,408	0,391	<0,02	<0,02	0,2	<0,02	<0,02	0,1
Ammonium (mg/l)	0,83	0,98	0,64	0,55	0,5	<0,02	<0,02	0,2
Phosphate (mg/l)	7,46	8,02	5,88	5,64	10	0,623	0,59	0,5
Matière organique (mg/l)	22,11	22,5	14,57	12,23	10	4,94	4,52	5

✓ **Le taux de résidus secs :**

(488 mg/L) est × 4 fois la norme (< 100 mg/L) dans les eaux usées hospitalière Les concentrations de résidus de médicaments, lorsqu'ils sont présents et détectables par les technologies actuelles, restent cependant faibles, de l'ordre de quelques dizaines de ng/L dans les eaux de surface, quelques centaines de mg/L dans les effluents de stations d'épuration des eaux usées (STEU), de quelques mg/L dans des eaux souterraines (Besse, 2010).

✓ **DBO :**

Les valeurs de la DBO sont fluctuent entre une valeur maximale 222 mg/L, et une valeur minimale de 196 mg/L dans les rejets hospitaliers, de qui dépasse la norme. Ces résultats traduisent une forte prolifération de la pollution organique de ces effluents.

La DBO donne un aperçu de la santé de l'eau en regardant combien d'oxygène est nécessaire pour décomposer les déchets. Une DBO élevée révèle des menaces sérieuses pour l'environnement. La décomposition intensive de la matière organique entraîne une diminution de l'oxygène dissous, compromettant la vie aquatique et favorisant l'eutrophisation. Pour l'eau de source, une valeur nulle obtenue dans le mois d'avril, mais le mois de Mai la valeur mesurée est de 9 mg/l ce qui dépasse la norme 3mg/l . Une DBO élevée dans l'eau destinée à la consommation humaine peut présenter des risques sanitaires, soulignant l'importance cruciale de la mesure et de la gestion de la DBO (Arnaud, 2024).

✓La turbidité:

Le taux de la turbidité le plus élevé dans l'eau de source est enregistré en mois d'avril (0,75 NTU) est ce dernier reste conforme a la norme par contre dans l'effluent hospitalier on a enregistré une valeur de (98,9 NTU) et (71,1 NTU)comme valeur maximal est ce dernier est considere comme Turbide La turbidité peut avoir des effets importants sur la qualité microbienne de l'eau potable. En effet, la croissance microbienne dans l'eau est particulièrement marquée à la surface des particules et à l'intérieur des floes, naturellement présents dans l'eau ou formés lors de la coagulation. Ce phénomène résulte de l'adsorption d'éléments nutritifs aux surfaces, ce qui permet aux bactéries de croître plus efficacement (CFPT, 2002).

✓ Matières en suspension (MES) :

Les teneurs en matières en suspension varient entre 128,06 (mg/l) comme valeurs maximale et(89,879)mg/l comme valeur minimale dans les eaux usée hospitalières et cela dépassent les norme par contre en eau de source on a enregistre des valeurs qui ne dépassent pas la norme Les matières en suspension, représentent l'ensemble des particules minérales et organiques contenues dans les eaux. Les resultats obtenus peuvent empêcher la pénétration de la lumière, diminuer l'oxygène dissous et limiter ainsi le développement de la vie aquatique et peuvent ainsi,favoriser la toxicité de la faune microbienne.

Vu que les eaux usées hospitalières sont turbides cela signifie que nous avons une importante concentration en MES dans Les matières en suspension.

✓ **Les ions potassium :**

dépassent la norme (16 mg/L dans le rejet et l'eau de source) contre une valeur réglementaire de 12 mg/L.

✓ **Le taux de sodium ,calcium et magnésium :**

reste conforme à la norme dans les eaux usées hospitalières et la source

Les sels de métaux alcalins (sodium ou potassium) ou d'ammonium possèdent un pouvoir détersif important. Ils sont utilisés pour favoriser la solubilisation dans la solution détergente et présentent une faible activité bactériostatique réversible (Lavoué et al., 2002).

Lorsque le taux de potassium dans le sang atteint ou dépasse 7 mmol/l, une hémodialyse (épuration du sang à l'aide d'un rein artificiel) doit être pratiquée en urgence, afin d'éviter l'accident cardiaque (Ejenguele, 2024).

La qualité naturelle des eaux souterraines peut être altérée par l'activité humaine. Dans le cas d'une détérioration jugée importante, l'eau ne sera plus considérée comme potable pour la consommation humaine. L'eau des nappes n'est donc pas à l'abri de la pollution et l'auto-épuration naturelle n'est pas complète dans toutes les nappes et vis-à-vis de certaines substances. Les polluants d'origine superficielle peuvent diffuser librement dans le sol (Guillemin et Roux, 1992).

✓ **Nitrite :**

les valeurs mesurées de certains éléments indésirables tel que **le nitrite** dépassent faiblement les normes dans les eaux usées hospitalières en mois d'avril par contre dans la source on a enregistré des résultats nulles qui sont conforme à la norme(0.02mg/l) .

La présence de nitrite peut avoir plusieurs origines : installations septiques déficientes (Levallois et Phaneuf, 1994) ; engrais, eaux usées, décharges, eaux de ruissellement, lessivage des terres par les précipitations et l'oxydation de l'azote, oxydation des nitrites par les bactéries suite à l'infiltration des eaux usées ; matières fécales des animaux à sang chaud, fosses d'aisance à fond perdu (Mfonka et al., 2015).

Coulibaly (2005), montre que le nitrite étant toxique pour l'organisme de l'être humain. Sa présence en quantité importante dégrade la qualité de l'eau. La toxicité liée au nitrite est très significative en raison de leur pouvoir oxydant. Sa présence en quantité importante dégrade la qualité de l'eau.

✓ **Ammounium :**

✓ Les résultats obtenus d'ammounium dans le rejet hospitalier varient entre 0,55 mg/l comme valeur minimale et 0,98 mg/l comme valeur maximale contre une valeur réglementaire de 0,5 mg/l. Et Le taux enregistré en eau de source est inférieur de 0,02 mg/l alors que la norme ne doit pas dépasser un seuil de 0.2 mg/L et cela reste conforme à la norme

L'ammonium (NH_4^+) présent dans les rejets hospitaliers peut provenir de plusieurs sources :

Déchets corporels (Les rejets d'urine humaine contiennent de l'urée) ou des Produits pharmaceutiques (médicaments utilisés dans les traitements de troubles rénaux ou hépatopathies, peuvent libérer des composés azotés, dont l'ammonium, lorsqu'ils sont métabolisés dans l'organisme ou rejetés directement par les patients) Produits de nettoyage et désinfectants Certains produits utilisés dans les hôpitaux pour la désinfection et le nettoyage contiennent de l'ammonium quaternaire ou d'autres composés qui peuvent libérer de l'ammonium lors de leur dégradation.

L'ammonium dans les rejets hospitaliers est problématique car il peut causer une eutrophisation des milieux aquatiques ou être toxique pour certains organismes aquatiques.

✓ **Phosphate :**

Le taux du phosphate dans les eau usées hospitaliers reste dans les normes (10 mg/l) par contre dans l'eau de source on a enregistré des résultats qui dépassent faiblement la norme un résultat

de 0,63 mg/l comme valeur maximale en mois d'avril contre une valeur réglementaire de (0,5 mg/l)

La présence des phosphates dans les eaux naturelles à des concentrations supérieures à 0,1 ou 0,2 mg/l est l'indice d'une pollution par des eaux vannes contenant des phosphates organiques et des détergents synthétiques ainsi que par les eaux de ruissellement (**Verneaux, 1973 in Afri-Mehennaoui, 1998**).

Le phosphore est l'un des composants essentiels de la matière vivante. La teneur en phosphate est proportionnelle à la quantité de détergents présente dans l'eau. Ces teneurs en phosphate peuvent être originaires de médicaments (phosphate de sodium « SANDOZ » et phosphate de potassium « KALIUMPHOSPHAT »).

Selon la commission de la protection des eaux, du patrimoine, de l'environnement, du sous-sol et des chiroptères de Franche-Comté les critères analytiques du PO₄-2 dans l'eau :

- de 0 à 0,1 mg/l. de PO₄
- 2: très bon.
- de >0,1 à 0,5 mg/l: bon.
- de >0,5 à 1 mg/l: médiocre.
- de >1 à 2 mg/l: pollution.
- de >2 mg/l: très pollué

Comparant avec nos résultats d'analyse on conclue que les eaux usées hospitalières sont très polluées. et l'eau de source est médiocre

✓ **Le taux de la matière organique** dans l'eau de rejet (22 mg/L) en mois d'Avril est × 2 fois la norme (10 mg/L). La présence massive de matières organiques dans les effluents hospitaliers engendre un déficit en oxygène dissous (Arnaud, 2024).

✓ Certains éléments mesurés restent dans les normes en eau de source et en eau usée hospitalier : **chlorure ,sulfate ,nitrate** , et cela indique qu'il n'y a aucun impact environnement sanitaire .

IV.2. Caractérisation toxicologiques :

Tableau 07: résultats des métaux lourds (rejet/source)

	Eaux usées hospitalières					Eau de source		
	Avril		Mai		Les normes	Avril	Mai	Les normes
	08h30	12h30	08h30	12h30		08h30	12h30	
Chrom e (Ppb)	1,531	0,837	3,854	1,760	100	0,327	0,862	5 (ppb)
Manga nèse (Ppb)	202,890	117,898	117,127	95,677	1000	0,268	0,489	50(ppb)
Fer Ppb	1887,361	786,992	1372,164	603,071	3000	6,379	21,683	300 (ppb)
Nickel	4,075	2,759	4.028	3,110	500	0,274	0,457	70 (ppb)
Cuivre	20,578	11,858	14,783	18, 709	500	0,351	0, 613	2000 (ppb)
Zinc	119,260	74,565	146,177	82,300	3000	2,260	7,303	5000 (ppb)
Arsenic	1,612	9,676	1,500	1,127	100	0,853	0,843	10 (ppb)
Seleniu m	0,152	<0,001	<0,000	0,051	10	<0,000	<0,000	10 (ppb)
Cadiu m	0,905	0,186	1,431	0,220	200	0,003	0,009	3 (ppb)
Plomb	26,425	9,785	20,209	8,937	500	0,188	0,287	10 (ppb)
Mercur e	<0,01	<0.01	<0,01	<0,01	10	<0,001	<0,001	6 (ppb)

Les valeurs enregistrées dans notre étude ne dépassent pas les valeurs réglementaires simultanément en rejet hospitalier ou en eau de source que soit pour les éléments indésirables (cuivre, fer, manganèse et zinc) ou pour les métaux lourds toxiques y compris les "substances dangereuses prioritaires"(cadmium, l'arsenic, le plomb, le cuivre, le nickel, chrome, mercure) (tableau 07).

La composition des produits utilisés, dans les services de l'hôpital Fares Yahia de Miliana, ne révèle pas une concentration élevée en métaux lourds. Cela pourrait expliquer que les concentrations retrouvées dans les effluents de ces services ne sont pas significatives. Cependant, bien que ces concentrations soient faibles, l'introduction continue de métaux

lourds en milieu aquatique est à l'origine d'effets néfastes sur les organismes marins à cause de leurs propriétés de bioaccumulation et de biomagnification (**Lim et Schoenung, 2010 ; Baby et al., 2010**).

Trois principaux facteurs ont un effet sur les risques de contamination des eaux souterraines et des puits : la texture du sol, la profondeur de la roche-mère et le niveau de la nappe phréatique (**Mnaouer et al ; 2024**). Cette contamination se fait par l'infiltration des métaux lourds très toxiques issus des déchets, des matériaux et par l'émission des biogaz. La qualité de la nappe phréatique se dégrade lorsqu'elle reçoit de l'eau contaminée qui s'infiltré dans le sol et qui n'est pas suffisamment filtrée ou qui n'a subi aucune épuration naturelle (**Mnaouer et al ; 2024**).

Les trois métaux (cadmium, plomb, mercure) ont été identifiés comme des "substances dangereuses prioritaires", et sont soumises à un objectif de rejet zéro dans les eaux souterraines dans la Décision 2455/2001/CE du conseil Européen modifiant la Directive Européenne sur l'Eau 2000/60/CE (**Burnol et al., 2006**).

L'arsenic inorganique, le cadmium, le mercure et le plomb sont des toxiques cumulatifs, capables de s'accumuler dans les produits alimentaires aquatiques et d'occasionner un certain nombre de perturbations chez l'homme : atteintes rénales, osseuses, neurologiques et/ou digestives, troubles cancérogènes et/ou mutagènes (**Oliveira et al., 2012 ; Prozialeck et Edwards, 2012**).

Bien que la concentration en métaux lourds dans les effluents liquides fournisse des informations précieuses, la toxicité de ces métaux devrait être prise en compte dans la comparaison de l'impact potentiel de ces éléments métalliques sur l'environnement et sur les animaux aquatiques.

IV.3. Caractérisation microbiologique :

IV.3.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale :

Pour les eaux usées hospitalières :

❖ Premier prélèvement :

Les résultats de dénombrement de la flore aérobie mésophile s totale dans l'eau usée.

au cours du mois d'Avril montrent un nombre de bactéries de (92 UFC/ml) e matin alors qu'on observe une diminution des germes totaux à 12h30 arrivé à (38 UFC/ml)

❖ Deuxième prélèvement :

On remarque que durant le mois de Mai on enregistre une valeur maximale de (190 UFC/ml) à 8h30, et une valeur de (145 UFC/ml) est enregistrée à 12h30.

Le taux de la flore aérobie mésophile totale dans les effluents hospitaliers est largement important; cela pourrait être dû à l'enrichissement des effluents hospitaliers en matières organiques.

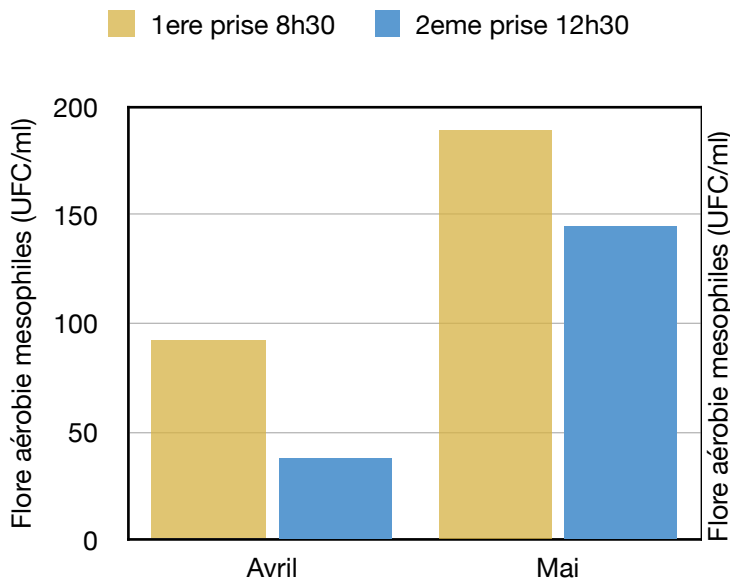


Figure 41 : représentation graphique de la flore aérobie mésophile s totale dans l'eau usée.

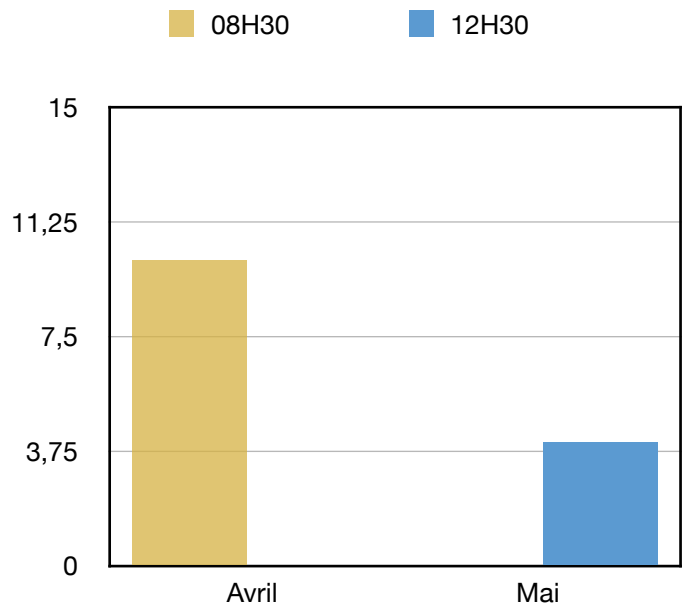


Figure 42: Variation de la flore aérobie Mésophiles Totale dans l'eau de source

D'après les résultats des deux prélèvements réalisés, la charge bactérienne la plus élevée est enregistrée pendant le mois d'Avril et la plus basse est notée au cours du mois de Mai. Ceci peut être expliqué par la sensibilité de ces germes aux conditions environnementales en dehors du tractus digestif de leur hôte.

Les eaux pluviales contribuent à la dilution du milieu durant les périodes hivernale et printanière et par conséquent une diminution de concentration des germes dans les eaux usées.

Pour l'eau de source :

d'après les résultats obtenus des mésophiles totaux à 37°C nous avons enregistré une valeur minimale de (4UFC/100 ml) dans le mois de mai et une valeur maximale de (10UFC/100ml) dans le mois d'avril. ces résultats restent toutes fois conformes aux normes prescrites par la réglementation algérienne .

VI.3.2. Recherche d'Anaérobie Sulfito-Réducteur (ASR) :

Pour les eaux usées hospitalières :

❖ Premier prélèvement :

La recherche des anaérobies sulfito-réducteurs au niveau de l'hôpital Fares Yahia nous a permis de révéler une présence de (6 ASR/20 ml) le matin (14 ASR/20 ml) à 12h30.

❖ Deuxième prélèvement :

Au cours du mois de Mai, les résultats obtenus indiquent une présence des spores d'ASR (20 ASR/20 ml) à 8h30 et (22 ASR/20 ml) à 12h30.

Les bactéries anaérobies sulfito-réductrices sont d'origine fécale et indiquent une contamination fécale ancienne.

Concernant les deux prélèvements, on observe que le nombre de spores d'ASR au cours du mois de Mai est élevé par rapport au mois d'Avril.

Les anaérobies sulfito-réducteurs est un groupe composé de microorganismes anaérobies sporigènes présents dans les fèces , ils sont souvent considérés comme des indices de contamination ancienne. Leurs spores peuvent survivre dans l'eau beaucoup plus longtemps

que les coliformes et ils résistent à la désinfection , cette résistance pourrait expliquer leur

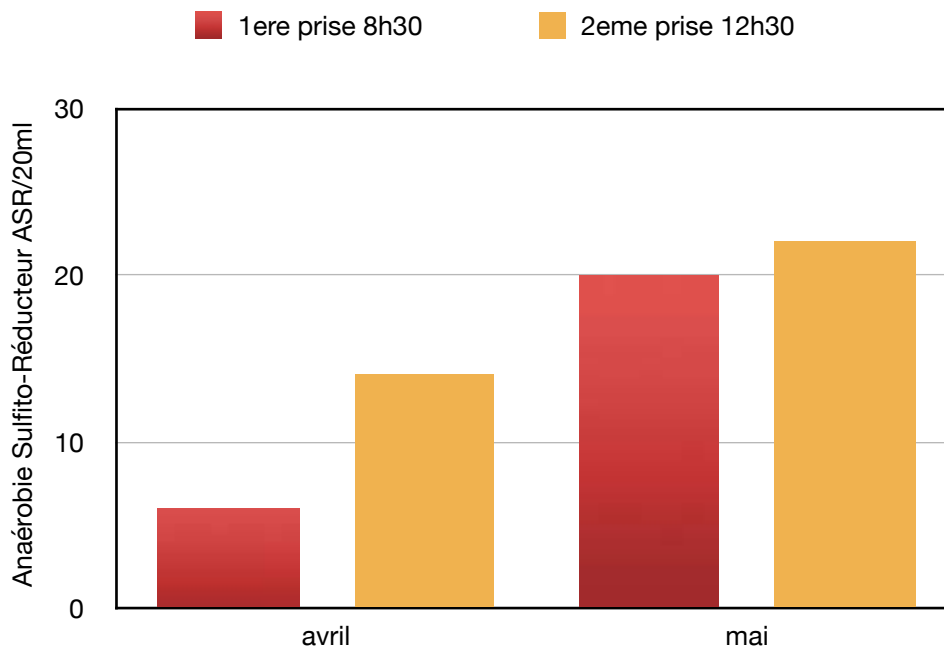


Figure 43 : représentation graphique des anaérobies sulfito-réducteur dans l'eau usée.

concentration dans les effluents hospitaliers (Ameziane, 2009).

Pour l'eau de source:

les anaérobies Sulfito- réductrices sont des germes capables de sporuler et de se Maintenir longtemps dans l'eau. Ils sont donc les témoins d'une pollution ancienne. Plus difficilement tués que les coliformes par les désinfectants, ils constituent donc Un bon indicateur de l'efficacité de la désinfection. Les résultats obtenus sont de valeur nulles (00 UFC/100 mL) dans les deux échantillons analysés, ce qui confirme l'absence totale des ASR.

VI.3.3.Recherche et dénombrement des Coliformes totaux :

Pour les eaux usées hospitalières :

❖ Premier prélèvement :

Lors du dénombrement des coliformes totaux aux cours du mois d'Avril , les résultats obtenus de deux prises sont respectivement (75×10^3 CT/100 ml), (45×10^3 CT/100 ml)

❖ Deuxième prélèvement :

Le nombre des coliformes totaux lors du deuxième prélèvement est (95×10^3 CT/100 ml) lors de la première prise et de (45×10^3 CT/100 ml) lors de la deuxième prise.

À partir des deux prélèvements, lorsque l'on compare entre les résultats obtenus et les normes de l'OMS et aussi les normes Algériennes, nous notons que nos résultats dépassent les valeurs de ces derniers.

les concentrations de coliformes totaux montrent une charge bactérienne plus élevée durant les deux mois atteignant des concentrations maximales pendant le mois de Mai. Cette élévation des concentrations est probablement liée, d'une part à la charge organique marquante favorisant ainsi la croissance des germes dans le milieu, et d'autre part au manque de précipitations.

Au cours du mois d'Avril, les eaux pluviales contribuent à une dilution du milieu et par conséquent une diminution de concentration des germes (**Ameziane et Benaabidate, 2012**).

VI.3.4. Recherche et dénombrement des Coliformes Fécaux :

❖ Premier prélèvement :

Concernant le nombre des coliformes fécaux au cours du mois d'Avril, on remarque que l'hôpital Fares Yahia présente une valeur de (75×10^3 CT/100 ml) à 8h30 et (45×10^3 CT/100 ml) à 12h30

❖ Deuxième prélèvement :

Pour le mois de Mai, les résultats obtenus présente une valeur élevée de (95×10^3 CT/100 ml) et (45×10^3 CT/100 ml) lors de la deuxième prise.

Sur la base des résultats des analyses effectuées, on remarque que le nombre des coliformes fécaux du mois de Mai est plus élevé que le nombre du mois d'Avril.

La concentration des coliformes fécaux d'un effluent hospitalier pourrait nous renseigner sur le taux d'écotoxicité de cet effluent. C'est un indicateur du degré de pollution des eaux par

des germes fécaux et elle est considérée comme un indicateur indirect de la présence massive d'antibiotiques et / ou de désinfectants.

C'est ainsi qu'on pourrait lier la forte teneur des effluents de l'hôpital Fares Yahia en

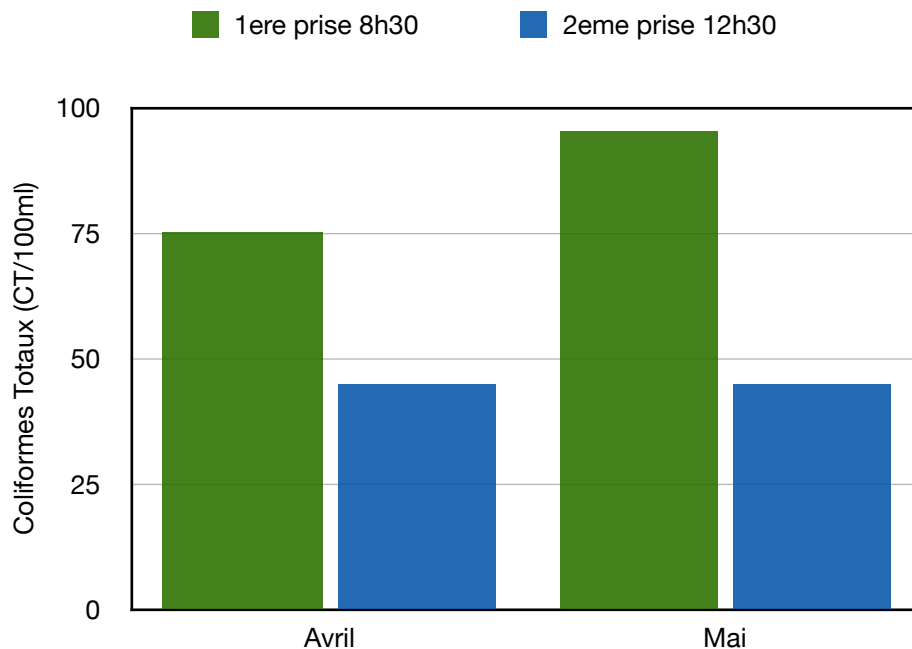


Figure44: représentation graphiques des coliformes totaux dans l'eau usée.

coliformes fécaux à une faible présence des antibiotiques et / ou de désinfectants dans ces effluents.

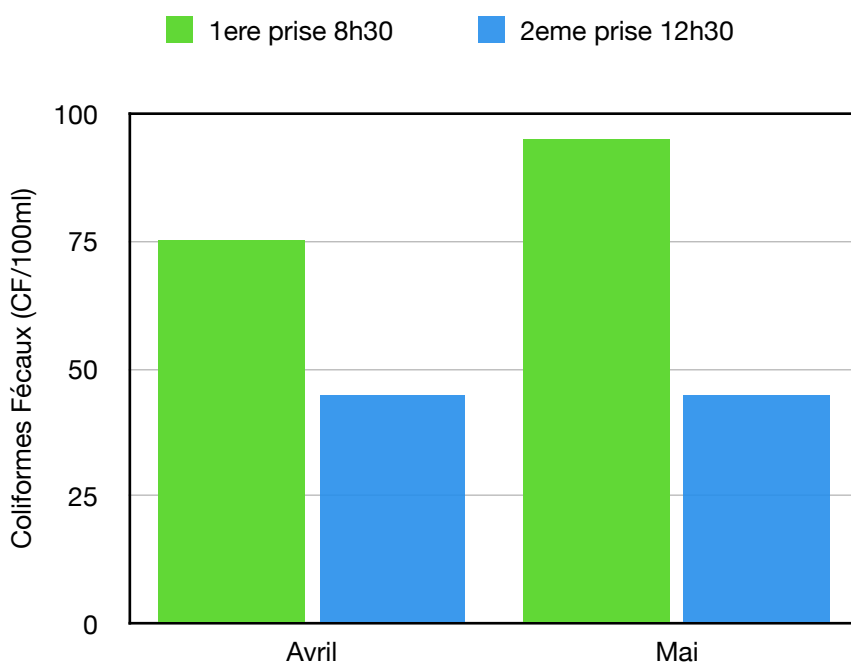


Figure 45: représentation graphiques des coliformes fécaux dans l'eau usée.

Pour l'eau de source:

D'après les résultats obtenus on remarque l'absence total des coliformes totaux et fécaux (00 UFC/100ml) dans les deux prises et ces résultats sont conformes a la normes algérienne qui exclue impérativement la présence des coliformes dans 100 ml de l'échantillon.

VI.3.5. Recherche et dénombrement des Streptocoques :

Pour les eaux usées hospitalières :

❖ Premier prélèvement

Les résultats de dénombrement des streptocoques fécaux au cours du mois d'Avril montrent une valeur minimale de (45×10^3 SF/100ml) lors des deux prises.

❖ Deuxième prélèvement

Les résultats des analyses microbiologiques des eaux usées lors de mois de Mai montrent un nombre important des streptocoques fécaux arrivé à (115×10^3 SF/100ml) considéré comme valeur maximal au cours du premier prélèvement, suivie de (75×10^3 SF/100ml) lors de la deuxième prise

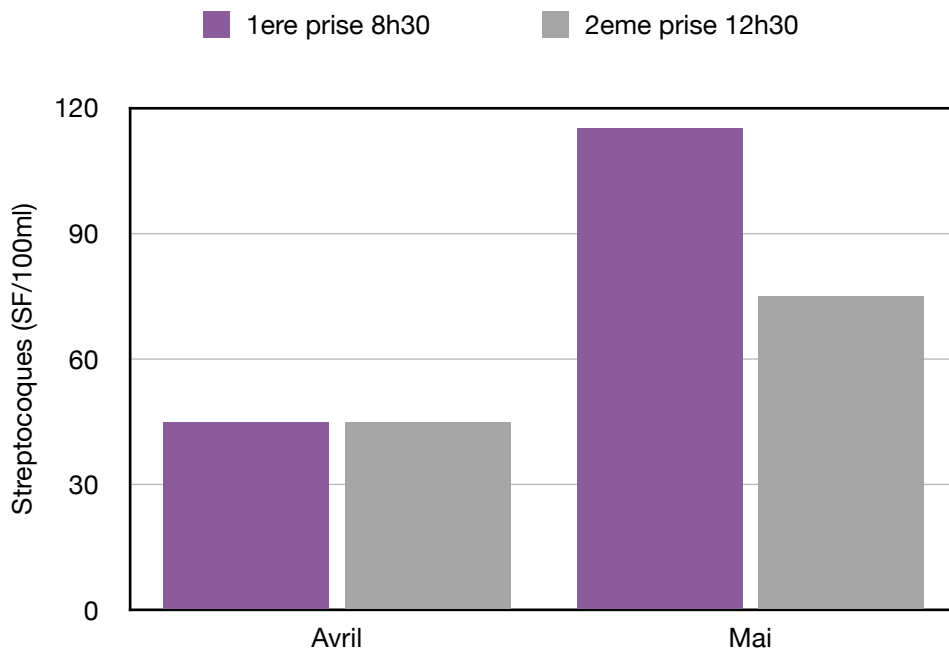


Figure46 : représentation graphique des streptocoques fécaux des eaux usées.

Les streptocoques fécaux sont des excellents indicateurs de contamination récente par la matière fécale des animaux (**Rodier, 2009**).

La diminution de la concentration en streptocoques fécaux est due au fait que pendant la période des pluies, le niveau d'eau augmente, provoquant une dilution du milieu. Durant cette période, la température s'abaisse et donc il y a une réduction du métabolisme et du nombre des bactéries (**Zouaimia et Brahmia, 2013**).

Pour l'eau de source:

Selon Rodier (2009), la présence des streptocoques fécaux doit s'accompagner de la présence de coliformes fécaux pour être certain d'une contamination fécale d'une eau d'alimentation. Les analyses bactériologiques effectuées sur les échantillons d'eaux montrent l'absence totale (00 UFC/100 ml) des streptocoques fécaux dans les deux échantillons. Ce qui confirme l'absence de la contamination fécale.

VI.3.6. Recherche des bactéries pathogènes:

Identification des espèces bactériennes:

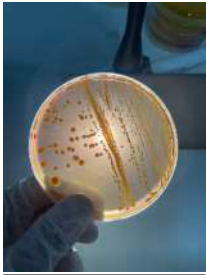
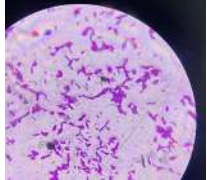


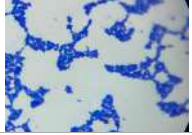
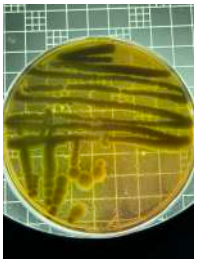
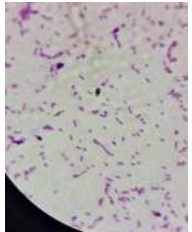
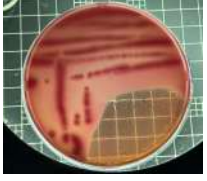

A. Caractères morphologiques et coloration de Gram :

Pour la recherche et l'identification des germes existants dans nos échantillons, on les a soumis à certains nombres de tests :

- Culture
- repiquage des colonies identiques sur les mêmes milieux de cultures
- Incubation des boîtes à 37°C pendant 24 heures.
- Identification des colonies trouvée par la coloration de Gram.
- Identification des colonies trouvée par test catalase et test oxydase.

les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 11: Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées.

Milieu	Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies	Test oxydase	Test catalase
Hektoen		Colonie jaune saumon	Gram - bacille 	Négative	Positive
Hektoen		Colonie bleu vert centre noir	Gram - bacille	Négative	Positive
Chapman		Colonie jaune doré	Gram + coque en amas. 	Négative	Positive
SS		Colonie ambrée centre noirs	Gram - bacille 	Négative	Positive
SS		Colonie rose / rouge	Gram - bacille	Négative	Positive
GNAB		Petite colonie, plate, lisse, circulaire, transparente ou blanche	Gram - bacille batonnet incurvé	Positive	Positive

✓ A l'issue de cette coloration, coloration Gram .On peut distinguer :

-Des bactéries colorées en violet, dites Gram+

-Des bactéries colorées en rose, dites Gram -

Cette coloration permet aussi l'étude de la morphologie et le mode de regroupement des bactéries (bacilles ou coques).

-Dans les milieux SS , Hektoen et Ghab : on a trouvé des bactéries Gram - en forme bacilles

-Dans le milieu CHAPMAN on a trouvé des bactéries gram + en formes de coques.

✓ On a effectué le test oxydase et le test catalase :

Test oxydase : Présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries gram -

Il consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore en un dérivé rose violacé .

-Les bactéries roses violacées possèdent une activité oxydase ,elles sont dites oxydase +

-Les bactéries incolores ne possèdent pas une activité oxydase elles sont dites oxydase -

Test catalase : présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries gram +

Il consiste à mettre les bactéries en quantité suffisante en contact de H₂O₂.

-Les bactéries qui dégradent le H₂O₂ en H₂O ET O₂ visibles par la formation de bulles gazeuses possèdent une activité catalase ,elles sont dites catalase +

-Les bactéries qui ne dégradent pas le H₂O₂ en H₂O et O₂ ne possèdent pas une activité catalase ,elles sont dites catalase -.

Dans les milieux SS et HEKTOEN et CHAPMAN les bactéries sont oxydase - et catalase +.


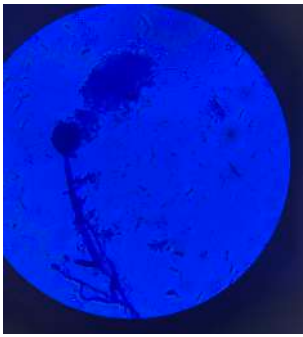

Dans le milieu GNAB les bactéries sont oxydase +et catalase +.

B. Recherche des levures (*Candida albicans*)

Pour la recherche et l'identification des levures et champignons existants dans nos échantillons, on les a soumis à certains nombres de tests :

- Culture
- Repiquage des colonies identiques sur les mêmes milieux de cultures
- Incubation des boites à 22°C pendant 5jours.
- Observation macroscopique des colonies
- Observation microscopique des colonies (à l'état frais).






Tableau 09: résultats et identification des champignons et levures

Milieu	Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
Sabouraud		Champignon noir <i>Aspergillus niger</i>	
Sabouraud		Colonie crémeuse blanche <i>Candida albicans</i>	Gram positif

C. Identification biochimiques des espèces testées :

L'utilisation des galeries biochimiques **Api 20E** et **Api Staph** nous a permis d'identifier les germes pathogènes annoncées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10 : Résultats de l'identification biochimique par les API systèmes des germes isolés.

API systeme	Milieu de culture	Espèce identifiée
API 20E	SS	<i>Citrobacter Freundii</i> 
	SS	<i>Salmonella spp</i> 
	Hektoen	<i>Escherichia coli</i> 
	GNAB	<i>Vibrio cholerae</i> 
API staph	Chapman	<i>Staphylococcus aureus</i> 

L'utilisation des galeries biochimiques Api 20E, Api staph nous a permis d'identifier les espèces suivantes : *Salmonella spp* , *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* et *Citrobacter Freundii*.

Ces germes sont pathogènes (**Feix et Wiart, 1998**) et représentent un risque majeure de santé publique (**Altemeyer et al., 1990**) car elles causent les maladies suivant Fièvre, inflammation des voies respiratoires, diarrhée, d'infections intestinales et extra-intestinales, infections cutanées...

Conclusion

Dans ce travail, nous avons étudié l'impact environnementale et sanitaire des polluants émergent dans les eaux usées hospitalières de l'hôpital Fares yahia de la ville de Miliana et l'eau de la source Ain el berkouk pour examiner s'il y a une éventuelle contamination ; Cette étude est une première étude dans la région qui a traité à la fois les paramètres physico-chimiques, métalliques et microbiologiques dans deux sites différents les eaux usées hospitalières et l'eau de source

Les analyses physico-chimiques ont montré des résultats qui dépassent les normes dans les rejets de l'hôpital en DBO, MES, RS, Ammonium et Nitrite et dans l'eau de source en DBO, phosphate et le potassium.

Les analyses toxicologiques nous indiquent qu'il y a une faible concentration des traces métalliques plomb, nickel, arsenic, mercure, fer, cadmium, sélénium, chrome et manganèse dans les effluents hospitaliers ainsi que dans la source et cela montre que la composition des produits utilisés dans les services de l'hôpital Fares Yahia de Miliana, ne révèle pas une concentration élevée en métaux toxiques.

Les analyses bactériologiques ont porté sur la recherche et le dénombrement des bactéries indicatives de contamination fécale comme les coliformes totaux et fécaux, streptocoques fécaux ainsi que la recherche de germes pathogènes ; les résultats de ces derniers ont montré une forte charge bactérienne.

Les tests d'identification effectués (l'état frais, coloration gram, galerie API 20 E et staph.) ont permis d'identifier les espèces suivantes : *Salmonella spp*, *Citrobacter freundii*, *E. coli* et *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera*.

Les rejets hospitaliers de l'EPH de Miliana peuvent impacter la qualité des ressources d'eau à proximité. Ce qui rend ces eaux impropres à la production de l'eau potable. La présente étude a montré que la source de AIN BERKOUK n'a pas été contaminée par ces rejets.

Les ressources en eau subissent une pression anthropique due à la croissance démographique importante, rejets hospitaliers, rejets urbains, Ces derniers produisent des volumes importants d'eaux usées non traitées rejetées directement dans le milieu naturel, ce qui peut menacer l'homme et son environnement.

Vu l'impact néfaste des effluents sur la santé et l'environnement en perspectives, il serait judicieux de:

- Elargir l'éventail des recherches en fixant d'autres points de prélèvement, ce qui permettra de suivre la répartition des contaminants.
- Faire un control continu de la qualité des eaux, notamment dans les zones agglomérées.
- Les déchets des médicaments doivent être obligatoirement incinérés.
- Récupération et élimination contrôlée des produits toxiques radioactifs et génotoxiques ;
- Le renforcement des activités de suivi et de contrôle de la gestion des déchets hospitaliers.
- L'amélioration de l'encadrement et de la supervision du personnel en matière de gestion des déchets de soins au niveau du service.

Références Bibliographiques

- **Abessa R, Tabet S, (2014).** Étude microbiologique et génotoxique des boues des eaux usées de la ville de Guelma. Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma, 101p.
- **Ahmed Fassi Fihri. (2016).** Déchets médicaux et pharmaceutique au Maroc, vers un projet de collecte et de traitement pour les établissements de santé, de la ville de FÈS , université de SHERBROOKE.
- **Abo Abiba, C. (2006).** Connaissances, attitudes et pratiques du personnel hospitalier du district sanitaire de tiassale en matière de gestion des déchets. Université de Cocody Abidjan, Université Paris Dauphine.
- **Ayad, W., & Kahoul, M. (2016).** Evaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux de puits dans la région d'El-Harrouch (NE-Algérie)[Assessment of physico-chemical and bacteriological quality of Well water in the region of El-Harrouch (NE-Algeria)]. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7, 1288-1297.
- **Aberkane M., harkat R., Mekhalfi M. (2011).** Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux d'un écosystème lacustre cas de Garaet Hadj Tahar (skikda). Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma.76p.
- **Aouissi A., (2010).** Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie). Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université. 8 Mai de Guelma.164p.
- **Afri-Mehennaoui, F. Z. (1998).** Contribution à l'étude physico-chimique et biologique de l'Oued Kébir-Rhumel et de ses principaux affluents. *Mémoire de Magister, Université de Constantine*
- **Ameziane, N. (2009):** La problématique des déchets hospitaliers au niveau de la ville de Meknès (Maroc) entre gestion et impact sur l'environnement et la santé humaine. Mém. DESA, Fac. Sc. Meknès.38.
- **Ameziane, N.E. et Benaabidate, L. (2012) :** Caractérisation microbiologique des effluents de l'hôpital Mohamed V de Meknès et étude de leur impact sur l'environnement. *Revue « Nature & Technologie »*. C- Sciences de l'Environnement, n° 10/Janvier 2014. p31.
- **Aliouche, S., Kehila, Y., & Benkahoul, L. (2017).** Modalités de sélection des sites d'enfouissement technique en Algérie et leur prise en charge par les instruments d'aménagement du territoire et d'urbanisme. *Environnement, Ingénierie & Développement*.
- **Belokda, W. (2009) :** Contribution à une gestion des effluents liquides hospitaliers. Mémoire de Master, Université Chouaib Doukkali El Jadida, Maroc.
- **Brahmia Ismahan ,Aouadi Fatima Zohra, B. A. (2013).** La résistance aux antibiotiques chez les salmonelles et les shigelles dans la région de Guelma.
- **Branchereau, V., Fauchon, N., & Thibert, S. (2006).** Perturbateurs endocriniens et résidus médicamenteux dans les rivières d'Ile-de-France. *TSM. Techniques sciences méthodes, génie urbain génie rural*, (12), 69-79.
- **Bengouga, K. (2010) :** Contribution à l'étude du rôle de la végétation dans l'épuration des eaux usées dans les régions arides. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider, Biskra.

- **Bedouh Y., (2014).** Evaluation de la toxicité des eaux usées traitées par la station d'épuration de Guelma et son impact sur l'oignon « *Allium cepa* ». These en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat. Université Badji Mokhtar - Annaba .158p
- **Biadillah M. C., 2004.** Contribution à l'étude des aspects qualitatifs et quantitatifs des déchets hospitaliers cas de l'EPH d'Amizour,univ. De Bejaia, p 3.
- **Bourogaa, S., & Ouareth, A. (2016).** Situation sur la gestion des déchets solides hospitaliers de la ville d'Ouargla (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA).
- **Billau, P. (2008).** **Identification signalétique.**
- **Bouteffas, W. et Benoughidene, S. (2016) :** Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et bactériologique de quatre sources d'eau dans le bassin de Guelma. Mémoire de Master, Université 08 mai 1945, Guelma, Algérie, p96.
- **Brahmia, I., Aouadi, F.Z. et Boussaha, A. (2013) :** La résistance aux antibiotiques chez les salmonelles et les shigelles dans la région de Guelma. Mémoire de Master, Université 08 mai 1945, Guelma, Algérie, p60.
- **Brenner DJ, Farmer JJ, Noel R, Krieg JT. 2005**Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (The Proteobacteria), Part B (The Gammaproteobacteria), 2ème Edition vol. 2. SpringerVerlag, New York ; p 1106.
- **Bouchaala L., (2010).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zénati(Guelma). Mémoire de magister. Université 8 Mai 1945 de Guelma, 135p.
- **Bazine N., Bourenane A., (2011).** Evaluation de la qualité bactériologique des eaux de l'Oued Messida. Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma.98p.
- **Bara, Y. (2016) :** Etude comparative de la qualité physicochimique et bactériologique de l'eau du barrage de hammam debagh avant et après traitement cas de la station de traitement de hammam debagh – Guelma. Mémoire de Master, Université 8 mai 1945, Guelma, Algérie, p 89.
- **Bricha S, Ounine K,Oulkhrie S,EL Haloui N, Attarassi B.2007.** Etude de la qualité, physico-chimique et bactériologique de la nappe phréatique M'nasra(Maroc). Revue Afrique Science .03(3):391-404
- **Besse JP.** Impact environnemental des médicaments à usage humain sur le milieu récepteur : évaluation de l'exposition et des effets biologiques pour les écosystèmes d'eau douce. Thèse Université de Metz-Cemagref. 2010.
- **Besse, J. P., &Garric, J. (2007).** Médicaments à usage humain: risque d'exposition et effets sur les milieux récepteurs. Proposition d'une liste de médicaments à usage humain à surveiller dans les eaux de surface continentales. Agence de l'Eau RMC, Lyon.
- **Baby J, Raj JS, ET Biby, Etsankarganesh P, Jeevitha MV, Ajisha SU, Rajan SS.2010.** Toxic effect of heavy metals on aquatic environment. Int. J. Biol. Chem. Sci., 4(4): 939-952. <http://ajol.info/index.php/ijbcs>
- **Burnol A., Duro L., Grive M.,** Eléments traces métalliques. Guide méthodologique. Recommandations pour la modélisation des transferts des éléments traces métalliques dans les sols et les eaux souterraines. Rapport final. INERIS-DRC-06-66246/DESP-R01a. 119p. 2006.
- **Chonova, T., Keck, F., Labanowski, J., Montuelle, B., Rimet, F., & Bouchez, A. (2016).** Separate treatment of hospital and urban wastewaters: a real scale comparison of

- effluents and their effect on microbial communities. *Science of the Total Environment*, 542, 965-975.
- **Chelli, L., & Djouhri, N. (2013).** Analyses des eaux de réseau de la ville de Béjaia et évaluation de leur pouvoir entartrant. *Université A. MIRA-BEJAIA*, p6.(Chiguer, 2013).
 - **Chiguer, M. (2013)** : La qualité microbiologique des eaux a l'hôpital Ibn Sina de Rabat. Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Souissi, Maroc, p154.
 - **Chevalier P., 2003** : Coliformes fécaux, in Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine, Institut national de santé publique du Québec, p 3.
 - **CFPT (2002)** La turbidité de l'eau potable. Document de consultation publique préparé par le Sous-comité fédéral provincial- territorial sur l'eau potable, 33.p.
 - **Deloffre-Bonnamour, N., 1995.** Wastes rejects from health establishments: liquid effluents to solid wastes
 - **Dali, H., & Zouaoui, K. (2007).** Réutilisation des eaux usées épurées en irrigation. *Mém. Ing. Génie des procédés. Génie de l'environnement. Univ de Ouargla.* 68p.
 - **Dromgny E., 2012** : Les critères microbiologiques des denrées alimentaires : Réglementation, agents microbiens, autocontrôle, Edition TEC et DOC, Lavoisier, pp 159-253.
 - **Délaras C., Trebaol B., (2003).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux: Réglementation - prélèvements - analyses. TEC & DOC, 269p.
 - **Délaras, (2000).** Microbiologie De L'environnement Avec Législation Gaëtan Morin Editeur.223p.
 - **Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., Bingen, E., Quentin, R. (2007):** Bactériologie médicale. Paris, Masson, France, p594.
 - **Delarras, C. (2007)** : Microbiologie pratique pour le laboratoire. Paris, Edition TEC& DOC, p476.
 - **Delarras, C. (2008).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : réglementation prélèvement analyses TEC&DOC.269p.
 - **Doran, T. I. (1999).** The role of Citrobacter in clinical disease of children. *Clinical infectious diseases*, 28(2), 384-394.
 - **Darsy, C., Lescure, I., Payot, V., & Rouland, G. (2002).** Effluents des établissements hospitaliers: teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et de gestion des boues. *Office International de l'Eau, Limoges (France), Site <http://www.oieau.org>.*
 - **Elarfi A., Charchar N., Sabber I., (2007).** valorisation eaux usées in vitro des principaux rejets de la ville de Guelma par le procédé des phragmifiltre. Mémoire d'ingénieur. Université 8 Mai de Guelma. Université 8 Mai 1945 de Guelma.135p.
 - **Emmanuel, E. (2004).** Évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers (Doctoral dissertation, Insa Lyon).
 - **Fekadu, Y., Mesfin, A., Haile, D., & Stoecker, B. J. (2015).** Factors associated with nutritional status of infants and young children in Somali Region, Ethiopia: a cross-sectional study. *BMC Public health*, 15, 1-9.
 - **Frobisher, F. (1976)** : Microbiologie clinique. Edition : HRW, p507.
 - **Franck R. ,2002** : Analyses des eaux aspects réglementaires et technique. Séries sciences et techniques de l'environnement, pp 19-187.

- **Gaid, A. (1993).** Traitement des eaux usées urbaines. Techniques de l'Ingénieur, C5 –220 -2, 30 p
- **Gaïd, A. (1984).** Epuration biologique des eaux usées urbaines. Office des publications universitaires.
- **Gueroui, Y. (2015) :** Caractérisation hydrochimique et bactériologique des eaux souterraines de l'aquifère superficiel de la plaine de Tamlouka (Nord-Est Algérien).Thèse de doctorat, Université 8 mai 1945, Guelma, Algérie, p200.
- **Ghali Souad, “ ÉTUDE DE LA CARBONISATION D'UN PRÉCURSEUR VÉGÉTAL,LES NOYAUX D'OLIVESUTILISATION DANS LE TRAITEMENT DES EAUX”,**Mémoire de Magister, l'université du 20 août 1955 – SKIKDA,2008
- **GUILLEMIN C. et ROUX J.C. (1992) -** La pollution des eaux souterraines. Manuels et Méthodes n° 23, éd. BRGM
- **Gaujous D.,** La pollution des milieux aquatiques Aide-mémoire, 2eme Ed Lavoisier. ISBN:2-7430-0021 (1995) 224p.
- **Hazzab, A. (2011).** Eaux minérales naturelles et eaux de sources en Algérie. *Comptes rendus. Géoscience*, 343(1), 20-31.
- **Hafiane, M., Khelifaoui, A.** Le traitement des déchets hospitaliers et son impact sur l'environnement.
- **Hounsinou P, Mama D, Dovonou F. Alasane A. 2015.** Seasonal evolution of the quality microbiological of the natural waters in the township of Abomey-Calavi (South Benin). *British Journal of Earth Sciences Research*, 3(1): 30-41.
- **Holmes P, Niccolls LM, Sartory DP (1996).** The Ecology of Mesophilic
- **Aeromonas in the Aquatic Environment.** In: The Aeromonas. Austin B.M.Altwegg,P.J. Gosling and S. Joseph(Eds) Chrichester, UK: Willy and Sons. pp. 127-150.
- **ISO 7027 -** Détermination de la turbidité de l'eau.
- **ISO 6058 -** Qualité de l'eau — Détermination des résidus dissous.
- **ISO 9964/3 -** Qualité de l'eau — Détermination du sodium et du potassium — Partie 3 : Méthode spectrométrique par émission de flamme.
- **ISO 9297 -** Qualité de l'eau — Détermination de la teneur en chlorures — Méthode au nitrate d'argent.
- **ISO 9280 -** Qualité de l'eau — Détermination des fluorures — Méthode électrométrique avec une électrode sélective.
- **ISO 6777 -** Qualité de l'eau — Détermination de la teneur en nitrites — Méthode spectrométrique.
- **ISO 7150 -** Qualité de l'eau — Détermination de l'ammonium — Partie 1 : Méthode par distillation manuelle.
- **ISO 6878 -** Qualité de l'eau — Dosage du phosphore — Méthode spectrophotométrique au molybdate d'ammonium.
- **ISO 17294-2 -** Qualité de l'eau — Application de la spectrométrie de masse avec plasma inductif (ICP-MS) — Partie 2 : Détermination de 62 éléments.
- **Jolibois, B., Guerbet, M., & Vassal, S. (2002).** Glutaraldehyde in hospital wastewater. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 42, 137-144
- **Kettab. A, (1992) :** « Traitement des eaux : Les eaux potables », Edition : Office des Publications Universitaires. Alger.

- **Kadouche S.**, Utilisations des biomatériaux dans le traitement des eaux, Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, 2013.
- **Kéléké S., Julien H., Audrey L., Raber W., (2004)**. Evaluation de la salubrité de l'eau des puits dans la ville de Pointe Noire étude bactériologique et chimique. Université Libre de Bruxelles.66p.
- **Lama, L. (2016)**. Bio-Medical Waste Management: A Study of Darjeeling District (Doctoral dissertation, Sikkim University).
- **Lebres E., (2006)**. Cours D'hygiène et De Microbiologie Des Eaux (Manuel De Travaux Pratiques Des Eaux). Institut Pasteur d'Algérie. 60p.
- **Lavoué J, Bégin D et Gérin M, 2002** La substitution des solvants par les nettoyants aqueux - Le dégraissage des métaux. IRSST; Université de Montréal. Bilans de connaissances / Rapport B064. Montréal: 138p.
- **Levallois P, Phaneuf D. 1994**. La contamination de l'eau potable par les nitrates : analyse des risques à la santé.Revue Canadienne de Santé Publique, 85(3) : 192-196.
- **Lim SR, Schoenung JM. 2010**. Human health and ecological toxicity potentials due to heavy metal content in waste electronic devices with flat panel displays. Journal of Hazardous Materials, 177: 251-259. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.12.025
- **Moumene S., Djamame A., (2011)**. Contribution à l'étude de traitement des eaux usées de la ville de Guelma. Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma, 101p
- **MARGUERON, T., MANSOTTE, F., & DUBREIL, J. (2016)**. L'alimentation en eau des zones d'habitat insalubre par des bornes fontaines monétiques à Mayotte Stratégie d'implantation et évaluation. *Environnement, Risques & Santé*, 15(5).
- **Marchal, N., Bourdon, J. L. et Richard, C. (1982)** : Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.
- **MARCIER. J, (2000)** : Le grand livre du l'eau, Edition : la reconnaissance du livre, collecte art de vivre, p91.
- **Mfonka Z, Ndam Ngoupayou JR, Ndjigui PD, Zammouri M, Kpoumie A, Rasolomanana E. 2015**. Hydrochimie et potabilité des eaux du bassin versant du Nchi dans le plateau Bamoun (Ouest Cameroun). Int. J. Biol. Chem. Sci., 9(4): 2200-2218.
- **Mnaouer K, Mghaiouini R, El Mouden M**. Etude environnementale de la contamination des eaux souterraines par des effluents liquides industriels. L'eau, l'industrie, les nuisances n°468 l'eau, l'industrie, les nuisances N°471. 94p.
- **Maheshwari M, Yaser NH, Naz S, Fatima M, Ahmad I. 2016**. Emergence of ciprofloxacinresistant extended-spectrum β -lactamase-producing enteric bacteria in hospital wastewater and clinical sources. *J Glob Antimicrob Resist*, 5: 22–25. DOI: 10.1016/j.jgar.2016.01.008
- **Mansotte F et Jestin E, 2000**.Les rejets liquides des établissements de santé : Caractérisation à la source et impact sur l'environnement marin côtier. AESN, DDASS SEINE MARITIME. 24425 RM. Le Havre: 31p.
- **Nauciel C.etVildéJ.L. 2005**.Bactériologie clinique : connaissances et pratique. 2^{ème} édition. Masson. Paris. p.259 .
- **Nauciel C., Vildé J.L. 2000**. Bactériologie Médicale. Masson. Paris. p5-15-47-128- 148.
- **Navoun S., (2005)**.Thermorésistante de trois sérotypes de salmonella dans l'œuf et les gésiers de poulets. Université Cocody d'Abidjan.87p.

- **Organisation mondiale de la Santé. (2009).** Lignes directrices pour la qualité de l'eau de boisson - Quatrième édition. Genève, Suisse : OMS.
- **Oliveira H, Lopes T, Almeida T, Pereira ML, Santos C. 2012.** Cadmium-induced genetic instability in mice testis. *Hum Exp Toxicol.*, 31(12): 1228-1236. <http://dx.doi.org/10.1177/0960327112445937>
- **Paris-Nord, C. C. (1999).** Elimination des effluents liquides des établissements hospitaliers.
- **Paulina A.K., Ashlee J.H., Omar K.F., Sanjit N.,** “Metal–organic frameworks for heavy metal removal from water ” . *Coordination Chemistry Reviews*, Vol :358,2018, pp :92–107.
- **Prozialeck WC, Edwards JR. 2012.** Mechanisms of Cadmium-Induced Proximal Tubule Injury: New Insights with Implications for Biomonitoring and Therapeutic Interventions. *J Pharmacol Exp Ther.*, 343(1): 2-12. <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.110.166769>
- **Tedoldi, D., Chebbo, G., Pierlot, D., Branchu, P., Kovacs, Y., & Gromaire, M. C. (2017).** Spatial distribution of heavy metals in the surface soil of source-control stormwater infiltration devices–Inter-site comparison. *Science of the Total Environment*, 579, 881-892
- **Rodier Jean et coll. (2009).** l'analyse de l'eau : eau naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 9^{ème} édition. Dunod. Paris. 1579p.
- **Rodier J., (1996).** L'analyse De L'eau; eaux naturelles, eaux résiduelles, eaux de mer. 8ème édition. Dunod. 1383 p.
- **RODIER J.** L'analyse de l'eau. Dunod, Paris, 2005, 1468p.
- **Ramade F., 1998 :** Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. Édition dunod 1.
- **Robinson R.K. BattC.A., Patel P.D. 2000:** Encyclopedia of Food Microbiology
- **Rodier J., 1976.** L'analyse de l'eau. Eau naturelles, eau résiduaires, eau de mer. 5ème .Ed. Dunod, Paris.
- **RODIER J. (2005).** L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer, Ed. Dunod, 8ème Edition, Paris.
- **Rejsek, F. (2002) :** Analyse des eaux. Aspects réglementaires et techniques. SCEREN-CRDP Aquitaine, Biologie technique-environnement, Bordeaux. p360.
- **Sedrati, N., & Sebti, I. (2017).** Etat des lieux de la gestion des déchets hospitaliers au niveau de l'hôpital d'EL KHROUB de la wilaya de Constantine. Diplôme de Master Professionnel. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département: Biologie Appliqué. Université des Frères Mentouri Constantine, 1.
- **Sedira N .,** Etude de l'adsorption des métaux lourds sur un charbon actif issu de noyaux de dattes ; Université Mohamed Chérif Massaadia Souk-Ahras, 2012-2013.
- **Smith, J., Jones, A., & Brown, C. (2019).** Impact of medical procedures on trace metal release into hospital effluents. *Environmental Pollution*, 245, 367-375.
- **Santos, R. B., Hart, P. W., Jameel, H., & Chang, H. M. (2013).** Wood Based Lignin Reactions Important to the Biorefinery and Pulp and Paper Industries. *BioResources*, 8(1).
- **Tardat- Henry. M,** Chimie Des Eaux, 2ème Edition, Les éditions du griffond'Argile, 1992, pp 213-215
- **T 90 - 105-Qualité de l'eau -** Dosage des matières en suspension - Méthode par filtration sur filtre en fibres de verre

1

- **Tefyeche L., (2014).** Suivi de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux usées d'Ouargla au cours de leur traitement.70p.
- **THEBAULT, L. (1991/92).** La pollution de l'eau par les médicaments. *Mémoire E.N.S.P.*
- Trong, M, D., (1999). Mise au point du fonctionnement d'un réacteur pilote à anode en
- **Van der Werf H. 1996.** Assessing the impact of the pesticides on the environnement. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 60: 81-96.
- **Verlicchi, P., Al Aukidy, M., & Zambello, E. (2012).** Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—a review. *Science of the total environment*, 429, 123-155.
- **Watts, C. D., Naden, P. S., Machell, J., & Banks, J. (2001).** Long term variation in water colour from Yorkshire catchments. *Science of the Total Environment*, 278(1-3), 57-72.
- **Zitoun, D., & Zougari, M. (2015).** Comportement statistique des précipitations annuelles et mensuelles : cas des stations de Miliana et Khemis Miliana. Djilali Bounaama Khemis Miliana.
- **Zouaimia et Brahmia, (2013)** .Contribution à l'étude de la qualité bactériologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zimba (Guelma). Mémoire De Master. UNIVERSITE 8 Mai 1945 de GUELMA.149 p.

Webographie

- <https://www.monreseau.dau.fr/actualites/comprendre-la-dbo/#:~:text=Impact%20environnemental%20et%20r%C3%A9glementations,aquatique%20et%20favorisant%20l'eutrophisation>
(Consulté le 25/06/2024,21:38h)
- <https://fondationvertea.org/les-polluants-emergents-un-nouveau-defi-environnemental-et-reglementaire/>
(Consulté le 18/04/2024,14:54h)
- <https://www.monreseau.dau.fr/actualites/comprendre-la-dbo/#:~:text=Impact%20environnemental%20et%20r%C3%A9glementations,aquatique%20et%20favorisant%20l'eutrophisation>
(Consulté le 07/06/2024,10:22h)
- <https://www.qare.fr/sante/alimentation-saine/taux-de-potassium-eleve-aliments-a-eviter/>
(Consulté le 30/06/2024,16:12h)
- U.S. Environmental Protection Agency. "Nitrate and Nitrite Pollution." <https://www.epa.gov/nutrientpollution/nitrate-and-nitrite-pollution> <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/2000WJF5.PDF?Dockey=2000WJF5.PDF>
(Consulté le 13/05/2024,11:03h)
- http://www.uoguelph.ca/cntc/publicat/toxtalk/french_toxtalk_w99.shtml
(Consulté le 24/06/2024,12:08h)
- Fiche toxicologique IRERIS: <http://www.ineris.fr>
(Consulté le 25/05/2024,15:03h)

Annexes

ANNEXE 1 : préparation des milieux liquides et solides

1. Milieux liquides

1.1. Bouillon lactose au pourpre de bromotémol (BCPL)

Double concentration (D/C)

L'extrait de viande de bœuf.....	2g
Pourpre de bromocrésol.....	0,06g
Peptone	14g
Lactose.....	10g
Eau distillée.....	1000ml
pH	6,9 +/-0,2

Autoclavage pendant 15 minutes à 120°C

Simple concentration (S/C)

L'extrait de viande de bœuf.....	1g
Peptone de caséine.....	7g
Lactose.....	5g
Pourpre de bromocrésol 1%	0,03g
Eau distillée.....	1000ml
pH.....	6,9 +/- 0,2

1.2.milieu de Shubert :

Tryptone.....	10g
Peptone.....	10g
Acide Glutanique.....	0.2g
Tryptophane.....	0.2g
Sulfate de Magnésium.....	0.7g
Sulfate d'Ammonium.....	0.4g
Chlorure de Sodium.....	2g
Citrate de Sodium.....	0.5g
Mannitol.....	7.5g
Eau distillée.....	1000 ml
pH.....	7,6

autoclavage pendant 20 minutes à 120°C

:

Double concentration (D/C)

Peptone de caseine.....	40g
Extrait de viande.....	3g
glucose	8g
Chlorure de sodium.....	8g
Phosphate dipotassique.....	5.4g
Phosphate mono potassique.....	5.4g

Azide de sodium.....	0.4g
Eau distillée.....	1000ml
pH.....	9,6 +/- 0,1

Autoclavage pendant 20 min à 120°C 9,6 +/- 0,1

Simple concentration (S/C)

Peptone de caseine.....	20g
Extrait de viande	1.5g
Glucose	4g
Chlorure de sodium.....	4g
Phosphate di potassique.....	2.7g
Phosphate mono potassique	2.7g
Azide de sodium.....	0.2g
Eau distillée.....	1000 ml
pH.....	9,6 +/- 0,1

Autoclavage pendant 20 min à 120°C

1.4. Milieu d'Eva Litsky :

Tryptone.....	20g
Glucose.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate mono potassique.....	2.7g
Azide de sodium	0.3g
Solution d'éthyle violet.....	5mg
Eau distillée.....	1000 ml
pH	6,8 à 7

Autoclavage pendant 20 min à 120 °C

1.5. milieu Selenite Cysteine :

Tryptone.....	5g
Lactose	4g
Phosphate disodique.....	10g
Hydrogénosélénite de sodium	4g
L-cystine.....	10g.
pH.....	7 +/- 0,2

Milieux solides

Gélose Viande foie

Base viande foie.....	20g
Glucose.....	0.75g
Amidon.....	0.75g
Sulfite de sodium	1.2g
Carbonate de sodium.....	0.67g
Agar agar.....	11g
Eau distillée	1000 ml

Dissoudre les constituants, répartir en tubes ou en flacons, Autoclave (15 min à 120°C)

2. Les milieux solides

2.1Gélose chapman pour 1 litre de milieu :

Tryptone.....	5,0 g
Peptone pepsique de viande	5,0 g
Extrait de viande	1,0 g
Mannitol	10,0 g
Chlorure de sodium	75,0 g
Rouge de phénol	25,0 mg
Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

2.2Gélose hektoen pour 1 litre de milieu :

Peptone pepsique de viande.....	12,0 g
Extrait autolytique de levure	3,0 g
Lactose.....	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine.....	2,0 g
Sels biliaires	9,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5g
Bleu de bromothymol	65mg
Fuchsine acide	40mg
Agar agar bactériologique	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.

2.3Gélose sabouraud Pour 1 litre de milieu :

Dextrose	40,0 g
Digestat pancréatique de tissus animaux.....	5,0 g
Digestat pancréatique de séine.....	5,0g
Chloramphénicol.....	50 mg
Gélose.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,6 ± 0,2

2.4 Gélose SS Pour 1 litre de milieu :

Peptone pancréatique de viande	5.0g
Extrait de viande.....	5.0g
Lactose.....	10.0g
Sels biliaires.....	8.5g
Citrate de sodium	10.0g

Thiosulfate de sodium.....	8.5g
Citrate ferrique ammoniacal.....	1.0g
Rouge neutre.....	25.0g
Vert brillant.....	0.33g
Agar agar bactériologique.....	15.0g
pH du milieu prêt-à-l 'emploi à 25°C : 7,0± 0,2	

2.5 TGEA

Tryptone.....	5g
Glucose.....	1g
Extrait de levure.....	2.5g
Gélose.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH = 7

autoclavage 20 minutes à 120°C.

Annexes 2 : La composition des colorants utilisés dans la coloration de gram.

Violet de gentiane

Violet de gentiane.....	1g
Ethanol à 90%	10ml
Phénol.....	2g
Eau distillé	100ml

Lugol

Iode	1g
Iodure de potassium	2g
Eau distillé	300ml

Fuschine

Fuschine basique.....	1g
Alcool éthylique	100ml