



HAL
open science

EVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ET ECOTOXICOLOGIQUES LIES AUX EFFLUENTS HOSPITALIERS

Evens Emmanuel

► **To cite this version:**

Evens Emmanuel. EVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ET ECOTOXICOLOGIQUES LIES AUX EFFLUENTS HOSPITALIERS. Environnement et Société. Insa Lyon, 2004. Français. NNT : . tel-02061910

HAL Id: tel-02061910

<https://hal.science/tel-02061910>

Submitted on 8 Mar 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

présentée devant

L'INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE LYON

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR

FORMATION DOCTORALE : SCIENCES ET TECHNIQUES DU DECHET
ECOLE DOCTORALE DE CHIMIE DE LYON

par

Evens EMMANUEL

Ingénieur sanitaire

**EVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ET
ECOTOXICOLOGIQUES LIES AUX EFFLUENTS HOSPITALIERS**

Soutenue le 4 février 2004 devant la Commission d'examen

Jury composé de MM.

Professeur J. BOURGOIS	Ecole des Mines de Saint-Etienne	Rapporteur
Professeur J.L. RIVIERE	INRA de Versailles	Rapporteur
Professeur J-M. BLANCHARD	INSA de Lyon	Examineur
Professeur G. KECK	Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon	Examineur
Professeur émérite P. VERMANDE	INSA de Lyon	Examineur
DR HDR Y. PERRODIN	Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat	Examineur
Dr J.C. CETRE	Hôpital de la Croix-Rousse	Invité
Professeur A. COPIN	FUSGAX de la Belgique	Invité

Cette thèse a été préparée au Laboratoire des Sciences de l'Environnement de l'Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat et au Laboratoire d'Analyse Environnementale des Procédés et Systèmes Industriels de l'INSA de Lyon

INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE LYON

Directeur : STORCK A.

Professeurs :

AMGHAR Y.	LIRIS
AUDISIO S.	PHYSICOCHIMIE INDUSTRIELLE
BABOT D.	CONT. NON DESTR. PAR RAYONNEMENTS IONISANTS
BABOUX J.C.	GEMPPM***
BALLAND B.	PHYSIQUE DE LA MATIERE
BAPTISTE P.	PRODUCTIQUE ET INFORMATIQUE DES SYSTEMES MANUFACTURIERS
BARBIER D.	PHYSIQUE DE LA MATIERE
BASKURT A.	LIRIS
BASTIDE J.P.	LAEPSI****
BAYADA G.	MECANIQUE DES CONTACTS
BENADDA B.	LAEPSI****
BETEMPS M.	AUTOMATIQUE INDUSTRIELLE
BIENNIER F.	PRODUCTIQUE ET INFORMATIQUE DES SYSTEMES MANUFACTURIERS
BLANCHARD J.M.	LAEPSI****
BOISSE P.	LAMCOS
BOISSON C.	VIBRATIONS-ACOUSTIQUE
BOIVIN M. (Prof. émérite)	MECANIQUE DES SOLIDES
BOTTA H.	UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL - Développement Urbain
BOTTA-ZIMMERMANN M. (Mme)	UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL - Développement Urbain
BOULAYE G. (Prof. émérite)	INFORMATIQUE
BOYER J.C.	MECANIQUE DES SOLIDES
BRAU J.	CENTRE DE THERMIQUE DE LYON - Thermique du bâtiment
BREMOND G.	PHYSIQUE DE LA MATIERE
BRISSAUD M.	GENIE ELECTRIQUE ET FERROELECTRICITE
BRUNET M.	MECANIQUE DES SOLIDES
BRUNIE L.	INGENIERIE DES SYSTEMES D'INFORMATION
BUFFIERE J-Y.	GEMPPM***
BUREAU J.C.	CEGELY*
CAMPAGNE J-P.	PRISMA
CAVILLE J.Y.	GEMPPM***
CHAMPAGNE J-Y.	LMFA
CHANTE J.P.	CEGELY* - Composants de puissance et applications
CHOCAT B.	UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL - Hydrologie urbaine
COMBESURE A.	MECANIQUE DES CONTACTS
COURBON	GEMPPM
COUSIN M.	UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL - Structures
DAUMAS F. (Mme)	CENTRE DE THERMIQUE DE LYON - Energétique et Thermique
DJERAN-MAIGRE I.	UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL
DOUTHEAU A.	CHIMIE ORGANIQUE
DUBUY-MASSARD N.	ESCHIL
DUFOUR R.	MECANIQUE DES STRUCTURES
DUPUY J.C.	PHYSIQUE DE LA MATIERE
EMPTOZ H.	RECONNAISSANCE DE FORMES ET VISION
ESNOUF C.	GEMPPM***
EYRAUD L. (Prof. émérite)	GENIE ELECTRIQUE ET FERROELECTRICITE
FANTOZZI G.	GEMPPM***
FAVREL J.	PRODUCTIQUE ET INFORMATIQUE DES SYSTEMES MANUFACTURIERS
FAYARD J.M.	BIOLOGIE FONCTIONNELLE, INSECTES ET INTERACTIONS
FAYET M.	MECANIQUE DES SOLIDES
FAZEKAS A.	GEMPPM
FERRARIS-BESSO G.	MECANIQUE DES STRUCTURES
FLAMAND L.	MECANIQUE DES CONTACTS
FLEURY E.	CITI
FLORY A.	INGENIERIE DES SYSTEMES D'INFORMATIONS
FOUGERES R.	GEMPPM***
FOUQUET F.	GEMPPM***
FRECON L.	REGROUPEMENT DES ENSEIGNANTS CHERCHEURS ISOLEES
GERARD J.F.	INGENIERIE DES MATERIAUX POLYMERES
GERMAIN P.	LAEPSI****
GIMENEZ G.	CREATIS**
GOBIN P.F. (Prof. émérite)	GEMPPM***
GONNARD P.	GENIE ELECTRIQUE ET FERROELECTRICITE
GONTRAND M.	PHYSIQUE DE LA MATIERE
GOUTTE R. (Prof. émérite)	CREATIS**

GOUJON L.
GOURDON R.
GRANGE G.
GUENIN G.
GUICHARDANT M.
GUILLOT G.
GUINET A.

GEMPPM***
LAEPSI****,
GENIE ELECTRIQUE ET FERROELECTRICITE
GEMPPM***
BIOCHIMIE ET PHARMACOLOGIE
PHYSIQUE DE LA MATIERE
PRODUCTIQUE ET INFORMATIQUE DES SYSTEMES MANUFACTURIERS

GUYADER J.L.
GUYOMAR D.
HEIBIG A.
JACQUET-RICHARDET G.
JAYET Y.
JOLION J.M.

VIBRATIONS-ACOUSTIQUE
GENIE ELECTRIQUE ET FERROELECTRICITE
MATHEMATIQUE APPLIQUEES DE LYON
MECANIQUE DES STRUCTURES
GEMPPM***
RECONNAISSANCE DE FORMES ET VISION

Novembre 2003

JULLIEN J.F.
JUTARD A. (Prof. émérite)
KASTNER R.
KOULOUMDJIAN J.
LAGARDE M.
LALANNE M. (Prof. émérite)
LALLEMAND A.
LALLEMAND M. (Mme)
LAUGIER A.
LAUGIER C.
LAURINI R.
LEJEUNE P.
LUBRECHT A.
MASSARD N.
MAZILLE H.
MERLE P.
MERLIN J.
MIGNOTTE A. (Mle)
MILLET J.P.
MIRAMOND M.
MOREL R.
MOSZKOWICZ P.
NARDON P. (Prof. émérite)
NELIAS D.
NIEL E.
NORMAND B.
NORTIER P.
ODET C.
OTTERBEIN M. (Prof. émérite)
PARIZET E.
PASCAULT J.P.
PAVIC G.
PECORARO S.
PELLETIER J.M.
PERA J.
PERRIAT P.
PERRIN J.
PINARD P. (Prof. émérite)
PINON J.M.
PONCET A.
POUSIN J.
PREVOT P.
PROST R.
RAYNAUD M.
REDARCE H.
RETIF J-M.
REYNOUARD J.M.
RICHARD C.
RIGAL J.F.
RIEUTORD E. (Prof. émérite)
ROBERT-BAUDOY J. (Mme) (Prof. émérite)
ROUBY D.
ROUX J.J.
RUBEL P.
SACADURA J.F.

UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL - Structures
AUTOMATIQUE INDUSTRIELLE
UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL - Géotechnique
INGENIERIE DES SYSTEMES D'INFORMATION
BIOCHIMIE ET PHARMACOLOGIE
MECANIQUE DES STRUCTURES
CENTRE DE THERMIQUE DE LYON - Energétique et thermique
CENTRE DE THERMIQUE DE LYON - Energétique et thermique
PHYSIQUE DE LA MATIERE
BIOCHIMIE ET PHARMACOLOGIE
INFORMATIQUE EN IMAGE ET SYSTEMES D'INFORMATION
UNITE MICROBIOLOGIE ET GENETIQUE
MECANIQUE DES CONTACTS
INTERACTION COLLABORATIVE TELEFORMATION TELEACTIVITE
PHYSICOCHIMIE INDUSTRIELLE
GEMPPM***
GEMPPM***
INGENIERIE, INFORMATIQUE INDUSTRIELLE
PHYSICOCHIMIE INDUSTRIELLE
UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL - Hydrologie urbaine
MECANIQUE DES FLUIDES ET D'ACOUSTIQUES
LAEPSI****
BIOLOGIE FONCTIONNELLE, INSECTES ET INTERACTIONS
LAMCOS
AUTOMATIQUE INDUSTRIELLE
GEMPPM
DREP
CREATIS**
LAEPSI****
VIBRATIONS-ACOUSTIQUE
INGENIERIE DES MATERIAUX POLYMERES
VIBRATIONS-ACOUSTIQUE
GEMPPM
GEMPPM***
UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL - Matériaux
GEMPPM***
INTERACTION COLLABORATIVE TELEFORMATION TELEACTIVITE
PHYSIQUE DE LA MATIERE
INGENIERIE DES SYSTEMES D'INFORMATION
PHYSIQUE DE LA MATIERE
MODELISATION MATHEMATIQUE ET CALCUL SCIENTIFIQUE
INTERACTION COLLABORATIVE TELEFORMATION TELEACTIVITE
CREATIS**
CENTRE DE THERMIQUE DE LYON - Transferts Interfaces et Matériaux
AUTOMATIQUE INDUSTRIELLE
CEGELY*
UNITE DE RECHERCHE EN GENIE CIVIL - Structures
LGEF
MECANIQUE DES SOLIDES
MECANIQUE DES FLUIDES
GENETIQUE MOLECULAIRE DES MICROORGANISMES
GEMPPM***
CENTRE DE THERMIQUE DE LYON - Thermique de l'Habitat
INGENIERIE DES SYSTEMES D'INFORMATION
CENTRE DE THERMIQUE DE LYON - Transferts Interfaces et

SAUTEREAU H.	Matériaux
SCAVARDA S.	INGENIERIE DES MATERIAUX POLYMERES
SOUIFI A.	AUTOMATIQUE INDUSTRIELLE
SOUROUILLE J.L.	PHYSIQUE DE LA MATIERE
THOMASSET D.	INGENIERIE INFORMATIQUE INDUSTRIELLE
THUDEROZ C.	AUTOMATIQUE INDUSTRIELLE
UBEDA S.	ESCHIL – Equipe Sciences Humaines de l’Insa de Lyon
VELEX P.	CENTRE D’INNOV. EN TELECOM ET INTEGRATION DE SERVICES
VERMANDE P. (Prof. émérite)	MECANIQUE DES CONTACTS
VIGIER G.	LAEPSI****
VINCENT A.	GEMPPM***
VRAY D.	GEMPPM***
VUILLERMOZ P.L. (Prof. émérite)	CREATIS**
	PHYSIQUE DE LA MATIERE

Directeurs de recherche C.N.R.S. :

BERTHIER Y.	MECANIQUE DES CONTACTS
CONDEMIN G.	UNITE MICROBIOLOGIE ET GENETIQUE
COTTE-PATAT N. (Mme)	UNITE MICROBIOLOGIE ET GENETIQUE
ESCUDIE D. (Mme)	CENTRE DE THERMIQUE DE LYON
FRANCIOSI P.	GEMPPM***
MANDRAND M.A. (Mme)	UNITE MICROBIOLOGIE ET GENETIQUE
POUSIN G.	BIOLOGIE ET PHARMACOLOGIE
ROCHE A.	INGENIERIE DES MATERIAUX POLYMERES
SEGUELA A.	GEMPPM***
VERGNE P.	LaMcos

Directeurs de recherche I.N.R.A. :

FEBVAY G.	BIOLOGIE FONCTIONNELLE, INSECTES ET INTERACTIONS
GRENIER S.	BIOLOGIE FONCTIONNELLE, INSECTES ET INTERACTIONS
RAHBE Y.	BIOLOGIE FONCTIONNELLE, INSECTES ET INTERACTIONS

Directeurs de recherche I.N.S.E.R.M. :

KOBAYASHI T.	PLM
PRIGENT A.F. (Mme)	BIOLOGIE ET PHARMACOLOGIE
MAGNIN I. (Mme)	CREATIS**

* **CEGELY** CENTRE DE GENIE ELECTRIQUE DE LYON

** **CREATIS** CENTRE DE RECHERCHE ET D’APPLICATIONS EN TRAITEMENT DE L’IMAGE ET DU SIGNAL

*** **GEMPPM** GROUPE D’ETUDE METALLURGIE PHYSIQUE ET PHYSIQUE DES MATERIAUX

**** **LAEPSI** LABORATOIRE D’ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DES PROCEDES ET SYSTEMES INDUSTRIELS

Septembre 2003

Ecoles Doctorales et Diplômes d'Etudes Approfondies

habilités pour la période 1999-2003

ECOLES DOCTORALES n° code national	RESPONSABLE PRINCIPAL	CORRESPONDANT INSA	DEA INSA n° code national	RESPONSABLE DEA INSA
CHIMIE DE LYON (Chimie, Procédés, Environnement) EDA206	M. D. SINOUC UCBL1 04.72.44.62.63 Sec 04.72.44.62.64 Fax 04.72.44.81.60	M. R. GOURDON 87.53 Sec 84.30 Fax 87.17	Chimie Inorganique 910643	
			Sciences et Stratégies Analytiques 910634	
			Sciences et Techniques du Déchet 910675	M. R. GOURDON Tél 87.53 Fax 87.17
ECONOMIE, ESPACE ET MODELISATION DES COMPORTEMENTS (E ² MC) EDA417	M.A. BONNAFOUS LYON 2 04.72.72.64.38 Sec 04.72.72.64.03 Fax 04.72.72.64.48	Mme M. ZIMMERMANN 60.91 Fax 87.96	Villes et Sociétés 911218	Mme M. ZIMMERMANN Tél 60.91 Fax 87.96
			Dimensions Cognitives et Modélisation 992678	M. L. FRECON Tél 82.39 Fax 85.18
ELECTRONIQUE, ELECTROTECHNIQUE, AUTOMATIQUE (E.E.A.) EDA160	M. D. BARBIER INSA DE LYON 85.47 Fax 60.82		Automatique Industrielle 910676	M. M. BETEMPS Tél 85.59 Fax 85.35
			Dispositifs de l'Electronique Intégrée 910696	M. D. BARBIER Tél 85.47 Fax 60.82
			Génie Electrique de Lyon 910065	M. J.P. CHANTE Tél 87.26 Fax 85.30
			Images et Systèmes 992254	Mme I. MAGNIN Tél 85.63 Fax 85.26
EVOLUTION, ECOSYSTEME, MICROBIOLOGIE, MODELISATION (E2M2) EDA403	M. J.P FLANDROIS UCBL1 04.78.86.31.50 Sec 04.78.86.31.52 Fax 04.78.86.31.49	M. S. GRENIER 79.88 Fax 85.34	Analyse et Modélisation des Systèmes Biologiques 910509	M. S. GRENIER Tél 79.88 Fax 85.34
INFORMATIQUE ET INFORMATION POUR LA SOCIETE (EDIIS) EDA 407	M. L. BRUNIE INSA DE LYON 87.59 Fax 80.97		Documents Multimédia, Images et Systèmes d'Information Communicants 992774	M. A. FLORY Tél 84.66 Fax 85.97
			Extraction des Connaissances à partir des Données 992099	M. J.F. BOULICAUT Tél 89.05 Fax 87.13
			Informatique et Systèmes Coopératifs pour l'Entreprise 950131	M. A. GUINET Tél 85.94 Fax 85.38
INTERDISCIPLINAIRE SCIENCES-SANTE (EDISS)	M. A.J. COZZONE UCBL1 04.72.72.26.72	M. M. LAGARDE 82.40 Fax 85.24	Biochimie 930032	M. M. LAGARDE Tél 82.40 Fax 85.24

EDA205	Sec 04.72.72.26.75 Fax 04.72.72.26.01			
MATERIAUX DE LYON UNIVERSITE LYON 1 EDA 034	<u>M. J. JOSEPH</u> ECL 04.72.18.62.44 Sec 04.72.18.62.51 Fax 04.72.18.60.90	<u>M. J.M. PELLETIER</u> 83.18 Fax 85.28	Génie des Matériaux : Microstructure, Comportement Mécanique, Durabilité 910527	M. J.M.PELLETIER Tél 83.18 Fax 85.28
			Matériaux Polymères et Composites 910607	M. H. SAUTEREAU Tél 81.78 Fax 85.27
			Matière Condensée, Surfaces et Interfaces 910577	M. G. GUILLOT Tél 81.61 Fax 85.31
MATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE FONDAMENTALE (Math IF) EDA 409	<u>M. F. WAGNER</u> UCBL1 04.72.43.27.86 Fax 04.72.43.00.35	<u>M. J. POUSIN</u> 88.36 Fax 85.29	Analyse Numérique, Equations aux dérivées partielles et Calcul Scientifique 910281	M. G. BAYADA Tél 83.12 Fax 85.29
MECANIQUE, ENERGETIQUE, GENIE CIVIL, ACOUSTIQUE (MEGA) EDA162	<u>M. F. SIDOROFF</u> ECL 04.72.18.61.56 Sec 04.72.18.61.60 Fax 04.78.64.71.45	<u>M. G. DALMAZ</u> 83.03 Fax 04.72.89.09.80	Acoustique 910016	M. J.L. GUYADER Tél 80.80 Fax 87.12
			Génie Civil 992610	M. J.J.ROUX Tél 84.60 Fax 85.22
			Génie Mécanique 992111	M. G. DALMAZ Tél 83.03 Fax 04.78.89.09.80
			Thermique et Energétique 910018	M. J. F. SACADURA Tél 81.53 Fax 88.11

En grisé : Les Ecoles doctorales et DEA dont l'INSA est établissement principal

La connaissance ne commence pas par des perceptions ou des observations, par une collection de données ou de faits, mais bien par des problèmes. Pas de savoir sans problèmes – mais aussi de problème sans savoir.

Karl R. POPPER

A mes parents,

A mon épouse Marie Carline

Et à mes filles

Alexandra et Kyshna Ania-Eve

Avant-propos

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au Laboratoire des Sciences de l'Environnement (L.S.E) de l'École Nationale des Travaux Publics (ENTPE), et au Laboratoire d'Analyse Environnementale des Procédés et des Systèmes Industriels (LAEPSI) de l'INSA de Lyon. Je remercie à ce titre, les directeurs de ces deux laboratoires pour leur accueil, respectivement Monsieur Yves Perrodin, Directeur de recherche au METL, et Monsieur Pierre Moszkowicz, professeur à l'INSA de Lyon.

Ce travail a été réalisé sous la direction de Monsieur le Directeur de Recherche Yves Perrodin, de Monsieur le Professeur émérite Paul Vermande, et de Monsieur le Professeur Gérard Keck. Je tiens à leur exprimer ma profonde gratitude pour les conseils techniques et scientifiques qu'ils m'ont prodigués, pour leur confiance et leur soutien.

Ma profonde gratitude va à Monsieur le Professeur Jean-Marie Blanchard du LAEPSI, pour son soutien dans la réalisation de mes travaux de recherche au LAEPSI et à l'Université Quisqueya en Haïti, et pour avoir accepté de participer à ce jury.

Je suis particulièrement honoré de l'attention que Messieurs les Professeurs Jean Louis Rivière de l'INRA de Versailles et Jacques Bourgois de l'École des Mines de Saint Etienne ont bien voulu accorder à ce travail en tant que rapporteurs. Je tiens à associer à mes remerciements Messieurs les Professeurs Jean-Charles Cetre de l'Université Claude Bernard et Alfred Copin de la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux pour avoir accepté de participer à ce jury.

J'adresse mes remerciements au rectorat de l'Université Quisqueya (Haïti) pour m'avoir permis d'entreprendre ce travail. Je veux exprimer ma reconnaissance à Monsieur le Professeur Paul Saint-Hilaire, Recteur de l'Université Quisqueya pour sa confiance et son soutien.

Cette étude a été réalisée grâce à une bourse de l'Agence Universitaire de la Francophonie. Je tiens à remercier très sincèrement les responsables de l'AUF pour cette opportunité. J'associe à mes remerciements Monsieur le Professeur Christian Raccurt, Directeur du Bureau Caraïbe de l'AUF, Mesdames Annie Gagnou et Arlette Mbouba, du service des bourses de l'AUF, et Madame Géralde Carré, Administratrice du Bureau Caraïbe.

Ma profonde gratitude va à Madame Christine Bazin du POLDEN-INSA et à Madame Christiane Dujet du LAEPSI pour leur enseignement en écotoxicologie et en logique floue.

Ma reconnaissance s'adresse également aux membres permanents du L.S.E. : Madame Cécile Delolme, ITPE, Madame Claude Durrieu, ITPE, Monsieur Bernard Clément, ITPE, Monsieur Alain Devaux, ingénieur de recherche INRA, MM. Jean-Philippe Bedell, Thierry Winiarski et Jean-Claude Boisson, chargés de recherche METL, Madame Alicia Naveros, secrétaire du laboratoire pour leur accueil au L.S.E.

Ma reconnaissance s'adresse également à Martine, Térése et Marc pour leur aide technique et surtout pour les réactifs qu'ils m'ont fourni pour les analyses réalisées en Haïti. Merci à Karim, Carole, Agnès, Frédérique, Géraldine, Nathalie et Christian pour leur aide.

A mes amis docteurs et doctorants du LAEPSI Valérie (pour les discussions sur la spéciation du chrome) Sophie, Sonia, Dounia, Fouad, Marion, Eva, Cyril, Céline... Un spécial remerciement à Khalil à Vincent, et à Enrico pour les discussions scientifiques.

Merci à mes amis thésards du L.S.E. (docteurs et futurs docteurs) Laurent, Lucile (pour sa brillante participation au colloque sur la gestion de l'eau en Haïti), Gaëlle (un merci spécial pour le

rhum et la musique cubaine), Myriam, Charlotte, Valérie, Laurence, Xavier, Céline, Nicolas (pour les discussions sur les daphnies) Manue.

Je tiens à remercier mon ami frère Pierre Naïder Fanfan pour la réalisation des analyses physicochimiques sur les effluents de l'hôpital d'Haïti.

Merci à toi...que j'ai pu oublier

Sommaire

<i>SOMMAIRE</i>	10
<i>LISTE DES TABLEAUX</i>	16
<i>LISTE DES FIGURES</i>	17
<i>PUBLICATIONS</i>	19
<i>LISTE DES ACRONYMES</i>	21
<i>RESUME</i>	24
<i>ABSTRACT</i>	24
INTRODUCTION GÉNÉRALE	26
CHAPITRE I LES EFFLUENTS HOSPITALIERS : CONTEXTE, CARACTERISATION ET ASPECTS REGLEMENTAIRES	31
I. CONTEXTE	31
<i>I.1. Problématique des effluents hospitaliers</i>	32
II. CLASSIFICATION DES HOPITAUX ET TYPOLOGIE DES REJETS LIQUIDES PRODUITES	34
<i>II.1. Classification des hôpitaux</i>	34
<i>II.2. Typologie des effluents liquides hospitaliers</i>	35
III. CARACTERISATION DES EFFLUENTS HOSPITALIERS	39
<i>III.1. Caractérisation micro-biologique des effluents hospitaliers</i>	39
III.1.1. Généralités	39
III.1.2. Les coliformes fécaux : <i>Escherichia coli</i>	39
III.1.3. Bactéries coliformes thermotolérantes	40
III.1.4. Streptocoques fécaux	40
III.1.5. Clostridia sulfito-réductrices	40
III.1.6. Coliphages et autres indicateurs de remplacement	40
III.1.7. Les techniques de mesure	41
III.1.8. Bactériologie des effluents hospitaliers	42
III.1.9. Virologie des effluents hospitaliers	43
<i>III.2. Caractérisation physico-chimique des effluents hospitaliers</i>	43
III.2.1. Généralités	43
III.2.2. Quelques résultats disponibles sur la caractérisation physico-chimique d'effluents hospitaliers	44
<i>III.3. Caractérisation de la radioactivité des effluents hospitaliers</i>	45
III.3.1. Estimation de la radioactivité	45
III.3.2. Les principaux radioisotopes utilisés en médecine nucléaire	45
III.3.3. La législation française sur les rejets de la médecine nucléaire	46
III.3.4. Le devenir des radionucléides dans les écosystèmes aquatiques	47
<i>III.4. Caractérisation écotoxicologique des effluents hospitaliers</i>	47
III.4.1. Intérêt de la mesure d'écotoxicité	47
III.4.2. Présentation des différentes méthodes d'évaluation de l'écotoxicité	48
III.4.3. La chaîne alimentaire et la bioamplification des polluants chimiques contenus dans les eaux usées	50
III.4.4. Les tests de génotoxicité et les marqueurs biologiques	50
III.4.5. Les biomarqueurs : un indicateur de mesure de l'état de santé des écosystèmes	51
III.4.6. Résultats des essais d'écotoxicité sur les effluents hospitaliers	54
<i>III.5. Impacts des rejets médicamenteux sur les écosystèmes aquatiques</i>	56
<i>III.6. La toxicité et l'écotoxicité des médicaments</i>	58
III.6.1. Les hormones sexuelles	58
III.6.2. Les antibiotiques	59

III.6.3. Les agents antitumoraux	60
III.6.4. Effets des médicaments sur les organismes aquatiques	61
III.6.5. Concentration de la substance active des médicaments dans le milieu aquatique	61
IV. ASPECTS REGLEMENTAIRES ET NORMATIFS RELATIFS AUX EFFLUENTS HOSPITALIERS	63
IV.1. Aspects réglementaires.....	63
IV.2. Aspects Normatifs.....	64
IV.3. Nécessité d'une nouvelle réglementation	65
V. CONCLUSIONS ET OBJECTIFS.....	67
CHAPITRE II LES MÉTHODES D'ÉVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ET ENVIRONNEMENTAUX	71
I. INTRODUCTION	71
II. EVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ET ECOLOGIQUES	74
II.1. Définition des concepts.....	74
II.2. De l'évaluation des risques (EDR).....	75
II.3. Le processus de l'évaluation des risques écologiques.....	76
III. MODELES GENERAUX D'EVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ET ECOLOGIQUES	78
III.1. Généralités.....	78
III.2. L'évaluation du risque sanitaire.....	78
II.2.1. Identification du danger	79
II.2.2. Etude de la relation dose-réponse	81
II.2.3. Les valeurs toxicologiques de référence (VTR)	82
II.2.4. VTR des effets à seuil.....	82
II.2.5. Détermination des VTR des effets à seuil.....	82
II.2.6. VTR des effets sans seuil	84
II.2.7. Détermination des VTR des effets sans seuil	84
II.2.8. Estimation de l'exposition	85
II.2.9. Caractérisation du risque	85
III.3. L'évaluation du risque écologique	85
III.3.1. Formulation du problème	86
III.3.2. Analyse	87
III.3.3. Caractérisation du risque.....	87
III.4. Les modifications du schéma général proposé par l'EPA en 1992.....	88
III.5. La méthode de l'écompatibilité	91
III.5.1. Définition de l'écompatibilité.....	91
III.5.2. Origine de l'écompatibilité	92
III.5.3. Développement de la méthodologie d'écompatibilité : étude de scénarii.....	92
III.5.4. Contribution de la méthodologie « Ecompatibilité » à la gestion des déchets et à la discipline de l'évaluation des risques.....	93
III.6. La directive de l'Union Européenne.....	94
III.6.1. Principes européens d'évaluation des risques.....	94
III.6.2. Les modèles PEC/PNEC	94
III.7. L'évaluation intégrée des risques du Programme International de la Sûreté Chimique (IPCS).....	95
III.7.1. L'expression cohérente des résultats de l'évaluation.....	95
III.7.2. L'interdépendance.....	96
III.7.3. Les organismes sentinelles	96
III.7.4. La qualité	96
III.7.5. L'efficience	96
III.7.6. Les bases du modèle d'évaluation intégrée des risques	97

III.7.7. Contribution méthodologique de ce modèle au processus global de l'EDR.....	97
IV METHODES QUANTITATIVES D'EVALUATION DU RISQUE MICROBIOLOGIQUE (MQERM).	99
IV.1. Généralités.....	99
IV.2. Les principaux agents pathogènes.....	99
IV.2.1. Les protozoaires.....	99
IV.3. les pathologies infectieuses : un indicateur de risques microbiologiques.....	101
IV.3.1. Les populations à risque.....	101
IV.3.2. Infections véhiculées par l'eau.....	101
IV.3.3. Les germes multirésistants aux antibiotiques : les infections nosocomiales.....	102
IV.4. La démarche générale de l'EDR et les MQERM.....	104
IV.4.1. Rappels sur la chaîne épidémiologique.....	104
IV.4.2. Rappels sur la démarche général de l'évaluation du risque chimique.....	105
V. LES INCERTITUDES.....	114
V.1. La prise en compte des incertitudes.....	114
V.2. Les incertitudes et les effets environnementaux.....	115
V.3. les incertitudes et les effets sanitaires.....	115
V.4. La gestion de l'incertitude.....	116
VI. CONCLUSION.....	118
VI.1. La démarche générale de l'EDR.....	118
VI.2. Conclusions et objectifs.....	120
CHAPITRE III ÉLABORATION DE MÉTHODOLOGIES POUR L'ÉVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ET ÉCOTOXICOLOGIQUES DES EFFLUENTS HOSPITALIERS.....	125
I. INTRODUCTION.....	125
I.1. Rappel de la problématique des effluents hospitaliers.....	125
I.2. Justification de la réalisation d'une évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques	125
I.3. Objectifs et contribution de cette thèse.....	126
II. ÉLABORATION DE LA METHODOLOGIE D'EVALUATION DES RISQUES SANITAIRES (ERS) - ETUDE D'UN SCENARIO FREQUEMMENT RENCONTRE DANS LES PED.....	128
II.1. Présentation de la problématique générale de la gestion des effluents hospitaliers dans les PED.....	128
II.2. Présentation des différentes étapes de l'ERS et de la méthodologie proposée pour le cas étudié.....	129
II.3. Identification du danger.....	129
II.3.1. Etude du site et identification des polluants potentiels.....	129
II.3.2. Sélection des polluants « traceurs » et connaissances disponibles sur leurs effets toxiques.....	131
Sélection des polluants « traceurs ».....	131
Connaissances disponibles sur les polluants « traceurs ».....	132
II.3.3. Evaluation du danger.....	136
II.4. Définition des relations dose-réponse (ou dose-effet).....	138
II.5. Evaluation de l'exposition.....	139
II.5.1. Etude de la contamination potentielle des eaux de nappe situées sous le site.....	139
Etude géologique et hydro-géologique de la région d'implantation de l'hôpital.....	140
Etude géologique et hydro-géologique locale.....	143
Cas particulier de l'évaluation des concentrations en glutaraldéhyde et en chloroforme dans la nappe.....	145
II.5.2. Définition des populations exposées via l'étude des voies d'exposition possibles.....	146

II.5.3. Estimation quantitative de l'exposition humaine (Calcul des Doses Moyenne Journalières (DMJ))	146
II.6. <i>Caractérisation des risques</i>	147
<i>Aspects pratiques de la mise en œuvre de la méthodologie sur le site d'Haïti</i>	148
<i>Campagnes de prélèvements et analyses</i>	148
<i>Campagne de prélèvement de 2002</i>	148
<i>Paramètres mesurés en 2002 à Port-au-Prince</i>	149
<i>Première campagne de prélèvement de 2003</i>	149
<i>Deuxième campagne de prélèvement de 2003</i>	150
III. ÉLABORATION DE LA METHODOLOGIE D'ÉVALUATION DES RISQUES ECOTOXICOLOGIQUES	
- ETUDE D'UN SCENARIO FREQUEMMENT RENCONTRE DANS LES PAYS INDUSTRIALISE.....	152
III.1. <i>Présentation de la problématique générale de la gestion des effluents hospitaliers dans les pays industrialisés</i>	152
III.3. <i>Etape "Evaluation des dangers écotoxicologiques"</i>	153
III.4. <i>Etape "Evaluation des risques écotoxicologiques"</i>	156
III.4.1. Formulation du problème	156
a. <i>Description du contexte de cette évaluation écotoxicologique</i>	157
b. <i>Les espèces exposées et les écosystèmes concernés</i>	157
c. <i>Elaboration du modèle conceptuel et choix des paramètres d'évaluation</i>	158
III.4.2. Phase d'analyse	159
<i>Caractéristiques générales du site d'étude</i>	160
<i>Prélèvement des échantillons</i>	160
<i>Point de prélèvement des échantillons de la campagne de 2001</i>	161
<i>Horaire des prélèvements</i>	162
<i>Méthode de prélèvement et traitements des échantillons</i>	162
<i>Les paramètres mesurés en 2001 et leur protocole d'exécution</i>	162
<i>Campagne de prélèvement de 2002</i>	163
<i>Méthodes de détermination des paramètres physicochimiques</i>	164
<i>Bactériologie</i>	164
<i>Présentation des différents essais d'écotoxicité utilisés</i>	164
<i>L'essai Microtox</i>	164
<i>L'essai Algue</i>	167
<i>L'essai Daphnie</i>	169
CHAPITRE IV APPLICATION DE LA MÉTHODOLOGIE ÉLABORÉE POUR L'ÉVALUATION DES RISQUES SANITAIRES LIÉS AUX EFFLUENTS HOSPITALIERS SE TROUVANT EN MILIEU TROPICAL SEMI-URBANISÉ D'UN PED.....	172
I. INTRODUCTION	172
II. RESULTATS DES ANALYSES PHYSICOCHIMIQUES DES EFFLUENTS DE LA FOSSE SEPTIQUE	173
II.1. <i>Analyses bactériologiques</i>	173
II.2. <i>Résultats des analyses physicochimiques et bactériologiques des eaux de la nappe</i>	174
II.3. <i>Estimation des AOX, des solvants chlorés et du glutaraldéhyde dans les eaux de la nappe</i>	174
III. <i>Evaluation des dangers pour la santé humaine</i>	175
IV. CARACTERISATION DES RISQUES POUR LA SANTE HUMAINE.....	176
IV.1. <i>Risques microbiologiques</i>	176
V.2. <i>Risques Chimiques</i>	177
V. CONCLUSION	179

CHAPITRE V APPLICATION DE LA MÉTHODOLOGIE ÉLABORÉE POUR L'ÉVALUATION DES RISQUES ÉCOTOXICOLOGIQUES LIÉS AUX EFFLUENTS HOSPITALIERS D'UNE VILLE D'UN PAYS DÉVELOPPÉ TEMPÉRÉ 181

I. PRESENTATION DES RESULTATS	181
I.1. <i>Résumé</i>	181
II. ECOTOXICOLOGICAL RISK ASSESSMENT OF HOSPITAL WASTEWATER : A PROPOSED FRAMEWORK FOR RAW EFFLUENTS DISCHARGING INTO URBAN SEWER NETWORK.....	182
Abstract.....	183
I. Introduction.....	183
II. Effects of hospital wastewater on aquatic ecosystems.....	185
III. Hazard assessment.....	186
IV. Methodological approach for the ecological risk assessment.....	187
<i>Problem formulation</i>	188
<i>Description of the context of ecotoxicological risk assessment</i>	188
<i>Development of the conceptual model and choice of the parameters of evaluation</i>	189
<i>Analysis phase</i>	190
<i>Analysis phase: characterization of exposure and ecotoxicological effects</i>	190
<i>General characteristics of studied site</i>	190
<i>Effluents sampling</i>	191
<i>Physicochemical analysis</i>	191
<i>Microbiological analysis</i>	192
<i>Toxicity test procedures</i>	192
<i>Risk characterization phase</i>	193
V. Application of the step to the effluents of the studied hospital.....	194
<i>Results of the physicochemical analysis</i>	194
<i>Microbiological characterization</i>	194
<i>Ecotoxicological characterization of ITDD wastewater</i>	195
<i>Hazard assessment</i>	195
<i>Ecotoxicological risk assessment</i>	196
<i>Impacts on the WWTP</i>	197
<i>Impacts on the natural aquatic ecosystems</i>	198
Conclusion	199
References.....	199

CHAPITRE VI ETUDE SPECIFIQUE SUR LE DEVENIR DE DEUX DESINFECTANTS LARGEMENT UTILISES DANS LES HOPITAUX : L'HYPOCHLORITE DE SODIUM ET LE GLUTARALDEHYDE 202

I. INTRODUCTION	202
II. TOXICOLOGICAL EFFECTS OF SODIUM HYPOCHLORITE DISINFECTIONS ON AQUATIC ORGANISMS AND ITS CONTRIBUTION TO AOX FORMATION IN HOSPITAL WASTEWATER	203
II.1. <i>Abstract</i>	204
II.2. <i>Introduction</i>	204
II.3. <i>The chemistry and toxicology of chlorinated disinfectants in water and wastewater</i>	206
II.3.1. Chemical behavior of chlorinated disinfectants.....	206
II.3.2. Environmental fate and toxicological effects of chlorinated disinfectants.....	207
II.4. <i>Materials and methods</i>	208
II.4.1. Sampling and pH measurements	208
II.4.2. Chemical analysis.....	209

II.4.3. Toxicity test procedures	209
II.4.4. Statistical data analysis	210
<i>II.5. Results</i>	210
II.5.1. Physicochemical characterization of ITDD wastewater	210
II.5.2. Microbiological and toxicological characterizations of ITDD wastewater	212
<i>II.6. Discussion</i>	213
II.6.1. Relationship between COD and TOC	213
II.6.2. Influence of chloride on AOX formation and toxicity on aquatic organisms	215
II.6.3. Acute toxicity of physicochemical parameters of the ITDD effluents on the aquatic organisms	216
<i>II.7. Conclusion</i>	218
<i>References</i>	219
III. FATE OF GLUTARALDEHYDE IN PRESENCE OF SURFACTANTS IN HOSPITAL WASTEWATER ON THE ENVIRONMENT	223
CONCLUSION GÉNÉRALE	224
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	227
GLOSSAIRE	243

Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Classification des hôpitaux par nombre de lits actifs (AHA, 1986)</i>	<i>35</i>
<i>Tableau 2 : Les principaux tests utilisés dans la microbiologie des effluents</i>	<i>41</i>
<i>Tableau 3 : Les paramètres physico-chimiques globaux et leur protocole d'exécution</i>	<i>44</i>
<i>Tableau 4 : Normes relatives à l'estimation de la radioactivité</i>	<i>45</i>
<i>Tableau 5 : ¼ Dose Annuelle Admissible des radioéléments utilisés en médecine nucléaire</i>	<i>46</i>
<i>Tableau 6 : Principaux essais mono spécifiques normalisés</i>	<i>49</i>
<i>Tableau 7 : Ecotoxicité aquatique du glutaraldéhyde (NICNAS, 1994)</i>	<i>55</i>
<i>Tableau 8 : Présence des hormones sexuelles dans l'environnement.....</i>	<i>59</i>
<i>Tableau 9 : Présence des antibiotiques dans l'environnement.....</i>	<i>60</i>
<i>Tableau 10 : Présence des antitumoraux dans l'environnement</i>	<i>60</i>
<i>Tableau 11 : Toxicité des médicaments sur les organismes aquatiques</i>	<i>61</i>
<i>Tableau 12 : Valeurs limites pour le rejet des micro polluants.....</i>	<i>65</i>
<i>Tableau 13: Classification du caractère cancérigène des substances chimiques</i>	<i>80</i>
<i>Tableau 14 : Démarche adoptée par l'IARC pour la classification des substances chimiques</i>	<i>81</i>
<i>Tableau 15 : Variables des relations dose-effet d'agents pathogènes (HAAS et EISENBERG, 2001).</i>	<i>112</i>
<i>Tableau 16 : Les effets économiques et sociaux pouvant résulter de l'exposition des E.H.....</i>	<i>120</i>
<i>Tableau 17 : Traceurs retenus pour l'étude sanitaire des effluents hospitaliers.....</i>	<i>132</i>
<i>Tableau 18 : Valeurs seuils retenues pour la caractérisation du danger sanitaire lié à la consommation des eaux de nappe</i>	<i>137</i>
<i>Tableau 19 : Valeurs des DJA pour les traceurs sélectionnés</i>	<i>139</i>
<i>Tableau 20 : Paramètres mesurés en 2002 à Port-au-Prince.....</i>	<i>149</i>
<i>Tableau 21: Synthèse des valeurs seuils retenues</i>	<i>155</i>
<i>Tableau 22: les écosystèmes concernés.....</i>	<i>158</i>
<i>Tableau 23 : Paramètres physico-chimique et microbiologiques mesurés.....</i>	<i>159</i>
<i>Tableau 24 : Données techniques sur les regards et les conduites hydrauliques.....</i>	<i>162</i>
<i>Tableau 25 : les paramètres mesurés en 2001 et les laboratoires d'exécution.....</i>	<i>163</i>
<i>Tableau 26 : les paramètres dosés en 2002 et les laboratoires de réalisation.....</i>	<i>164</i>
<i>Tableau 27: Résultats de la Caractérisation physicochimique et bactériologique des effluents de la fosse septique.....</i>	<i>173</i>
<i>Tableau 28 : Analyses bactériologiques des effluents hospitaliers.....</i>	<i>174</i>
<i>Tableau 29 : Résultats de la Caractérisation physicochimique et bactériologique des eaux de la nappe phréatique.....</i>	<i>174</i>
<i>Tableau 30 : Valeurs estimées pour les AOX, les solvants chlorés et le glutaraldéhyde.....</i>	<i>175</i>
<i>Tableau 31: Comparaison des concentrations maximales mesurées avec les valeurs seuils.....</i>	<i>175</i>
<i>Tableau 32 : Risque calculé pour les substances à effet de seuil :</i>	<i>178</i>
<i>Tableau 33 : Risque cancérigène</i>	<i>179</i>

Liste des figures

<i>Figure 1 : La problématique des effluents hospitaliers.....</i>	<i>32</i>
<i>Figure 2 : Circuit de contamination des écosystèmes aquatiques par les médicaments utilisés dans la médecine humaine et vétérinaire (DIAZ-CRUZ et al., 2003).</i>	<i>57</i>
<i>Figure 3 : Impacts des activités humaines sur les écosystèmes (Rousseaux, 1993) [adaptée dans le cadre de cette étude sur les effluents hospitalier].....</i>	<i>67</i>
<i>Figure 4 : Résumé de l'étude bibliographique sur les effluents hospitalier et définition de l'objectif général de la thèse.....</i>	<i>70</i>
<i>Figure 5 : Schéma général de l'évaluation du risque sanitaire : le modèle de la National Academy of Sciences (1983)</i>	<i>79</i>
<i>Figure 6: Schéma général d'évaluation du risque écologique : le modèle de l'EPA (1992a).....</i>	<i>88</i>
<i>Figure 7: Schéma général d'évaluation du risque écologique révisé (EPA, 1998).....</i>	<i>89</i>
<i>Figure 8 : Schéma général de l'évaluation de l'écocompatibilité des déchets (Mayeux et Perrodin, 1996).....</i>	<i>91</i>
<i>Figure 9 : Représentation schématique du scénario 1 de la méthodologie de l'écocompatibilité des déchets (PERRODIN et al., 2000)</i>	<i>93</i>
<i>Figure 10 : Le cycle de vie d'une substance chimique (SUTER et al., 2001).</i>	<i>98</i>
<i>Figure 11 : Le cycle Bêta-lactame</i>	<i>103</i>
<i>Figure 12 : La division des pénicillines.....</i>	<i>103</i>
<i>Figure 13: Comparaison des résultats de relation dose-réponse obtenus à partir des modèles exponentiel et Bêta-Poisson (HAAS et EISENBERG, 2001).</i>	<i>111</i>
<i>Figure 14: Mode de gestion des effluents liquides hospitaliers observé dans une grande ville du Sud-Est de la France.</i>	<i>121</i>
<i>Figure 15 : Mode de gestion des effluents liquides de certains hôpitaux de Port-au-Prince en Haïti.</i>	<i>122</i>
<i>Figure 16 : Les principaux écosystèmes pouvant être exposés aux effluents hospitaliers.....</i>	<i>123</i>
<i>Figure 17 : Synthèse de l'approche de l'évaluation des risques et l'objectif général de cette étude..</i>	<i>124</i>
<i>Figure 18 : Problématique des EH déversés directement dans le milieu naturel.....</i>	<i>128</i>
<i>Figure 19 : Représentation graphique du scénario étudié.....</i>	<i>130</i>
<i>Figure 20 : Logigramme élaboré pour la démarche d'évaluation des dangers sanitaires liés aux effluents hospitaliers et les suites à donner.....</i>	<i>138</i>
<i>Figure 21: Coupe géologique du bassin versant de la PCS (BUTTERLIN, 1960)</i>	<i>141</i>
<i>Figure 22 : Coupe géologique du bassin versant de la PCS (DESREUMAUX, 1987)</i>	<i>142</i>
<i>Figure 23 : Mécanisme hydrogéologique de l'aquifère (SIMONOT, 1982).....</i>	<i>143</i>
<i>Figure 24 : Plan de tubage du forage d'AEP de l'hôpital</i>	<i>144</i>
<i>Figure 25: Circulation des flux sur le site d'étude.....</i>	<i>145</i>
<i>Figure 26 : Problématique des effluents hospitaliers dans les pays industrialisés</i>	<i>152</i>

Figure 27: Logigramme de la démarche élaborée pour l'évaluation des dangers écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers..... 154

Figure 28: Présentation synthétique du scénario étudié 157

Figure 29: Modèle conceptuel du scénario étudié 159

Figure 30 : Vue en plan des deux regards (dessin non à l'échelle)..... 161

Figure 31 : Vue de la coupe transversale « AA' » du regard R₂ (dessin non à l'échelle)..... 161

Publications

Publications dans des revues avec comité de lecture

EVENS EMMANUEL, JEAN-MARIE BLANCHARD, GERARD KECK, YVES PERRODIN Caractérisation chimique, biologique et écotoxicologique des effluents hospitaliers . Déchets Sciences et Techniques, revue francophone d'écologie industrielle, **2001**, 22:31-33.

EVENS EMMANUEL, JEAN-MARIE BLANCHARD, GERARD KECK, PAUL VERMANDE, YVES PERRODIN Toxicological effects of sodium hypochlorite disinfections on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater (Accepted : Journal of Environment International, décembre 2003).

EVENS EMMANUEL, YVES PERRODIN, JEAN-MARIE BLANCHARD, GERARD KECK, PAUL VERMANDE Contribution méthodologique à l'évaluation des risques écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers (Submitted : Déchets Sciences et Techniques, revue francophone d'écologie industrielle, novembre. 2003).

EVENS EMMANUEL, YVES PERRODIN, JEAN-MARIE BLANCHARD, GERARD KECK, PAUL VERMANDE Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater : a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network. (Submitted: Journal of Hazardous Materials, décembre 2003).

Communications orales dans des conférences internationales

EVENS EMMANUEL, YVES PERRODIN, GERARD KECK, JEAN-MARIE BLANCHARD, PAUL VERMANDE Effects of hospital wastewater on aquatic ecosystem. Proceedings of the XXVIII Congreso Interamericano de Ingenieria Sanitaria y Ambiental. Cancun, México, 27-31 de octubre, **2002**. CDROM.

EVENS EMMANUEL, YVES PERRODIN, GÉRARD KECK, JEAN-MARIE BLANCHARD, PAUL VERMANDE Ecotoxicity of hospital wastewater: use of chlorides as tracers of the polluted substances on Daphnia. Proceedings of the Water Environment Federation 75th annual conference and exposition. Chicago, September 28 - October 2, **2002**. CDROM.

EVENS EMMANUEL, YVES PERRODIN, GERARD KECK, JEAN-MARIE BLANCHARD, PAUL VERMANDE Analyse statistique des données obtenues pour quatre paramètres de suivi des effluents hospitaliers – Utilisation des chlorures comme indicateurs de leur écotoxicité aiguë. In: **EMMANUEL E. ET VERMANDE P.** *Actes du Colloque International Gestion Intégrée de l'Eau en Haïti*. Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement, Université Quisqueya, Port-au-Prince, **2002**.

Présentation de posters dans des conférences internationales

EVENS EMMANUEL, YVES PERRODIN, GERARD KECK, JEAN-MARIE BLANCHARD, PAUL VERMANDE Analyse statistique des données obtenues pour quatre paramètres de suivi des effluents hospitaliers – Utilisation des chlorures comme indicateurs de leur écotoxicité aiguë. Poster No. 16. In: **Ecole Nationale de Chimie et de Biologie de Paris** *Actes du Colloque Biologie et Hygiène Hospitalière*. Paris, 14 mars **2002**, p.16

Publications

EVENS EMMANUEL, JEAN-MARIE BLANCHARD, GÉRARD KECK, YVES PERRODIN Chemical Biological and Ecotoxicological of Hospital Wastewater. Poster PH014, In: Society of Environmental Toxicology and Chemistry "SETAC 22nd Annual Meeting Abstract book - Changing Environmental Awareness: Societal Concerns and Scientific Responses", Baltimore, 2001, p.323.

Autres publications (vulgarisation scientifique)

EVENS EMMANUEL, YVES PERRODIN, GÉRARD KECK, JEAN-MARIE BLANCHARD, PAUL VERMANDE Effects of hospital wastewater on urban wastewater systems and on aquatic ecosystem: a review. 2002. Available on: www.recy.net , 16/01/2003.

Liste des acronymes

Notation	Signification
ADEME	Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Environnement
AEP	Approvisionnement en Eau Potable
AFNOR	Association Française de Normalisation
AGV	Acides Gras Volatils
AOX	Composés organo-halogénés adsorbables sur charbon actif
¹⁹⁸ Au	Or 198
Bq.g ⁻¹	Becquerel par gramme
CE ₅₀	Concentration Effective 50
CEE	Communauté Economique Européenne
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CI	Concentration inhibitrice
Ci	Curie
CL	Concentration létale
CL _{50-96 h}	Concentration létale pour 50% des individus, mesurée après un essai d'une durée de 96 heures
CLIN	Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales
COT	Carbone Organique Total
CSTEE	Comité Scientifique sur la Toxicologie, l'Ecotoxicologie et l'Environnement
DBO ₅	Demande Biochimique en Oxygène après incubation durant 5 jours à 20 °C
DCO	Demande Chimique en Oxygène
DDT	2,2- bis- (p-chlophényl) -1,1,1 -trichloroéthane
DL ₅₀	Dose létale 50, dose provoquant 50% de mortalité dans un échantillon d'une population
DRASS	
E. coli	<i>Escherichia coli</i>
ENTPE	Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat
EPA	Environmental Protection Agency
ERE	Evaluation des Risques Ecotoxicologiques
ERS	Evaluation des Risques Sanitaires
¹⁶⁹ Er	Erbium 169
FDA	Food and Drug Administration
GI	la partie gastro-intestinale
HAP	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
IARC	International Agency for Research on Cancer

Liste des acronymes

ICPE	Installations Classées pour la Protection de l'Environnement
ILm	<i>Median inhibitory limit</i>
INSA	Institut National des Sciences Appliquées de Lyon
¹³¹ I	Iode 131
IPCS	Programme International de la Sûreté Chimique
IPSN	Institut de Protection et de Sûreté Nucléaire
IVS	Intitut de Veille Sanitaire
LAEPSI	Laboratoire d'Analyse Environnementale des Procédés et des Systèmes Industriels
LLI	la partie inférieure de gros intestin
LOEC	<i>Lowest Observed Effect Concentration</i>
L.S.E.	Laboratoire des Sciences de l'Environnement
µCi	Microcurie
MIOM	Mâchefers d'Incinération des Ordures Ménagères
mSv	Millisievert
MTM	Multi-Test Macroinvertébrés
nCi	Nanocurie (1 nCi = 10 ⁻⁹ Ci)
NOEC	<i>No Observed Effect Concentration</i>
NOEL	<i>No Observed Effect level</i>
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economique
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
³² P	Phosphore 32
PCB	Polychlorobiphényles
PCDD/PCDF	Polychlodibenzo(p)dioxins / Polychlorodibenzofurannes
PEC	<i>Predicted Environmental Concentration</i>
PED	Pays En Développement
PNEC	<i>Predicted No Effect Concentration</i>
PRC	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
REFIOM	Résidus d'Épuration des Fumées d'Incinération des Ordures Ménagères
¹⁸⁶ Re	Rhénium 186
SIDA	Syndrome Immunitaire de Déficience Acquisse
SFHH	Société Française d'Hygiène Hospitalière
STEP	Station d'Épuration
⁹⁹ Tc ^m	Techncium 99
²⁰¹ T ^m	Thallium 201
T90	Temps de réduction de concentration d'un log décimal
³ H	Tritium

Liste des acronymes

ULI	la partie supérieure du gros intestin
UT	Unité Toxique
VIH	Virus d'Immuno-déficience Humaine
VTR	Valeurs Toxicologiques de Référence
⁹⁰ Y	Yttrium 90

Résumé

Les substances chimiques utilisées dans les hôpitaux pour les activités de soins et pour la recherche médicale sont le plus souvent retrouvées dans les effluents liquides. Même si le volume élevé d'eaux usées générées par ces établissements, assure une dilution importante des polluants présents, le rejet de ces effluents dans le réseau d'assainissement communal ou dans le milieu naturel génère un risque pour la santé humaine, et représente une contribution significative à la contamination générale de l'environnement, et plus particulièrement des milieux aquatiques. Les contaminants les plus fréquemment rencontrés sont des micro-organismes pathogènes, des métaux, des radio isotopes, des détergents, des composés organohalogénés et des résidus de médicaments. L'objectif de ce travail était d'élaborer une méthodologie d'évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés au rejet dans les milieux aquatiques des effluents hospitaliers. Deux procédures ont été élaborées : (i) pour la gestion et l'évaluation des risques sanitaires générés par le rejet des effluents hospitaliers, via des fosses septiques, dans une formation karstique où les ressources en eau sont exploitées pour la consommation humaine. Des risques chimiques et microbiologiques pour la santé humaine ont été caractérisés quantitativement. Ces résultats nécessitent d'être vérifiés par des études épidémiologiques. (ii) pour la gestion et l'évaluation des risques écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers rejetés dans une STEP puis dans un milieu récepteur aquatique. Le scénario présenté conduit à une évaluation semi-quantitative des risques. Il devra être amélioré sur certains aspects, particulièrement ceux concernant : l'évolution de la toxicité à long terme sur les organismes cibles.

Mots-clés : Effluents hospitaliers, risques sanitaires, risques écotoxicologiques, médicaments, désinfectants, toxicité.

Abstract

The chemical substances used in hospitals for care activities and medical research are generally found in the wastewater. Even if the high volume of generated wastewater by these establishments, ensures an important dilution of the pollutants, the discharge of these effluents in the urban sewer network or in the natural environment generates risks for human health, and represents a significant contribution to the general contamination of the environment, and more particularly of the aquatic environments. The most important pollutants present in hospital wastewater are pathogenic microorganism, organohalogen compounds, such as the AOX (halogenated organic compounds adsorbable on activated carbon), radioisotopes, detergents and pharmaceuticals. The aims of this study was to develop a methodology for human health and ecotoxicological risks' assessment of hospital wastewater. Two frameworks have been implemented: (i) for human health risk assessment and management of hospital effluents discharging via septic tanks, into a karstic formation where the water resources are exploited for drinking water. Chemical and microbiological health human risks were quantitatively characterized. These results require to be verified by epidemiological studies. (ii)

For ecotoxicological risk assessment and management of the hospital effluents rejected into a wastewater treatment plant, then in the natural aquatic ecosystem. The scenario allows to a semi-quantitative risk characterization. It needs to be improved on some aspects, particularly those linked: to long term toxicity assessment on target organisms

Keywords : Hospital effluents, human health risks, ecotoxicological risk, pharmaceuticals, disinfectants, toxicity.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le développement durable se définit selon la WORLD COMMISSION ON ENVIRONMENT DEVELOPMENT (1987) comme « un développement qui réponde aux besoins du présent, sans compromettre la capacité des générations futures de répondre aux leurs ». Cette définition, largement employée et acceptée, est un véritable défi posé pour la gestion et le traitement de certains effluents issus des activités humaines dont les rejets liquides hospitaliers. Le retard sur le plan scientifique de technologies permettant une maîtrise efficace des polluants existant dans ces rejets ne fait qu'augmenter les inquiétudes.

Depuis la fin du siècle dernier se pose au niveau mondial, le problème de la rareté de l'eau douce. Parmi les options techniques considérées, le traitement des eaux usées pour d'éventuelles réutilisations semble un objectif. Dans cette perspective, la problématique des effluents hospitaliers devient de plus en plus importante puisqu'elle se place dans le contexte de la faible potentialité du traitement par les stations d'épuration (STEP) de certaines substances chimiques d'origine hospitalière. En effet, le dosage des polluants d'origine hospitalière montre que certaines substances, particulièrement les composés organohalogénés et les résidus de médicaments, quittent le plus souvent les STEP presque inchangés (RICHARDSON et BOWRON, 1985; GARTISER et *al.*, 1996; KÜMMERER et *al.*, 1997; HALLING-SORENSEN, 1998; SPREHE et *al.*, 1999). La charge polluante des effluents hospitaliers provoque dans les STEP communales des effets de saturation qui se traduisent finalement par un relargage de polluants dans le milieu naturel.

Ces déficiences des mécanismes d'épuration des composés chimiques se juxtaposent à la mise en évidence de germes pathogènes multirésistants aux antibiotiques dans les rejets liquides des établissements de santé.

Par ailleurs, dans de nombreux pays en développement (PED), les effluents liquides hospitaliers générés par les communautés sont rejetés directement dans le milieu récepteur (les cours d'eau ou les sols) le plus souvent sans aucun traitement au préalable.

Les activités de services médicaux, vaccinations, recherches médicales incluant les essais diagnostiques, traitements et examens de laboratoire, protègent, rétablissent la santé et sauvent des vies (OMS, 2000). Les récents progrès enregistrés, plus particulièrement dans les pays industrialisés, dans le domaine des sciences de la santé (transplantation d'organes, hémodialyse, radiologie, laboratoires de hautes technologies, pro-création) renforcent les soins sanitaires dans leur triple fonctionnalité et traduisent parallèlement la capacité des spécialistes du domaine médical de soigner et d'augmenter notre espérance. En dépit de ces percées remarquables, ce domaine n'échappe pas, lui non plus, au double processus «d'appropriation-désappropriation» qui caractérise toute activité technique (BLANC, 1999). La production de biens et de services de santé nécessite la mobilisation de

ressources naturelles (exploitation de milieux naturels). Comme cela se présente dans toutes les chaînes d'activités humaines, les soins médicaux génèrent des déchets solides, des rejets liquides et effluents gazeux, et donc provoquent des transferts de polluants vers les milieux naturels pouvant compromettre l'équilibre biologique des écosystèmes aquatiques.

Par ailleurs les eaux usées produites par les établissements de soins peuvent servir de vecteur aux agents de transmission des infections nosocomiales. En effet, il a été observé dans les pays développés, au cours des années 1980, l'apparition de nouvelles maladies infectieuses contractées au cours d'un séjour dans un établissement de soins. Ces infections sont inévitables dans bien des cas et relativement fréquentes : on estime en France que 7% des patients présentent une infection nosocomiale. Les statistiques des autres pays développés font état d'un pourcentage variant de 5 à 12%. Ces infections présentent divers degrés de gravité et constituent un important enjeu de santé publique (MINISTÈRE DE LA SANTÉ, 2002). En Haïti, aucune statistique n'est encore publiée sur la prévalence de ces infections. Il paraît tout à fait évident, dans le cadre des programmes de coopération scientifique internationale entre la France et les pays en développement (PED), d'initier une réflexion sur la problématique des infections nosocomiales en incluant celle des rejets hospitaliers de ces pays.

Les différents problèmes résultant des rejets liquides des services de santé suscitent, chez les scientifiques, un questionnement sur le devenir des polluants hospitaliers dans l'environnement et sur la nécessité de développer des outils de gestion durable des eaux usées de ces établissements. La mise en œuvre d'essais d'écotoxicité montrent que les effluents hospitaliers ont souvent une toxicité élevée (LEPRAT, 1998 ; JEHANNIN, 1999, EMMANUEL et *al.*, 2001). Les résultats des tests de mutation génique indiquent que les effluents des services cliniques et des laboratoires hospitaliers présentent un caractère génotoxique (GARTISER et *al.*, 1996). Ces résultats confirment l'existence de substances dangereuses dans les effluents hospitaliers. Les risques liés à l'existence de ces substances deviennent un objet de recherche pertinent du fait du rejet d'énormes quantités d'eaux usées hospitalières contenant ces produits, et d'autant plus que ces substances peuvent connaître diverses évolutions physiques, chimiques et biologiques.

L'objectif de cette thèse a été l'élaboration d'une méthodologie permettant une meilleure compréhension des effets des polluants hospitaliers sur la santé humaine et sur celle des écosystèmes.

Dans un premier temps nous présentons une étude bibliographique sur les effluents hospitaliers. L'objectif de cette partie est de synthétiser les informations sur la caractérisation biologique, physico-chimique et écotoxicologique des rejets liquides provenant des établissements de santé en ayant pour objectif de sélectionner quelques paramètres représentatifs qui seront ensuite mesurés sur des effluents spécifiques.

Pour une meilleure élaboration des scénarii résultant de l'exposition des espèces vivantes aux polluants des services médicaux, nous présentons de manière synthétique les méthodes d'évaluation des risques sanitaires et environnementaux.

Pour l'élaboration de la méthodologie proposée pour évaluer les risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers, deux scénarii sont considérés :

- un premier scénario décrivant un mode d'élimination des rejets liquides couramment observé dans les pays en développement. Ce scénario a été étudié sur les effluents liquides d'un hôpital de la ville de Port-au-Prince, Haïti;
- un scénario décrivant un mode d'élimination des rejets liquides couramment observé dans les pays industrialisés. Ce scénario a été étudié sur les rejets liquides des hôpitaux de la ville de Lyon, France.

La méthodologie élaborée pour l'évaluation des risques sanitaires a été appliquée pour l'hôpital de Port-au-Prince, tandis que celle élaborée pour l'évaluation des risques écotoxicologiques a été appliquée sur les effluents hospitaliers de la ville de Lyon.

Cette thèse s'inscrit dans le cadre d'une réflexion commune sur la toxicité et l'écotoxicité des effluents hospitaliers entamée conjointement par le LAEPSI de l'INSA de Lyon, le L.S.E. de l'Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat et l'Unité de Toxicologie et de Métabolisme Comparé des Xénobiotiques de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. Cette réflexion entre dans une thématique de recherche commune aux trois laboratoires et intitulée « écotoxicité et impact des polluants vis-à-vis des écosystèmes aquatiques ».

Dans cette optique nous avons structuré notre travail de la manière suivante :

- Le Chapitre I propose un état de l'art sur les effluents hospitaliers incluant le contexte de production, la caractérisation et les aspects réglementaires de ces rejets liquides.
- Le Chapitre II décrit les méthodes d'évaluation des risques sanitaires et environnementaux. Cette synthèse bibliographique permet une meilleure compréhension de la méthodologie élaborée ensuite.
- Le Chapitre III présente la méthodologie élaborée dans le cadre de cette étude pour évaluer les risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers.
- Le Chapitre IV est consacré à l'application de la méthodologie élaborée pour l'évaluation des risques sanitaires aux effluents liquides d'un hôpital se trouvant en milieu tropical semi-urbanisé d'un PED.
- Le Chapitre V applique la méthodologie élaborée pour l'évaluation des risques écotoxicologiques aux rejets liquides des hôpitaux se trouvant dans une ville d'un pays développé tempéré. La

procédure d'évaluation des risques écotoxicologiques ainsi que les résultats de son application sur les effluents hospitaliers de la ville de Lyon sont présentés dans l'article intitulé :

Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater : a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network (*Submitted to the "Journal of Hazardous Materials" – december 2003*).

Abstract : In hospital a variety of substances are in use for medical purposes as diagnostics and research. After application, diagnostic agents, disinfectants and excreted non-metabolized pharmaceuticals by patients, reach the wastewater. This form of elimination may generate risks for aquatic organisms. The aim of this study was to present (i) the steps of an ecological risk assessment and management framework related to hospital effluents evacuating into wastewater treatment plant (WWTP) without preliminary treatment; and (ii) the results of its application on wastewater from an infectious and tropical diseases department of a hospital of a big city of the southeast of France. The characterization of effects has been made under two assumptions, which were related to : (a) the effects of hospital wastewater on biological treatment process of WWTP, particularly on the community of organisms in charge of the biological decomposition of the organic matter; (b) the effects on aquatic organisms. COD and BOD₅ have been measured for studying global organic charge. Assessment of organo halogenated compounds was made using AOX (halogenated organic compounds absorbable on activated carbon) concentrations. (3) Heavy metals (arsenic, cadmium, chrome, copper, mercury, nickel, lead and zinc) were measured. Low MPP (most probable number) for faecal bacteria has been considered as an indirect detection of antibiotics and disinfectants presence. For toxicity assessment, bioluminescence assay using *Vibrio fischeri* photobacteria, 72-h EC₅₀ algae growth *Pseudokirchneriella subcapitata* and 24-h EC₅₀ on *Daphnia magna* were used. The scenario allows to a semi-quantitative risk characterization. It needs to be improved on some aspects, particularly those linked: to long term toxicity assessment on target organisms (bioaccumulation of pollutants, genotoxicity, etc.); to ecotoxicological interactions between pharmaceuticals, disinfectants used both in diagnostics and in cleaning of surfaces, and detergents used in cleaning of surfaces ; to the interactions into the sewage network, between the hospital effluents and the aquatic ecosystem.

Keywords : Hospital wastewater, ecotoxicological risk assessment, pharmaceuticals, disinfectants, toxicity

- Le Chapitre VI traite de la toxicité des principaux désinfectants utilisés dans les hôpitaux, vis-à-vis des organismes aquatiques. Il comprend deux publications.

N° 1 : Toxicological effects of sodium hypochlorite disinfections on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater (*Accepted/ to "Environment International" – october 2003*)

Abstract : Sodium hypochlorite (NaOCl) is often used for disinfecting hospital wastewater in order to prevent the spread of pathogenic microorganisms, causal agents of nosocomial infectious diseases. Chlorine disinfectants in wastewater, react with organic matters to give rise to organic chlorine compounds such as AOX (halogenated organic compounds adsorbable on activated carbon), which are toxic for aquatic organisms and persistent environmental contaminants. The aim of this study was to evaluate the toxicity on aquatic organisms of hospital wastewater from services using NaOCl in pre-chlorination. Wastewater samples from the infectious and tropical diseases department of a hospital of a big city of the southeast of France were collected. Three samples per day were done in the connecting well department at 9 A.M, 1 P.M. and 5 P.M. during eight days from 13 March to 22 March 2001, and a mixture was made at 6 P.M. with the three samples in order to obtain a representative sample for the day. For toxicity test, the 24-h EC₅₀ on *Daphnia magna* and a bioluminescence assay using *Vibrio fischeri* photobacteria were used. Fecal coliforms and physicochemical analysis such as: Total Organic Carbon (TOC), chloride, AOX, Total Suspended Solids (TSS) and Chemical Oxygen Demand (COD) were carried out. Wastewater samples highlighted an important acute toxicity on *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri* photobacteria. However, low most probable number (MPN) ranging from <3 to 2400 for 100 mL were detected for fecal coliforms. Statistical analysis, at a confidence interval of 95%, gave a strong linear regression assessed with $r = 0,98$ between AOX concentrations and EC₅₀ (TU) on daphnia. The identification of an ideal concentration of NaOCl in disinfecting hospital wastewater, i.e. its NOEC (Non Observed Effect Concentration) on algae and *Daphnia magna*, seems to be a research issue which could facilitate the control of AOX toxicity effects on aquatic organisms. Therefore, it would be necessary to follow-up at various dosages the biocide properties of NaOCl on fecal coliforms and its toxicity effects on aquatic organisms.

Keywords : Sodium hypochlorite, AOX, hospital effluents, toxicity, *Daphnia*.

CHAPITRE I LES EFFLUENTS HOSPITALIERS : CONTEXTE, CARACTERISATION ET ASPECTS REGLEMENTAIRES

I. Contexte

Les activités de services médicaux, vaccinations, recherches médicales incluant les essais diagnostiques, traitements médicaux et examens de laboratoire par exemple, protègent, rétablissent la santé et sauvent des vies (OMS, 2000). En dépit de leur caractère humanitaire, elles n'échappent pas, elles non plus, au double processus «d'appropriation-désappropriation» qui caractérise toute activité technique (BLANC, 1999). La production de biens et de services de santé nécessite la mobilisation de ressources naturelles. Comme c'est le cas pour toutes les activités qui mettent en œuvre de la matière, celles relevant du domaine de la santé sont également génératrices de pollution et de transfert vers les milieux naturels.

D'une façon générale, les hôpitaux agissent à deux niveaux sur les écosystèmes aquatiques. Ils ont une demande en eau potable importante. Parallèlement, ils produisent des effluent liquides, pollués par des microorganismes pathogènes, par des radioéléments et par des substances chimiques dont certaines peuvent avoir un caractère peu biodégradable.

La consommation minimale d'eau domestique est de 100 litres par habitant et par jour (GADELLE, 1995), alors que la valeur généralement admise pour les hôpitaux varie de 400 à 1200 litres par lit et par jour. Aux Etats-Unis d'Amérique la demande moyenne en eau des établissements de santé est de 968 litres par lit et par jour (EPA, 1989a). En France, on estime à 750 litres par lit et par jour (soit 250 à 350 litres pour l'hospitalisation et la technique médicale, et 350 à 450 litres pour les services généraux) les besoins moyens en eau d'un Centre Hospitalier Universitaire (CLIN PARIS-NORD, 1999). Dans les pays en développement, cette consommation semble plutôt se situer autour de 500 litres par lit et par jour (LABER et *al.*, 1999).

A côté de cette demande élevée d'eau potable, se rajoutent des besoins en eaux spécifiques telles que l'eau physiologique ou stérilisée et les sérums. **Cette importante consommation en eau des hôpitaux donne naissance à de grands volumes de rejets liquides** chargés de microorganismes pathogènes, dont certains sont multirésistants aux antibiotiques, de substances chimiques toxiques et des radioisotopes (LEPRAT, 1998). Bien que la consommation élevée en eau des centres hospitaliers puisse assurer une dilution importante des charges organiques et inorganiques des effluents des différents services, leur rejet dans le réseau d'assainissement communal ou dans le milieu naturel n'est pas exempté de risques pour les espèces vivantes qui seront exposés aux substances dangereuses contenues dans ces effluents. Les recommandations de CLIN PARIS-NORD (1999) soulignent que « Ce facteur de dilution ne peut être la réponse dissimulant la réalité des

problèmes : des produits toxiques pour l'homme et pour l'environnement sont utilisés et rejetés, l'hôpital est relié à une station d'épuration qui a ses propres contraintes ».

I.1. Problématique des effluents hospitaliers

L'un des principaux problèmes environnementaux posés par les effluents hospitaliers est leur rejet, au même titre que les effluents classiques urbains, vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable (LEPRAT, 1998 ; CLIN PARIS-NORD, 1999). Le dosage des polluants d'origine hospitalière montre que certaines substances, particulièrement les composés organohalogénés et les résidus de médicaments, quittent le plus souvent les stations d'épuration (STEP) avec peu de dégradation (RICHARDSON et BOWRON, 1985; GARTISER et al., 1996; KÜMMERER et al., 1997; HALLING-SORENSEN, 1998; SPREHE et al., 1999). La figure 1 illustre la problématique des effluents hospitaliers.

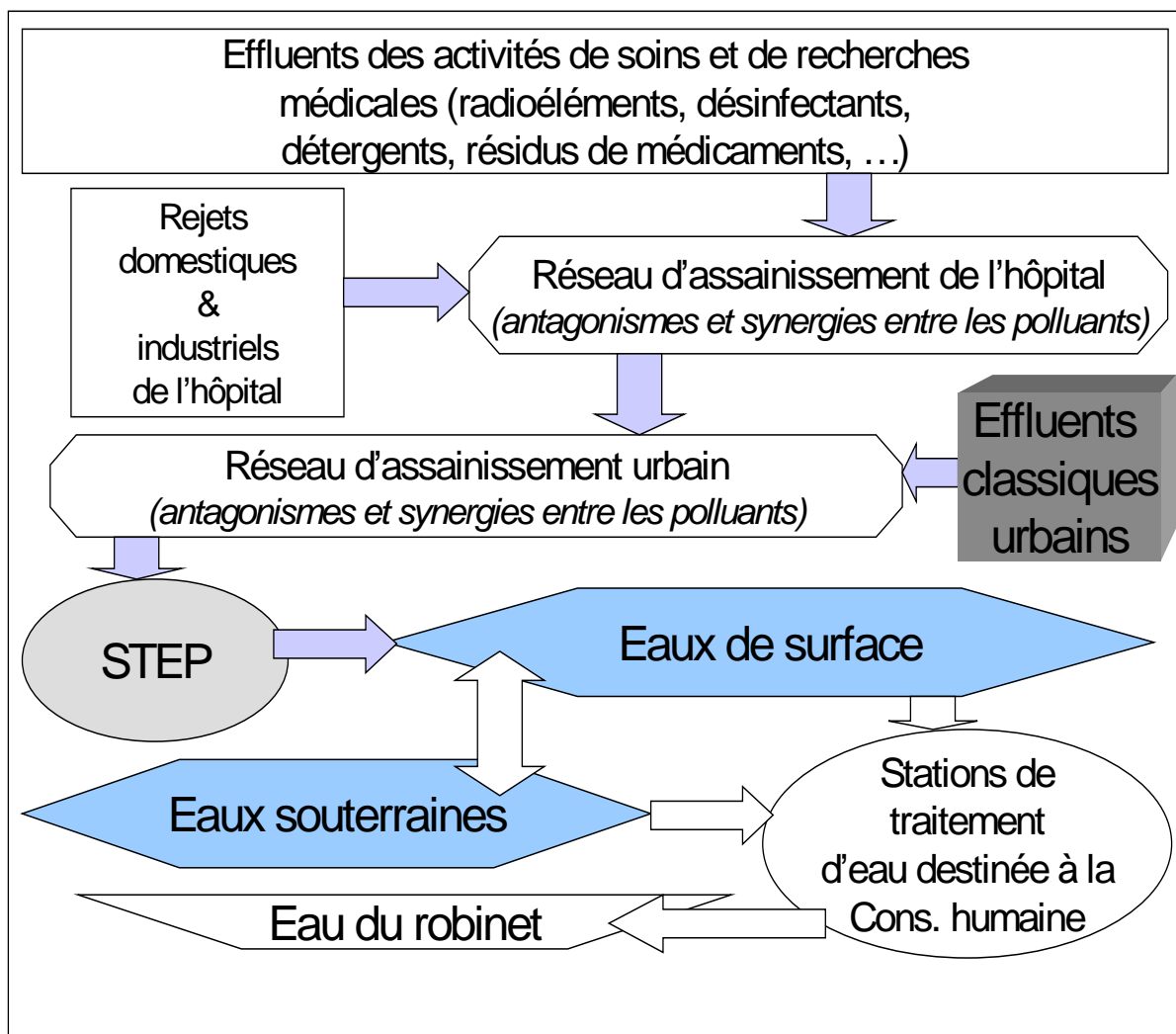


Figure 1 : La problématique des effluents hospitaliers

Les substances difficilement dégradables relarguées par la STEP peuvent provoquer la pollution du milieu naturel en entraînant un déséquilibre biologique. Si les conditions écologiques permettant la croissance des organismes capables de dégrader ces substances ne sont pas réunies, ces substances peuvent avoir une grande pérennité dans le milieu naturel. L'extrême diversité des rejets hospitaliers et les différentes évolutions physiques, chimiques et biologiques qu'ils connaissent, obligent d'une part de les caractériser de manière approfondie sur les plans chimique, biologique, et radiologique, et d'autre part à étudier leur devenir (transport, transformation et dégradation) dans l'environnement.

L'objectif de ce premier chapitre est de proposer un état de l'art sur les effluents hospitaliers afin d'identifier les données et les paramètres nécessaires à l'évaluation et à la gestion des risques associés à de tels rejets.

Ce chapitre est divisé en trois parties:

1. la première propose une classification des hôpitaux et une typologie des effluents qu'ils produisent;
2. la deuxième correspond à une étude bibliographique sur la caractérisation des rejets liquides hospitaliers ;
3. et la troisième se consacre à l'étude des aspects réglementaires relatifs à ces rejets liquides.

II. Classification des hôpitaux et typologie des rejets liquides produites

II.1. Classification des hôpitaux

La principale fonction d'un hôpital est de fournir des soins de santé à la population d'une communauté. Plusieurs hôpitaux offrent des services autres que des soins de santé. Les Centres Hospitaliers Universitaires, par exemple, servent de laboratoires d'enseignement et de recherche. Ils accueillent des chercheurs et des étudiants en science de la santé. D'autres hôpitaux assurent parfois la fonction de foyers de retraite. Dans les PED, les hôpitaux participent le plus souvent, à la mise en place et à la gestion de politiques de planification familiale. En absence des considérations spécifiques sur le type de service offert, l'EPA (1989a) considère que les activités sont identiques dans presque tous les hôpitaux.

Généralement, les hôpitaux fonctionnent 24 heures sur 24 durant les 365 jours de l'année. Leur spécialité est liée aux types maladies qu'ils traitent. Les différentes pathologies sont réparties en service, c'est ainsi que l'on peut retrouver dans un même hôpital des entités tels que : un service des maladies tropicales et infectieuses (tuberculose, malaria, choléra, SIDA, etc.), un service psychiatrique, un service de pédiatrie, un service d'obstétrique, un service de gynécologie, un service de gastroentérologie, etc.

Les hôpitaux sont obligés de disposer des équipements de base permettant aux patients aussi bien qu'aux personnels de santé et aux visiteurs de satisfaire leurs besoins physiologiques. De ces facilités, on peut citer notamment : les salles de consultations, les salles d'hospitalisation, les cafétérias, les toilettes (douches, W.C., lavabos), les laveries, les salles de repos, les laboratoires, les unités de chauffage et de climatisation, etc. L'ensemble de ces équipements et les différentes activités de l'hôpital nécessitent un approvisionnement en eau potable adéquat et génèrent des eaux usées, des effluents gazeux et des déchets solides.

Les déchets solides générés par les hôpitaux peuvent être considérés soit comme des déchets non dangereux, soit comme des déchets dangereux. Approximativement 85% des déchets hospitaliers sont des déchets non dangereux, les 15% restants peuvent être classifiés comme des déchets dangereux (ASHE, 1985). Parmi ces déchets dangereux on peut noter : les déchets chimiques, les radioactifs, les infectieux, et physiquement dangereux, ou une combinaison de ces différents déchets. Les premières sources d'eaux usées dans les hôpitaux sont : les rejets domestiques, les effluents des salles d'opération, les rejets des laboratoires, des services de radiologie, mais aussi les effluents des cafétérias et ceux provenant du nettoyage de la vaisselle (EPA, 1989a). Ces différentes sources donnent finalement naissance à des rejets liquides hybrides, à la fois domestiques, industriels et très spécifiques des activités de soins et de recherches médicales (DELOFFRE-BONNAMOUR, 1995) et marqués par une importante dilution (LEPRAT, 1998 ; EPA, 1989a).

L'AMERICAN HOSPITAL ASSOCIATION (AHA, 1986) estime que le nombre de lits actifs d'un hôpital est un indicateur permettant d'évaluer qualitativement et quantitativement les déchets solides, les effluents gazeux et les rejets liquides d'un centre de santé. Sous la base de cette hypothèse, elle a classifié les hôpitaux en huit groupes. Le tableau 1 fournit la classification de la AHA.

Tableau 1 : Classification des hôpitaux par nombre de lits actifs (AHA, 1986)

Classe	Nombre de lits actifs
1	6 – 24
2	25 – 49
3	50 – 99
4	100 – 199
5	200 – 299
6	300 – 399
7	400 – 499
8	500 ou plus

II.2. Typologie des effluents liquides hospitaliers

Les établissements hospitaliers produisent trois types de rejets liquides :

1. les rejets d'origine domestique (les eaux provenant des cuisines, les rejets résultant des activités de blanchisserie, de l'hygiène des patients et du personnel) ;
2. les rejets industriels (les eaux provenant des garages et des ateliers contenant le plus souvent un volume important d'huiles et de détergents) ;
3. les effluents générés par les activités de soins, d'analyse et de recherche, qui sont très spécifiques aux hôpitaux. Ces rejets peuvent contenir des produits chimiques et radioactifs, des liquides biologiques, des déjections/excrétions contagieuses et également des résidus de médicaments éliminés dans les excréta des patients. D'une manière plus ou moins exhaustive, les rejets liquides spécifiques aux activités médicales comprennent entre autres:
 - a) les effluents des services cliniques : élimination du glutaraldéhyde, micro gouttelettes de mercure issues des thermomètres cassés, bains de dialyse, rejets de la balnéothérapie, ... ;
 - b) les effluents des services médico-techniques : liquides provenant des salles d'opération ayant une forte concentration en matières organiques ou liquides biologiques tels que : sang, urines, selles, liquide gastrique, aspiration trachéo-bronchite, liquide d'épanchement péritonéal ou pleural, de drainage ou d'irrigation ;
 - c) les rejets résultant de l'entretien des matériels médicaux et des locaux (contenant de plus ou moins grandes quantités de détergents, de détergents-désinfectants ou de désinfectants avec des traces de matières organiques ou médicamenteuses ;
 - d) les rejets de laboratoire de biologie médicale : sang, crachats, urines, acides, bases, réactifs divers, solvants... ;

- e) les rejets de laboratoire d'anatomo-pathologie :
- des hydrocarbures benzéniques (toluène et xylène, ...),
 - des désinfectants : formol, alcool éthylique, eau de Javel,
 - des solvants,
 - des acides (acétique, lactique, citrique),
 - des bases (soude , ...),
 - des colorants,
 - les rejets de la médecine nucléaire ;
 - les effluents de la radiologie (eaux de rinçages des clichés chargées en résidus argentiques) ;
 - les rejets de la pharmacie hospitalière (préparation de la teinture d'Iode, des désinfectants, ...).

Les effluents hospitaliers sont le plus souvent considérés par les gestionnaires comme similaires aux effluents domestiques. EPA (1989a) souligne «les eaux usées provenant des hôpitaux sont essentiellement domestiques et peuvent être caractérisées par la concentration des paramètres globaux dans les limites suivantes :

DBO ₅	:	50	à	400 mg/L
DCO	:	150	à	800 mg/L
MEST	:	60	à	200 mg/L
COT	:	50	à	300 mg/L

Des polluants tels que métaux, radioisotopes et autres substances chimiques sont introduits dans le réseau d'assainissement des hôpitaux. Etant donné que les hôpitaux utilisent et rejettent un volume important d'eau, les polluants identifiés se diluent et se retrouvent à des concentrations souvent voisines de celles des effluents domestiques ». D'autres auteurs notent que les effluents hospitaliers présentent pour les paramètres globaux (MEST, DCO, DBO₅, NTK, Phosphore total) des caractéristiques tout à fait semblables à la moyenne de celles d'eaux résiduaires urbaines à l'exception des détergents qui présentent une concentration significativement plus élevée (MANSOTTE et JUSTIN, 2000).

Les travaux réalisés par la Société Française d'hygiène hospitalière (SFHH) en 1991, ont mis en évidence la toxicité élevée des effluents hospitaliers, sans pouvoir expliquer l'origine de celle-ci. En 1994, la SFHH et la DRASS ont piloté une importante étude sur trois hôpitaux de la région Rhône-Alpes. Les résultats de cette étude ont permis de confirmer la toxicité élevée des effluents hospitaliers et d'élaborer des hypothèses de travail quant à la provenance de cette toxicité (DELOFFRE-BONNAMOUR, 1995). L'hypothèse la plus retenue est celle portant sur la présence de rejets contenant des produits détergents, désinfectants.

a- Les détergents

Un détergent est un produit servant à « *décoller la saleté* » par une action physique et chimique. Le décret du 28 décembre 1977 paru au journal officiel du 18 janvier 1978, relatif à la biodégradabilité des agents de surface, impose que les détergents aient une biodégradabilité supérieure ou égale à 90%.

Le détergent est composé d'une partie polaire à caractère hydrophile qui s'hydrate facilement (ions chargés négativement), et d'une partie peu ou pas polaire à caractère hydrophobe ou lipophile (insoluble dans l'eau - chaîne hydrocarbonée). Ces deux pôles engendrent des propriétés tensioactives. Les principaux détergents sont : les détergents anioniques, les détergents cationiques et les détergents non ioniques.

- **Les détergents anioniques** - Sont des détergents d'origine naturelle : les savons $R-COONa$, les sels d'acides gras. Leur dégradation est complète entre 2 et 20 jours.
- **Les détergents cationiques** – $R-NH_3^+X$. (ammonium quaternaire), sont des sels d'amines. En plus de leur pouvoir détergents, ils ont également un pouvoir bactéricide (désinfectant). Ils ont une mauvaise biodégradabilité. En contact avec des détergents anioniques, ils forment des composés insolubles (existence d'une certaine neutralisation).
- **Les détergents non ioniques** – $R-O-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_{n-1}-CH_2OH$. Correspondent à la classe la plus importante. À cause de la très bonne tolérance cutanée qu'ils présentent, ces détergents sont les plus utilisés. Si la chaîne carbonée est linéaire, les enzymes naturelles assurent beaucoup plus facilement la biodégradabilité du composé que si cette chaîne est ramifiée.

Un des principes actifs des détergents est l'agent de surface (ou tensioactif), qui est l'élément constituant l'essentiel de la partie organique des détergents. Présents dans l'eau, les agents de surface forment un film discontinu et fragile à la surface de l'eau. Ce film empêche le plus souvent à la lumière solaire et à l'oxygène de l'air de pénétrer dans l'eau, ce qui peut entraîner un déséquilibre biologique en entraînant à moyen ou à long terme, dans le cas d'un réacteur de traitement biologique aérobie, l'apparition de zones anaérobies. Dans le cas d'un milieu naturel aquatique, il peut provoquer le début d'une eutrophisation.

b- Les désinfectants

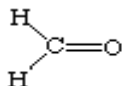
L'AFNOR définit la désinfection comme une « opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés en fonction des objectifs visés ».

Les désinfectants utilisés dans les hôpitaux peuvent se classer en :

- désinfectant couramment utilisés
- désinfectant à utilisation restreinte.

Parmi les désinfectants les plus couramment utilisés on peut citer :

- **les produits chlorés** – L'eau de Javel et les autres hypochlorites sont les désinfectants les plus utilisés dans les hôpitaux (DELOFFRE-BONNAMOUR, 1995). Ils contribuent à la formation des composés organohalogénés adsorbables sur du charbon actif (AOX). Les composés organohalogénés sont le plus souvent lipophiles, rémanents dans l'environnement, et potentiellement toxiques (CAREY et *al.*, 1998), pour les organismes aquatiques.
- **les produits contenant des aldéhydes et dérivés** – le formaldéhyde (CH₂O):



C'est le plus toxique de tous les aldéhydes. Il est incompatible avec les produits iodés, les hypochlorites et l'eau oxygénée.

le glutaraldéhyde : CHO-CH₂-CH₂-CH₂-CHO. C'est un dialdéhyde très utilisé dans la désinfection des appareils d'endoscopies. A cause de sa nature volatile et irritante, le glutaraldéhyde peut être responsable de dysfonctionnement pulmonaire comme l'asthme (CULLINAN et *al.*, 1992) ou d'anomalies cutanées comme les eczémas allergiques (FOUSSEREAU, 1985 ; JOLIBOIS et *al.*, 2002) chez le personnel médical exposé périodiquement à cette substance. Cependant, les problèmes sanitaires liés au glutaraldéhyde peuvent être réduits par l'utilisation d'appareils de nettoyage automatique.

- **les sels ammoniums quaternaires** – Ils ont à la fois un pouvoir détergent et un pouvoir désinfectant.

Parmi les désinfectants utilisés de façon restreinte on peut citer :

- **les produits à base d'iode** – Le problème avec ces produits, c'est qu'ils sont incompatibles avec beaucoup d'autres produits tels : les métaux lourds, les matières organiques, les dérivés mercuriels,..., ce qui limite leur utilisation.
- **les dérivés phénoliques** – Ils ont un très bon pouvoir désinfectant, mais ils ne sont pas biodégradables et à terme peuvent se retrouver dans les eaux de surface destinées à la préparation d'eau potable. Et dans le cas d'une désinfection de l'eau par le chlore ou ses dérivés, les substances phénoliques peuvent générer des composés toxiques tels que les chlorophénols.
- **les produits à base d'alcool** – R-OH
- **l'acide péracétique** – CH₃-COOOH
- **la chlorhexidine** (DI (CHLORO-4-PHENYL) 5,5'-HEXAMETHYLENE DI-BIGUANIDE-1,1' GLUCONATE).

III. Caractérisation des effluents hospitaliers

III.1. Caractérisation micro-biologique des effluents hospitaliers

III.1.1. Généralités

Le premier objectif des études qualitatives et quantitatives sur la flore microbologique des effluents hospitaliers est de dénombrer les marqueurs de pollution fécale des eaux « les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les spores des bactéries sulfitoréductrices ». Le deuxième objectif est d'arriver à identifier la présence ou non de bactéries multirésistantes aux antibiotiques (avec des marqueurs comme : *Staphylococcus aureus* résistant à la métiline et *Klebsiella pneumoniae* porteuse de β - lactamase à spectre étendu), des entérovirus et du VIH. Le second objectif est justifié par le fait que les déjections et les excréctions (urines, selles) des patients porteurs de microorganismes multirésistants et du VIH sont rejetés sans aucun pré-traitement dans le réseau d'assainissement hospitalier (BERNET et FINES, 2000). Actuellement en France, rien n'impose un hôpital au niveau réglementaire de traiter d'une façon spécifique ce type d'effluent, hormis les excréctions et les déjections des patients atteints de maladie à Déclaration Obligatoire (décret du 10 juin 1986, modifié en 1987, 1996 et 1998) de type entérique (Salmonellose, Shigellose, Choléra...), pour lesquelles le règlement sanitaire départemental recommande une désinfection (CLIN PARIS-NORD, 1999).

III.1.2. Les coliformes fécaux : *Escherichia coli*

Escherichia coli est un membre de la famille des entérobactériacées qui se caractérise par la possession de deux enzymes, la β -galactosidase et la β -glucuronidase. Il se développe à 44-45°C sur des milieux complexes, provoque la fermentation du lactose et du mannitol avec formation d'acide et de gaz et produit de l'indole à partir du tryptophane. Certaines souches peuvent se développer à 37°C, mais non à 44-45°C, et certaines ne produisent pas de gaz. *E coli* ne produit pas d'oxydase et n'hydrolyse pas l'urée. Son identification complète est trop complexe pour pouvoir être pratiquée en routine, mais des épreuves ont été mises au point pour l'identifier rapidement avec un haut degré de certitude. Certaines de ces méthodes ont été normalisées à l'échelon international et national et acceptées pour les analyses de routine, tandis que d'autres sont encore au stade de la mise au point ou de l'évaluation.

E. coli est abondant dans les fèces humaines et animales où il peut atteindre des concentrations de 10^9 par gramme de matières fraîches. On le trouve dans les eaux d'égout, les effluents traités, ainsi que dans toutes les eaux naturelles et les sols qui ont subi une contamination fécale récente, qu'elle soit due à l'homme, à l'agriculture ou à la faune sauvage. Il a été récemment avancé que *E coli* peut être présent et même se multiplier dans les eaux tropicales en l'absence de pollution fécale d'origine humaine (OMS, 1994).

III.1.3. Bactéries coliformes thermotolérantes

Ce terme désigne un groupe de coliformes capables de provoquer la fermentation du lactose à 44-45°C ; ils comprennent le genre *Escherichia* et, dans une moindre mesure, certaines espèces de *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter*. Les coliformes thermotolérants autres que la *E. coli* peuvent aussi se trouver dans des eaux enrichies en matières organiques, comme les effluents industriels ou des produits de décomposition des plantes et du sol.

III.1.4. Streptocoques fécaux

Le terme "streptocoques fécaux" désigne les streptocoques généralement présents dans les fèces de l'homme et des animaux. Tous possèdent l'antigène du groupe D de Lancefield. Du point de vue taxonomique, ils appartiennent aux genres *Enterococcus* et *Streptococcus*. Récemment, la taxonomie des entérocoques a été profondément modifiée et la connaissance de l'écologie de nombreuses espèces présente encore des lacunes. Le genre *Enterococcus* comprend maintenant tous les streptocoques qui se caractérisent par certaines propriétés biochimiques communes et une large tolérance à des conditions de croissance défavorables, notamment les espèces *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. cecorum*, *E. aurons*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii* et *E. solitarius*. La plupart de ces espèces sont d'origine fécale et peuvent généralement être considérées en pratique comme des indicateurs spécifiques d'une pollution fécale humaine. Toutefois, on peut aussi les isoler à partir de fèces d'animaux, et certaines espèces et sous-espèces, comme *E. casseliflavus*, *E. faecalis* var. *liquefaciens*, *E. malodoratus* et *E. solitarius* se rencontrent principalement sur des végétaux (OMS, 1994).

En ce qui concerne le genre *Streptococcus*, seuls *S. bovis* et *S. equinus* possèdent l'antigène du groupe D et font partie du groupe des streptocoques fécaux. On les trouve principalement dans les excréments d'animaux. Les streptocoques fécaux se multiplient rarement dans l'eau polluée et leur persistance n'est pas supérieure à celle de la *E. coli* et des coliformes.

III.1.5. Clostridia sulfito-réductrices

Ce groupe se compose de microorganismes anaérobies sporigènes, dont le plus caractéristique, *Clostridium perfringens* (*C. welchii*), est normalement présent dans les fèces, mais en bien moins grand nombre qu'*E. coli*. Toutefois, ils ne sont pas d'origine exclusivement fécale et leur présence dans l'environnement peut avoir d'autres raisons. Les spores de clostridia peuvent survivre dans l'eau beaucoup plus longtemps que les coliformes et ils résistent à la désinfection.

III.1.6. Coliphages et autres indicateurs de remplacement

Les bactériophages ont été proposés comme indicateurs de la qualité de l'eau en raison de leur similarité avec : les entérovirus humains et de leur facilité de détection dans l'eau. Deux groupes ont été largement étudiés : les coliphages somatiques qui infectent les souches hôtes de la *E. coli* par l'intermédiaire des récepteurs de la paroi cellulaire, et les bactériophages à ARN qui infectent les

souches de la *E. coli* et de bactéries apparentées par le biais des pili F ou sexuelles. Ni les uns ni les autres ne se rencontrent en grand nombre dans les déjections humaines ou animales fraîches, mais ils sont abondants dans les eaux d'égout.

III.1.7. Les techniques de mesure

Un certain nombre de techniques analytiques a été développé et normalisé pour la caractérisation microbiologique de l'eau. La culture cellulaire est la technique la plus courante pour les examens bactériologiques. L'ensemencement peut se faire sur des milieux liquides ou solides. Sur milieu solide, l'ensemencement se fait par mise en culture d'une membrane ayant servi à filtrer et concentrer un échantillon liquide, par étalement en surface ou par incorporation en gélose. Différents milieux de culture existent pour sélectionner les bactéries pathogènes. L'identification des espèces peut se faire par différents tests immunochimiques. Le dénombrement se fait de manière directe par comptage de colonies formées sur milieu solide (il s'exprime alors en unités formant colonies : UFC) ou par définition du nombre le plus probable (NPP) en milieu liquide. Pour l'application de cette technique, plusieurs dilutions sont réalisées pour chaque échantillon à analyser et pour chaque dilution, plusieurs tubes sont ensemencés (généralement de 3 à 5). La réplique des microorganismes est constatée par la production d'une turbidité, d'un acide ou d'un gaz dans le tube. Le nombre de tubes positifs est alors compté pour chaque dilution et des tables permettent d'estimer le nombre de microorganismes dans l'échantillon original.

Pour les virus, la méthode de culture se fait sur des cellules d'origine humaine ou de cellules provenant de primate. La sélection d'une lignée de cellules doit être spécifique du type de virus étudié. La présence de virus conduit à la destruction des cellules et à l'apparition de plaques ou de zones claires. Le nombre de virus est supposé correspondre au nombre de plaques (le dénombrement est exprimé en UFP : unité formant plaques).

Concernant les protozoaires, une méthode d'analyse a été élaborée pour le *Cryptosporidium* sur des cellules d'adénocarcinomes. Le processus infectieux est détecté par observation des différentes phases du cycle par immunofluorescence. Un dénombrement par l'approche du NPP est utilisé.

Le tableau 2 fournit la liste des principaux tests normalisés les plus utilisés dans la recherche des marqueurs bactériens et viraux de pollution fécale des eaux.

Tableau 2 : Les principaux tests utilisés dans la microbiologie des effluents

Coli. fécaux (<i>E. coli</i>)	NF T 90-433 microplaque
Strepto. fécaux (Entérocoques)	NF T 90-432 microplaque
Spores de anaérobies sulfite-réductrices	NF T 90-145
Détermination qualitative d'entérovirus, hépatite A Astrovirus, rotavirus	PCR & Méthode ELISA

III.1.8. Bactériologie des effluents hospitaliers

Les résultats de travaux réalisés sur la microbiologie des effluents hospitaliers mettent en évidence de façon systématique la présence de germes ayant acquis des caractères de résistance aux antibiotiques et de façon ponctuelle des souches typiquement hospitalières (LEPRAT, 1988). En utilisant des enterocoques, des staphylocoques, des *Enterobactériaceae* et des bactéries hétérotrophiques comme indicateurs de présence des bactéries multiresistantes dans les biofilms formés dans le réseau d'assainissement hospitaliers, SCHWARTZ et al. (2002) ont relevé une importante présence de germes multirésistants aux antibiotiques. Toutes les bactéries isolées étaient résistantes à la tétracycline et à l'érythromycine. 39 entérocoques résistantes à la vancomycine ont été relevés. Des niveaux élevés de résistance à l'ampicilline, à l'amoxicilline/acide clavulanique et à la gentamicine ont été enregistrés. Par contre de faibles niveaux de résistance à la ciprofloxacine et à la citromoxazole ont été enregistrés. *Pseudomonas aeruginosa* a été également isolée dans les effluents hospitaliers (TSAI et al., 1998).

D'un point de vue quantitatif, les travaux de caractérisation, effectués en France sur la microbiologie des effluents hospitaliers, révèlent les faibles concentrations de la flore bactérienne, soit une flore totale constante de 3×10^5 pour 100 mL pour ces rejets (BERNET et FINES, 2000), si on les compare à celle de 10^8 pour 100 mL (METCALF & EDDY, 1991) généralement présente dans les rejets liquides communaux (LEPRAT, 1988 ; MANSOTTE et JUSTIN, 2000 , BERNET et FINES, 2000). Cette observation est probablement due à la présence en concentrations élevées de substances chlorées et autres substances toxiques (LEPRAT, 1988 , MANSOTTE et JUSTIN, 2000).

Des concentrations de $2,05 \times 10^7$, $1,92 \times 10^7$ et $9,10 \times 10^5$ colonies pour 100 mL ont été respectivement décomptés dans les effluents hospitaliers pour les coliformes totaux, la *E. coli* et les streptocoques fécaux (LABER et al., 1999).

Klebsiella pneumoniae, identifiée comme l'agent étiologique des infections nosocomiales (HIRSCH et al., 1999; BERNET et FINES, 2000), a été isolée des eaux d'une STEP, 90% de la population étudiée restant insensible à l'ampicilline et 6% présentant des formes de multirésistances (STELZER et al., 1985).

Les bactéries ont développé de différents mécanismes pour rendre inefficace les antibiotiques employés contre eux. Les gènes qui codent ces systèmes de défense sont placés dans le chromosome bactérien ou dans les plasmides. Ils sont transmis de génération en génération : c'est le principe du transfert vertical de gènes (SCHWARTZ et al., 2002). Des éléments génétiques, comme les plasmides, peuvent aussi être échangés parmi les bactéries d'affiliation taxonomique différente, c'est le principe du transfert horizontal de gènes (THOMAZEAU , 1983; DAVISSON, 1999). Le transfert horizontal de gène par conjugaison est commun dans la nature, et dans des systèmes techniques, où la densité de bactéries est haute (MUELA et al., 1994; BARKAY et al., 1995; SCHWARTZ et al., 2002). Des études réalisées sur les mécanismes de traitement STEP montrent que les bactéries présentes apparaissent souvent pluri-résistantes, cet état de fait ne dépendant guère de l'effluent d'entrée (THOMAZEAU, 1983).

III.1.9. Virologie des effluents hospitaliers

Des marqueurs de pollution virale des eaux de surface tels les entérovirus et d'autres virus tels les adénovirus ont été identifiés dans les effluents hospitaliers (MANSOTTE et JUSTIN, 2000). Les entérovirus se présentent en quantité importante dans les eaux usées. Leur présence, en tant que marqueur de pollution virale, dans les effluents hospitaliers est à corrélérer avec celle d'autres virus, le VIH par exemple.

Le VIH, agent causal du SIDA, a été isolé des liquides biologiques et excréments des personnes infectées. Ces rejets liquides sont directement déversés dans le réseau d'assainissement des hôpitaux et des laboratoires de recherche et peuvent contribuer à la présence du virus dans les réseaux de drainage urbains et dans les STEP. A priori, les eaux brutes contaminées par le VIH, une fois arrivée dans le réseau d'assainissement urbain peuvent, sur la base d'hypothèses à vérifier, constituer un risque sanitaire pour les égoutiers et les opérateurs des STEP (JOHNSON et *al.*, 1994)

En effet, les personnes infectées par les entérovirus et les entérobactéries libèrent en moyenne 10^6 à 10^7 PI « particules infectieuses » (ou colonies) pour chaque litre de selle excrété (MCJUNKIN, 1982). CASSON et *al.* (1997) mentionnent la présence de particules infectieuses du VIH dans les eaux naturelles et usées. LUE-HING et *al.* (1999) ont trouvé une concentration de PI de VIH par litre compris entre 1.4×10^{-2} et 8.6×10^{-1} (inférieur à 1 PI de VIH par litres d'effluents) pour la ville de Chicago.

Ces travaux dénotent l'intérêt accordé au monitoring du VIH dans le milieu aquatique. Il faut tout au moins souligner de plus en plus de scientifiques sont unanimes à reconnaître que le nombre de PI pouvant activer la virulence du VIH en milieu liquide inhumain doit être supérieure à 100 (CASSON et *al.*, 1997; LUE-HING et *al.*, 1999). Toutefois, la corrélation entre les entérovirus et le VIH dans les eaux usées semble être un problème sanitaire réel qui sur le plan scientifique nécessite une définition précise et un objet spécifique de recherche.

III.2. Caractérisation physico-chimique des effluents hospitaliers

III.2.1. Généralités

Le prélèvement des échantillons d'eau destinée à la caractérisation analytique, est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté. Il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donné. L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau (gaz dissous, matières en suspension, etc.).

Dans le cas du dosage des métaux lourds, deux cas peuvent se présenter : s'il s'agit du dosage total de l'élément soluble et insoluble, le prélèvement sera effectué en présence d'acide nitrique de très grande pureté, s'il s'agit de doser le métal en solution, le prélèvement sera d'abord filtré avant l'addition d'acide nitrique.

D'une façon générale, le transport à la température de 4°C et à l'obscurité dans des emballages isothermes permet d'assurer une conservation satisfaisante. Dans les eaux ayant subi un

traitement de désinfection, le chlore et les composés chlorés peuvent entraîner une perturbation dans les dosages, en particulier dans les dosages par spectrophométrie d'absorption moléculaire et l'analyse bactériologique. Cet oxydant pourra être éliminé par de petites quantités de thiosulfate de sodium introduit dans le deuxième cas avant la stérilisation du flacon de prélèvement.

Le tableau 3 fournit la liste des principaux paramètres physico-chimiques couramment utilisés dans la caractérisation des effluents.

Tableau 3 : Les paramètres physico-chimiques globaux et leur protocole d'exécution

Paramètres	Norme
MEST	NF EN 872
DBO	NF EN 1899-1, 05/98
pH	NF T90-008
Conductivité	NF EN 27888, ISO 7888
DCO	NF T 90-101
COT	EN 1484
Chlorures	ISO 10 304
Sulfates	ISO 10 304
Sulfures	Potentiométrie
P total	EN 1189
Azote Kjeldahl	ISO 25 663
Azote ammoniacal	NF T90-015
Nitrites	NF T 90-013
Nitrates	ISO 10 304
Métaux : Cd, As, Pb, Cu, Ni, Zn, Cr, Ag	ISO 11 885
Hg	NF T 90 -113
AOX dissous après filtration	ISO 9562

Le dosage des médicaments et des détergents fait appel à des techniques de spectrométrie de masse et de chromatographie d'adsorption atomique.

III.2.2. Quelques résultats disponibles sur la caractérisation physico-chimique d'effluents hospitaliers

En France, la caractérisation physico-chimique d'effluents hospitaliers révèle de façon quasi-systématique la présence de molécules chlorées en concentrations élevées et de façon ponctuelle la présence de métaux lourds en particulier le mercure et l'argent (LEPRAT, 1998). Bien que les thermomètres de mercure ne soient plus en usage dans les hôpitaux des pays industrialisés, l'utilisation d'antiseptiques organomercuriels, facilite la présence de ce métal dans les rejets liquides des laboratoires médicaux (CYR et al., 2002). Des concentrations importantes en DCO ($\geq 1\ 900$ mg/L) et en DBO₅ (≥ 700 mg/L) ont été mesurées (JEHANNIN, 1999). Des concentrations de glutaraldéhyde allant de 0,50mg/L à 3,72mg/L sont mesurées dans les effluents liquides des hôpitaux (JOLIBOIS et al., 2002).

Les effluents hospitaliers présentent des concentrations en AOX très élevées. Des concentrations supérieures à 10 mg/L ont été obtenues dans les effluents des services

d'hospitalisation d'un CHU allemand (GARTISER et al., 1996). Les agents de contrastes iodés aux rayons X présents dans les effluents hospitaliers contribuent à l'existence des AOX dans le réseau d'assainissement (GARTISER et al., 1996; SPREHE et al., 1999 ; STEGER-HARTMANN et al., 1999).

III.3. Caractérisation de la radioactivité des effluents hospitaliers

III.3.1. Estimation de la radioactivité

La radioactivité globale d'un échantillon est celle calculée à partir du résultat du comptage de l'échantillon et du rendement de mesure obtenu avec le radionucléide de référence dans les mêmes conditions opératoires (préparation, charge minérale, extrait sec, comptage).

La radioactivité est généralement différente de la somme des radioactivités effectives des radionucléides présents puisque par convention le même rendement de mesure leur est affecté.

En général, le radionucléide de référence est pour :

- la radioactivité α globale, le plutonium 239,
- la radioactivité β , le strontium 90 – yttrium 90 à l'équilibre.

La radioactivité globale α et β est en général déterminée à partir d'un dépôt obtenu après évaporation . Il est important de connaître la valeur de cet extrait sec car les problèmes d'auto-absorption diminuent surtout le rendement α et il est souhaitable de limiter le dépôt à 2 mg/cm² de surface pour les mesures α , c'est pourquoi il est préférable d'évaporer la totalité des échantillons et de détruire la matière organique avant de procéder au comptage (RODIER, 1996).

Le tableau 4 donne la liste des normes prescrites pour l'estimation de la radioactivité de l'eau ou des effluents.

Tableau 4 : Normes relatives à l'estimation de la radioactivité

Mesure de la radioactivité	Norme
Prélèvement dans les écosystèmes lacustres	ISO 5667-1
Prélèvement dans les cours d'eau	ISO 5667-2
Analyse granulométrique des sédiments	AFNOR X 31-107
Détermination de la capacité d'échange cationique	AFNOR X 31-130
Mesure de l'activité alpha globale dans l'eau non saline	ISO/DIS 9696
Mesure de l'activité bêta globale dans l'eau non saline	ISO/DIS 9697

III.3.2. Les principaux radioisotopes utilisés en médecine nucléaire

Généralement, les hôpitaux utilisent des sources scellées et des sources non scellées. Les sources scellées utilisées en radiothérapie ne produisent pas de déchets. Par contre, les sources non scellées utilisées dans la recherche biologique et médicale, pour le diagnostic et la thérapeutique produisent des déchets radioactifs dont la nature et l'activité sont très diverses et varient avec l'application qui est fait des radioéléments (RODIER, 1971). A l'exception, des excréctions des patients qui sont actuellement exemptes de la réglementation sur les déchets radioactifs, la plupart des

établissements de santé ne rejettent plus leurs effluents radioactifs dans l'égout. Certaines institutions stockent l'urine des patients à qui ^{131}I avait été administré avant d'être rejeté à l'égout sanitaire. L'objectif de ces techniques est de réduire la radioactivité du médicament (ASHE, 1985). Le tableau 5 donne certaines caractéristiques des principaux radioéléments (MORGAN, 1992) utilisés en médecine nucléaire.

Tableau 5 : ¼ Dose Annuelle Admissible des radioéléments utilisés en médecine nucléaire

Radioisotope [§]	Demi-vie de la radioactivité (jours)	Comportement dans H ₂ O	¼ Dose Annuelle Admissible (µCi)			
			Ingestion		Inhalation	
			Organe ciblé	Dose*	Organe ciblé	Dose*
^3H	4.50×10^3	Soluble	Tissus du corps	$6,4 \times 10^3$	Tissus du corps	3.1×10^3
^{14}C	$2,00 \times 10^6$	Soluble	Organes lipidiques	$1,6 \times 10^3$	Organes lipidiques	$2,2 \times 10^3$
^{32}P	$1,40 \times 10^1$	Soluble Insoluble	Os GI LLI	$3,8 \times 10^2$ $4,6 \times 10^1$	Os Poumons	$4,4 \times 10^1$ $4,9 \times 10^1$
^{35}S	$8,71 \times 10^1$	Soluble	-----	$1,3 \times 10^2$	-----	$1,7 \times 10^2$
^{45}Ca	1.64×10^2	Soluble Insoluble	Os GI LLI	$1,8 \times 10^1$ $3,6 \times 10^2$	Os Poumons	$2,0 \times 10^1$ $7,5 \times 10^1$
^{51}Cr	2.78×10^1	Soluble	GI LLI	$3,2 \times 10^3$	GI LLI Corps entier	$6,4 \times 10^3$ $6,7 \times 10^3$
^{57}Co	2.70×10^2	Soluble Insoluble	GI LLI GI LLI	$1,1 \times 10^3$ $7,6 \times 10^2$	GI LLI Poumons	$2,2 \times 10^3$ $1,0 \times 10^2$
^{60}Co	$1,90 \times 10^3$	Soluble Insoluble	GI LLI GI LLI	$9,8 \times 10^1$ $7,0 \times 10^1$	GI LLI Corps entier Poumons	$2,0 \times 10^3$ $2,2 \times 10^2$ 5,5
^{87}Ga	3,26	-----	-----	-----	-----	-----
^{99}Mo	2,79	Soluble Insoluble	Reins GI LLI GI LLI	$3,6 \times 10^2$ $4,8 \times 10^2$ $7,8 \times 10^1$	Reins GI LLI	$4,5 \times 10^2$ $1,3 \times 10^2$
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	$2,50 \times 10^1$	Soluble Insoluble	GI ULI GI ULI	$1,1 \times 10^3$ $7,6 \times 10^2$	GI ULI GI ULI	$2,2 \times 10^3$ $1,0 \times 10^2$
^{111}In	2,81	-----	-----	-----	-----	-----
^{123}I	$5,54 \times 10^{-1}$	-----	-----	-----	-----	-----
^{125}I	5,94	-----	-----	-----	-----	-----
^{131}I	8,00	Soluble Insoluble	Thyroïde GI LLI	4 $1,3 \times 10^2$	Thyroïde GI LLI Poumons	5,3 $2,0 \times 10^2$ $2,0 \times 10^2$
^{133}Xe	5,243	-----	-----	-----	-----	-----
^{169}Er	9,40	Soluble Insoluble	GI LLI GI LLI	$1,9 \times 10^2$ $1,9 \times 10^2$	GI LLI Poumons	$3,8 \times 10^3$ $2,4 \times 10^2$
^{169}Yb	$3,203 \times 10^1$	-----	-----	-----	-----	-----
^{198}Au	2,7	Soluble Insoluble	GI LLI GI LLI	$1,0 \times 10^2$ $9,2 \times 10^1$	GI LLI GI LLI	$2,0 \times 10^2$ $1,5 \times 10^2$
^{201}Tl		Soluble Insoluble	GI LLI GI LLI	$6,2 \times 10^2$ $3,4 \times 10^2$	GI LLI GI LLI	$1,2 \times 10^3$ $5,5 \times 10^2$

§Radioisotopes utilisés en médecine nucléaire (EPA, 1989a; DREMONT et HADJALI, 1997)

III.3.3. La législation française sur les rejets de la médecine nucléaire

En France, l'arrêté du 30 octobre 1981, relatif à l'emploi de radioéléments artificiels en sources non scellées à des fins médicales, impose pour les produits dont la période radioactive est très courte (inférieure à 6 jours) et courte (de 6 à 71 jours) des cuves de stockage permettant d'atteindre

un abaissement suffisant avant rejet dans le réseau d'assainissement. Par contre, les produits dont la période radioactive est longue (supérieure à 71 jours) doivent être stockés, à l'issue d'un tri, et pris en charge par une filière d'élimination spécifique.

III.3.4. Le devenir des radionucléides dans les écosystèmes aquatiques

Les radioéléments ^{90}Y et ^{198}Au sont injectés sous forme de solution colloïdales dans les cavités du corps, habituellement en quantités de l'ordre de 100 à 200 mCi. La plus grande partie de cette concentration reste dans l'organisme et n'est pas excrétée. Par contre ^{131}I , administré par voie orale est rejeté jusqu'à 60 à 70 % dans les urines ; les doses utilisées varient de 100 μCi pour le diagnostic à plus de 100 mCi pour le traitement du carcinome de la thyroïde (RODIER, 1971 ; ERLANDSSON et MATSSON, 1978). Concernant les radioéléments utilisés pour le diagnostic nucléaire $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ et ^{201}Tl , on peut les trouver facilement en différents points du réseau d'assainissement (ERLANDSSON et MATSSON, 1978).

Des études effectuées sur la pollution radioactive des écosystèmes aquatiques montrent la manifestation du phénomène de bioamplification de certains radioéléments sur la biocénose aquatique. En effet, il a été prouvé aux Etats-Unis que les saumons de la rivière Columbia, exposés aux rejets de ^{32}P présentaient une contamination moyenne 1.5 Bq.g^{-1} susceptible de déterminer, chez les individus « isolés » qui auraient consommé 40 kg de saumon par an, une irradiation au niveau des os - l'organe « critique »- de 0,3 mSv par an, soit 20% de la dose admissible (RAMADE, 1998).

III.4. Caractérisation écotoxicologique des effluents hospitaliers

III.4.1. Intérêt de la mesure d'écotoxicité

RIVIERE (1998) définit l'écotoxicologie comme l'étude du devenir des polluants et de leurs effets sur l'environnement de l'homme, c'est-à-dire sur les milieux abiotiques et sur les éléments vivants qui les peuplent. Cette définition est très large, car elle prend en compte les effets directs des polluants sur les organismes vivants, mais aussi les effets directs sur les milieux et les répercussions indirectes sur les biocénoses (RIVIERE, 1998).

Les normes de rejet imposées par les différents textes réglementaires, notamment l'arrêté du 28 octobre 1975 modifié en 1991, fixent les valeurs à ne pas dépasser pour les paramètres à partir de l'appréciation de l'efficacité des filières de traitement. En effet, les filières de traitement sont évaluées en fonction du taux d'abattement de la charge organique polluante (DCO, DBO₅, COT, AGV,...), de la teneur en espèces minérales métalliques (métaux lourds,...) et non métalliques (SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- ,...) ou bien encore par la valeur de certains paramètres physico-chimiques (pH, conductivité, potentiel redox,...). Au plan strict de l'impact réel du rejet en milieu aquatique, cette pratique montre rapidement ses limites dans la mesure où :

- il est rarement possible par ce biais, d'identifier et donc de prendre en compte la totalité des espèces chimiques susceptibles de se retrouver dans un effluent,
- ces paramètres ne constituent pas en soi, une approche suffisamment fiable de la toxicité, compte tenu des phénomènes de synergies et d'antagonisme et de la difficulté à évaluer une toxicité globale à partir de chaque composant pris isolément (PERRODIN, 1988).

Les travaux réalisés sur l'aspect toxicologique des rejets liquides en général ont permis d'élaborer des tests qui permettent d'examiner l'effet exercé par des substances polluantes ou effluents sur le comportement des espèces aquatiques. Les changements de comportement survenus permettent de tirer des conclusions sur la l'écotoxicité des substances ou effluents testés.

III.4.2. Présentation des différentes méthodes d'évaluation de l'écotoxicité

A chaque niveau d'organisation biologique correspond un éventail de méthodes destinées à mettre en évidence la nature et l'intensité des effets. Le choix d'une méthode dépend du but que l'on s'est proposé. Pratiquement tous les essais d'écotoxicité ont été conçus au départ pour déterminer le devenir et le comportement des produits, les effets biologiques des polluants ou les deux. Les essais écotoxicologiques peuvent être classés selon leur protocole, le niveau d'organisation biologique, la durée d'exposition ou la cible (FORBES et FORBES, 1994).

Généralement, les essais sont classés en aigus, subchroniques et chroniques. La durée de la période d'exposition est définie relativement à la durée du cycle de vie de l'organisme. Pour la plupart des vertébrés et invertébrés, les essais de toxicité aiguë sont réalisés sur des périodes d'au maximum 96 heures ; les expositions subchroniques durent moins d'un cycle de vie, tandis que les expositions chroniques s'étendent sur un ou plusieurs cycles.

En écotoxicologie, on se base sur des points finaux létaux et sublétaux pour classer les essais. Ils sont généralement conçus pour mesurer la concentration d'exposition létale pour 50% de la population (CL_{50}) ou pour montrer un effet sublétaux la « concentration efficace (CE_{50}) ». La croissance, la reproduction, le comportement ou divers indices biochimiques, physiologiques et moléculaires sont notamment étudiés. L'intérêt de ces derniers paramètres est toutefois encore très discuté. La mortalité est une des premières mesures de la toxicité d'un produit, mais les écotoxicologues considèrent toujours que c'est une estimation qui doit être complétée par des mesures d'effets sublétaux (FORBES et FORBES, 1994).

Par ailleurs, les expériences réalisées ont permis la mise au point d'essais monospécifiques et d'essais multispécifiques qui fournissent au niveau écosystémique des aperçus différents sur le devenir et les effets des polluants. Les essais monospécifiques sont de loin les plus courants pour mesurer les effets, ceci pour des raisons historiques et parce qu'ils sont plus faciles à réaliser et à interpréter que

les essais à des niveaux supérieurs d'organisations. Le tableau 2 fournit la listes des principaux essais monospécifiques normalisés les plus utilisés.

Tableau 6 : Principaux essais mono spécifiques normalisés

Référence	Titre
NF EN ISO 7346-1 Mars 1998	Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité aiguë létale de substances vis-à-vis d'un poisson d'eau douce (<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton-buchanan (teleostei, cyprinidae)) – Partie 1 : méthode statique
NF EN ISO 7346-2 Mars 1998	Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité aiguë létale de substances vis-à-vis d'un poisson d'eau douce (<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton-buchanan (teleostei, cyprinidae)) – Partie 1 : méthode semi-statique
NF EN ISO 7346-3 Mars 1998	Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité aiguë létale de substances vis-à-vis d'un poisson d'eau douce (<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton-buchanan (teleostei, cyprinidae)) – Partie 1 : méthode avec renouvellement continu
NF T90-377 Décembre 2000	Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de <i>Brachionus calyciflorus</i> en 48 h – Essai d'inhibition de la croissance de la population
NF EN ISO 6341 Mai 1996	Qualité de l'eau – Détermination de la mobilité de <i>Daphnia magna Strauss</i> (cladocera, crustacea) – Essai de toxicité aiguë
NT T90-378 Décembre 2000	Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de <i>Daphnia magna Strauss</i> en 7 jours – Essai de simplifié d'inhibition de la croissance de la population
ISO 10706 :2000 Avril 2000	Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité à long terme vis-à-vis de <i>Daphnia magna Strauss</i> (cladocera, crustacea)
NF T90-376 Décembre 2000	Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de <i>Ceriodaphnia dubia</i> en 7 jours – Essai de simplifié d'inhibition de la croissance de la population
NF T90-375 Décembre 1998	Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité chronique des eaux par inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (<i>Selenastrum capricornutum</i>)
NF EN 28692 Mai 1993	Qualité de l'eau – Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec <i>Scenedesmus subspicatus</i> et <i>Selenastrum capricornutum</i>
NF EN ISO 10253 Avril 1998	Qualité de l'eau – Essai d'inhibition de la croissance des algues marines avec <i>Skeletonema costatum</i> et <i>Phaeodactylum tricornutum</i>
NF EN ISO 11348-3 Février 1999	Qualité de l'eau – Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de <i>Vibrio fischeri</i> (Essai de bactéries luminescentes. Partie 3 : Méthode utilisant des bactéries lyophilisées)

(PERRODIN, 1988) a mis au point un multi-test macro invertébrés : le MTM . Ce test permet de déterminer en parallèle la toxicité aiguë des effluents sur 10 macro invertébrés qui vivent dans les cours d'eau français.

III.4.3. La chaîne alimentaire et la bioamplification des polluants chimiques contenus dans les eaux usées

Les chaînes alimentaires sont constituées par les réseaux formés entre des organismes primaires (tirant leur énergie du rayonnement solaire et de leur environnement minéral), des organismes secondaires se nourrissant de ces premiers, des consommateurs de ces organismes secondaires, etc. (KECK et VERNUS, 2000).

Des phénomènes de bioamplification ont été mis en évidence pour certains polluants bioaccumulatifs : les organismes vivants constituant une chaîne alimentaire présentent des teneurs en polluants croissantes selon leur place dans la chaîne trophique (ZAKRZEWSKI, 1997 ; KECK et VERNUS, 2000).

Ce phénomène résulte d'une bioaccumulation directe du polluant depuis le milieu vers l'organisme (propriété associée au caractère cumulatif du polluant) et d'une concentration du polluant dans l'organisme à chaque étape de la chaîne alimentaire. De nombreux composés organochlorés, tels que les dioxines, ou le mercure notamment sous forme de méthylmercure, sont des toxiques bioaccumulatifs typiques, du fait de leurs caractères particulièrement rémanent et liposoluble. Du fait de leur solubilité relativement faible en règle générale, les métaux lourds rejetés dans les eaux sont plus fréquemment retrouvés après adsorption sur des particules et déposés avec les sédiments. Il en va ainsi du mercure dont une partie se trouve transformée, sur les matières en suspension et dans les sédiments, en méthylmercure par l'action des bactéries. Ce composé, de plus grande liposolubilité traverse facilement les membranes biologiques, s'accumule dans les organismes aquatiques, et atteint des concentrations de plus en plus importantes en suivant la chaîne alimentaire (KECK et VERNUS, 2000).

III.4.4. Les tests de génotoxicité et les marqueurs biologiques

Il existe aujourd'hui un certain nombre d'essais permettant de déterminer la capacité de mutation génique d'une substance. De ces essais on peut citer le test d'activités génotoxiques d'une substance « SOS chromotest » et les tests de mutation génique « AMES et HAMSTER ».

Par ailleurs, d'autres techniques ont été également développées pour mesurer les effets des substances chimiques sur le génome des individus ou des populations des systèmes biologiques. Ces techniques sont dénommées « Biomarqueurs ». Considérés, comme des indicateurs signalant des événements dans des systèmes biologiques ou des échantillons, les marqueurs biologiques peuvent être de différents types :

1. **Biomarqueurs d'exposition** : Ce sont des indicateurs de la contamination des systèmes biologiques par un (des) xénobiotique(s). Les activités monooxygénases des poissons, par exemple, sont des marqueurs biologiques de l'exposition à des polluants majeurs de l'environnement et des indicateurs sensibles de la qualité de l'eau (induction). Certains P450

sont induits par des polluants majeurs de l'environnement tels que les PCBs, les PCDDs, les HAPs et des pesticides.

2. **Biomarqueurs de toxicité** : Ce sont des indicateurs d'effets biologiques à plus ou moins long terme – sur les systèmes biologiques. Par exemple les P450 de la famille 1A. Ce sont très probablement des indicateurs précoces d'effets toxiques ultérieurs (induction entraînant une cancérogénèse).
3. **Biomarqueurs de sensibilité individuelle** : Ce sont des indicateurs d'une sensibilité différente aux toxiques pour certains individus de la population. Ils permettent d'étudier les effets d'un produit sur un pourcentage de la population à partir de la vitesse du métabolisme (rapide ou lent). Les variations d'activité métabolique sont la cause principale de la variabilité intraspécifique.

III.4.5. Les biomarqueurs : un indicateur de mesure de l'état de santé des écosystèmes

Les marqueurs biologiques permettent de disposer des informations sur la nature et le niveau de la contamination chimique. Ils permettent également de mesurer l'état de santé des organismes vivants et des populations des écosystèmes (FLAMMARION et *al.*, 2000). En effet, l'analyse chimique des polluants présents dans les différents compartiments des écosystèmes aquatiques n'est pas toujours possible du fait de la multiplicité des molécules présentes, et ceci souvent à des concentrations inférieures aux limites de détection analytique (NARBONNE, 1988 ; FLAMMARION et *al.*, 2000). Par ailleurs, une telle approche ne renseigne pas sur les risques encourus par les populations animales et végétales exposées aux polluants (LEVEQUE, 1997), et ne peut, à elle seule, prédire les effets biologiques des mélanges de contaminants (synergies, antagonismes, ...) ni quantifier simplement la biodisponibilité des polluants pour les organismes vivants (DUTKA, 1998). De ce fait, le gestionnaire manque d'informations sur l'urgence des mesures à prendre pour améliorer l'état de santé de ces écosystèmes (LASCOMBE, 1997), ou protéger la biodiversité et l'intégrité des écosystèmes (LEVEQUE, 1997 ; FLAMMARION et *al.*, 2000).

Le suivi de la perturbation de cibles biologiques peut pallier cette difficulté. Par exemple, la spécificité d'un biomarqueur pour certaines familles de molécules chimiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques, polychlorobiphényles, métaux lourds, produits phytosanitaires, ...) permet d'une part de révéler la présence de ces polluants, et d'autre part de renseigner sur la biodisponibilité de ces polluants ainsi que sur les effets biologiques précoces sur les organismes (KRAMER et BOTTERWEG, 1991; FLAMMARION et *al.*, 2000).

Un biomarqueur est un paramètre mesuré au niveau moléculaire, cellulaire ou fonctionnel sur des individus issus d'une population et qui indique, soit que les individus ont été exposés à des polluants ou des toxiques, soit que l'individu développe des effets pathologiques à plus ou moins long

terme (NRC, 1989). MAYER et *al.* (1992) rappellent les critères pour le choix d'un biomarqueur destiné à une utilisation de terrain :

1. mesure simple et économique ;
2. réponse dépendant simplement de la concentration et du temps et qui permette une quantification de l'exposition ou de l'effet à partir de la mesure du biomarqueur ;
3. bonne sensibilité ;
4. influence aux facteurs non toxiques (organisme, environnement, méthode) bien comprise et dans les limites acceptables ;
5. signification biologique (un impact sur « l'homéostasie » de l'individu ou de la population).

Ces conditions sont rarement satisfaites dans leur totalité pour les marqueurs biochimiques connus (DECAPRIO, 1997). En particulier, dans le cas de biomarqueurs dont la réponse est plus directement liée à la concentration des contaminants (biomarqueurs d'exposition), la condition 5 n'est pas remplie, même si on peut très bien imaginer que plus l'intensité du signal que représente le biomarqueur est élevée et plus le risque d'effets biologiques irréversibles est important (FLAMMARION et *al.*, 2000).

MC CARTY (1990) définit cinq étapes de validation complète d'un biomarqueur :

1. collecte de données en sites de référence et en sites pollués (avec la prédominance d'un seul polluant) pour évaluer la capacité d'un biomarqueur à distinguer les situations polluées des situations non polluées ;
2. expériences de laboratoire sur des espèces susceptibles d'être prélevées *in situ* pour quantifier les effets d'une exposition (mélange de polluants, effets long-terme, ...) ; liens avec d'autres biomarqueurs ;
3. collecte de données sur des sites avec des situations complexes de pollution en utilisant plusieurs biomarqueurs ;
4. étude du pouvoir prédictif des biomarqueurs quant à des effets à des niveaux biologiques supérieurs (reproduction, ...) ;
5. prédictions des risques pour l'homme.

Les principaux biomarqueurs étudiés chez les poissons, notent FLAMMARION et *al.*, (2000), traduisent respectivement l'exposition des organismes à certaines familles de molécules : modulation d'activités enzymatiques, cassure de simple et de double brin d'ADN (effet génotoxique), perturbation de la synthèse de vitellogénine (altération de la reproduction).

a- Mesure de l'induction de l'EROD

Le biomarqueur qui a été le plus étudié jusqu'à présent chez le poisson est certainement l'induction du cytochrome P450 1A en particulier au niveau du tissu hépatique. Elle peut renseigner

sur l'exposition des organismes à des polluants majeurs de l'environnement tels que les HAPs, les PCBs, les organochlorés (FLAMMARION et *al.*, 2000).

L'induction peut être quantifiée en particulier par la mesure de l'activité monooxygénase EROD (EthoxyRésorrufine-O-Dééthylase) catalysée spécifiquement par le cytochrome P450 1A. Au niveau européen, ce biomarqueur fait partie de la batterie de méthodes en cours de validation méthodologique dans le cadre du projet « *BIOlogical MARKers of environmental contamination in marine ecosystem* (BIOMAR) » (FLAMMARION et *al.*, 2000).

b- Mesure de l'inhibition de l'activité acétylcholinestérasique

La mesure de l'inhibition de l'activité AcétylCholinEstérasique (AChE) dans le muscle de poisson est un biomarqueur dont l'expression traduit spécifiquement l'exposition des poissons à des produits phytosanitaires de la famille des organophosphorés ou de celle des carbamates (BOCQUENE et *al.*, 1993 ; PAYNE et *al.*, 1996 ; FLAMMARION et *al.*, 2000). L'inhibition est provoquée également, mais de manière non spécifique, par des contaminations métalliques (FLAMMARION et *al.*, 2000).

Ce biomarqueur a principalement été utilisé en milieu marin (GALGANI et BOCQUENE, 1998 ; FLAMMARION et *al.*, 2000). Pour les poissons des milieux aquatiques continentaux, cette mesure s'est également révélée intéressante (PAYNE et *al.*, 1996). L'inhibition observée chez les poissons d'une rivière du Beaujolais (RICHERT, 1994) a été vérifiée en laboratoire pour les concentrations mesurées in situ d'un organophosphoré (FLAMMARION et *al.*, 1996).

c- Evaluation de l'impact génotoxique

Si la mesure de marqueurs enzymatiques (induction de l'EROD, inhibition de l'AChE) peut apporter des informations sur le degré de pollution des milieux aquatiques et sur la biodisponibilité de certains polluants, elle n'est cependant pas suffisante pour évaluer des dommages significatifs au plan écotoxicologiques au niveau des individus et des peuplements piscicoles exposés. Dans ce cadre, il est admis que le suivi de biomarqueurs d'effet de polluants, comme les marqueurs de génotoxicité, apportent des informations supplémentaires dans l'analyse des effets sur les organismes vivants (RETHEL et *al.*, 1997 ; FLAMMARION et *al.*, 2000). En effet, la possibilité de mettre en évidence des altérations irréversibles du génôme animal représente un niveau pertinent de l'expression de la toxicité des polluants, eu égard aux désordres ultérieurs auxquels ils peuvent conduire lors d'étapes-clés comme la reproduction (ANDERSSON et WILD, 1994).

La métabolisation de xénobiotiques tels que les HAPs peut dans certaines situations donner naissance à des métabolites très réactifs susceptibles de se lier à l'ADN en formant des produits (adduits). Parmi les techniques de mesure des adduits, la technique dite du post-marquage au ³²P est adaptée aux études de terrain (FLAMMARION et *al.*, 2000). Elle est sensible mais reste lourde de mise en œuvre (MASFARAUD et *al.*, 1992). L'essai comètes en conditions alcalines, plus accessible sur le plan

expérimental, a mis en évidence l'effet génotoxique que représente l'apparition de cassures simple et double brin de l'ADN nucléaire de différents types de cellules (DEVAUX et *al.*, 1997).

d- Mesure de vitellogénine

De nombreux composés, organochlorés (DDT, PCBs, etc.), ou des substances largement présentes dans les effluents de station d'épuration, comme par exemple les produits de dégradation de détergents alkylphénol polyéthoxylés ou les phtalates, ont été reconnus comme pouvant induire des perturbations du système endocrinien en induisant une activité œstrogène mimétique plus ou moins importante chez le poisson mâle (JOBILING et *al.*, 1996 ; TYLER et *al.*, 1996 ; FLAMMARION et *al.*, 2000). Des études *in situ*, en aval des points de rejets de station d'épuration ont mis en évidence une telle activité oestrogénique chez les truites mâles exposées aux effluents des STEP, en relation avec une contamination du milieu par des alkylphénols et/ou des oestrogènes (HARRIES et *al.*, 1997).

Pour détecter l'exposition des poissons à des composés de ce type, lors d'études *in situ* ou en laboratoire, il est possible de mesurer une lipoprotéine plasmatique, la ViTelloGénine (VTG), précurseur de vitellus de l'œuf du poisson et synthétisée par le foie au cours de la vitellogénèse. Cette augmentation de la concentration en vitellogénine, œstrogène-dépendante, n'a pas lieu chez les mâles ni chez les individus immatures, sauf dans le cas d'exposition à des substances oestrogéniques où les concentrations mesurées peuvent alors atteindre des niveaux équivalents à ceux mesurés chez des femelles matures (FLAMMARION et *al.*, 2000). La mesure est réalisée par détection immunologique de la protéine sur du plasma sanguin prélevé sur les poissons exposés (TYLER et *al.*, 1996, FLAMMARION et *al.*, 2000)

III.4.6. Résultats des essais d'écotoxicité sur les effluents hospitaliers

Les tests de toxicité MICROTOX et Daphnie, les plus couramment pratiqués sur les effluents hospitaliers, montrent que ces derniers ont une écotoxicité élevée (GARTISER et *al.*, 1996; LEPRAT, 1998; JEHANNIN, 1999). Par ailleurs, la réalisation du test SOS chromotest montre que 20% des échantillons étudiés sont capables de générer une activité génotoxique (JEHANNIN, 1999). La mise en oeuvre des tests de mutation génique AMES et HAMSTER prouve que les effluents des services cliniques et des laboratoires hospitaliers peuvent présenter un caractère de mutation génique (GARTISER et *al.*, 1996). Les résultats d'études d'impact des effluents hospitaliers sur les processus biologiques de STEP montrent par ailleurs que ces rejets liquides peuvent induire une inhibition de l'activité des boues activées (LEPRAT, 1998).

La première hypothèse avancée sur la toxicité des rejets liquides hospitaliers est qu'elle est due aux différentes substances utilisées dans les services médicaux tels que : les détergents, les désinfectants, les détergents/désinfectants, les agents de contrastes iodés (DELOFFRE-BONNAMOUR, 1995; GARTISER et *al.*, 1996; SPREHE et *al.*, 1999 ; STEGER-HARTMANN et *al.*, 1999; JOLIBOIS et *al.*, 2002).

Les études de toxicité réalisées sur le Pyosynthène EA 20[®], un détergent/désinfectant à base d'aldéhyde très utilisé en France pour le nettoyage des sols, surfaces et matériels médicaux, aboutissent à une CE₅₀ de 1,4mL pour 1 m³ alors que celui-ci était présent à une concentration de 35mL pour 1 m³ dans les effluents hospitaliers de l'hôpital étudié (DELOFFRE-BONNAMOUR, 1995).

La mise en œuvre de tests *Daphnia magna Strauss* sur les effluents d'un centre hospitalier universitaire (CHU) d'une grande ville française a indiqué une toxicité aiguë maximale de 116,8 UT ou équitox/m³ (EMMANUEL et al., 2001). Cette toxicité est due probablement pour partie à la présence de composés organohalogénés résultant de l'utilisation des hypochlorites et des substances iodées dans la désinfection des rejets liquides hospitaliers. Effectuée avant la mise en œuvre des processus de décantation des substances solides et de filtration du surnageant, cette désinfection conduit à une augmentation de la concentration des composés organohalogénés par suite des réactions d'oxydoréduction entre la matière organique et les désinfectants (EMMANUEL et al., 2002). Ces composés organohalogénés sont le plus souvent lipophiles, rémanents, et toxiques pour les organismes aquatiques (CAREY et al., 1998).

Les AOX, résultant de l'utilisation des agents de contrastes iodées, des solvants, des désinfectants, des détergents et des médicaments contenant du chlore, ont une mauvaise biodégradabilité et un mauvais comportement d'adsorption. La majeure partie (90%) des composés organiques iodés contenus dans les rejets liquides quittent le plus souvent les STEP sans aucune dégradation. Par ailleurs, STEGER-HARTMANN et al. (1999) notent que les agents de contrastes iodés sont très hydrophiles, ils ne sont donc pas bioaccumulables.

Des cas de colites (ASSELAH et al., 1996), de rectite (LEDINGHEN et al., 1996) ou de proctite (BURTIN et al., 1993) ont été mentionnés chez des patients qui ont subi des examens réalisés par des équipements qui ont été désinfectés par le glutaraldéhyde. Par ailleurs, les effets toxiques du glutaraldéhyde sur les espèces vivantes ont été observés (NICNAS, 1994). Le tableau 5 présente les résultats des essais d'écotoxicité réalisés sur le glutaraldéhyde.

Tableau 7 : Ecotoxicité aquatique du glutaraldéhyde (NICNAS, 1994)

Test	Espèces	Résultat
Algues ⇒ Inhibition de la croissance de 96-h ⇒ Inhibition de la croissance de 96-h	<i>Selenastrum capricornutum</i> <i>Scenedesmus subcapitatus</i>	ILm = 3,9 mg/L CE ₅₀ = 1 mg/L
Daphnie ⇒ toxicité aiguë 48-h ⇒ effet sur la reproduction 21-jours	<i>Daphnia magna</i> <i>Daphnia magna</i>	CL ₅₀ = 16,3 mg/L NOEC = 8 mg/L LOEC = 43 mg/L
Poisson ⇒ toxicité aiguë 96-h	Crapet à oreilles bleues	CL ₅₀ = 11,2 mg/L
Autres espèces ⇒ toxicité aiguë 48-h ⇒ toxicité aiguë 96-h ⇒ toxicité aiguë 96-h	Larve des huitres Crabes verts Crevettes	CL ₅₀ = 2,1 mg/L CL ₅₀ = 465 mg/L CL ₅₀ = 41 mg/L

III.5. Impacts des rejets médicamenteux sur les écosystèmes aquatiques

Depuis les années 1980, la présence de traces de médicaments dans les effluents des STEP et dans les eaux naturelles a été identifiée. Ces molécules sont considérées comme des micropolluants pour l'environnement parce qu'elles ont été développées dans l'intention de produire un effet biologique sur l'organisme (HALLING-SORENSEN et *al.*, 1998). Le devenir des médicaments dans les milieux naturels suscite alors une attention particulière au sein de la communauté scientifique.

En effet, 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 (MONTAGUE, 1998). Des études réalisées en Angleterre révèlent la présence de médicaments à des concentrations supérieures à 1 µg/L dans les écosystèmes aquatiques (WAGGOT, 1981; WATTS et *al.*, 1983; RICHARDSON et BOWRON, 1985).

Les antalgiques ibuprofène et naproxène ont été identifiés dans les effluents urbains à Vancouver (ROGERS et *al.*, 1986). Des traces d'acide clofibrique ont été trouvées dans les effluents d'une STEP aux Etats-Unis (GARRISSON et *al.*, 1976; HIGNITE et AZARNOFF, 1977). Une masse de 28.7 kg/j pour l'acide salicyclique et 2.9 kg/j pour l'acide clofibrique ont été trouvées dans les effluents de la STEP de Kansas City (HIGNITE et AZARNOFF, 1977).

TERNES (1998), en travaillant sur l'occurrence de 32 médicaments dans les effluents d'un système d'assainissement, a pu observer que 80% des substances sélectionnées étaient à une concentration maximale de 6.3 µg/L dans les eaux traitées par la STEP. L'acide clofibrique, le principal métabolite de trois agents régulateurs de lipide (étofibrate, étofyllinclofibrate et clofibrate) a été trouvé dans les eaux traitées d'une STEP aux Etats Unis à des concentrations comprises entre 0.1 à 1 µg/L (HIGNITE et AZARNOFF, 1977). WAGGOT (1981) a trouvé ce métabolite dans la rivière Lee (Angleterre) à une concentration maximale de 0.01µg/L. En Espagne, il a été détecté dans les eaux souterraines (TERNES, 1998). En Allemagne, ce métabolite a été trouvé dans l'eau du robinet à une concentration maximale de 0.27 µg/L (HEBERER et STAN, 1996).

Comme c'est le cas pour tous les autres xénobiotiques, les médicaments dans les écosystèmes aquatiques peuvent adopter, en terme de devenir, l'un des 3 trois principaux états possibles : être (i) une substance totalement oxydée et de ce fait aboutie au dioxyde de carbone et à l'eau (HALLING-SORENSEN et *al.*, 1998), l'aspirine et presque tous les analgésiques par exemple (RICHARDSON et BOWRON, 1985). Cet état peut être assimilé à l'écocompatibilité de la substance (NAVARRO et *al.*, 1994). (ii) la substance est lipophile, difficilement dégradable, mais une partie de la substance est adsorbée par les boues de la STEP (HALLING-SORENSEN et *al.*, 1998). C'est le cas de l'Oxytétracycline, un antibiotique, détecté dans les sédiments à des concentrations variant de 0,1 à 4,9 mg/kg de matières sèches (JACOBSEN et BERGLIND, 1988). (iii) Sous l'action de la métabolisation, la substance donne

naissance à des métabolites ayant une structure hydrophile différente de celle des molécules mères (lipophiles), cependant les 2 molécules mères et filles sont rémanentes et passent au travers des mécanismes épuratoires de la STEP pour se retrouver finalement dans les milieux récepteurs, ce qui peut donner naissance à un risque pour les organismes aquatiques au cas où les métabolites sont actifs (HALLING-SORENSEN et *al.*, 1998). Le fameux exemple de cet état est Clofibrate et son métabolite l'acide clofibrique (HIGNITE et AZARNOFF, 1977 ; RICHARDSON et BOWRON, 1985).

La figure 2 illustre le circuit suivi par les médicaments utilisés dans la médecine humaine et vétérinaire, pour se retrouver finalement dans l'eau du robinet (DIAZ-CRUZ et *al.*, 2003).

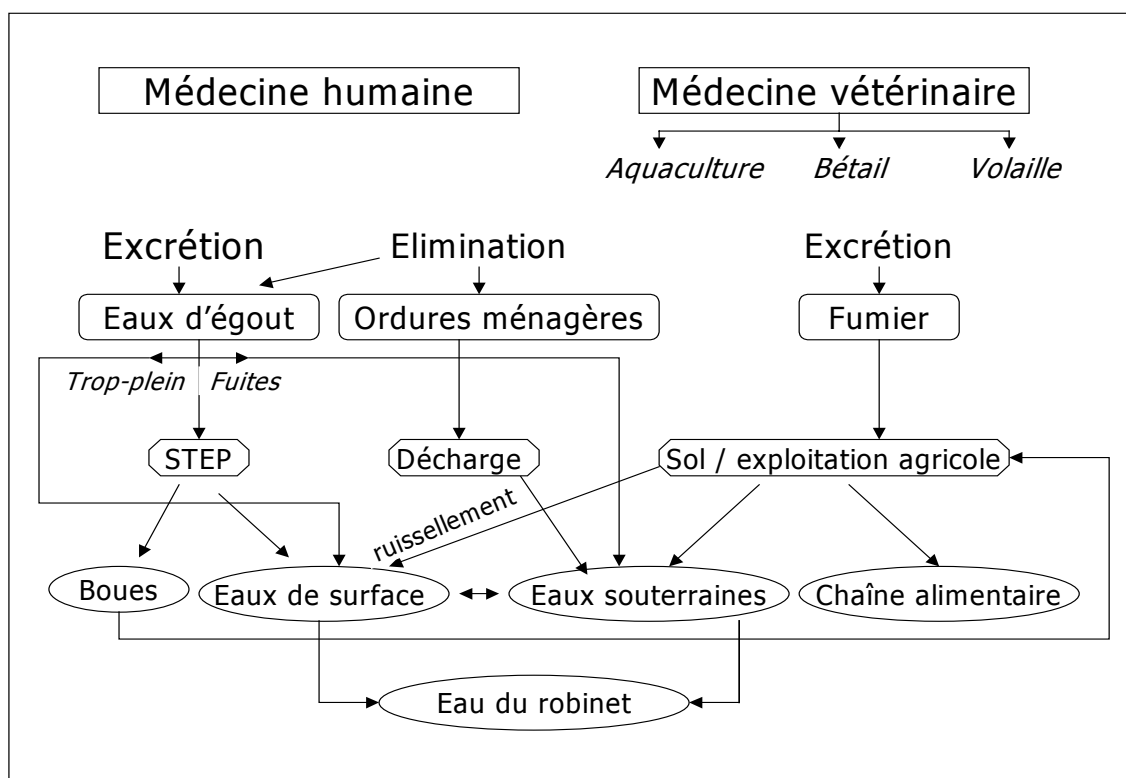


Figure 2 : Circuit de contamination des écosystèmes aquatiques par les médicaments utilisés dans la médecine humaine et vétérinaire (DIAZ-CRUZ et *al.*, 2003).

Lorsqu'un médicament est administré à un homme ou à un animal, 50% à 90% de sa structure chimique de base est excrétée sans aucun changement. Le reste est excrété sous forme de métabolites, c'est-à-dire des sous produits chimiques résultant de l'interaction du corps humain ou animal avec le médicament (MONTAGUE, 1998). Le taux d'excrétion de médicaments partiellement métabolisés varie avec la constitution physique des patients, la posologie et le mode d'administration (KÜMMERER et *al.*, 1997). HALLING-SORENSEN (1998) avancent que 30% des médicaments produits entre 1992 et 1995 sont lipophiles. Ce caractère leur confère la capacité de passer à travers les membranes cellulaires et agir ainsi à l'intérieur de la cellule. Par ailleurs, il permet également aux médicaments excrétés et rejetés dans le milieu naturel de pénétrer dans la chaîne alimentaire (MONTAGUE, 1998).

TERNES (1998) et STUMPF et *al.* (1999) considèrent que les résidus médicamenteux (médicaments partiellement métabolisés et leur métabolite) qui ne sont pas stabilisés par la STEP entrent directement dans les écosystèmes aquatiques. Toutefois, TERNES (1998) souligne qu'il y a un manque d'informations d'une part sur le comportement des résidus médicamenteux dans les STEP et, d'autre part sur la contamination du milieu naturel par les différents médicaments utilisés dans le domaine médical.

III.6. La toxicité et l'écotoxicité des médicaments

La deuxième hypothèse, sur la provenance de l'écotoxicité des effluents des établissements de santé, met en corrélation la toxicité des rejets liquides hospitaliers avec la présence des micropolluants que sont les médicaments dans l'eau. Parmi les différents médicaments qui ont fait l'objet d'études écotoxicologiques, nous avons retenu dans le cadre de cette étude, trois grands groupes : les hormones sexuelles qui sont des perturbateurs endocriniens, les antibiotiques parce qu'ils contribuent au développement de la multirésistance des bactéries, et les antitumoraux ou agents cytostatiques pour leur génotoxicité.

III.6.1. Les hormones sexuelles

Les œstrogènes ont été détectés dans les écosystèmes aquatiques par différents auteurs à des concentrations de l'ordre du ng/L (TABAK et BUNCH, 1970; RURAŃSKI et *al.*, 1977; TABAK et *al.*, 1981; TERNES, 1998; AHERNE et BRIGGS, 1989; SHORE et *al.*, 1993; STUMPF et *al.*, 1996). Les résidus de nombreux médicaments sont rejetés dans la nature par le biais des urines. Certaines molécules, étant peu biodégradables, arrivent dans le milieu récepteur et agissent sur le fonctionnement biologique des espèces aquatiques. Les études réalisées sur le devenir des médicaments dans l'eau montrent que certaines hormones sexuelles ont des effets sur les organismes aquatiques à des concentrations inférieures à 1 µg/L. L'estradiol par exemple, l'hormone sexuelle féminine (et un marqueur hormonal de pollution aquatique), peut modifier les caractéristiques sexuelles de certains poissons à des concentrations de 20 ng/L (RALOFF, 1998). Le tableau 8 fournit une synthèse de la littérature sur la présence des hormones sexuelles dans l'environnement (HALLING-SORENSEN et *al.*, 1998).

Tableau 8 : Présence des hormones sexuelles dans l'environnement

Nom du médicament	Concentration dans l'environnement	Milieux / conditions	Références
Estrogène		Effluents de STEP pour l'irrigation	SHORE et <i>al.</i> (1992)
Estrogène	0,2 à 0,5 nmole/L	Effluents classiques urbains, Tel Aviv, Israël	SHORE et <i>al.</i> (1993)
Estrogène / estradiol et estrone	10 µmole/jour	Excrétion journalière dans les urines des femmes enceintes	FOSTIS (1987)
Ethinylestradiol	< 0,2 ng/L 0,3 – 0,5 ng/L 2 – 15 ng/L 1 – 3 ng/L < 5ng/L	Eaux de surface Effluents d'un bassin de sédimentation Eau de rivière Réservoir Eau de boisson	HALLING-SORENSEN (1998) AHERNE et BRIGGS (1989)
Norethisterone	8 – 20 ng/L < 17 ng/L < 10 ng/L < 10 ng/L	Effluents d'un bassin de sédimentation Eau de rivière Réservoir Eau de boisson	AHERNE et BRIGGS (1989)
Contraceptif oral	< 0,1 ng/L < 0,2 ng/L	Effluents classiques urbains Eau de rivière	AHERNE et <i>al.</i> (1985)
Testostérone	0,8 – 1,1 nmole/L	Effluents classiques urbains, Tel Aviv, Israël	SHORE et <i>al.</i> (1993)
Testostérone et estrogène (<i>traitement vétérinaire</i>)	1 µmol/g	Effluents	SHORE et <i>al.</i> (1988)

III.6.2. Les antibiotiques

Les antibiotiques constituent un important groupe de médicaments pour la médecine. A côté de leurs propriétés de lutter contre les infections humaines dues aux bactéries pathogènes, ils sont également utilisés en médecine vétérinaire.

HOEVERSTADT et *al.* (1986), en travaillant sur la recherche d'antibiotiques dans les selles humaines durant la période d'administration de ces médicaments, ont trouvé des concentrations de l'ordre de 3 à 40 mg/kg poids de selles pour la triméthoprim et la doxycycline, et des concentrations de 200 à 300 mg/kg pour l'érythromycine. En estimant le taux d'élimination durant la période de traitement à 95%, VAN DER HEIDE et HUECK DER PLAS (1984) ont calculé une concentration maximale de 13 µg/L pour les tétracyclines dans les effluents d'une STEP.

Les résidus des antibiotiques dans l'environnement sont soupçonnés d'être l'agent causal du développement des formes de résistance chez les bactéries. Ainsi, ces substances posent de sérieuses menaces à la santé publique pour le traitement et pour le contrôle de certaines maladies infectieuses, vu que les infections dues aux bactéries ne peuvent plus être traitées par les antimicrobiens actuellement connus. Le tableau 9 fournit une synthèse de la littérature sur la présence des antibiotiques dans l'environnement (HALLING-SORENSEN et *al.*, 1998).

Tableau 9 : Présence des antibiotiques dans l'environnement

Nom du médicament	Concentration dans l'environnement	Milieux / conditions	Références
Groupes Penicilloyl	> 25 ng/L > 10 ng/L	Eau de rivière Eau de boisson	RICHARDSON et BOWRON, (1985)
Sulphamethoxazole	- 1µg/L	Eau de rivière	WATTS et <i>al.</i> (1983)
Tetracycline	- 1µg/L	Eau de rivière	WATTS et <i>al.</i> (1983)
Oxytetracycline (traitement vétérinaire : supplément nutritif en pisciculture)	0,1 – 11 µg/g de sédiment 285 µg/g sédiment	Sédiment	BJÖRKLUND et <i>al.</i> (1990) POULIQUEN et <i>al.</i> (1993) COYNE et <i>al.</i> (1994) KERRY et <i>al.</i> (1995) SAMUELSEN et <i>al.</i> (1992)

III.6.3. Les agents antitumoraux

Compte tenu de leur impact potentiel sur la santé et sur l'environnement, les cytostatiques constituent un groupe important de médicaments en matière de risques sanitaires et environnementaux (KÜMMERER, 2001). Leurs caractères mutagène, cancérigène et tératogène ont été démontrés (SKOV et *al.*, 1990). En effet, les agents antitumoraux sont reconnus comme les médicaments les plus toxiques. Tous les médicaments à base de cyclophosphamide peuvent présenter des caractères tératogènes (VIDAL, 2000).

Les essais effectués sur la biodégradation des agents antitumoraux dans les effluents hospitaliers et municipaux prouvent que l'Ifosfamide (IF) est non biodégradable selon les tests de Zahn-Wellens. D'autre part les tests de simulation sur les STEP montrent que ce produit n'est pas adsorbé par les boues. Les concentrations retrouvées indiquent l'absence d'adsorption, de biodégradation ou d'autres modes d'élimination (KÜMMERER et *al.*, 1997). Leur élimination dans un centre enfouissement technique d'OM a par ailleurs été examinée au moyen d'un lysimètre de laboratoire : jusqu'à 50 % de l'ifosfamide dissous dans l'eau de percolation a été éliminé en condition anaérobies après 120 jours (KÜMMERER, 2001). Le tableau 10 fournit une synthèse de la littérature sur la présence des antitumoraux dans l'environnement (HALLING-SORENSEN et *al.*, 1998).

Tableau 10 : Présence des antitumoraux dans l'environnement

Nom du médicament	Concentration dans l'environnement	Milieux / conditions	Références
Cyclophosphamide	146 ng/L (estimée 1 – 10 µg/L)	Effluents STEP	STEGE-HARTMANN et <i>al.</i> (1996)
Ifosfamide	24 ng/L (estimée 1-10 µg/L)	Effluents STEP	STEGE-HARTMANN et <i>al.</i> (1996)
Metrotrexate	- 1 µg/L < 6,25 ng/L < 6,25 ng/L	Effluents d'un bassin de sédimentation Eau de rivière Eau de boisson	AHERNE et <i>al.</i> (1985)

III.6.4. Effets des médicaments sur les organismes aquatiques

Le tableau 11 donne les résultats des effets toxiques des médicaments mesurés sur les organismes aquatiques par la mise en œuvre des essais d'écotoxicité normalisés.

Tableau 11 : Toxicité des médicaments sur les organismes aquatiques

Médicaments ou métabolites / Effluents hospitaliers	Organismes	Effets mesurés	Toxicité	Références
Clofibrate	Algue <i>Daphnia magna</i>	CE ₁₀ = 5,4 mg/L CE ₅₀ = 12 mg/L CE ₁₀ = 17,7 mg/L CE ₅₀ = 28,2mg/L NOEC = 0,01 mg/L	Inhibition de la croissance Aiguë Chronique	HALLING-SORENSEN et <i>al.</i> (1998)
Diazepam	<i>Daphnia magna</i>	CE ₅₀ = 13,9 mg/L CE ₅₀ = 4,3 mg/L	Aiguë	LILIUS et <i>al.</i> (1995) CALLEJA et <i>al.</i> (1993)
Diéthylstilbestrol acetate	<i>Daphnia magna</i>	CE ₅₀ = 10 mg/L	Aiguë	COATS et <i>al.</i> (1976)
17 α -Ethinylestradiol	Algue <i>Daphnia magna</i>	CE ₁₀ = 17,7 mg/L CE ₅₀ = 28,2mg/L NOEC = 0,01 mg/L	Inhibition de la croissance chronique	HALLING-SORENSEN et <i>al.</i> (1998)
Effluents hospitaliers contenant de la Mitomycine C et/ou cisplatine	Essai Umu C (bactéries)	Activités génotoxiques	Echantillons d'effluents hospitaliers	GIULIANA et <i>al.</i> (1996)
Ibuprofen	Bactérie (Microtox ®) <i>Skeletonema costatum</i> <i>Daphnia magna</i>	CE ₅₀ (5 mins)= 12,3 mg/L CE ₅₀ (96 hres)= 12,3 mg/L CE ₅₀ (48 hres)= 9,06 à 11,5 mg/L	Aiguë Inhibition de la croissance Aiguë	HALLING-SORENSEN et <i>al.</i> (1998)
Nicotine	<i>Daphnia magna</i>	CE ₅₀ = 3,7 mg/L CE ₅₀ = 5,7 mg/L	Aiguë	LILIUS et <i>al.</i> (1995) CALLEJA et <i>al.</i> (1993)
Propranolol HCl	<i>Daphnia magna</i>	CE ₅₀ = 17,7mg/L CE ₅₀ = 3,1 mg/L	Aiguë	LILIUS et <i>al.</i> (1995) CALLEJA et <i>al.</i> (1993)

III.6.5. Concentration de la substance active des médicaments dans le milieu aquatique

Il est rapporté dans la littérature que certains médicaments et leurs métabolites quittent le corps humain dans leurs formes actives et rentrent dans le réseau d'assainissement urbain (JONES et *al.*, 2002). Ces molécules ont été détectés à différentes concentrations dans presque tous les compartiments des écosystèmes aquatiques et terrestres : les sédiments des canaux et rivières (JACOBSEN et BERGLIND, 1988), les sédiments d'origine marine (HEKTOEN et *al.*, 1995), les eaux de surface (WAGGOT (1981), les eaux souterraines (TERNES, 1998), l'eau destinée à la consommation humaine (HEBERER et STAN, 1996) et les sols (GILBERTSON et *al.* (1990). Ces résultats résument en quelque sorte, l'absence ou la métabolisation incomplète de certains médicaments dans l'organisme vivant. Les mécanismes de dégradation de ces molécules durant leur séjour dans la STEP ne sont pas encore bien connus. Les informations rapportées dans la littérature sur la dégradation des médicaments par la STEP, donnent des résultats très différents sur leur biodégradabilité (BUSER et *al.*, 1999; DAUGHTON et *al.*, 1999).

Par ailleurs, l'Union Européenne (1994) propose une démarche pour l'évaluation des risques environnementaux des nouveaux médicaments. La Food and Drug Administration des Etats-Unis a introduit de nouvelles directives sur les médicaments (FDA, 1995).

La procédure pour l'évaluation du risque environnemental des médicaments destinée à la consommation humaine (EUROPEAN COMMISSION, 1994), fournit une méthode de calcul pour estimer quantitativement la concentration de la substance active d'un médicament dans les écosystèmes aquatiques. La concentration prévue dans l'environnement (PEC) des résidus médicamenteux peut être obtenue par l'application de la formule suivante :

$$\text{PEC } (\mu\text{g/L}) = \text{A } (100 - \text{R}) 10^4 / 365 \text{ PVD} \quad \text{Eq. 1}$$

Où:

A (kg) = la quantité annuelle consommée dans l'état membre (du médicament considéré) ;

R (%) = pourcentage retenu par les processus d'épuration (adsorption par les boues, Hydrolyse, biodégradation, etc.) ;

P = la population totale de l'état membre ;

V (m³) = volume moyen d'eaux usées par habitant et par jour ;

D = facteur de dilution pour les eaux usées par les eaux de surface

Le rapport calculé entre cette concentration et les résultats des essais de toxicité permet de caractériser le risque environnemental des médicaments. Cette notion est développée dans le chapitre II.

IV. Aspects réglementaires et normatifs relatifs aux effluents hospitaliers

IV.1. Aspects réglementaires

Les dispositions prévues par les arrêtés préfectoraux spécifiques, concernant l'exploitation des établissements hospitaliers autorisés, attribuent à ces institutions sanitaires le statut d'installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE). Les hôpitaux étant des établissements classés sont obligés de respecter un certain nombre de prescriptions, notamment en matière de rejets liquides (CLIN PARIS-NORD, 1999).

La Directive Communautaire du 12 décembre 1991 (91/689/CEE) relative aux déchets dangereux, considère en ses annexes I et II les déchets hospitaliers (liquides et solides) comme des résidus dangereux. Dans la liste publiée par cette directive européenne on retrouve: les produits pharmaceutiques, les médicaments, les résidus de produits employés comme solvants, les produits de laboratoires photographiques, les savons, les substances organiques non halogénés et les constituants dangereux (phénols, solvants, argent ...).

La circulaire n° 429 du 8 avril 1975 relative aux problèmes d'hygiène dans les établissements hospitaliers fournit des recommandations pour l'évacuation des effluents liquides. Elle propose de:

- prévoir un réseau séparatif pour le drainage des eaux pluviales et des eaux usées,
- prévoir un simple dégrillage avant le rejet des effluents dans le réseau collectif, dans la mesure où il existe une station d'épuration,
- réaliser une désinfection poussée des rejets infectieux avant leur introduction dans le réseau collectif,
- se référer à la réglementation en vigueur pour les eaux usées radioactives.

La Circulaire 86/140 du 19 Mars 1986 du Ministère de l'Intérieur définit les conditions et les modalités auxquelles est soumis le déversement des eaux dans les réseaux d'assainissement de la collectivité. Pour les établissements de santé importants (Centre Hospitalier Universitaire ou Centres Hospitaliers Généraux) ou les établissements dans lesquels s'exercent une activité spécifique, une convention spéciale de déversement peut être signée entre la collectivité et l'établissement de santé.

L'article L.35-8 du Code de la Santé définit ainsi l'autorisation de raccordement : « Tout déversement d'eaux usées, autres que domestiques, dans les égouts publics doit être préalablement autorisé par la collectivité à laquelle appartient les ouvrages qui seront empruntés par ces eaux usées avant de rejoindre le milieu naturel ».

L'article 34 de l'Arrêté du 2 février 1998 stipule : « Le raccordement à une station d'épuration collective, urbaine ou industrielle, n'est envisageable que dans le cas où l'infrastructure collective d'assainissement (réseau et station d'épuration) est apte à acheminer et traiter l'effluent industriel dans de bonnes conditions.

L'étude d'impact comporte un volet relatif au raccordement. Ce volet atteste de l'aptitude précitée, détermine les caractéristiques des effluents qui peuvent être admis sur le réseau et précise la nature ainsi que le dimensionnement des ouvrages de prétraitement prévus, le cas échéant, pour réduire la pollution à la source et minimiser les flux de pollution et les débits raccordés. Les incidences du raccordement sur le fonctionnement de la station, la qualité des boues, et, s'il y a lieu, leur valorisation, sont en particulier étudiées au regard de la présence éventuelle de micropolluants minéraux ou organiques dans les effluents ».

IV.2. Aspects Normatifs

L'arrêté du 28 octobre 1975 modifié en 1991 donne les paramètres retenus par l'Agence de l'Eau pour la caractérisation physico-chimique des effluents hospitaliers:

- MES (matières en suspension)
- MO (matières oxydables: DBO₅, DCO)
- NR (azote réduit)
- P (matières phosphorées)
- AOX* (composés organo-halogénés adsorbables sur charbon actif)
- NO* (azote oxydé)
- pH
- Température.

Dans le cas des rejets raccordés à une station d'épuration collective, l'arrêté du 2 février 1998 fixe les limites admissibles. Lorsque le flux maximal apporté par l'effluent est susceptible de dépasser 15 kg/j de MEST, ou 15 kg/j de DBO_{5 nd} ou 45 kg/j de DCO_{nd}, les valeurs limites de concentration imposées à l'effluents à la sortie de l'établissement avant raccordement à une station d'épuration collective ne dépassent pas :

MEST	:	600mg/L
DBO _{5 nd}	:	800mg/L O ₂
DCO _{nd}	:	2 000mg/L O ₂
Azote total	:	150 mg/L N
Phosphore total	:	50mg/L P

Le tableau 8 fournit les valeurs limites pour le rejet des micro polluants.

Tableau 12 : Valeurs limites pour le rejet des micro polluants

Polluants	Valeurs limites de rejet	Si le flux journalier dépasse : g/j
Indice phénol	0,3 mg/L	3
Chrome hexavalent	0,1 mg/L	1
Cyanures	0,1 mg/L	1
Pb et composés	0,5 mg/L	5
Cu et composés	0,5 mg/L	5
Cr et composés	0,5 mg/L	5
Ni et composés	0,5 mg/L	5
Zn et composés	2 mg/L	20
Mn et composés	1 mg/L	10
Sn et composés	2 mg/L	20
Fe + Al et composés	5 mg/L (Fe + Al) [5 mg/L pour Al ou Fe, l'autre métal à 2 mg/L]	20
Composés organiques halogénés (AOX ou EOX)	1 mg/L	30
Hydrocarbures totaux	10 mg/L	100
Fluor et composés	15 mg/L	150

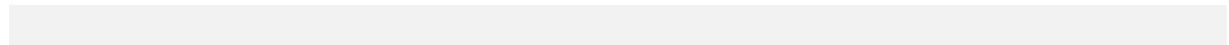
IV. 3. Nécessité d'une nouvelle réglementation

La réglementation française fixe des conditions pour le traitement des effluents hospitaliers et pour le raccordement du réseau de drainage sanitaire des hôpitaux au réseau d'assainissement urbain. Ce raccordement pourrait être à l'origine de diverses distorsions tant au niveau du réseau que pour la station d'épuration. La majorité des stations d'épuration françaises fonctionnent sur le mode de l'épuration biologique et sont très sensibles aux polluants chimiques qui peuvent perturber leur rendement.

En effet, les résultats des travaux réalisés ces dernières années sur les modes d'élimination des rejets liquides hospitaliers dans les pays industrialisés ont démontré l'inefficacité des mécanismes de traitements classiques des STEP vis-à-vis de la dégradabilité de certains polluants d'origine hospitalière. Par ailleurs, les essais écotoxicologiques fournissent des réponses intéressantes qui permettent d'apprécier la toxicité des effluents hospitaliers sur les organismes représentatifs des écosystèmes aquatiques.

Il revient aux autorités chargées de la gestion et de la protection de l'environnement, au titre de leur attribution de gestionnaire de risques, de prévenir ces distorsions par la mise en place d'un système permettant l'évaluation permanente des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Comme ce fut le cas pour les déchets solides, au cours des vingt dernières années, la gestion des rejets liquides hospitaliers doit avant tout passer par une bonne connaissance (qualitative et quantitative) de ces effluents, en d'autres termes par leur caractérisation physico-

chimique, microbiologique et écotoxicologique, afin de mieux définir le cadre légal permettant une gestion durable de ces rejets.



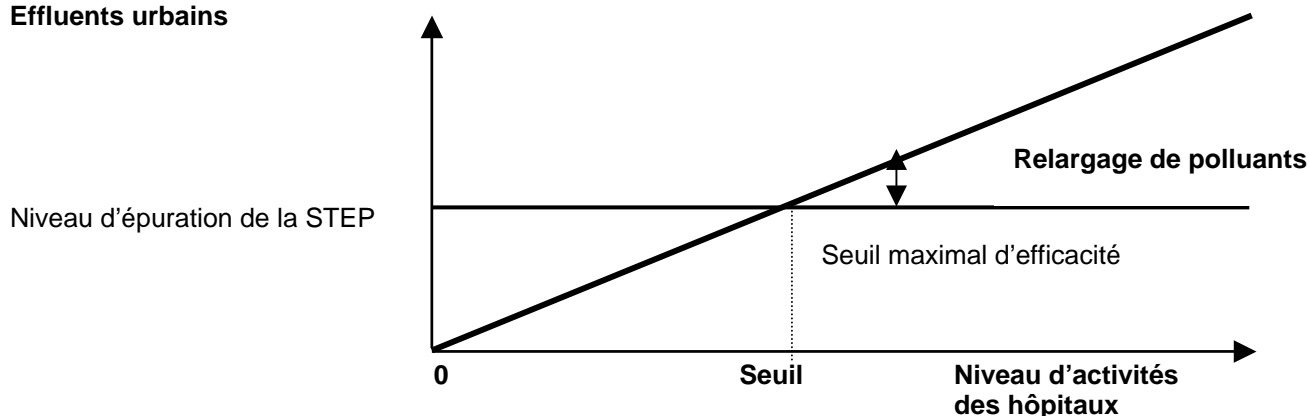
V. Conclusions et objectifs

Les hôpitaux utilisent beaucoup de substances chimiques dans la fourniture des soins de santé à la population. Après leur utilisation, ces composés ou leurs métabolites sont rejetés le plus souvent dans le réseau d'assainissement de l'hôpital, qui est raccordé au réseau d'assainissement urbain. Qu'il s'agisse de médicaments partiellement métabolisés, ou de désinfectants, de détergents, de solvants, ou d'autres composés, les rejets sont dirigés vers la STEP communale sans aucun traitement préliminaire.

En France et dans les autres pays industrialisés, les effluents hospitaliers sont soumis en général aux mécanismes d'épuration physico-chimique et biologique de la STEP communale. La capacité épuratoire des STEP assure une dégradation des substances organiques et provoque un changement d'état chimique des substances minérales contenues dans les rejets liquides hospitaliers. Cependant certaines substances échappent au contrôle des STEP et vont se diffuser dans le milieu naturel.

Ayant franchi le seuil maximal d'efficacité des processus unitaires, le débit et la charge polluante des effluents hospitaliers provoquent sur les STEP des effets de saturation qui se traduisent finalement par un **relargage de polluants dans le milieu naturel** (Figure 3). Théoriquement, le débit des effluents liquides (exprimé en m^3/s) et leur charge superficielle ou charge polluante par unité de surface (exprimée en $m^3/m^2/s$) sont parmi les principaux paramètres qui entrent dans le dimensionnement de presque tous les réacteurs constituant les unités de traitement des STEP. Ils participent en grande partie à la définition du seuil maximal d'efficacité des STEP. Pour des systèmes unitaires en opération, comme les réacteurs d'une STEP, toute augmentation de la charge hydraulique et/ou des charges organiques et inorganiques des rejets liquides peut entraîner la manifestation d'un phénomène de surcharge dans les mécanismes d'épuration.

**Effluents hospitaliers +
Effluents urbains**



**Figure 3 : Impacts des activités humaines sur les écosystèmes (Rousseaux, 1993)
[adaptée dans le cadre de cette étude sur les effluents hospitalier]**

Les composés chimiques, particulièrement les composés organohalogénés, les résidus de médicaments et les radioéléments, relargués par la STEP ou directement rejetés dans le milieu naturel (dans le cas des PED) peuvent donc provoquer la pollution du milieu naturel en entraînant un déséquilibre biologique. Dans le cas où les conditions environnementales permettant la dégradation ces substances ne sont pas réunies, les polluants hospitaliers risquent d'être longtemps présents dans le milieu naturel ce qui pourrait représenter un risque à court, moyen et long terme pour les espèces vivantes de ces écosystèmes.

Le devenir des polluants hospitaliers dans les écosystèmes aquatiques a fait l'objet de plusieurs études scientifiques. Les résultats de ces études permettent d'avancer que les effluents hospitaliers présentent trois risques potentiels pour l'homme et l'environnement :

- *un risque microbiologique ou infectieux lié à l'existence des microorganismes pathogènes multi-résistants avec leur potentialité de transfert horizontal de gène ,*
- *un risque radioactif résultant de la présence des rejets contenant des radioisotopes,*
- *un risque chimique dû au relargage par les STEP des résidus de médicaments et autres substances chimiques (désinfectant et dérivés).*

Ces risques sont traités de manière isolée dans la littérature. En effet, on retrouve dans la littérature des travaux réalisés sur les effets des médicaments (en particulier les antibiotiques et les agents cytostatiques) sur le milieu aquatique, des évaluations de risques dûs aux agents de contraste iodé et aux désinfectants, particulièrement le glutaraldéhyde. D'autres études traitent de la caractérisation des effluents hospitaliers en posant des hypothèses sur la provenance de la toxicité élevée calculée pour ces rejets. Cependant, il n'existe pas d'études traitant de l'évaluation globale des risques sanitaires et environnementaux de ce type d'effluents. En d'autres termes il reste à effectuer des études qui prendraient en compte de manière globale l'ensemble des risques présentés par ces rejets. **Le premier objectif de ce travail de thèse est donc d'évaluer de manière globale les risques sanitaires et environnementaux liés aux effluents hospitaliers.**

Quelque soit le niveau de développement économique d'un pays, le danger représenté par les effluents hospitaliers pour la santé humaine reste le même. Le risque pourrait être plus important dans les PED que dans les pays industrialisés. La différence se manifeste, peut-être, au niveau des modes de gestion, facteur qui peut jouer sur l'amplitude des risques théoriquement posés par les rejets hospitaliers. **Le deuxième objectif de cette thèse est de procéder à une analyse comparative des modes de gestion des effluents hospitaliers mis en jeu dans les pays du Nord et du Sud dans la perspective de proposer aux gestionnaires de ces réseaux un outil**

leur permettant de mieux prévenir ces risques. Pour une meilleure élaboration des scénarii résultant de l'exposition de l'homme des autres espèces vivantes (animales et végétales) aux polluants des services médicaux nous présentons de manière synthétique dans le prochain chapitre les méthodes d'évaluation des risques sanitaires et environnementaux.

La figure 4 reprend schématiquement les différentes données bibliographiques sur les effluents hospitaliers et l'objectif général de ce travail de thèse.

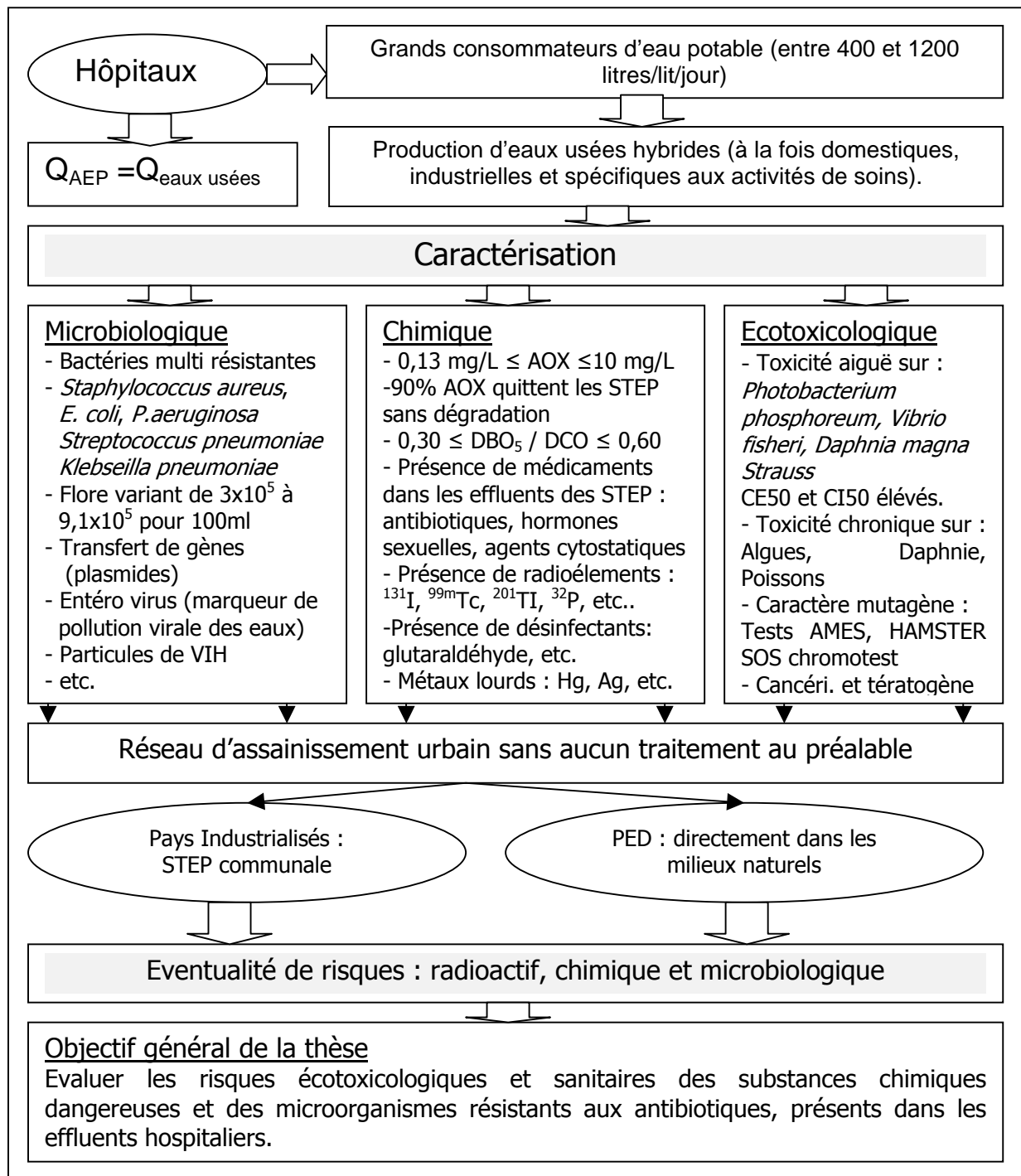


Figure 4 : Résumé de l'étude bibliographique sur les effluents hospitalier et définition de l'objectif général de la thèse

CHAPITRE II LES MÉTHODES D'ÉVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ET ENVIRONNEMENTAUX

I. Introduction

La toxicité d'un produit ne lui est pas intrinsèque. Elle dépend de sa teneur et de la nature de l'organisme qui l'absorbe. Certains des éléments minéraux de la croûte terrestre, comme le cuivre, le zinc, le sélénium, sont essentiels à l'ensemble des organismes ou à de grands groupes d'organismes. Cependant, les éléments ayant des fonctions biologiques reconnues (oligo-éléments) peuvent aussi, pour des teneurs supérieures à la dose journalière admissible (DJA) et sous une forme chimique « *biodisponible* », devenir toxiques (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

Au XVI^e siècle, PARACELSE énonça le principe « *Sola dosis fecit venenum* », largement repris depuis comme une base de la toxicologie moderne dans les termes suivants « Tout est toxique, rien n'est toxique ; **c'est la dose qui fait le toxique** » (KECK et VERNUS, 2000). La notion dose-réponse ou effet dû à une dose d'exposition illustre bien ce principe.

L'effet d'une substance sur la santé humaine et animale est dépendant de la dose administrée : plus la dose (exprimée en mg/kg de poids corporel) augmente, plus l'effet pharmacologique est important et, en dessous d'une certaine dose, il n'y a plus d'effet biologique mesurable. **Une dose journalière admissible** peut être définie à partir de doses sans effet issues de tests sur des animaux et moyennant un facteur de sécurité allant de 100 à 1000. Cette dose journalière admissible doit tenir compte des différents milieux : sol (aliments), eau, air (KECK et VERNUS, 2000).

Selon la dose administrée, un même toxique peut entraîner différents effets et on parle alors de **toxicité aiguë** (adsorption unique d'une dose élevée d'une substance chimique) avec un effet létal ou subléta, ou de **toxicité chronique** (exposition à des doses faibles mais répétées pendant un temps plus ou moins long) provoquant des troubles à apparition progressive. On parle enfin de **toxicité spéciale** pour des substances induisant à long terme des effets sur la reproduction ou des cancers (KECK et VERNUS, 2000).

BARBAULT (1993) considère l'évaluation du risque des produits chimiques pour l'environnement de l'homme comme la principale application de l'écotoxicologie. Par contre, RIVIERE (1998) avance que la différence est importante entre écotoxicologie et évaluation du risque. Les relations entre écotoxicologie et évaluation du risque sont à double sens, c'est l'écotoxicologie qui fournit les bases

scientifiques et les données qui permettront l'évaluation du risque, mais inversement, ce sont les résultats de l'évaluation du risque qui créent et génèrent les études écotoxicologiques.

Les substances chimiques ne sont pas les seuls dangers environnementaux : les changements climatiques, les modifications de paysages ruraux, etc., sont des menaces pour les écosystèmes existants (RIVIERE, 1998). Cette assertion met en évidence deux grandes classes de risques :

- a- **les risques événementiels**, aigus, ponctuels, accidentels ou catastrophiques. Cette classe de risque peut endommager plusieurs écosystèmes et provoquer des pertes élevées en vie humaine et animale. Parmi les grands exemples de cette classe on peut notamment citer :
- la pollution de l'air due à l'oxyde de soufre dans la Vallée de la Meuse (1930),
 - la pollution du riz par le cadmium à Toyama au Japon (1950),
 - l'explosion du réacteur de Seveso en Italie (1976) entraînant une toxicité aiguë et chronique à la dioxine,
 - l'explosion du réacteur n° 4 de la centrale électronucléaire de Tchernobyl en Russie (1986)
- b- **les risques chroniques** dus à l'accumulation de nuisances et de pollutions. Ces risques sont une fonction de l'exposition permanente à des doses faibles de polluants. Les exemples de cette classe peuvent être :
- la pollution atmosphérique due aux effluents gazeux des incinérateurs d'OM,
 - la pollution des écosystèmes aquatiques par les lixiviats de décharges d'OM,
 - la pollution au mercure de la baie de Minamata au Japon par la compagnie Chisso (1932-1968)
 - la pollution au plomb et au mercure des milieux naturels (air, sol, eau) de la ville de Port-au-Prince en Haïti par les rejets liquides des usines de fabrication de peinture,
 - la pollution aux métaux lourds, aux composés organohalogénés, aux résidus de médicaments et aux microorganismes multirésistants des milieux naturels (air, sol, eau) par les effluents hospitaliers.

La tendance actuelle est de regrouper tous ces dangers potentiels sous le terme général de **stresseurs** ; de la même manière, les individus, milieux ou écosystèmes susceptibles d'être affectés par ces stresseurs seront désignés sous le terme général d'éléments à risque ou de **récepteurs** (RIVIERE, 1998).

Parmi les différents stressors susceptibles d'avoir des effets sur les milieux naturels et les espèces vivantes, ce travail s'intéresse uniquement aux polluants chimiques et microbiologiques communément retrouvés dans les effluents des services hospitaliers.

L'objectif de ce deuxième chapitre est de présenter les différentes méthodes d'évaluation des risques sanitaires et écologiques.

Le Chapitre II est divisé en quatre parties:

- la première se consacre à une présentation sommaire du domaine scientifique de l'évaluation des risques sanitaires et écologiques;
- la deuxième présente les différents modèles élaborés pour d'évaluation des risques sanitaires et écologiques ;
- la troisième se consacre aux méthodes quantitatives d'évaluations des risques microbiologiques ;
- la quatrième traite de la caractérisation des incertitudes.

II. Evaluation des risques sanitaires et écologiques

II.1. Définition des concepts

Les notions de danger et de risque sont directement liées à l'existence de substances dangereuses dans les milieux. Le danger est potentiellement ce qui peut générer un risque. Théoriquement, il est intrinsèque aux polluants. Par contre, la nature du risque, qui découlera du danger hypothétique, dépend de la démarche expérimentale élaborée ou du scénario choisi pour étudier les effets des polluants sur les milieux considérés. Cependant, l'introduction directe ou indirecte, par l'activité humaine, de substances dans un écosystème ne donne pas automatiquement naissance à un risque pour l'environnement et pour les espèces vivantes.

Avant d'entrer dans l'étude de la bibliographie sur l'évaluation des risques, nous avons jugé utile de procéder à la définition de certains concepts.

Anthropique : Relatif à l'homme, résultant des interventions humaines. La distinction entre les origines anthropiques et naturelles des contaminations et des risques est importante (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

Danger : La notion du danger est liée à la possibilité pour une substance, du fait de ses caractéristiques ou de ses propriétés intrinsèques, de provoquer des dommages aux personnes, aux biens, à l'environnement, dans des conditions déterminées d'exposition (RAZAFINDRADTANDRA et SEVEQUE, 1998)

Ecosystème : Il désigne l'unité écologique de base en laquelle peuvent se réduire les systèmes écologiques plus complexes. Un écosystème est constitué au plan structural par l'association de deux composantes en constante interaction l'une avec l'autre : un environnement physico-chimique, abiotique, spécifique, ayant une dimension spatio-temporelle bien définie, dénommé *biotope*, associé à une communauté vivante, caractéristique de ce dernier la *biocénose*, d'où la relation :
Ecosystème = biotope + biocénose (RAMADE, 1998).

Espèce sentinelle : C'est un système mis en place, dans lequel les données sur l'exposition des animaux aux polluants dans l'environnement sont régulièrement et systématiquement collectées et analysées, pour identifier les dangers sanitaires potentiels pour l'homme et les autres animaux (NRC, 1991).

Modèle : C'est une structure formalisée, utilisée pour rendre compte d'un ensemble de phénomènes qui possèdent entre eux certaines relations . Il peut être un « modèle mathématique » et, dans ce cas il est une représentation mathématique d'un phénomène physique, mécanique, ..., humain, etc.,

réalisée afin de pouvoir mieux étudier celui-ci. Le terme de « modèle physique » peut être utilisé pour désigner une représentation matérielle simplifiée d'un phénomène biologique complexe.

Polluant : Ce terme désigne toute substance d'origine strictement anthropogénique, que l'homme introduit dans un biotope donné dont elle était absente ou encore dont il modifie la teneur (dans l'eau, l'air ou les sols selon le biotope) lorsqu'elle y est spontanément présente (RAMADE, 2000).

Risque : C'est la probabilité d'apparition d'effets toxiques après l'exposition des organismes à un objet dangereux (RIVIERE, 1998). Pour COVELLO et MERKHOFFER (1993), le risque est un concept « au minimum bi-dimensionnel, impliquant (a) la possibilité d'une issue négative et (b) une incertitude sur l'apparition, la chronologie et la gravité de cet effet négatif. Si l'une de ces caractéristiques n'existe pas, il n'y a pas de risque... Plus formellement, le risque est la caractéristique d'une situation ou d'une action où il y a deux issues possibles, on ne sait pas laquelle doit se produire, et l'une d'elles représente un événement indésirable ».

Xénobiotiques : Ce sont les substances étrangères à l'organisme ou qui ne semblent pas – dans l'état actuel de nos connaissances – indispensables au fonctionnement normal de l'organisme (SIPES et GANDOFI, 1991). Ce terme est moins restrictif que celui de polluant ou de toxique, il ne présuppose pas la possibilité d'effet négatif et englobe non seulement les polluants d'origine anthropique, mais aussi nombre de substances naturelles présentes dans les plantes et qui se retrouvent dans l'alimentation de l'homme et des animaux, telles que flavones, terpènes, etc., dont on commence seulement à soupçonner les effets biologiques (RIVIERE, 1998).

II.2. De l'évaluation des risques (EDR)

La littérature fournit plusieurs définitions de l'évaluation du risque. Ces différentes définitions permettent de préciser la nature et la portée de cette opération. SUTER (1993) considère l'évaluation du risque comme l'opération qui assigne des niveaux de probabilités aux effets négatifs des activités humaines et des catastrophes naturelles. Pour RODRICKS (1994) l'évaluation du risque ... est un moyen systématique pour organiser l'information et la connaissance disponibles, pour spécifier le niveau de certitude scientifique, en relation avec les données, les modèles et les hypothèses nécessaires ; l'objectif est d'en tirer des conclusions sur les risques pour la santé. En opinant sur la définition de RODRICKS (1994), RIVIERE, (1998) avance que cette définition est très intéressante parce qu'elle met en lumière des éléments essentiels de l'opération d'évaluation du risque:

- recherche et organisation des informations existantes;
- utilisation de différentes approches et méthodes;
- spécification d'une incertitude attachée au résultat.

L'évaluation du risque est une opération systématique pour décrire et quantifier les risques associés à des produits dangereux, des opérations, des actions ou des événements (COVELLO et MERKHOFFER, 1993). VOLMER et *al.* (1988) définissent l'évaluation du risque comme un ensemble de méthodes destinées à estimer l'importance et la probabilité d'effets négatifs des substances anthropogéniques sur l'environnement.

L'évaluation de risque écologique est un processus qui évalue la probabilité que des effets écologiques défavorables arrivent par suite de l'exposition à un ou plusieurs stressseurs (EPA, 1992). Le processus est utilisé systématiquement pour évaluer et pour organiser des données, des informations, des suppositions et des incertitudes aidant à comprendre et à prévoir les rapports entre des stressseurs et des effets écologiques dans une voie qui est utile à la prise de décision environnementale. Une évaluation peut impliquer des stressseurs chimiques, physiques ou biologiques ; un ou plusieurs stressseurs peuvent être également considérés. Les évaluations de risque écologique sont développées dans un contexte de gestion du risque pour évaluer les changements anthropiques qui sont considérés comme indésirables (EPA, 1992). Selon NORTON et *al.* (1992) l'évaluation du risque écologique évalue la vraisemblance que des effets écologiques négatifs se produisent après l'exposition à des stressseurs. Pour SETAC (1997) l'évaluation de risque écologique détermine la nature et la probabilité des effets de nos actions sur les animaux, les plantes et l'environnement.

II.3. Le processus de l'évaluation des risques écologiques

L'évaluation des risques écologiques (ERE) traite des changements causés par l'homme sur l'environnement, changements qui modifient les particularités importantes des écosystèmes. Par exemple, quand une activité humaine donne naissance à de grands volumes d'effluents liquides, pollués par des substances chimiques et radioactives, et que ces eaux usées sont rejetés dans le milieu naturel sans aucun traitement préalable, il revient aux scientifiques d'évaluer les dégâts que ces rejets peuvent avoir sur les organismes des écosystèmes aquatiques. Le risque écologique peut être local (un sol pollué par les effluents liquides hospitaliers ou par les boues de traitement en résultant). Les risques peuvent être régionaux (ce qui est le cas de la pollution de la grande barrière de corail de la mer des Caraïbes). Les risques peuvent être globaux (comme par exemple l'évaporation et le transport atmosphérique des polluants contenus dans ces rejets). Se faisant avec des degrés variables d'incertitudes, l'évaluation des risques est donc l'étude du rapport entre l'exposition des espèces vivantes aux substances dangereuses et les effets toxiques de ces polluants sur la vie en générale.

Le processus d'évaluation de risque écologique est basé sur deux éléments principaux : caractérisation d'effets et caractérisation d'exposition (EPA, 1992). Ces concepts permettent à cette discipline, qui se retrouve au carrefour de nombreux domaines scientifiques : chimie, hydrologie, géologie, toxicologie, écotoxicologie, statistique, métrologie, épidémiologie, ..., de mener sous la base de l'observation et de l'expérimentation l'étude de la pollution diffuse ou localisée des milieux et des répercussions sanitaires et écologiques.

Dans le domaine des risques écologiques, il convient de distinguer l'évaluation prospective de l'évaluation rétrospective (SUTER, 1993). La première concerne les substances ou matières dont on veut connaître, *a priori*, les risques qu'elles représentent avant de décider de leur introduction dans l'environnement. Elle repose sur une prédiction fondée notamment sur des hypothèses de comportement et de la biodisponibilité des composés dans l'environnement. La seconde, l'évaluation rétrospective, concerne les pollutions existantes dont on veut quantifier les risques qu'elles ont pu ou vont, pouvoir engendrer. L'évaluation des risques sera un constat de l'existant complété par une analyse prédictive.

SETAC (1997) considère que l'exposition et les effets doivent être considérés ensemble parce qu'ils sont tous deux importants dans l'évaluation du risque. Quand le potentiel d'exposition et les effets sont faibles, le risque sera faible. Par contre, quand tous les deux sont élevés, le risque sera élevé. Indépendamment de l'approche, le but de l'ERE est d'utiliser toutes les informations disponibles pour caractériser l'exposition et les effets, de les intégrer ensemble dans les exercices devant favoriser la compréhension des risques écologiques.

III. Modèles généraux d'évaluation des risques sanitaires et écologiques

III.1. Généralités

Une évaluation des risques se réalise à partir de données existantes (les résultats des essais d'écotoxicité normalisés existants dans la littérature, en général les DL_{50} ou les NOEC), de données générées pour les besoins de la cause (les résultats de bio-essais ou les données éco-épidémiologiques) et d'outils méthodologiques tels que les modèles mathématiques. L'expérimentation, l'observation et la modélisation constituent les méthodes adoptées pour la réalisation des évaluations de risques.

Lorsque les risques visés par l'évaluation prennent en compte la santé humaine, on parlera donc de **l'évaluation des risques sanitaires ou toxicologiques** ; lorsqu'ils ne concernent que l'évolution et l'équilibre biologique des écosystèmes, dans ce cas de figure on en parle de **l'évaluation des risques écologiques ou écotoxicologiques**. La structure générale de la démarche globale de l'évaluation des risques reste la même pour l'un ou l'autre de ces deux aspects : schéma conceptuel, évaluation des effets et de l'exposition, caractérisation des risques (étape finale du processus où les risques et les incertitudes associées sont estimés).

III.2. L'évaluation du risque sanitaire

La NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1983) définit l'évaluation des risques comme l'activité qui consiste à évaluer les propriétés toxiques d'un produit chimique et les conditions de l'exposition humaine à ce produit, en vue de constater la réalité d'une exposition humaine et de caractériser la nature des effets qui peuvent en résulter. L'objectif de cette démarche est de présenter de manière explicite aux différentes autorités sanitaires, aux entités chargés de la protection de l'environnement et à toutes les parties concernées les éléments d'analyse sur lesquels la prise de décision devra s'appuyer.

Le cadre méthodologique global de l'évaluation des risques complète, sur l'aspect sanitaire, l'approche épidémiologique et constitue de nos jours, l'outil le plus approprié pour quantifier le risque sanitaire. La démarche générale de l'évaluation du risque sanitaire s'articule en quatre étapes: l'identification du danger, l'étude de la relation dose-réponse, l'estimation de l'exposition, la caractérisation du risque.

A chacune de ces étapes correspond en parallèle une phase de recherche qui rassemble les données existantes, provenant d'études antérieures ou les données spécifiquement générées pour l'étude. Ce sont les résultats des tests de toxicité sur l'animal (DL_{50} , NOEL), les mesures de concentrations de polluants dans les milieux et les données épidémiologiques sur des populations exposées aux polluants, si elles existent. Les résultats de trois opérations précédentes sont combinés pour caractériser le risque, c'est-à-dire décrire la nature et le niveau de risque pour l'individu d'une

population humaine donnée. La figure 5 présente le schéma général de l'évaluation des risques sanitaires de la National Research Council.

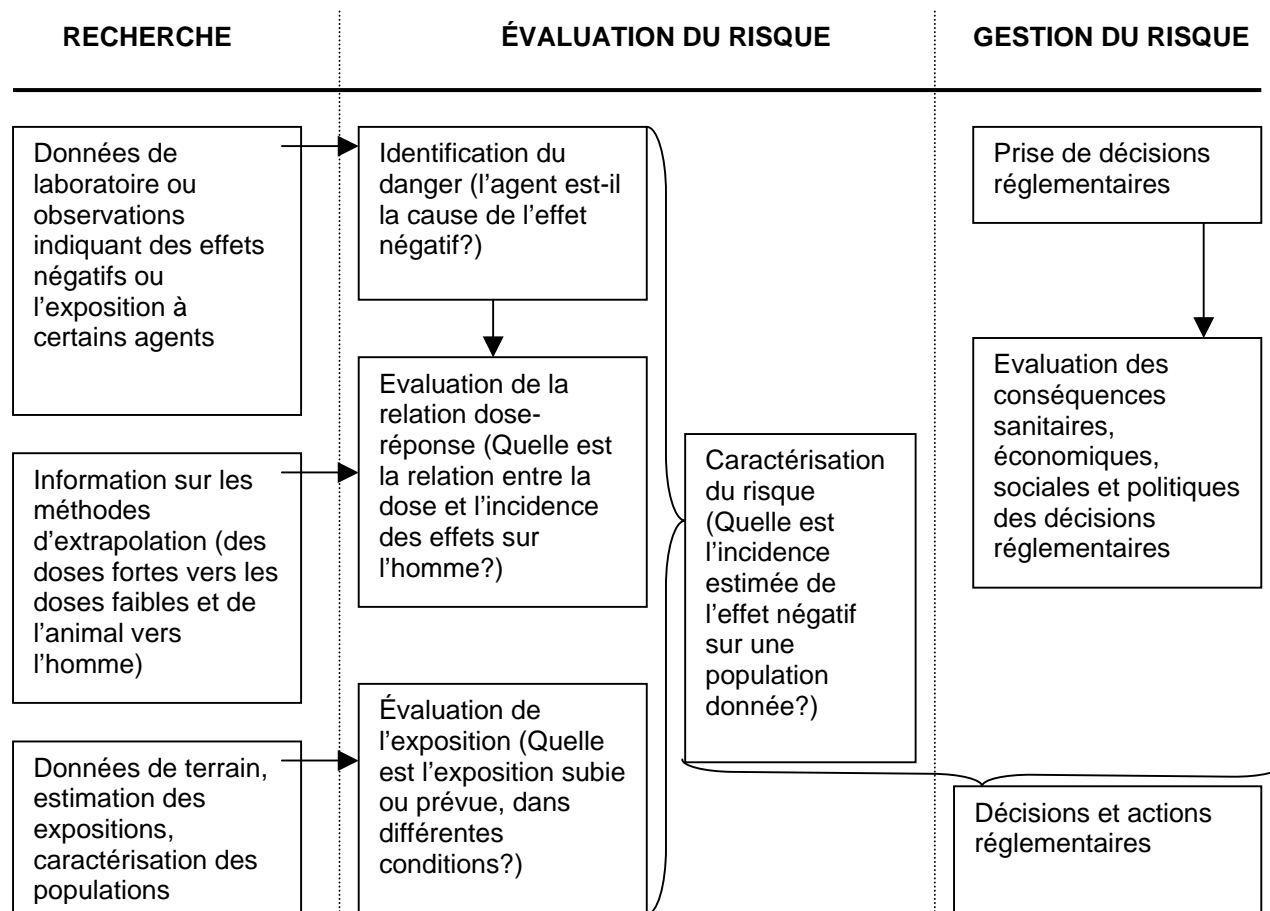


Figure 5 : Schéma général de l'évaluation du risque sanitaire : le modèle de la National Academy of Sciences (1983)

II.2.1. Identification du danger

Pour la réalisation de cette étape, l'évaluateur de risques sanitaires se base sur des études facilitant l'établissement d'une relation causale entre l'apparition d'un ou de plusieurs effets indésirables sur un organisme vivant après son exposition à une substance chimique, selon le scénario (voie, intensité, durée) considéré dans le cadre de l'évaluation.

BONVALLOT et DOR (2002) considèrent qu'une substance dangereuse peut être responsable de plusieurs dangers et atteindre différents organes pour une même voie et une même intensité d'exposition. Dans ce contexte, l'effet toxique qui est retenu est celui qui survient à la plus faible dose et/ou le danger le plus sévère, d'ordinaire une tumeur ou une hémopathie maligne pour ce qui est des expositions chroniques.

L'émission de plusieurs polluants par une source imposent sur le plan méthodologique la prise en compte des interactions possibles entre les divers constituants des effluents ou déchets considérés. Ces interactions peuvent conduire, dans le cas d'une relation synergique entre les polluants, à un effet

global supérieur à la somme des effets des substances prises individuellement. Par contre dans le cas d'une relation antagonique, ces interactions peuvent donner lieu à un effet global inférieur à la somme de ceux des polluants considérés individuellement. Par ailleurs, les différentes substances en présence peuvent avoir des effets identiques qui s'additionnent entre eux (additivité), ou des effets totalement indépendants les uns des autres se juxtaposant sans interférence (indépendance). En l'absence d'information spécifique sur le mélange considéré, la littérature recommande de considérer qu'il n'y a pas d'interaction entre les polluants en présence (MUMTAZ, 1995). L'EPA (1989b) suggère, dans le cas où les effets toxiques de plusieurs polluants sur un organe cible sont identiques, une addition des risques.

Pour la sélection de substances chimiques devant faire l'objet de l'évaluation du risque sanitaire, des modèles de prédiction de la toxicité des substances ont été développés à partir des essais d'écotoxicité et des études pharmacocinétiques sur les animaux. Les résultats de ces études ont permis de catégoriser les effets indésirables des substances chimiques en deux grands groupes :

- les effets non cancérogènes non mutagènes ou effets à seuil ;
- les effets cancérogènes et mutagènes ou effets sans seuil.

Par ailleurs, les résultats de la mise en œuvre des essais d'écotoxicité sur les produits chimiques et les études épidémiologiques réalisées sur des groupes cibles ont permis à l'IARC (1987 et 1997) et à l'EPA (1999) d'établir une classification sur le caractère cancérogène des substances chimiques introduits sur le marché. Le tableau 8 fournit les informations sur cette classification et le tableau 9 détaille la démarche adoptée par l'IARC pour la classification des substances chimiques.

Tableau 13: Classification du caractère cancérogène des substances chimiques

Effets sur l'homme	IARC (1987 et 1997)	EPA (1999)
Cancérogène chez l'homme	1	A
Cancérogène probable chez l'homme	2A	B1 et B2
Cancérogène possible chez l'homme	2B	C
Inclassable	3	D
Probablement non cancérogène	4	E

Tableau 14 : Démarche adoptée par l'IARC pour la classification des substances chimiques

I	Cancérogène pour l'homme	
II	Probablement cancérogène pour l'homme	
III	susceptible d'être cancérogène pour l'homme	III A les données épidémiologiques montrent une cancérogénicité mais possibilité de biais
		III B les données épidémiologiques sont insuffisantes, mais les études animales sont suffisantes et les tests de génotoxicité sont positifs
		III C les données épidémiologiques sont insuffisantes, les études animales sont suffisantes mais la génotoxicité est négative
		III D la substance est cancérogène chez une espèce animale seulement
IV	peu susceptible d'être cancérogène pour l'homme	IV A Les études épidémiologiques ne montrent pas de cancérogénicité et les études animales sont limitées
		IV B les études épidémiologiques ne montrent pas de cancérogénicité, et les études animales montrent une cancérogénicité mais ce sont des études sur les mécanismes de toxicité propres à une espèce non pertinents pour l'homme
		IV C les études épidémiologiques sont insuffisantes, et les études animales montrent une cancérogénicité mais ce sont des études sur les mécanismes de toxicité propres à une espèce non pertinents pour l'homme
		IV D Les études épidémiologiques sont insuffisantes, les études animales ne montrent pas de cancérogénicité
V	probablement non cancérogène pour l'homme	V A les études épidémiologiques ne montrent pas de cancérogénicité, les études animales ne permettent pas de montrer une cancérogénicité, les tests de génotoxicité sont négatifs
		V B les études épidémiologiques sont insuffisantes, les études animales sont insuffisantes
		V C les preuves de cancérogénicité chez l'homme sont insuffisantes, et les études animales démontrent l'absence de cancérogénicité
V	inclassable	VI A les données sont insuffisantes
		VI B il n'y a pas de données de cancérogénicité
		VI C Les données sont discordantes entre l'animal et l'homme (causes techniques non discernables)

II.2.2. Etude de la relation dose-réponse

La relation dose-réponse, spécifique d'une voie d'exposition (orale, cutanée ou respiratoire) est le lien existant entre la dose de substance mise en contact avec l'organisme et l'apparition de l'effet toxique jugé critique. Les valeurs toxicologiques de référence sont du point de vue numérique les indices adoptés pour quantifier cette relation.

II.2.3. Les valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Ce sont des indices toxicologiques élaborées pour une voie d'exposition (orale, respiratoire ou cutanée) sur la totalité de la vie d'un individu. Pour les VTR des substances non cancérogènes, expérimentées pour des expositions chroniques, CHOU et *al.* (1998) considèrent que la validité d'application commence à partir de la deuxième année d'exposition, par contre l'EPA (1989b) note la parution des effets chroniques à partir de 7 ans d'exposition.

Les VTR sont développés par des organisations internationales, par exemple l'OMS et la FAO, ou par des structures nationales (ATSDR, USEPA, Health Canada, AFNOR). Dans le cadre de l'évaluation des risques sanitaires liés à l'eau destinée à la consommation humaine, les normes de qualité de l'eau élaborée au niveau local, régional ou international peuvent aisément être utilisées pour des VTR.

Les VTR sont développées à partir du postulat que les effets toxiques d'une molécule sur les animaux de laboratoire sont supposés se produire chez l'homme dans des conditions appropriées. En conséquence et du fait de la difficulté de disposer d'études épidémiologiques pertinentes, les études sur les animaux restent la source principale de données toxicologiques. Au cours de ces expérimentations, le recours à des doses élevées permet d'observer des signes manifestes de toxicité, assurant une meilleure appréciation de l'organe ciblée et d'un effet spécifique (BONVALLOT et DOR, 2002). Dépendant des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action considérés dans la survenue des effets toxiques, on distinguera des effets à seuil (déterministes) et les effets sans seuil (stochastiques).

II.2.4. VTR des effets à seuil

Un effet à seuil est un effet qui survient au-delà d'une certaine dose administrée de produit. Pour toute dose inférieure à celle administrée, le risque est considéré comme nul. Les expériences réalisées au laboratoire montre qu'au-delà du seuil, l'intensité de l'effet croît avec l'augmentation de la dose administrée. Les VTR des effets à seuil sont utilisées pour les substances non cancérogènes.

Pour une voie d'exposition par ingestion, les VTR de référence s'expriment en masse de substance par kilogramme de poids corporel par jour (mg/kg pc/j). Elle s'exprime en masse de substance par mètre cube d'air (mg/m³) pour les voies d'exposition respiratoire.

Les VTR des effets à seuil sont développées sur la base d'un effet critique. Cet élément est déterminant dans le développement d'une VTR car il permet de fixer l'indicateur de toxicité retenu pour l'étude et influence de ce fait le niveau de la dose critique testée. Sa détermination requiert un jugement toxicologique approfondi, afin de différencier les effets considérés comme nocifs et ceux considérés comme adaptatifs.

II.2.5. Détermination des VTR des effets à seuil

Pour le développement des VTR des effets à seuil la démarche suivante est le plus souvent adoptée :

1. détermination de l'effet critique ;
2. détermination d'une dose critique à partir des données observées (études épidémiologiques chez l'homme ou études toxicologiques chez l'animal)
3. détermination, si nécessaire d'une dose critique applicable à l'homme à partir d'un ajustement allométrique. Cet ajustement n'est clairement appliqué que pour la voie respiratoire (EPA, 1994 ; De ROSA, 1999) ;
4. utilisation de facteurs d'incertidues (FI) et d'un facteur modificatif (FM) pour obtenir un niveau d'exposition de sécurité acceptable pour l'homme.

De façon très générale les VTR sont déterminées à partir de l'équation suivante :

$$\text{VTR} = \text{Dose critique} / [(\text{FI}) \times (\text{FM})] \quad \text{Eq. 2}$$

Les ajustements allométriques conduisent à déterminer une « concentration équivalente humaine ». Ils permettent de réduire la valeur des facteurs d'incertitudes relatifs aux différences entre deux espèces qui seront ensuite appliqués. Ils interviennent en amont des facteurs d'incertitude, uniquement lorsqu'on détermine une VTR pour une exposition par inhalation (De ROSA, 1999).

Différents ajustements allométriques sont effectués en fonction de la nature de l'agent inhalé (particule ou gaz) et du site où sont observés les effets critiques (respiratoires ou extra-respiratoires) conduisant à quatre scénarii possibles (JARABEK et *al.*, 1990). Pour un gaz de faible solubilité dans l'eau, par exemple, de faible réactivité au contact des tissus pulmonaires, et entraînant un effet extraréspiratoires, le transfert entre l'air et le sang dépend principalement du coefficient de partage « air : sang (λ) ». L'équation 2 donne la formule permettant de calculer l'ajustement allométrique qui s'ensuit (JARABEK, 1995) :

$$\text{NOAEL}_{\text{HEC}} = \text{NOAEL}_{\text{A}} \times \lambda_{\text{A}} / \lambda_{\text{H}} \quad \text{Eq. 3}$$

Où

NOAEL_{HEC} : Concentration équivalente humaine
NOAEL_A : Concentration rapporté à 24 h sur l'animal
A : Animal
H : Homme

L'EPA (1994) considère une valeur par défaut de 1 pour le coefficient de partage « air : sang (λ) » entre l'homme et l'animal.

II.2.6. VTR des effets sans seuil

Les effets sont par définition indépendant de la dose administrée ou reçue. Ils apparaissent quelle que soit la dose reçue. La probabilité de survenue croît avec la dose. L'hypothèse classiquement retenue est qu'une seule molécule de la substance toxique peut provoquer des changements dans une cellule et être à l'origine de l'effet observé. L'Excès de Risque Unitaire (ERU) et l'« *Inhalation Unit Risk* » (IUR) développé par l'EPA respectivement pour les voies d'exposition orale et respiratoire sont des exemples de VTR des effets sans seuil.

II.2.7. Détermination des VTR des effets sans seuil

L'EPA (1999) considère trois étapes dans le développement des VTR des effets sans seuil :

1. la détermination d'une dose équivalente pour l'homme ;
2. la modélisation des données expérimentales ;
3. l'extrapolation vers le domaine des faibles doses, associé au domaine des faibles risques.

L'objectif de la détermination de la dose équivalente pour l'homme est la prise en compte des différences toxicocinétique qui existent entre l'animal et l'homme lorsque la VTR est construite à partir d'études chez l'animal, quelle que soit la voie d'exposition considérée.

GAYLOR et *al.* (2000) proposent l'équation suivante pour la détermination de la dose équivalente humaine :

$$DEqH = d_A x \frac{P_A}{70} x \left[\frac{70}{P_A} \right]^{3/4} \quad \text{Eq. 4}$$

Avec :

DeqH : dose équivalente humaine;

d_A : dose administrée à l'animal;

P_A : poids de l'animal (soit un poids standard de 0,034 kg pour la souris et 0,34 kg pour le rat)

70 : poids standard humain

La transformation de l'équation en Excès de Risque Unitaire (ERU) qui s'exprime en $(\text{mg/kg } /\text{j})^{-1}$, la formule devient (GAYLOR et *al.*, 2000):

$$DEqH = d_A x \left[\frac{P_A}{70} \right]^{1-3/4} \quad \text{Eq. 5}$$

II.2.8. Estimation de l'exposition

L'estimation de l'exposition consiste à produire des données descriptives sur les personnes exposées (âge, sexe, caractéristiques physiologiques, éventuelles pathologies et sensibilité ...) et les voies de pénétration des agents toxiques. A ce stade, l'évaluateur doit quantifier la fréquence, la durée et l'intensité de l'exposition à ces substances pour chaque voie d'exposition jugée pertinente.

Cette étape qualitative et quantitative est la plus complexe de l'évaluation du risque sanitaire. L'objectif de la caractérisation de l'exposition est de relier la concentration de la molécule toxique dans les différents vecteurs d'exposition aux doses présentées aux trois voies d'exposition (orale, cutanée et respiratoire). Il est recommandé à ce stade de construire les scénarii d'exposition.

II.2.9. Caractérisation du risque

Cette étape comprend deux parties : l'estimation des risques et l'analyse des incertitudes, dont une partie est assimilable à la discussion qui s'organise autour de toute étude scientifique (INVS, 2000).

Les risques pour la santé humaine sont déterminés de manière différente selon que le danger est considéré comme survenant, ou non, au-delà d'une limite de dose (EPA, 1989b). On parle alors d'un quotient de danger (QD) pour les effets toxiques répétés à seuil, qui n'est autre que le rapport entre la dose moyenne journalière totale, ou la concentration moyenne dans l'air pour la voie respiratoire, et la valeur toxicologique de référence pour la voie d'exposition considérée. Cette évaluation de risque est purement qualitative. Elle permet d'avancer pour tout $QD > 1$ que la population exposée est en danger et pour tout $QD < 1$ que la population est théoriquement hors de danger.

Pour les effets toxiques répétés sans seuil (effets cancérogènes et mutagènes) l'évaluation du risque sanitaire est quantitative. La probabilité d'occurrence du cancer pour la vie entière des sujets exposés est appelée excès de risque individuel (ERI), lequel se calcule en multipliant l'ERU par la dose moyenne journalière totale « vie entière » ou la concentration moyenne « vie entière » dans l'air. Le produit de ce risque par l'effectif (n) de la population exposée donne l'excès de risque collectif (ERC) appelé également « impact ».

L'incertitude globale entourant les estimations d'une évaluation résulte de la variabilité de certains paramètres de calcul et des défauts de connaissance. Compte tenu de la grande amplitude des valeurs numériques d'une partie importante des données d'entrée, et des manques d'information qui affectent d'autres termes de calcul, il est utile de pouvoir fournir des estimations basses, moyennes et hautes des risques calculés.

III.3. L'évaluation du risque écologique

Le processus d'évaluation du risque écologique est utilisé systématiquement pour évaluer et organiser des données, des informations et des incertitudes permettant de comprendre et de prévoir les rapports entre les stressseurs et les effets écologiques de manière à faciliter la prise de décision

environnementale. Une évaluation peut impliquer des stressors chimiques, physiques, et/ou biologiques ; un et plusieurs peuvent être impliqués et pris en considération (EPA, 1998).

Les évaluations de risques écologiques sont développées dans un contexte de gestion des risques pour évaluer les changements nocifs induits par l'homme sur les écosystèmes. Dans cette perspective, ces directives se concentrent sur des stressors et sur des effets nuisibles produits par l'activité anthropique. La prise en compte de la nocivité est importante parce qu'un stressor peut causer des effets nuisibles sur une composante de l'écosystème et n'avoir aucun effet pour d'autres composantes. Les changements qui sont considérés comme indésirables sont ceux qui modifient des caractéristiques structurales et fonctionnelles des principales composantes des écosystèmes.

Une évaluation de la nocivité peut inclure une considération du type, de l'intensité, et du bilan de l'effet aussi bien que les possibilités de récupération. L'acceptabilité des effets nuisibles est déterminée par les gestionnaires des risques. Bien que prévu pour évaluer des effets nuisibles, le processus d'évaluation des risques écologiques peut être adapté pour prévoir les changements ou les risques salutaires des événements naturels pour les écosystèmes (EPA, 1998).

Le processus d'évaluation des risques écologiques se base sur deux éléments principaux : la caractérisation des effets et de la caractérisation de l'exposition. Ils fournissent les outils théoriques nécessaires à la conduite des trois phases de l'évaluation des risques : la formulation du problème, l'analyse et la caractérisation des risques. La figure 6 reproduit le schéma général de l'évaluation du risque écologique de l'EPA.

III.3.1. Formulation du problème

Le problème est présenté par le gestionnaire du risque, qui peut être une instance réglementaire, le responsable d'une activité polluante par ses rejets (effluents liquides) ou la victime d'une pollution. Au cours de cette étape de planification et de délimitation, l'unité d'évaluation du risque écologique, représentée par l'évaluateur du risque a pour objectif de préparer un modèle conceptuel (le scénario). Ce modèle a pour fonction d'identifier :

- les stressors, les écosystème à protéger, les éléments à risque (définition des points finaux d'évaluation) ;
- les échelles spatiales et temporelles des phénomènes, les approches utilisées (tests de toxicité, bio-essais,...) ;
- les données factuelles nécessaires.

Ce modèle aide à sélectionner les points finaux de mesure. L'EPA (1992a) reconnaît que le jugement est nécessaire pour une sélection rationnelle des différents points finaux, condition essentielle pour le bon déroulement de l'opération. Ce modèle comprend également un scénario d'exposition, c'est-à-dire une description qualitative des relations entre le stressor et les constituants

écologiques. Cette phase initiale de formulation du problème sert de base pour réaliser la phase suivante, la phase d'analyse.

III.3.2. Analyse

Cette phase comprend deux opérations parallèles : « la caractérisation de l'exposition et la caractérisation des effets écologiques ».

a. caractérisation de l'exposition

Elle consiste à déterminer les possibilités de contact spatio-temporel entre le stressor et le récepteur. Cette détermination se fait à partir des résultats des analyses chimiques ou de la modélisation des concentrations des stressors dans l'environnement. Il faudra également définir les populations exposées et leurs points de contact avec le polluant.

b. caractérisation des effets écologiques

Elle se base sur les essais de toxicité et d'écotoxicité réalisés sur différentes espèces animales ou végétales. Les données éco-épidémiologiques disponibles sur les espèces domestiques ou sauvage exposées à la pollution environnementale (organismes sentinelles) sont également importantes pour la caractérisation de l'exposition. Ces valeurs et ces informations se trouvent dans les bases de données existantes. Elles peuvent être extrapolées (utilisation de modèles mathématiques) ou encore générées dans le cadre de l'étude par des expérimentations spécifiques.

III.3.3. Caractérisation du risque

Des méthodes analytiques sont utilisées pour combiner les résultats des deux phases précédentes :

- comparaison de valeurs uniques pour l'exposition et les effets ;
- comparaison de distributions des expositions et des effets ;
- utilisation de modèles de simulations.

Le risque écologique peut être exprimé de différentes manières : qualitatives (absence ou non de risque), semi-quantitatives (risque faible, moyen, élevé), en termes probabilistes (le risque est de tant %). Un volet important de la caractérisation du risque est de déterminer l'ampleur des différentes incertitudes associées au résultat et de les analyser.

Finalement, l'ensemble de ces informations est communiqué au gestionnaire du risque qui prendra sa décision, généralement après une analyse « risque/bénéfice ».

La figure 6 présente le schéma général révisé du modèle de l'EPA.

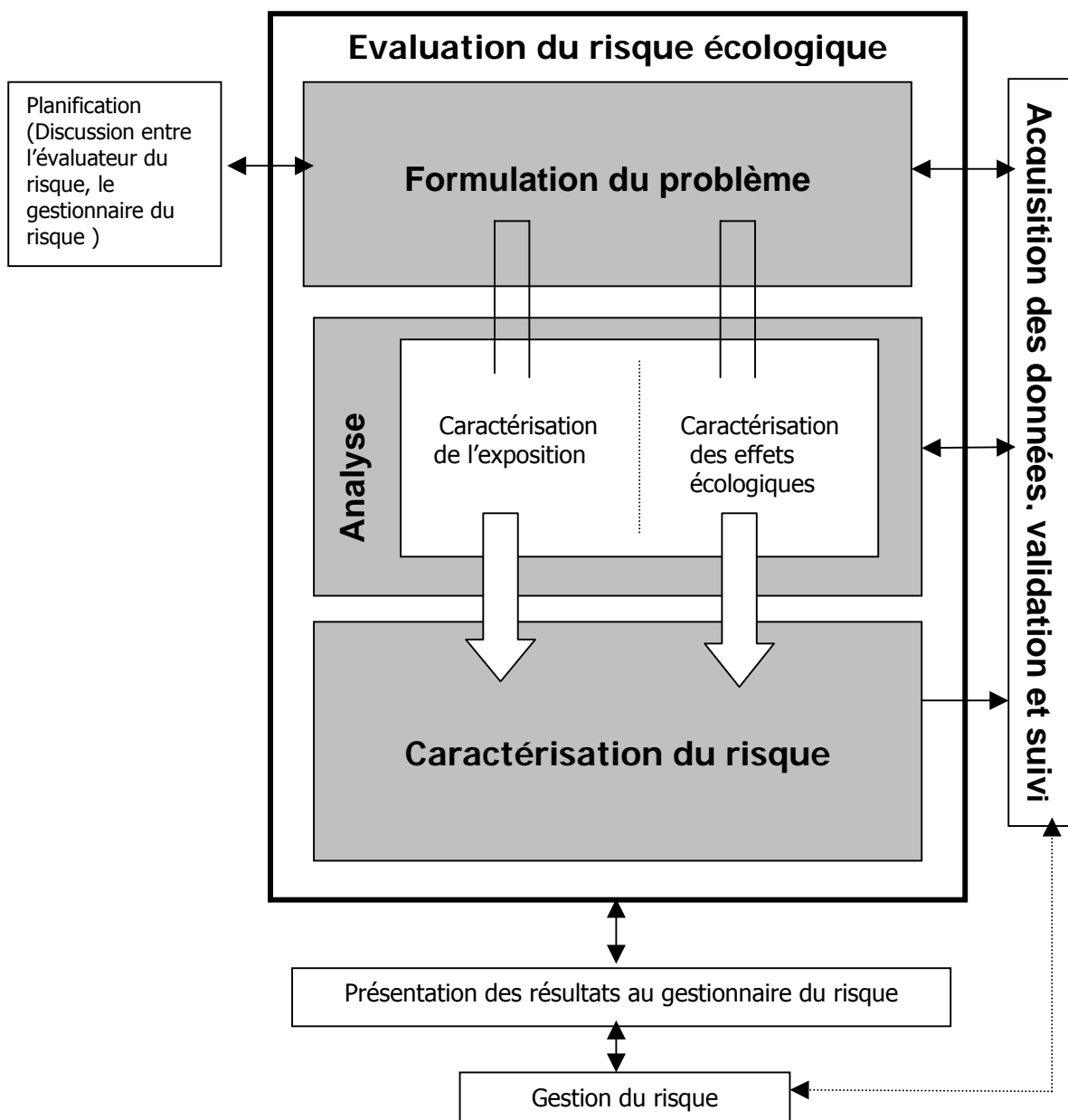


Figure 6: Schéma général d'évaluation du risque écologique : le modèle de l'EPA (1992a)

III.4. Les modifications du schéma général proposé par l'EPA en 1992

Les trois phases du schéma initial restent les mêmes, cependant le processus et le produit de chacune de ces phases ont été raffinés. Des formes géométriques sont intégrées dans le modèle. Elles facilitent une meilleure compréhension de la démarche. Des rectangles sont utilisés pour indiquer les intrants, les hexagones indiquent les actions, et les cercles représentent les résultats

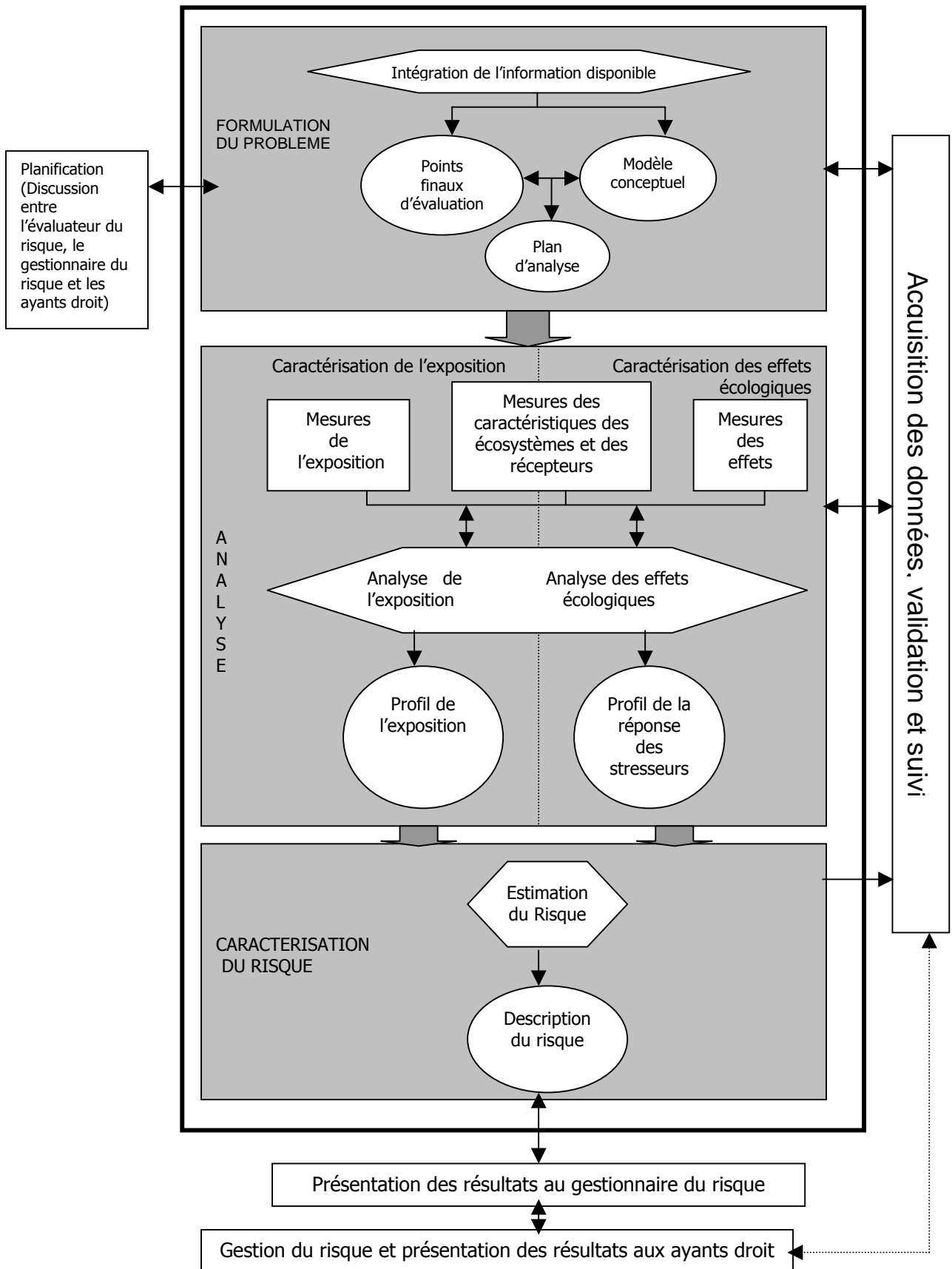


Figure 7: Schéma général d'évaluation du risque écologique révisé (EPA, 1998).

Des changements mineurs sont également effectués au niveau des termes caractérisant les « boîtes » qui se trouvent à l'extérieur du grand rectangle incluant les trois phases du processus d'évaluation des risques (planification; présentation des résultats au gestionnaire des risques; acquisition de données, itération du processus, validation et suivi des résultats). Les nouveaux termes ont été introduits pour souligner la nature itérative de l'évaluation des risques. Les ayants droit ont été ajoutés aux boîtes de gestion et de planification des risques pour indiquer leur rôle croissant dans le processus d'évaluation des risques (COMMISSION ON RISK ASSESSMENT AND RISK MANAGEMENT, 1997).

Le nouveau diagramme de la **formulation du problème** enregistre plusieurs changements. L'hexagone souligne l'importance d'intégrer l'information disponible avant la sélection des points finaux d'évaluation et l'élaboration des modèles conceptuels. Les trois produits, résultant de la formulation de problème sont enfermés dans les cercles. Les points finaux d'évaluation sont présentés comme étant l'élément clé devant conduire au développement du modèle conceptuel.

Le modèle conceptuel reste un élément central de la formulation du problème. Le plan d'analyse a été ajouté comme un produit explicite de la formulation du problème dans le souci de souligner la nécessité de programmer l'évaluation et l'interprétation de données avant que les analyses commencent.

Dans la **phase d'analyse**, le côté gauche du diagramme montre la caractérisation de l'exposition, tandis que le côté droit montre la caractérisation des effets écologiques. Il est important que l'évaluation de ces deux aspects de l'analyse soient un processus itératif capable d'assurer la compatibilité des résultats pouvant être intégrés dans la caractérisation des risques. La ligne en points tirés et l'hexagone mettent l'accent sur cette itération. Les trois premières boîtes de la phase l'analyse, introduites maintenant « mesures de l'exposition, mesures des caractéristiques des écosystèmes et des récepteurs, mesures des effets », fournissent les intrants pour les analyses de l'exposition et des effets écologiques.

L'expérience réalisée dans l'application de la caractérisation du risque telle que présentée dans le schéma général de 1992 suggère la nécessité d'apporter des modifications dans le processus. **L'estimation du risque** nécessite l'intégration de l'évaluation de l'exposition et des effets ainsi qu'une analyse des incertitudes. Le processus d'estimation du risque décrit dans l'ancien schéma sépare l'intégration et l'incertitude. L'objectif de cette séparation était de mettre l'accent sur l'importance de l'estimation du risque. Cette séparation n'est plus nécessaire puisqu'il est explicitement conseillé maintenant dans presque toutes les méthodes de caractérisation du risque, de procéder à l'analyse de l'incertitude.

La description du risque est similaire au processus décrit dans le premier schéma. La démarche proposée pour la description de risque comprend les lignes d'évidence qui soutiennent une causalité et une détermination du problème écologique dû aux effets prévus ou observés. Les considérations pour la présentation des résultats de l'évaluation des risques sont également décrites.

III.5. La méthode de l'écompatibilité

III.5.1. Définition de l'écompatibilité

L'écompatibilité est définie comme "une situation où les flux de polluants émis par les déchets - lorsque ceux-ci sont placés dans un certain contexte physique, hydrogéologique, physico-chimique et biologique - sont compatibles avec les flux de polluants acceptables par les milieux récepteurs du site concerné" (MAYEUX et PERRODIN, 1996). Cette définition, rapporte Perrodin et *al.* (2000), souligne l'importance de la situation dans laquelle est placée le déchet puisqu'il ne s'agit en aucun cas de se limiter aux propriétés intrinsèques de celui-ci mais bien d'en évaluer l'écompatibilité dans un contexte particulier, c'est-à-dire "en scénario". La figure 8 illustre de manière globale et simplifiée la démarche de l'écompatibilité des déchets.

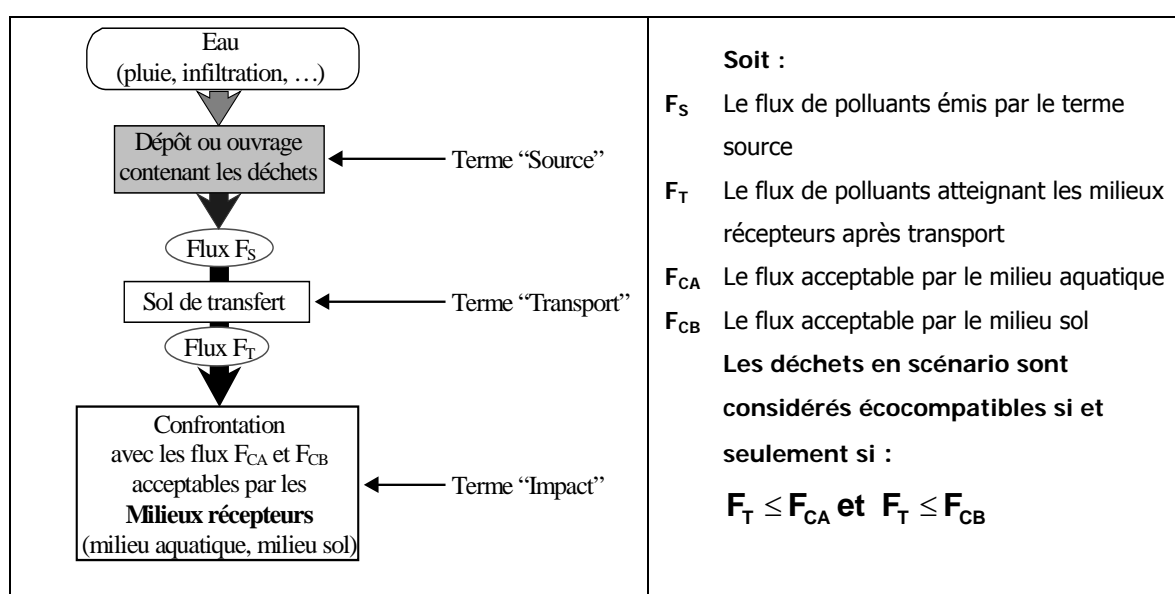


Figure 8 : Schéma général de l'évaluation de l'écompatibilité des déchets (Mayeux et Perrodin, 1996)

La méthodologie générale de l'écompatibilité des déchets s'articule autour de la caractérisation :

- des flux de polluants émis par le dépôt ou l'ouvrage contenant les déchets, désignés dans la méthode par l'appellation *terme source*,
- du transport de ces flux vers les milieux récepteurs, désigné par l'appellation *terme transport*,
- de l'impact des flux de polluants atteignant les milieux récepteurs, appelé *terme impact*.

La caractérisation du *terme source* est généralement conduite dans le cadre d'une collaboration associant des techniciens du traitement des déchets avec des spécialistes du comportement à long terme des déchets à la lixiviation (physico-chimistes, géotechniciens et microbiologistes du déchet). La caractérisation du *terme transport* nécessite au moins l'intervention d'hydrogéologues, de géochimistes et de microbiologistes du sol. La caractérisation du *terme impact* fait appel au minimum aux compétences de biologistes spécialistes de la faune, de la flore, des micro-organismes du sol et des milieux aquatiques (PERRODIN, 2000).

III.5.2. Origine de l'écocompatibilité

L'écocompatibilité des déchets est née de la philosophie d'un retour acceptable des déchets dans le milieu naturel. Selon NAVARRO et *a/*. (1994), les pères de cette nouvelle réflexion sur la gestion des déchets, l'oxydation totale des déchets organiques ou de synthèse doit aboutir au dioxyde de carbone et à l'eau. Pour eux, l'intégration des déchets aux cycles biogéochimiques doit se faire sans entraîner de dysfonctionnements prévisibles ou identifiables dans les écosystèmes.

Par ailleurs, les politiques de gestion des déchets intègrent de plus en plus la maîtrise fine des impacts sur les milieux pour fixer des contraintes environnementales associées aux systèmes de traitement et de valorisation. Cette évolution prend une dimension particulièrement sensible dès que les orientations finales des déchets impliquent un contact direct et à long terme avec le milieu naturel. Cela est notamment le cas de la valorisation des déchets en travaux publics. Dans ce contexte l'ADEME a développé une méthode pluridisciplinaire d'évaluation de scénarios de stockage et de valorisation des déchets qui intègre la connaissance du comportement des déchets à long terme et prend en compte leurs impacts sur les écosystèmes (MAYEUX et PERRODIN, 1996).

FERRARI (2000) avance « Globalement, l'écocompatibilité caractérise un déchet qui par sa structure, sa nature, ses propriétés et son comportement peut s'inscrire dans l'environnement en équilibre avec celui-ci sans affecter la survie des espèces et mettre ainsi en péril l'équilibre des communautés et le fonctionnement des écosystèmes. Par exemple, un déchet classé dangereux ne pose problème qu'à partir du moment où tout ou partie des substances qui le composent migre dans l'air, dans le sol, dans les eaux de surface ou souterraines, en dehors d'un compartiment confiné qui lui a été attribué ».

III.5.3. Développement de la méthodologie d'écocompatibilité : étude de scénarii

La première approche de la méthodologie globale d'évaluation proposée s'appuie sur 3 concepts fondamentaux « facteurs, paramètres et scénarios ». Pour la construction des variables devant aboutir à la validation des hypothèses de l'approche, PERRODIN (2000) souligne « cette démarche se traduit notamment par :

1. la détermination de l'ensemble des facteurs reconnus comme pouvant avoir une influence sur les différents termes étudiés,
2. la détermination des paramètres de caractérisation des différents termes à prendre en compte pour l'évaluation de l'écocompatibilité,
3. la représentation des scénarios globaux de valorisation ou de stockage sous la forme d'une combinaison de sous-scénarios relatifs à chacun des termes étudiés ».

Ainsi pour chaque scénario d'EDR, la méthodologie consiste dans un premier temps à identifier les sous-scénarios et les facteurs d'influence permettant leur caractérisation précise, puis à choisir les paramètres pertinents à mesurer par des tests menés à l'échelle laboratoire. Parmi les différents scénarii qui ont été élaborés pour expérimenter la méthodologie générale de l'écocompatibilité des

déchets, la figure 9 présente un scénario illustrant la percolation des déchets granulaires (MIOM). Les principales caractéristiques de ce scénario sont :

- un mâchefer d'incinération d'ordures ménagères déferrailé et mûré (de type "V"¹) est utilisé en remblai routier dans un site de montagne (en contrebas d'un talus),
- il est soumis à la fois aux eaux de pluie et aux eaux de ruissellement,
- en contrebas de la route, une prairie reçoit par ruissellement les effluents ayant percolé à travers le déchet,
- une rivière, également en contrebas, est alimentée par une nappe souterraine acheminant les effluents ayant percolé à travers le déchet, puis à travers un sous-sol semi-perméable.

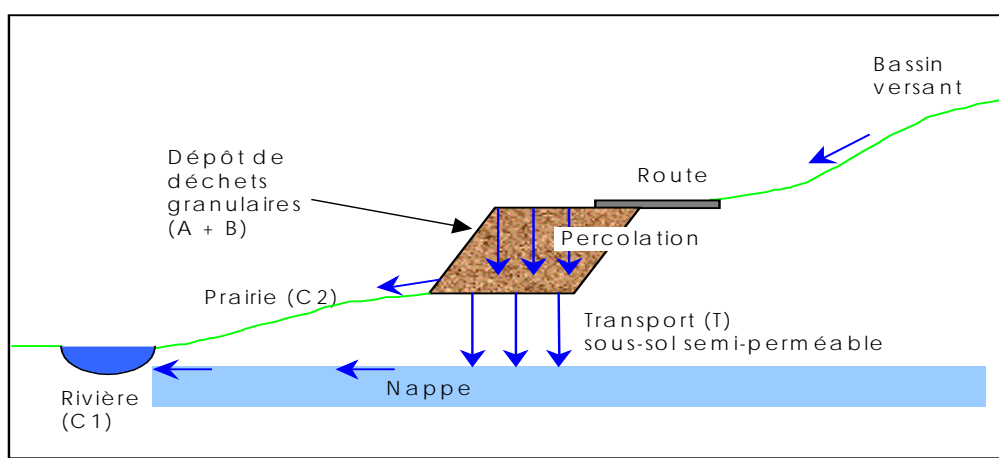


Figure 9 : Représentation schématique du scénario 1 de la méthodologie de l'écocompatibilité des déchets (PERRODIN et *al.*, 2000)

III.5.4. Contribution de la méthodologie « Ecocompatibilité » à la gestion des déchets et à la discipline de l'évaluation des risques

L'objectif de la méthodologie générale de l'écocompatibilité des déchets est la caractérisation de la toxicité potentielle des flux polluants (notion de danger) issus des matrices déchets et la définition de leurs conditions d'exposition sans effets néfastes pour l'environnement (notion de risque) à partir de diverses études expérimentales (MAYEUX et PERRODIN, 1996 ; PERRODIN et *al.*, 2002 ; CANIVET et FRUGET, 2002). Comme pour toute évaluation de risque, cette méthodologie s'est développée avec le support de scénarii permettant la génération de données à partir de modèles expérimentaux et d'indicateurs in situ.

Contrairement à certaines méthodes d'évaluation des risques, l'écocompatibilité n'est pas une méthode théorique. Ses fondements se basent sur l'expérimentation, de ce fait elle élimine les difficultés qui se présentent le plus souvent entre la théorie et la pratique. Elle se présente comme

¹Mâchefers à faible fraction lixiviable, dits de catégorie "V", valorisables en technique routière et dans d'autres applications semblables (voir circulaire du 9 mai 1994 relative à l'élimination des mâchefers d'incinération des résidus urbains).

une évaluation prospective du risque. Se basant sur une approche analytique du déchet en situation et sur la notion d'impact sur les milieux récepteurs (MAYEUX et PERRODIN, 1996 ; GOBBEY, 1999 ; FERRARI, 2000), la méthodologie de l'écocompatibilité permet une prise de décision basée sur des outils fiables de mesure et d'évaluation (CANIVET et FRUGET, 2002) pour un renforcement des conditions du stockage et de la valorisation des déchets.

En dehors des scénarii qui ont été étudiés dans le cadre du développement de la méthodologie, le domaine l'écocompatibilité est a priori très vaste (GOBBEY, 1999; FERRARI, 2000; CANIVET et FRUGET, 2002).

III.6. La directive de l'Union Européenne

Dans la Directive 67/548, l'Union Européenne a procédé au classement des substances dangereuses en fonction du plus haut degré de danger et de la nature spécifique du risque . En les définissant comme étant toxiques, rémanentes et ayant des caractères bioaccumulables, le règlement N° 793/93 de l'Union Européenne exige, au niveau des Etats membres, une évaluation des risques sanitaires et écologiques de l'ensemble des substances (notamment : les médicaments, les stupéfiants et les substances radioactives) présentant des caractéristiques dangereuses. Par ailleurs, le règlement N° 1488/94 de l'Union Européenne établit « les principes de l'évaluation des risques pour l'homme et pour l'environnement présentés par les substances existantes ».

III.6.1. Principes européens d'évaluation des risques

1. L'évaluation des risques comprend l'identification du danger et, le cas échéant, l'évaluation du rapport dose (concentration)-réponse (effet), l'évaluation de l'exposition et la caractérisation du risque. Elle doit être basée sur les informations connues sur la substance transmise, ainsi que sur toute autre information disponible.
2. Nonobstant le paragraphe 1, les risques associés à des effets particuliers, tels que l'appauvrissement de la couche d'ozone sont évalués au cas par cas.
3. Lors de l'évaluation de l'exposition, l'évaluateur des risques tient compte des populations humaines ou des composantes de l'environnement dont l'exposition à la substance est connue ou raisonnablement prévisible à la lumière des informations disponibles sur la substance, et plus particulièrement sur sa fabrication, son transport, son stockage, son incorporation dans une préparation ou son utilisation dans un autre procédé, son usage et son élimination ou sa récupération.
4. Lorsqu'une substance a déjà fait l'objet d'une évaluation des risques, la nouvelle évaluation des risques doit tenir compte des évaluations précédentes.

III.6.2. Les modèles PEC/PNEC

L'annexe III du règlement N° 1488/94 de l'Union Européenne, présente la méthodologie générale de l'évaluation des risques basée sur la comparaison des valeurs de PEC (obtenues par des modèles d'exposition) et de PNEC (basées sur des données toxicologiques).

Dans une approche PEC/PNEC, deux échelles géographiques sont prévues, l'échelle locale et l'échelle régionale. A l'échelle régionale, on estime des concentrations environnementales moyennes (pollution diffuse) ; l'échelle locale sera plus particulièrement destinée à estimer les concentrations du polluant au voisinage de la source.

Les valeurs des PNEC sont dérivées des données de toxicité aiguë ou chronique par utilisation des facteurs d'application destinés à compenser les différences entre les conditions des tests et les conditions naturelles. Les PEC sont comparées régulièrement aux PNEC dans une opération d'évaluation séquentielle, débutant à l'échelle régionale. Si la PNEC est supérieure à la PEC, l'opération est terminée ; dans le cas contraire, l'évaluation se poursuit à l'échelle locale, et de nouvelles données plus détaillées sont incorporées jusqu'à ce que le résultat souhaité soit obtenu.

III.7. L'évaluation intégrée des risques du Programme International de la Sécurité Chimique (IPCS)

Le terme « évaluation intégrée des risques » est définie dans ce modèle comme, une approche scientifique qui combine les processus d'estimation des risques pour les humains, le biotope, et les ressources naturelles dans **une seule évaluation** (SUTER et *al.*, 2001).

En effet, l'objectif de l'évaluation du risque est de prendre des décisions à partir de l'estimation des risques résultant des effets négatifs des substances chimiques, des facteurs physiques et des autres stressés environnementaux sur la santé humaine et sur l'environnement (SUTER et *al.*, 2001). Pour des raisons pratiques et historiques, les outils internationalement utilisés pour évaluer et gérer les risques des substances chimiques sur la santé humaine ont été généralement développés indépendamment de ceux utilisés pour l'évaluation des risques environnementaux. Cependant, avec la reconnaissance croissante du besoin de protéger plus efficacement la santé humaine et l'environnement, il a été jugé utile de développer une approche « holistique » de l'évaluation des risques (IPCS, 2001).

L'évaluation intégrée des risques sanitaires et écologiques offre cinq grands avantages (SUTER et *al.*, 2001). Trois de ces avantages portent sur des considérations générales, alors que les deux autres sont d'ordre méthodologiques :

1. L'expression cohérente des résultats de l'évaluation ;
2. l'interdépendance ;
3. les organismes sentinelles ;
4. la qualité ;
5. l'efficacité.

III.7.1. L'expression cohérente des résultats de l'évaluation

La cohérence des résultats des évaluations intégrées de risques sanitaires et écologiques fournit une solide base pour des actions visant le renforcement des décisions prises en matière de protection de l'environnement. Cependant, lorsque les résultats d'évaluations de risques sanitaires et écologiques, réalisées de manière indépendante, sont inconsistants et que les bases de l'inconsistance

ne sont pas claires, la prise de décision devient donc compliquée. Cette situation se manifeste le plus souvent lorsque les résultats des évaluations de risques sanitaires et écologiques sont calculés sur des espaces et des temps différents, et des degrés différents (SUTER et *al.*, 2001).

III.7.2. L'interdépendance

Les risques pour la santé humaine et l'écologie sont interdépendants (LUBCHENCO, 1998 ; WILSON, 1998). Les humains dépendent de la nature pour la nourriture, la purification de l'eau, le cycle hydrologique et autres produits pour lesquels le niveau et la qualité des services sont diminués par les effets des substances chimiques toxiques. Les dommages écologiques peuvent résulter des expositions croissantes humaines aux contaminants et aux autres stressors. Par exemple, l'addition de nutriments dans les écosystèmes aquatiques et les modifications qui en résultent dans la structure des communautés algales peut influencer la présence des maladies hydriques tel le choléra aussi bien que celle des algues toxiques telles les *Pfiesteria piscicida* lesquelles tuent les poissons et affectent potentiellement les humains (SUTER et *al.*, 2001).

III.7.3. Les organismes sentinelles

Puisque les organismes non humains sont, le plus souvent fortement exposés aux contaminants environnementaux et sont plus sensibles, ils peuvent servir de sentinelles permettant ainsi d'identifier les sources potentielles de dangers humains (NRC, 1991 ; BURHART et GARDNER, 1997 ; SHEFFIELD et *al.*, 1998) .

Les organismes non humains peuvent aussi servir de sentinelles pour des modes d'action qui n'ont pas été identifiés chez l'homme. Par exemple, des infections opportunistes apparues chez les mammifères marins semblent être liées à une accumulation des polychlorobiphényles (PCBs) et les composés organostanniques qui causent l'immunosuppression chez des animaux de laboratoire (ROSS, 1998). Ces informations ont soulevé l'inquiétude des populations humaines qui accumulent également ces composés par les poissons (SUTER et *al.*, 2001).

III.7.4. La qualité

La qualité scientifique des évaluations ne sera améliorée que par le partage d'informations et de techniques entre les évaluateurs scientifiques des différents champs ou domaines (SUTER et *al.*, 2001).

III.7.5. L'efficacité

L'intégration des risques sanitaires et écologiques offre de significatives possibilités pour l'atteinte de l'efficacité. En fait, les évaluations isolées sont en soi inachevées quand des humains et des systèmes écologiques sont potentiellement en danger. Par exemple, les processus de rejets de contaminants, leurs transports et leurs transformations sont communs à tous les récepteurs. Le développement de méthodologie d'évaluation des risques qui tient compte des perspicacités des

processus d'évaluation de risques sanitaires et écologiques conduira à des améliorations qui seront très bénéfiques pour les deux disciplines (SUTER et *al.*, 2001).

III.7.6. Les bases du modèle d'évaluation intégrée des risques

Ayant identifié les similitudes qui existent, actuellement au niveau international, dans les différents schémas généraux de l'évaluation des risques, le modèle de l'évaluation intégrée des risques est développé à partir de la démarche révisée de l'USEPA. Comme le schéma général de l'USEPA, l'évaluation intégrée comprend trois grandes composantes ou phase : « formulation du problème, analyse (caractérisation de l'exposition, caractérisation des effets), caractérisation du risque ».

Durant la première phase, *Formulation du Problème*, les buts, les objectifs, la portée, et les activités de l'évaluation sont bien définis. L'étape d'*Analyse* consiste en la collecte de données et en exercices de modélisation pour caractériser l'exposition dans l'espace et le temps, et pour définir les effets résultant de l'exposition sur les humains et les systèmes écologiques. Les méthodes appropriées pour l'étape d'analyse peuvent être des stressors spécifiques, mais elles dépendront également de la nature des systèmes à risques identifiés. Les informations d'expositions et d'effets sont synthétisées en tant qu'estimations du risque dans l'étape de caractérisation de risque.

Dans le meilleur des cas, ces évaluations sont quantitatives en ce qui concerne le niveau du risque prévu à partir des différents scénarios d'exposition. Dépendant des genres d'information disponibles, seulement des évaluations qualitatives de risque pourra être, dans certains cas, possible d'estimer (SUTER et *al.*, 2001).

III.7.7. Contribution méthodologique de ce modèle au processus global de l'EDR

En considérant que, les émissions de polluants peuvent se produire à toutes les étapes du cycle de vie d'une substance, SUTER et *al.* (2001) notent « la nécessité dans une démarche d'évaluation intégrée, de considérer le cycle de vie entier d'un stressor afin d'identifier toutes les sources potentielles d'émission qui peuvent conduire à l'exposition humaine et à celles des autres espèces vivantes ». La figure 10 présente le cycle de vie d'une substance selon SUTER et *al.* (2001). L'identification des sources est nécessaire, car elle mène directement ou indirectement à l'exposition des humains et des espèces non humaines (SUTER et *al.*, 2001).

La démarche de l'évaluation intégrée des risques sanitaires et écologiques se présente comme l'analyse épistémologique de la science que représentent « *les évaluations de risques* ». En s'appuyant sur l'étroite relation existant entre le risque pour la santé humaine et celui pour l'écologie, ce modèle a fait la critique de la discipline - l'état du domaine scientifique de l'EDR -, pour poser de nouvelles hypothèses qui, sur le plan théorique, permettent un agrandissement des échelles utilisées pour la réalisation des évaluations de risques sanitaire et écologiques. Toutefois, la complexité qui existe dans

le rapport « *théorie : pratique* » pousse à avancer que l'application de ce modèle sera beaucoup plus coûteux, sur le plan financier, que les autres modèles, bien qu'il puisse fournir dans une seule évaluation les résultats qui ne seraient disponibles que par la mise en œuvre de deux évaluations distinctes. La notion coût/efficacité sera un élément très important dans le choix d'un modèle par rapport à un autre.

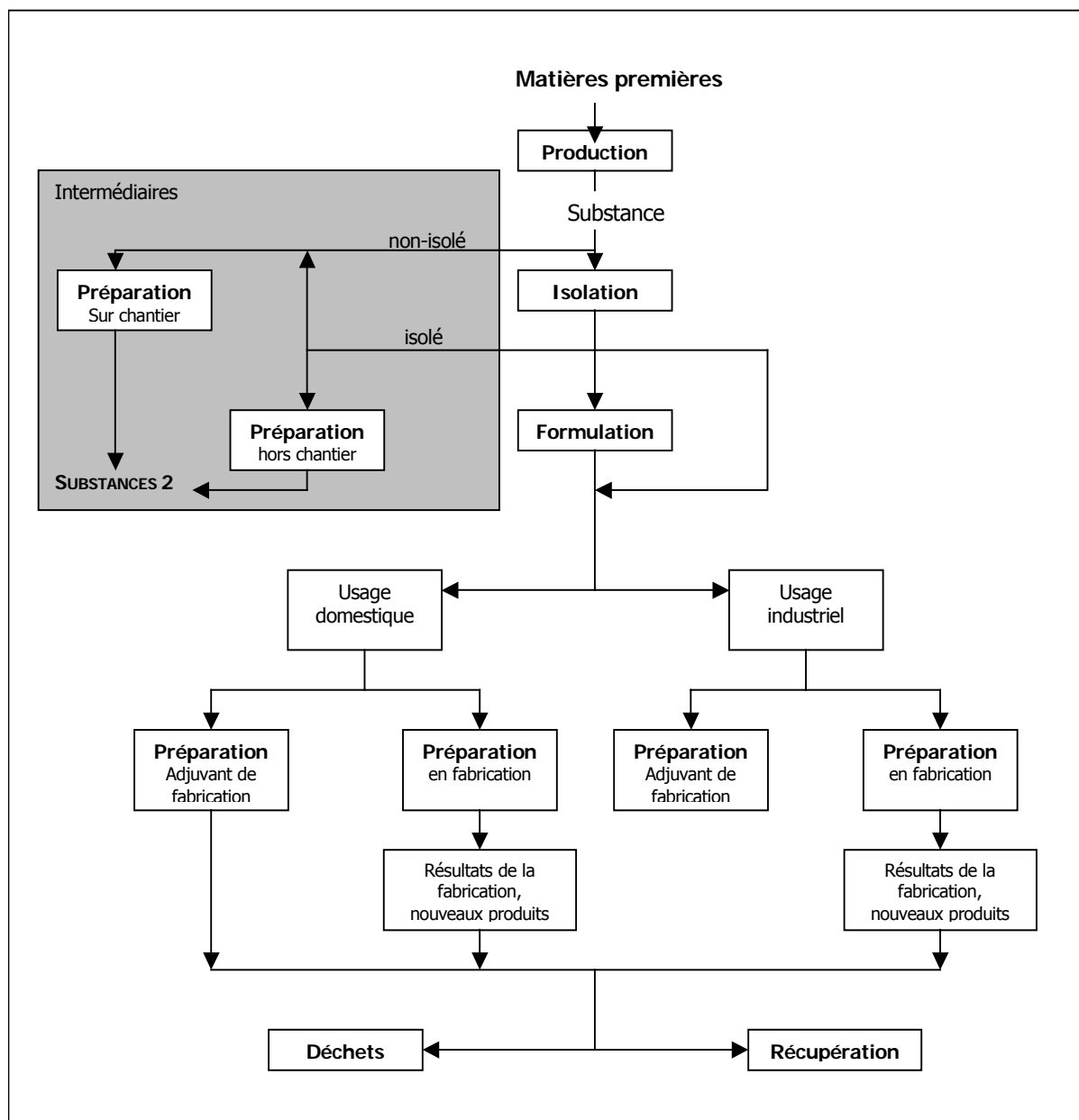


Figure 10 : Le cycle de vie d'une substance chimique (SUTER et al., 2001).

IV Méthodes quantitatives d'évaluation du risque microbiologique (MQERM)

IV.1. Généralités

L'exposition à des agents infectieux peut produire des effets infectieux ou toxiques. L'agent infectieux est l'espèce capable de se multiplier dans l'organisme hôte. Une infection peut se traduire ou non par une maladie. Si le microorganisme se développe chez l'hôte sans provoquer d'effets délétères, on parle alors d'une infection asymptomatique. L'effet pathogène d'un agent infectieux relève de différents facteurs. Selon le cas, l'effet peut être principalement de type invasif (inflammation ou ulcération des tissus), après colonisation superficielle des tissus ou pénétration plus profonde, ou être lié à la production et à l'action de toxines dans l'organismes hôte (BONNARD, 2001).

IV.2. Les principaux agents pathogènes

Les microorganismes cellulaires sont divisés en organismes eucaryotes, disposant d'un noyau, et en organismes procaryotes qui ne disposent pas de noyau. Les organismes eucaryotes comprennent : les helminthes, les protozoaires, les champignons et les algues. Les organismes procaryotes comprennent les bactéries, les algues bleues-vertes (cyanobactéries), et les rickettsies. Les virus, qui sont des parasites obligatoires, ne sont pas intégrés dans ces deux grands groupes de microorganismes. Ils sont uniquement constitués d'une molécule d'acide nucléique entourée d'une capsid. Dans le cadre de la description des MQERM une présentation succincte est faite sur les caractères pathogènes des protozoaires et sur leur présence et leur devenir dans l'environnement.

IV.2.1. Les protozoaires

Ce sont des organismes eucaryotes unicellulaires. Leur taille varie de quelques microns à quelques millimètres mais la plupart des espèces ne dépassent pas quelques centaines de micron. Un certain nombre sont pathogènes pour l'homme. Ils peuvent former des structures résistantes dans l'environnement appelés kystes ou oocystes. La mise à sec, la chaleur, le froid, le manque de nourriture, la composition chimique du milieu font partie des facteurs qui conduisent à l'enkystement. Ces kystes ou oocystes restent viables plusieurs mois à plusieurs années. Le retour à des conditions favorables induit rapidement le phénomène inverse. Parmi les protozoaires, on distingue les rhizopodes, les flagellés, les sporozoaires et les ciliés.

a- les rhizopodes :

- *Naegleria fowleri* est l'une des trois espèces classiques de ce groupe. On la rencontre naturellement dans le sol et les eaux. Les kystes peuvent être transportés par voie aérienne. La transmission à l'homme se fait lors de baignade en eaux douces ou en piscines. Cette espèce peut provoquer des méningo-encéphalites amibiennes primaires. Il s'agit d'une pathologie rare mais gravissime (BARD et SICLET, 1995).

- *Acanthamoeba* est présente dans les sols, les eaux et la poussière des habitations. Elle peut provoquer des encéphalites amibiennes granulomateuses chez les sujets immunodéprimés et des lésions de l'œil chez les porteurs de lentilles (BARD et SICLET, 1995).
- *Entamoeba histolytica* transmis par l'eau et les aliments, est responsable de la dysenterie amibienne et d'abcès hépatiques. Dans le monde, on évalue le nombre de morts liés à ce parasite à plus de 100 000 par ans. Dans les pays tempérés, la pathogénicité est plutôt latente mais elle peut aussi évoluer en amibiase viscérale au pronostic sévère.

b- les flagellés :

Giardia lamblia est l'agent le plus souvent identifié dans les épisodes épidémiques liés à l'eau aux Etats-Unis. Les symptômes sont relativement entre 2 et 5% dans les pays industrialisés. Cet agent provoque des diarrhées et un état de nausée.

c- les sporozoaires :

Cryptosporidium parvum est transmis à l'homme par l'eau, les aliments souillés par les fèces de bovin. Cet agent provoque des diarrhées. La prévalence de cette infection est élevée (1 à 3% en Europe et aux Etats-Unis). Les symptômes sont relativement bénins chez les personnes immunocompétentes. En revanche, l'évolution de l'infection chez les personnes immunodéprimées et notamment les malades du SIDA en fait une maladie grave, puisqu'elle se transforme en diarrhée chronique entraînant déshydratation et perte de poids importante pouvant conduire à la mort (HAAS et al., 1996). Le taux de létalité chez les malades du SIDA lors d'épisodes épidémiques liés à l'eau d'alimentation est autour de 50% (HAAS et al., 1999).

La cryptosporidiose est une cause de diarrhée fréquente en Haïti. Elle est responsable de 17,5% des diarrhées aiguës observées chez les enfants de moins de 2 ans (PAPE et al., 1987) et de 30% des diarrhées chroniques chez les patients contaminés par le VIH. Elle constitue un problème de santé publique qui est étroitement lié aux conditions environnementales. Une étude menée à Port-au-Prince entre 2000 et 2001 portant sur 1529 examens de coprologie parasitaire indiquait que la prévalence de *Cryptosporidium* sp. était de 10,3%. Elle était de 98,2% chez les adultes VIH positifs et de 1,8% chez les VIH négatifs (RACCURT, 2002). L'étude des génotypes de *C. parvum* effectuée sur 69 isolats obtenus à partir des examens coprologiques montrait que 59% étaient du génotype I (humain), 38% du génotype II (bovin) et 3% étaient identifiés à *C. felis*, parasite du chat. Les génotypes I étaient retrouvés chez les enfants dans 72% des cas et les génotypes II dans 42% des cas chez les adultes VIH positifs. Une étude coprologie parasitaire menée chez 102 personnes vivant au contact de 45 patients VIH positifs montrait qu'un seul d'entre eux était porteur de *C. parvum* indiquant clairement que la transmission inter-humaine ne semble pas être directement mise en cause (RACCURT, 2002). Les sujets porteurs d'oocystes de *Cryptosporidium* sp. habitaient la région métropolitaine de Port-au-Prince dans 100% des cas et 60% des sujets parasités utilisaient comme eau de boisson celle du réseau de distribution de la ville (BRASSEUR et al., 2002).

IV.3. les pathologies infectieuses : un indicateur de risques microbiologiques

La prévention de la transmission des maladies infectieuses due à l'exposition de l'homme aux aliments, à l'eau, aux sols et à l'air pollués a toujours été un sujet de préoccupation majeure pour les professionnels de la santé publique et des sciences de l'environnement (HAAS et *al.*, 1999). Le risque de propagation d'épidémie a été, en effet, redouté et des mesures de quarantaine mises en place pour éviter la transmission des « miasmes » dans laquelle l'air est considéré comme jouant un rôle important (HARTEMANN, 1997).

Au cours de la première moitié du 19^{ème} Siècle, John SNOW a mis en évidence le risque d'épidémies liées à la contamination fécales des eaux de Londres et suite à ses études épidémiologiques, l'instauration de mesures préventives ciblées. La découverte des bactéries pathogènes, dans la deuxième moitié du 19^{ème} Siècle, et la négation de la génération spontanée ont conduit KOCH, PASTEUR et leurs disciples à définir, dans la droite ligne des contestations de SNOW, la notion d'indicateurs de contamination fécale.

IV.3.1. Les populations à risque

Au niveau mondial, 50% de la mortalité chez les enfants et les jeunes adultes sont liés aux maladies infectieuses. L'impact des maladies infectieuses est moins dramatique dans les pays développés que dans les PED.

Par ailleurs, HAAS et *al.*, (1999) rapportent les femmes enceintes, les personnes âgées, les nouveaux nés et les immunodéprimés comme les groupes cibles les plus sensibles aux maladies infectieuses. Pour ces différents groupes de la population sensible, il y a non seulement un risque élevé de morbidité et de mortalité liés aux agents pathogènes, mais également la possibilité d'apparition d'effets sévères liés aux agents dits opportunistes.

IV.3.2. Infections véhiculées par l'eau

Les maladies infectieuses causées par des bactéries des virus, des protozoaires ou des parasites constituent le principal risque pour la santé lié à la pollution de l'eau de boisson. Les maladies infectieuses sont transmises principalement par les excréta humains et animaux, notamment les fèces. S'il existe des malades ou des porteurs de germes dans la communauté, la contamination fécale de la source d'approvisionnement entraînera la présence des microorganismes responsables dans l'eau. La consommation de cette eau ou son utilisation pour la préparation des aliments ou la toilette et même son inhalation sous forme de vapeur ou d'aérosols peut provoquer une infection. Les germes pathogènes dont la simple présence dans l'eau constitue un risque grave sont les suivants : *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli* pathogènes, *Vibrio cholerae*, *lersionia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, les virus et les parasites *Giardia spp.*, *Cryptosporidium spp.*, *Entamoeba histolytica* et *Dracunculus medinensis*.

IV.3.3. Les germes multirésistants aux antibiotiques : les infections nosocomiales

Le rejet dans les écosystèmes des résidus d'antibiotiques, sans aucun traitement au préalable, a provoqué sur les germes bactériens une pression de sélection. Les germes sensibles meurent et favorisent ainsi sur la croissance des germes non sensibles qui se retrouvent sans compétiteurs. Les bactéries peuvent acquérir ce caractère de résistance par mutation spontanée ou par transfert horizontal de plasmides. Ce phénomène de pharmacorésistance a donné naissance aux infections communément appelées « maladies nosocomiales ».

De manière non exhaustive, les principaux germes responsables des infections nosocomiales sont: les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM), les klebsielles ayant une bêta-lactamase à spectre élargi ou étendu (BLSE), les *Pseudomonas aeruginosa*, la *Escherichia coli*, les *Streptococcus pneumoniae* (CHABBERT et BAUDENS, 1962 ; KISLAK et al., 1965 ; HANSMAN et al., 1971 ; SONG et al., 1987 ; BERNET et FINES, 2000 ; SOUSSY et al., 2000 ; SCANVIC-HAMEG et al., 2002 ; TRONEL et al., 2002 ; RIO et al., 2002 ; BERTRAND et al., 2002 ; JEHL et al., 2002).

a- *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM)

C'est au début des années 1960 que les premières souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) sont apparues après introduction de la méticilline, première bêtalactamine résistantes aux pénicillinases (CHABBERT et BAUDENS, 1962). La résistance à la méticilline est liée à l'acquisition d'une autre protéine de liaison à la pénicilline, la PBP 2a ou PBP 2', présentant peu d'affinité pour les bêta-lactamines (SONG et al., 1987). La production de PBP 2a est codée par le gène chromosomique *mecA*. L'origine de ce gène *mec* reste inconnue (SCANVIC-HAMEG et al., 2002). La particularité de la résistance à la méticilline chez le staphylocoque est lié à son expression hétérogène: une seule fraction sur 10^4 à 10^7 est capable d'exprimer la résistance (HARTMAN et TOMASZ, 1986).

En 1991, le taux de prévalence des SARM parmi l'ensemble des *Staphylococcus aureus* atteignait 29% (PANLILIO et al., 1992), 33,6% en France, et était très supérieur à celui d'autres pays européens (VOSS et al., 1994). En 1996, ce taux atteignait environ 35%, et l'incidence des isolats de SARM se situait entre 0,54 et 0,99 pour 100 patients admis dans les établissements français de court séjour (REGNIER, 1997; ONERBA, 1998). A l'intérieur des établissements, la transmission croisée est le principal mécanisme d'acquisition de SARM, à l'origine, parfois, de plus de 90% des cas de colonisation, et la coexistence de clones persistants et de bouffées épidémiques a pu être démontrée (CAILLEAUX et al., 1996; TRONEL et al., 2002). Ce mécanisme est également impliqué au niveau de la diffusion des souches entre établissements, à l'occasion du transfert de patients (TALON et al., 1996; TRONEL et al., 2002).

b- La bêta-Lactamase

Une bêta-lactamase est une enzyme d'inactivation de la famille des bêta-lactamines. Cette famille comprend un grand nombre de molécules dont la principale est la pénicilline G. La figure 11 présente le cycle bêta-lactame, élément indispensable à l'activité antibiotique des bêta-lactamines.

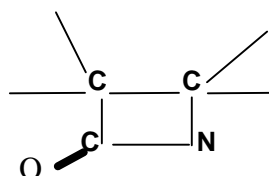


Figure 11 : Le cycle Bêta-lactame

Ces antibiotiques, agissant en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, sont classés en quatre groupes. La figure 12 fournit une représentation de la division des pénicillines.

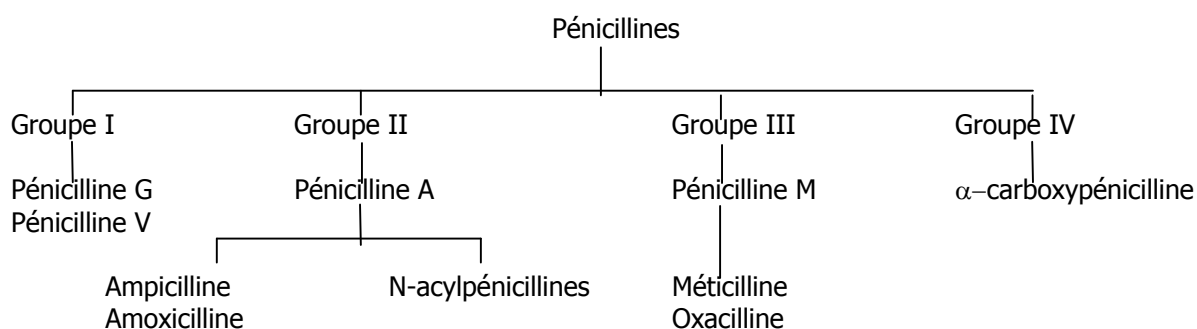


Figure 12 : La division des pénicillines

c- La bêta-Lactamase à Spectre Elargi ou Etendu (BLSE)

Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) sont des enzymes récemment apparues à la suite de mutations des pénicillinases. Elles sont plasmidiques donc transférables et sensibles à l'action des inhibiteurs enzymatiques. Les BLSE sont isolées dans plus de 80% des cas chez *Klebsiella pneumoniae* mais elles ont été observées également chez les entérobactéries comme *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, etc. (BERNET et FINES, 2000).

La présence d'une BLSE entraîne une résistance à toutes les bêta-lactamines sauf à l'imipénème. Cette résistance est généralement associée à une résistance cotransférable aux aminosides (sauf à la gentamicine), au chloramphénicol, aux cyclines et aux sulfamides. Elle pose de graves problèmes thérapeutiques.

d- *Pseudomonas aeruginosa*

Ces bactéries sont omniprésentes dans l'environnement et peuvent ainsi coloniser facilement un site de prélèvement. En milieu hospitalier, les conditions de réanimation des patients, soumis à des gestes invasifs multiples et dont les défenses immunitaires sont altérées, favorisent le déclenchement d'infections patentes à ces bactéries opportunistes, dont la mortalité est très élevée, qu'il s'agisse de septicémies ou pneumopathies (RIO et *al.*, 2002)

e- *Escherichia coli*

Ces bactéries sont par ordre de fréquence l'espèce la plus souvent isolée de prélèvements cliniques à visée diagnostique que ce soit en milieu hospitalier ou dans la communauté (BERTRAND et *al.*, 2002). Cette espèce bactérienne, en dépit de son image de bactérie communautaire représente aujourd'hui, l'une des premières causes d'infection nosocomiale en France (SOUSSY et *al.*, 2000) Naturellement sensible à de très nombreux antibiotiques, l'émergence puis la diffusion de différents mécanismes de résistance acquise au sein de cette espèce limitent maintenant les indications d'un certain nombre d'antibiotiques de première intention (BERTRAND et *al.*, 2002). La prévalence de la résistance de *E. coli* aux β -lactamines est en augmentation, les données françaises et européennes montrent que 30 à 40% des souches isolées sont résistantes à l'amoxicilline (LEPELLETIER et *al.*, 1999; VROMEN et *al.*, 1999).

f- Les *Streptococcus pneumoniae*

Le pneumocoque est une bactérie souvent responsable de pneumonies et de méningites, ainsi que d'otites moyennes et de sinusites aiguës (JEHL et *al.*, 2002). Initialement sensible à de nombreux antibiotiques, *Streptococcus pneumoniae* a développé, au cours des 30 dernières années, des résistances à un grand nombre de composés, les bêtalactamines mais aussi la tétracycline, le chloramphénicol, l'érythromycine et le triméthoprime-sulfaméthoxazole. Les premiers isolats cliniques présentant une sensibilité réduite à la pénicilline G ont été décrits au cours des années 1960 (KISLAK et *al.*, 1965 ; HANSMAN et *al.*, 1971). La proportion de souches de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) est estimée, toutes souches confondues, à 48% (JEHL et *al.*, 2002).

IV.4. La démarche générale de l'EDR et les MQERM

IV.4.1. Rappels sur la chaîne épidémiologique

La transmission d'un agent infectieux impose la co-existence de trois éléments indispensables à la réalisation de cette « chaîne » :

1. une source d'agent pathogène ou maintenant, de plus en plus, d'agents pathogènes opportunistes touchant des sujets fragilisés,
2. un mode de transmission
3. un sujet réceptif.

Les évolutions par rapport aux connaissances pastorienues portent sur ces trois éléments.

Au niveau de la **source**, on connaît de plus en plus de bactéries, virus, levures et champignons, parasites divers dont les caractéristiques sont très diversifiées tant par leur virulence que leur aptitude à la toxicogénèse avec une large gamme de pathogénécité mesurée au travers de la classique DL_{50} . De même, le réservoir peut être l'homme ou l'animal malade, des porteurs sains et parfois l'environnement (par exemple : *Legionella*). En réalité, l'environnement ne joue pour la plupart des agents pathogènes qu'un rôle de réservoir accidentel ou transitoire, le passage du germe dans

l'environnement étant fonction de la nature de l'infection chez le porteur - excrétion en cas d'infection ouverte, transfert par matériel ou insecte en cas d'infection.

La **transmission**, directe ou indirecte comme cela a été décrit depuis longtemps, suit des modalités parfois nouvelles, parfois complexes, favorisées par le progrès technologiques (par exemple : aérosolisation), mais le progrès des connaissances a porté sur les facteurs de survie d'un microorganismes dans l'environnement. Ceux-ci sont très nombreux (température, nutriments, pH, U.V., autres organismes, etc.) et leur présence ou leur absence vont conditionner le devenir de l'agent infectieux mesuré par le T90 (HARTEMANN, 1997).

Le **sujet réceptif** a beaucoup évolué grâce au progrès de la médecine et à l'augmentation de l'espérance de vie, qui ont favorisé l'émergence de populations avec un terrain fragilisé, plus ou moins profondément immunodéprimé. Ceci conduit probablement à devoir revoir l'application de la classique notion de Dose Minimale Infectante (DMI) utilisée jusque là pour caractériser la possibilité d'atteinte d'une population, par celle plus traditionnelle en toxicologie de courbe dose-réponse et dans ce cas l'usage de la dose nécessaire et suffisante pour infecter 1% de la population, la plus fragile, risque de s'imposer tant pour des raisons éthiques de prévention que pour des raisons de pression médiatique ou juridique sous l'influence de certains groupes. Les expériences consistent à faire ingérer différentes doses de pathogènes conservés en milieu nutritif, par exemple de kystes de *Cryptosporidium* (de 30 à 1 million de kystes) à des animaux de laboratoires ou à des volontaires en bonne santé, de compter le nombre de kystes excrétés dans les selles, et à surveiller l'apparition de signes cliniques (DUPPONT et CHAPPEL, 1995).

Ces paramètres caractérisent la capacité du microorganisme à induire des troubles cliniques chez le sujet infecté, encore moins de données sont disponibles. Ainsi, dans la famille des enterovirus, la gamme des virulences observées s'étend de 1 à 97%, ce qui a conduit à recommander de prendre 50% comme estimation moyenne en l'absence de données spécifiques (HARTEMANN, 1997). Les études qui ont permis de préciser la virulence d'un germe sont rares. C'est le cas de *Cryptosporidium parvum* dont la virulence avait été estimée à 100% lors de l'évaluation de l'impact sanitaire de l'accident de Milwaukee, impact qui s'est avéré voisin de celui réellement observé, validant ainsi les hypothèses élaborées (HAAS, 1996).

IV.4.2. Rappels sur la démarche général de l'évaluation du risque chimique

L'évaluation quantitative des risques a été initialement développée, pour évaluer les risques pour la santé humaine liés à l'exposition aux produits chimiques (NRC, 1983) et, sous sa forme plus simple, ce processus se compose de quatre étapes, à savoir :

- ✓ la caractérisation du danger,
- ✓ la caractérisation de l'exposition,
- ✓ la relation dose-effet,

- ✓ la caractérisation du risque.

Les résultats de ces étapes seront intégrés dans un processus de gestion du risque. Cette démarche générale de l'EDR chimique peut être appliquée à des processus épidémiologiques et sanitaires liés à l'EDR infectieux.

a- la caractérisation du danger

Dans le cadre de l'EDR microbiologique la caractérisation du danger vise à identifier, dans le milieu considéré, les microorganismes pathogènes potentiellement dangereux pour la santé humaine et les différents effets qui y sont liés. L'un des résultats, de cette analyse du danger, est la prise de décisions quant aux conséquence(s) principalement sanitaires à mesurer dans l'évaluation formelle des risques. Avec des microorganismes, les conséquences peuvent inclure l'infection (sans maladie apparente), la morbidité ou la mortalité ; en outre, ces événements peuvent se produire dans la population générale, ou à une fréquence plus élevée dans les sous-populations susceptibles (HAAS et EISENBERG, 2001). Bien que la mortalité due aux agents infectieux, même dans la population à risque, ne puisse être considérée comme négligeable (HAAS et *al.*, 1993), la tendance générale (en microbiologie de l'eau et des aliments) est de considérer l'infection dans la population générale pour laquelle la protection, par rapport à un risque particulier, est exigée (HAAS et EISENBERG, 2001). Cet objectif est justifié sur la base d'un équilibre entre le degré de conservatisme inhérent au choix de l'infection comme point final et l'incapacité de mesurer les risques à des sous-populations plus susceptibles (MACLER et REGLI, 1993).

b- caractérisation de l'exposition

Le but de l'évaluation des expositions est de déterminer les doses d'agents pathogènes consommées dans l'eau (ou les aliments) par un individu ou la population. Dans le cas de la microbiologie de l'eau, ceci peut rendre nécessaire l'évaluation des niveaux microbiologique de l'eau brute suivie de l'étude des changements probables de concentrations avec le traitement, le stockage et la distribution à l'utilisateur (REGLI et *al.*, 1991 ; ROSE et *al.*, 1991). Un deuxième objectif dans l'évaluation des expositions est la quantité d'agents infectieux ingérée par « exposition » (HAAS et EISENBERG, 2001).

Pour l'estimation de l'exposition aux microorganismes à partir de l'eau potable, MACLER et REGLI (1993) suggèrent par défaut, une dotation de 2 litres par habitant et par jour. ROSEBERRY et BURMASTER (1992) jugent cette dotation de conservatrice. Pour l'exposition par contact aux eaux de baignade, 100 mL par jour ont été souvent considérés comme mesure d'exposition (HAAS, 1983a). Les données réelles permettant de valider ce nombre sont actuellement inexistantes (HAAS et EISENBERG, 2001).

L'approche généralement utilisée, pour cette étape de l'EDR microbiologique, est principalement basée sur une approche épidémiologique consistant en une caractérisation microbiologique des milieux environnementaux et des mesures chez le récepteur « humain ». Compte

tenu des limites liées à la métrologie, il peut également être fait recours à la modélisation, en s'appuyant sur les données microbiologique prédictive. L'occurrence et la concentration des microorganismes sont variables dans le temps (variations journalières et saisonnières) et dans l'espace. Ce facteur limite la signification de mesures ponctuelles réalisées dans les milieux environnementaux. La source de contamination elle-même est variable. Par ailleurs, la forte hétérogénéité dans la répartition des germes pose des problèmes en terme d'interprétation des résultats de mesure. En effet, les microorganismes (en particulier les PI des virus) ont tendance à s'agglomérer. Dans le cas de la caractérisation de l'eau, on peut soit réaliser un échantillon global d'un litre, soit prélever 100 échantillons de 10 mL. Dans le premier cas, on obtiendra par exemple, une concentration de 10 virus par litre, dans le second cas, il est vraisemblable que beaucoup d'échantillons contiendront 0 germe et que ceux qui en auront, donneront plus d'un.

La prise d'un échantillon global conduit le plus souvent à (GALE, 1996) :

- ✓ une sous-évaluation du risque pour les germes infectieux. Avec une consommation d'un volume réduit, quelques personnes arriveront malgré tout à atteindre la dose minimale infectante,
- ✓ et une sur-évaluation du risque pour les germes très infectieux. Moins de personnes consommeront en fait la dose minimale infectante.

Par ailleurs, la recherche de germes pathogènes est souvent longue et coûteuse. Les germes pathogènes sont souvent présents en concentration faible par rapport à l'ensemble de la flore présente. Bien que viables et surtout infectieux, leur culture peut se révéler difficile. Dans le domaine de l'EDR sanitaire, ces difficultés ont souvent conduit à rechercher des germes indicateurs (E. coli, par exemple) la mesure est mieux maîtrisée et plus adaptée à l'analyse de routine.

c- la relation dose-effet

L'objectif de cette étape est de définir une relation entre le niveau d'exposition aux microorganismes et la probabilité d'occurrence d'un effet délétère. A ce stade, il est important d'établir une différence entre les effets infectieux et les effets toxiques. BAUCHANAN et *al.* (2000) avancent qu'une concentration de 10^5 CFU de *Staphylococcus aureus* par gramme d'aliments pour que les toxines émises par la bactérie puissent provoquer un effet toxique sur l'homme.

L'état des connaissances sur les effets infectieux des microorganismes permet d'acquérir les informations nécessaires sur la virulence, éventuellement les propriétés antigéniques et moléculaires, les mécanismes et la nature de la maladie causée par un agent pathogène. La littérature montre que si la nocivité de nombreux agents pathogènes est bien connue, moins nombreux sont ceux pour lesquels les doses minimales infectantes (DMI) ou doses conduisant à l'infection de 50% des sujets (DI_{50}) ont pu être établies sur l'animal (avec choix de l'espèce la plus sensible) et encore moins sur l'homme (HARTEMANN, 1997).

L'infection résulte d'un processus dynamique entre le microorganisme et son hôte, qui peut être définie comme étant de 4 paramètres : le nombre de pathogènes ingérés, leur infectivité, leur virulence, et l'état immunitaire de l'hôte, plus précisément de l'organe cible qui est ici le système gastro-intestinal humain. Il faut donc aussi rechercher les études réalisées sur la réponse immunitaire des personnes infectées, cela a été le cas pour *Giardia* et le virus de Norwalk (LJUNGSTROM et CASTOR, 1992), et notamment des personnes plus sensibles ou à risque.

Lors de l'identification des fonctions dose-réponse, le choix du modèle de la relation dose-réponse est fondamental pour l'estimation du risque puisqu'il fournit la probabilité d'infection à partir d'un niveau d'exposition ou, inversement, qu'il estime l'exposition à partir du taux d'attaque dans la population. Jusqu'à maintenant le raisonnement a utilisé divers modèles élaborés sur des données de type dose-effet ou dose-réponse, pour calculer une probabilité d'infection, et un risque annuel ou vie entière associé à tel ou tel milieu. Les trois modèles retenus

c.1. les modèles empiriques

Ces modèles reposent sur l'hypothèse d'un seuil de tolérance ou d'une dose minimale infectante pour chaque individu vis-à-vis d'un germe infectieux. Pour une exposition à une dose supérieure à ce seuil de tolérance, l'infection va se déclencher. Pour une exposition à une quantité inférieure de germes, il n'y aura pas d'infection chez l'individu considéré. La distribution des seuils de tolérance est représentée par une fonction de densité de probabilité. La probabilité P de développer une infection suite à une exposition à une quantité de germes s'écrit alors (HAAS et *al.*, 1999) :

$$P = \frac{1}{\sqrt{2} * \pi} \int_{-\infty}^z \exp\left(\frac{-z^2}{2}\right) dz \quad \text{Eq. 6}$$

$$\text{avec } Z = \frac{\ln N - \mu}{\sigma} \quad \text{Eq. 7}$$

N : dose d'exposition

μ : moyenne géométrique

σ : écart-type géométrique

Dans une population, selon ces modèles, la distribution des DMI suit une loi log-normale. Dans ces modèles, communément nommés modèle **log-normal** ou **log-probit**, se repose l'idée d'une coopération entre les microorganismes pour produire un effet, le risque étant alors fonction de la dose de germes ingérés. Le modèle log-normal ou log-probit est dit déterministe. Son emploi tend à disparaître car il s'ajuste peu aux données réelles.

C.2. les modèles mécanistiques

Les modèles mécanistiques considèrent que la probabilité de développer une infection dépend d'une part de la quantité de germes avec laquelle l'hôte entre en contact et de la fraction de ces germes qui va effectivement atteindre un site d'infection. L'infection est alors le résultat de deux processus séquentiels.

Soient :

$P_1(j/d)$: la probabilité pour un individu d'entrer en contact avec une quantité j de germes à partir d'un milieu induisant une exposition à une dose moyenne d (qui peut être le produit d'un volume et d'une densité),

$P_2(k/j)$: la probabilité que k germes survivent, permettant d'initier une infection chez l'hôte, pour une quantité j de germes avec laquelle l'hôte est entré en contact,

si on considère ces deux processus comme indépendants et si k_{\min} est le nombre minimal de germes nécessaires dans l'organisme-hôte pour déclencher une infection, alors la probabilité de développer une infection pour une dose moyenne d'exposition d , peut s'écrire :

$$P(d) = \sum_{k=k_{\min}}^{\infty} \sum_{j=k}^{\infty} P_1(j/d) * P_2(k/j) \quad \text{Eq. 8}$$

k_{\min} ne correspond pas à la notion de dose minimale infectante retrouvée dans la littérature, elle se rapporte à une **dose d'exposition**.

De nombreux modèles mathématiques peuvent être élaborés en fonction des hypothèses retenues.

c.2.1- Le modèle exponentiel

Ce modèle se base sur l'hypothèse de l'interdépendance d'action des microorganismes. La quantité de microorganismes ingérée n'affecte pas la probabilité d'infection. Deux états seulement sont possibles : **infecté** ou **non infecté**. En revanche, le niveau de contamination dans l'eau conditionne la probabilité d'ingérer un microorganisme et par conséquent de développer ou non une infection. C'est un modèle stochastique.

$$P = 1 - \exp(-rd) = 1 - \exp\left(-\frac{d}{k}\right) \quad \text{Eq. 9}$$

avec :

P : Probabilité d'infection d'un individu exposé à une dose d de microorganismes,

r : constante correspondant à la probabilité de survie du germe ingéré dans l'hôte (= définition de l'infection).

La distribution des microorganismes dans le volume d'eau est supposée être une distribution statistique de Poisson.

c.2.2. Le modèle Bêta-Poisson

Il dérive du modèle exponentiel, à la différence que la probabilité de survie du germe n'est pas considérée comme une constante mais par une distribution de probabilité, et ce pour tenir compte du caractère variable de ce paramètre (FURUMOTO et MICKEY 1967a,b; HAAS 1983b ; HAAS et EISENBERG, 2001). La formulation du modèle est :

$$P(d) = 1 - \left(1 + \frac{d}{\beta}\right)^{-\alpha} \quad \text{ou} \quad P(d) = 1 - \left[1 + \frac{d}{N_{50}}(2^{1/\alpha} - 1)\right]^{-\alpha} \quad \text{Eq. 10}$$

avec α et β : paramètres de la fonction de distribution $f(r)$,

N_{50} : la dose infectante moyenne.

HAAS (1983) a testé la validité des modèles log-normal, exponentiel et Bêta Poisson avec 9 jeux de données obtenues à partir de la caractérisation microbiologique d'effluents liquides. Le modèle Bêta Poisson n'a pu être rejeté dans 7 cas sur 9, le log-normal dans 5 cas sur 9 et l'exponentiel dans 3 cas sur 9. Lorsque ces modèles s'adaptent aux données, la N_{50} obtenue est presque identique pour les 3 modèles. En revanche, le risque obtenu avec le modèle Bêta Poisson pour les faibles doses était supérieur à celui obtenu avec le modèle log-normal. La figure 13 présente une comparaison, des résultats « dose-réponse » obtenus, entre les modèles exponentiel et Bêta Poisson (HAAS et EISENBERG, 2001).

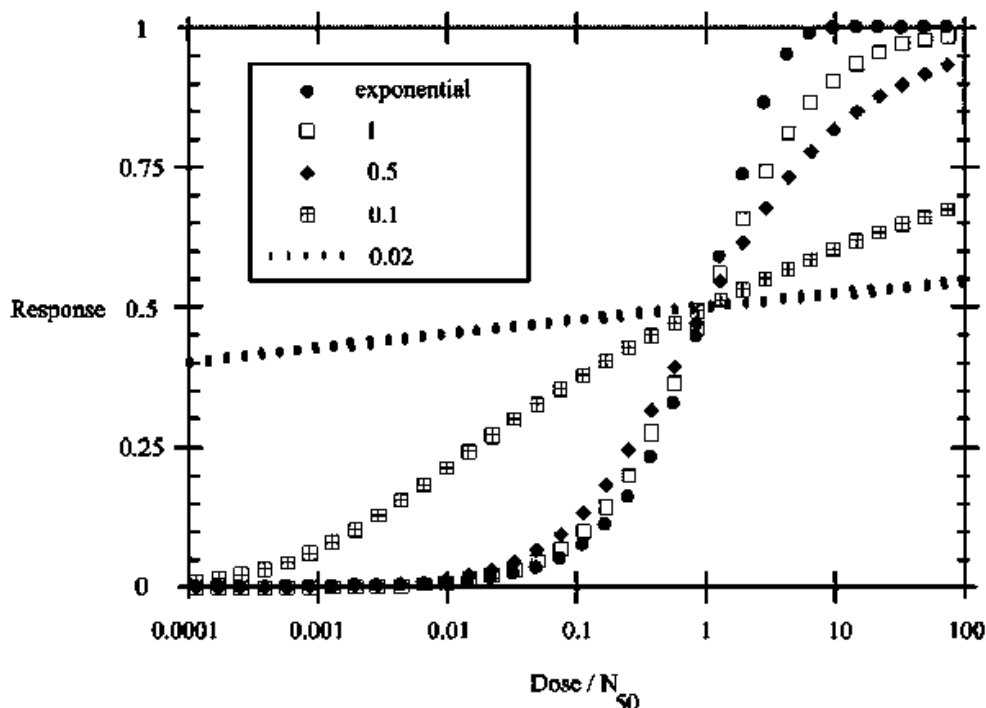


Figure 13: Comparaison des résultats de relation dose-réponse obtenus à partir des modèles exponentiel et Bêta-Poisson (HAAS et EISENBERG, 2001).

Les données expérimentales tendent à montrer une meilleure adéquation des modèles basés sur l'hypothèse de l'action indépendante que ceux basés sur l'hypothèse de l'action coopérative. Actuellement la tendance est donc de privilégier les relations dose-effet basées sur les hypothèses d'absence de seuil et d'action indépendante, qui se caractérise par une extrapolation de type linéaire aux faibles.

Les modèles exponentiels et de bêta-Poisson sont deux outils qui permettent de développer des relations dose-réponse à partir d'hypothèses biologiquement plausibles au sujet du processus d'infection. Le tableau décrit les meilleurs paramètres adaptés aux variables des relations dose-effet pour ces modèles (pour un certain nombre de microbes pathogènes humains). Ces données sont obtenues à partir d'études générales « dose-réponse » réalisées sur un échantillon d'adultes en bonne santé et peuvent, donc, ne pas refléter la réponse sur toute la population (HAAS et EISENBERG, 2001).

Tableau 15 : Variables des relations dose-effet d'agents pathogènes (HAAS et EISENBERG, 2001).

Microorganismes	Exponentiel k	Bêta-Poisson		Références
		N ₅₀	a	
Poliovirus	109,87			MINOR et <i>al.</i> , 1981
Rotavirus		6,17	0,2531	HAAS et <i>al.</i> , 1993 ; WARD et <i>al.</i> , 1986
Virus de l'hépatite A ^(a)	1,8229			WARD et <i>al.</i> , 1958
Adénovirus 4	2, 397			COUCH et <i>al.</i> , 1966
Echovirus 12	78,3			AKIN, 1981
Coxsachievirus ^(b)	69,1			COUCH et <i>al.</i> , 1965 ; SUPTTEL, 1963
<i>Salmonella</i> ^(c)		23,600	0,3126	HAAS et <i>al.</i> , 1999
<i>Salmonella typhosa</i>		3,60x10 ⁶	0,1086	HORNICK et <i>al.</i> , 1966
<i>Shigella</i> ^(d)		1120	0,2100	HAAS et <i>al.</i> , 1999
<i>Echerichia coli</i> ^(e)		8,60x10 ⁷	0,1778	HAAS et <i>al.</i> , 1999
<i>Campylobacter jejuni</i>		896	0,145	MEDENA et <i>al.</i> , 1996
<i>Vibrio cholerae</i>		243	0.25	HAAS et <i>al.</i> , 1999
<i>Entamoeba coli</i>		341	0,1008	RENFTORFF, 1954
<i>Cryptosporidium parvum</i>		238		HAAS et <i>al.</i> , 1996 ; DUPONT et <i>al.</i> , 1995
<i>Giardia lamblia</i>		50.23		ROSE et <i>al.</i> , 1991

d- la caractérisation du risque

Le processus de la caractérisation de risque combine l'information sur l'exposition et celle sur la relation dose-réponse dans une analyse de probabilités sur l'occurrence des effets défavorables. Ceci peut être fait de deux manières. D'abord, une évaluation simple des points d'exposition (c'est-à-dire le nombre d'organismes ingérés) peut être combinée avec une évaluation simple des paramètres de la relation dose-effet pour estimer les points de risque. Ceci peut être fait en utilisant une démarche permettant d'obtenir une mesure de tendance centrale, ou d'employer une stratégie extrême visant l'atteinte une mesure extrême. Une approche alternative, qui est de plus en plus appréciée et utilisée actuellement, est de caractériser la pleine distribution de l'exposition et des rapports dose-réponse, et de combiner ces divers outils en effectuant (par exemple, une analyse de Monte Carlo) une distribution aléatoire de risque (HAAS et EISENBERG, 2001). Cette approche donne l'information nécessaire sur l'imprécision relative de l'évaluation de risque, aussi bien que des mesures de tendance centrale et de valeurs extrêmes (BURMASTER et ANDERSON, 1994 ; FINKEL, 1990).

L'utilisation des techniques de Monte Carlo permet d'évaluer la contribution relative de l'incertitude et de la variabilité à une estimation du risque. La variabilité peut être définie comme

l'hétérogénéité intrinsèque menant au risque différentiel parmi des secteurs du groupe exposé, peut-être résultant des sensibilités différentielles ou des expositions différentielles. L'incertitude peut être définie comme des facteurs d'imprécision et d'inexactitude qui limitent la capacité de mesurer exactement le risque. Par ailleurs, l'incertitude peut être réduite par des ressources additionnelles, qui pourront être consacrées à la caractérisation de la relation dose-effet. La variabilité représente une limite inférieure à la distribution globale de risque (HAAS et EISENBERG, 2001).

e- La gestion du risque

Les résultats d'une caractérisation de risque sont employés dans la gestion des risques. La compréhension des niveaux d'action appropriée pour la prise de décision en ce qui concerne des microorganismes est encore dans son jeune âge (HAAS et EISENBERG, 2001). Cependant, dans le cas des protozoaires présents dans les eaux, on suggère, aux Etats-Unis, qu'un risque annuel d'infection de 0.0001 (c'est-à-dire. 1 pour 10 000) est approprié pour l'eau potable (MACLER et REGLI 1993).

f- Les particularités du risque microbiologique

Les particularités du risque microbiologique par rapport au risque chimique ou radioactif résident dans la possible amplification du danger dans l'environnement (croissance de l'agent, acquisition de caractères nouveaux, adaptabilité). L'existence de réservoirs humains, animaux et environnementaux difficilement maîtrisables peut être également considérée comme une de ses particularités (HARTEMANN, 1997).

V. Les incertitudes

V.1. La prise en compte des incertitudes

Plusieurs sources d'incertitudes peuvent intervenir depuis une évaluation de risques. Tout au long de la démarche et plus particulièrement au moment de l'élaboration du modèle conceptuel, il a dû énoncer des hypothèses qui ont conditionné le résultat final.

En effet, le développement du modèle conceptuel peut être considéré pour l'un des plus importantes sources d'incertitudes dans l'évaluation des risques. Si les relations les plus importantes ne sont pas prises en compte ou du moins sont spécifiées de manière incorrecte, la caractérisation du risque peut ne pas trop bien estimer les éventuels risques (EPA, 1998). Le manque d'informations sur le fonctionnement des écosystèmes et la faiblesse dans l'identification dans l'interrelation spatio-temporelle des paramètres sont également d'importantes sources d'incertitudes.

Les incertitudes peuvent surgir également de trop grandes considérations accordées aux effets secondaires. Dans certains cas, il est intéressant d'avoir une maîtrise du mode de transfert dans l'environnement, ou de l'état (par exemple la spéciation où un métal est plus toxique pour les organismes vivants) où il exerce des effets indésirables (EPA, 1998).

Plusieurs stressors peuvent se présenter sous la forme d'un amalgame, et dans le modèle conceptuel on tient compte que d'un seul stressor. Les experts peuvent ne pas être d'accord avec un tel modèle. Toutefois, lorsque les modèles simplifiés et le manque d'informations sont inévitables, l'évaluateur des risques doit approfondir son étude bibliographique pour justifier son modèle et arranger les composantes de ce modèle dans un ordre hiérarchique d'incertitudes (SMITH et SHUGART, 1994).

Les incertitudes résultant du modèle conceptuel peuvent être explorés en considérant des relations alternatives. Si plus d'un modèle est possible, l'évaluateur de risque peut évaluer lequel des algorithmes de déduction plausible, fournit le meilleur résultat en appliquant séparément les modèles jusqu'à la phase d'analyse. Il peut également combiner les différents pour modèles pour développer un nouveau plus pertinent (EPA, 1998).

Les données toxicologiques et physico-chimiques des substances, la bonne connaissance de leur transfert et de leur mobilité dans les milieux de l'environnement, les caractéristiques des milieux, des populations humaines, des communautés écologiques, la fiabilité de la mesure des substances notamment dans des milieux complexes, etc. sont autant de valeurs présentant des divergences dans la littérature et dont les sources scientifiques plus ou moins fiables nécessitent de justifier le raisonnement retenu afin d'observer sa transparence. La discussion de ces incertitudes, au regard des choix qui ont été faits, est donc indispensable pour apprécier le risque dans toute sa dimension (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

V.2. Les incertitudes et les effets environnementaux

La caractérisation des risques pour les écosystèmes nécessite de garder présent à l'esprit que les éléments en traces sont toujours présents sous différentes formes et à ces concentrations variables dans l'environnement. Leur présence est due à une origine naturelle (fond géochimique) ou résulte de pollutions liées à l'extraction des minerais, à leur transformation ou à l'emploi de certains de leurs dérivés. Les formes bio disponibles sont susceptibles d'interférer à différents niveaux des processus biologiques et d'être responsables de graves perturbations. Si certains éléments sont considérés comme des oligo-éléments indispensables à la vie chez certaines espèces (zinc, cuivre, sélénium, chrome, nickel) tous peuvent être à l'origine d'effets toxiques si les doses absorbées sont importantes (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

Les hypothèses engendrant de l'incertitude sont nombreuses. Elles tournent autour des paramètres qui conditionnent la (bio) disponibilité et la mobilité des substances dans les milieux sur les essais de laboratoire qui ont permis de proposer des valeurs de références toxicologiques. Les expérimentations menées en laboratoire, dans des conditions simplifiées, ne simulent pas l'ensemble des situations de l'environnement. En outre, elles n'ont pas forcément été conduites sur des populations ou communautés représentatives de celles présentes sur les écosystèmes étudiés. Quant aux données concernant les expositions, elles sont difficilement interprétables car la représentativité des échantillons examinés est souvent limitée. De plus, elles tiennent rarement compte des possibilités d'évolution au cours du temps des formes présentes sous l'influence de la nature du biotope ou de l'activité de la biocénose. Toutes, ces incertitudes concourent à majorer le risque calculé. Dans le cas des effets environnementaux, l'appréciation chiffrée de cette incertitude globale est difficile voire impossible en l'état actuel des connaissances (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

V.3. les incertitudes et les effets sanitaires

La quantification des risques sanitaires est attachée de nombreuses sources d'incertitudes qu'il est nécessaire de bien identifier afin d'estimer un intervalle de confiance pertinent autour du risque calculé. L'influence des hypothèses soutenues se fera dans le sens d'une sur ou d'une sous-estimation du risque encouru par les cibles choisies (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

La première des incertitudes repose sur le raisonnement mono polluant établi classiquement. En effet, les données étant très rares sur les conséquences d'un mélange de polluants, on les distingue tous séparément. Les synergies et antagonismes sont donc ignorés délibérément. Dans le même ordre d'idée, on ajoutera que tous les polluants ne sont pas accessibles à la mesure. Dans ce cas aussi, leur ignorance peut être pénalisante car il n'est pas possible de tenir compte de leur toxicité (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

Les valeurs toxicologiques de référence sont établies après affectation d'un certain nombre de facteurs de sécurité palliant la méconnaissance de l'extrapolation inter espèce, de la variabilité intra espèce, de l'utilisation d'un LO(A)EL plutôt que d'un NO(A)EL : elles vont plutôt dans le sens d'une surestimation. De plus, l'évaluateur aura tendance à choisir la valeur la plus pénalisante à titre de sécurité. Ici aussi, l'utilisation de lignes directrices dans la sélection d'une valeur toxicologique de référence est indispensable. L'évaluateur des risques doit pouvoir identifier les principales sources d'incertitudes et tenter d'y remédier, au moins pour les incertitudes majeures, sous forme de propositions de recherches (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

V.4. La gestion de l'incertitude

La gestion de l'incertitude, note DUJET (1998), est au cœur des problèmes d'analyse des systèmes complexes. Nombreuses sont les incertitudes qui peuvent surgir de l'étape de conception jusqu'à celle de l'évaluation des anthroposystèmes.

Théoriquement, il existe deux types d'incertitudes. Un premier type d'incertitude qui naît de l'absence de frontières nettes entre une classe d'objets (états) et une autre classe, et le deuxième, une incertitude de type aléatoire (non spécifique) où se manifeste la difficulté à spécifier la solution exacte (DUJET, 1998). Dans les applications de la méthodologie générale d'évaluation des risques sanitaires et écologiques, GUYOMET et *al.* (2002) notent deux démarches qui sont traditionnellement utilisées pour tenir compte de l'incertitude dans l'évaluation de l'exposition d'une cible vivante aux polluants contenus dans les rejets ou déchets des anthroposystèmes. Une approche que l'on qualifiera de « *déterministe* » et l'approche « *probabiliste* ». La démarche déterministe consiste à attribuer des valeurs dites « *sécuritaires et majorantes* » aux paramètres incertains qui influencent le risque d'exposition. Si le risque calculé demeure en deçà d'un seuil maximal admissible fixé par l'autorité compétence, on estime alors que les rejets ou déchets de l'anthroposystème étudié ne pose pas de problème sanitaire ou écologique (GUYOMET et *al.*, 2002). La démarche probabiliste consiste à représenter les paramètres incertains par des distributions de probabilité et à transmettre l'incertitude relative à ces paramètres sur celle du risque encouru par la cible, en appliquant par exemple la technique dite Monte Carlo (VOSE, 1996).

Les données utilisées, le plus souvent dans les évaluations de risques manquent de précision, sont inexactes, incertaines et parfois trop aléatoires. Dans les situations, où l'information disponible n'est pas suffisante quantitativement pour la mise en œuvre de distributions de probabilité statistiquement représentatives, il paraît difficile de déterminer les incertitudes associées aux risques estimés. ZADEH (1965) a introduit, dans ses travaux sur la théorie des systèmes, la notion de « *sous-ensemble flou* » (en anglais « *Fuzzy set* »), à partir de l'idée d'appartenance partielle à une classe, de catégorie aux limites mal définies, de gradualité dans le passage d'une situation à une autre, dans une généralisation de la théorie classique des ensembles, admettant des situations intermédiaires entre le

tout et le rien. Les développements de cette notion, souligne BOUCHON-MEUNIER (1999), fournissent des moyens de représenter et de manipuler des connaissances imparfaitement décrites, vagues ou imprécises et ils établissent une interface entre des données décrites symboliquement (avec des mots) et numériquement (avec des chiffres). La *logique floue* conduit à raisonner sur de telles connaissances.

La *théorie des possibilités*, introduite par ZADEH (1978), constitue un cadre permettant de traiter des concepts d'incertitude de nature non probabiliste. Lorsqu'elle est considérée à partir de la notion d'ensemble flou, la théorie des possibilités constitue un cadre permettant d'exploiter, dans un même formalisme, imprécisions et incertitude.

VI. Conclusion

VI.1. La démarche générale de l'EDR

L'évaluation des risques écologiques ou sanitaires peut-être prospective ou rétrospective (SUTER, 1993). Le processus d'évaluation de risque comprend trois étapes (voir la figure 6) : la formulation de problème, l'analyse et la caractérisation du risque (EPA, 1992).

L'étape de **formulation du problème**, considérée comme la phase de planification et de délimitation, consiste en une prise de connaissance de la problématique sanitaire et écologique posée par les substances dangereuses émises ou qui seront émises par le système à évaluer. Au cours de cette étape, l'évaluateur du risque aura à élaborer un modèle conceptuel (le scénario), dans lequel seront identifiés :

- les stressseurs, les écosystèmes à protéger, les éléments à risque (définitions des points finaux d'évaluation) ;
- les échelles spatiales et temporelles des phénomènes, les approches utilisées (tests de toxicité, bio-essais,...) ;
- les données factuelles nécessaires.

La **phase d'analyse** comprend deux opérations parallèles, la caractérisation de l'exposition et la caractérisation des effets écologiques. CHAPMAN (1991) note trois types d'outils découlant de la formulation du problème qui peuvent être mis en œuvre pour la réalisation de la phase d'analyse :

- les modèles expérimentaux ;
- les indicateurs in situ ;
- les modèles mathématiques incluant les modèles statistiques et les modèles déterministes.

Les modèles expérimentaux sont les essais classiques du devenir, du comportement et des effets des polluants (a) à différents niveaux d'organisation, c'est-à-dire les essais de laboratoire (tests monospécifiques) et les différents essais intégrés – depuis les essais plurispécifiques jusqu'aux mésocosmes – et (b) pour différents types de polluants, depuis la substance pure jusqu'au milieu pollué « bio-essais » (RIVIERE, 1998).

Les indicateurs in situ consistent en des observations et des études de terrain sur la réaction des éléments vivants par rapport aux xénobiotiques. Ils comprennent :

- les mesures effectuées sur un site pour déterminer les concentrations de polluants ;
- les observations de nature éco-épidémiologiques, destinées à mettre en évidence les effets toxiques. L'utilisation d'organismes sentinelles et l'observation d'effets toxiques sur des végétaux cultivés ou des animaux encagés sur le site, relèvent aussi de cette dernière approche.

Les modèles mathématiques sont le plus souvent utilisés pour exprimer les résultats des essais classiques. Ils se divisent en deux grandes catégories :

- a- **les modèles statistiques** – Ces modèles servent à la description et à l'interprétation des résultats des tests. La classique relation log(dose)-probit qui relie la concentration du toxique à la mortalité, est l'un des exemple de ces modèles. Les modèles statistiques (modèles de régression) sont des algorithmes qui servent à extrapoler de l'espèce testée à l'espèce présente dans le milieu naturel, ou à des doses qui sont en dehors de la gamme testée, ou encore à des produits différents (RIVIERE, 1998).
- b- **Les modèles déterministes** – Ils sont élaborés après une analyse fine des phénomènes physiques, chimiques et biologiques qui peuvent intervenir lors de l'exposition, dans les conditions du scénario, des écosystèmes cibles aux effluents pollués étudiés. La prédiction de ces phénomènes peut être basée sur des données théoriques, mais elle peut aussi, et cela est à notre avis tout à fait souhaitable compte tenu de la complexité des phénomènes mis en jeu dans le cas des dépôts de sédiments, s'appuyer sur des résultats expérimentaux (BABUT et PERRODIN, 2001).

L'exposition désigne le contact des éléments vivants avec un agent physique ou chimique (EPA, 1986). La National Research Council (1983) définit cette étape comme « l'opération de mesure et d'estimation de l'intensité, de la durée et de la fréquence de l'exposition à un produit dangereux ». Pour SUTER (1993), c'est « l'opération qui relie source et effet ». La réalisation de cette étape suppose, selon RIVIERE (1998), l'identification précise :

- du cadre spatial et temporel
- des éléments en présence (X, le polluant et Y, le pollué)
- des forces qui les animent (→)
- de leur interaction (XY)

La caractérisation des effets écologiques se base sur les essais de toxicité et d'écotoxicité réalisés sur différentes espèces animales ou végétales, ou encore sur des données éco-épidémiologiques provenant d'espèces domestiques ou sauvages exposées à la pollution environnementale (organismes sentinelles).

L'étape finale « **la caractérisation des risques** » est la confrontation de l'évaluation des effets à celle de l'exposition (BABUT et PERRODIN, 2001).

Le paradigme de l'évaluation des risques offre un cadre général permettant d'élaborer, à partir d'un modèle conceptuel spécifique, une méthodologie pour estimer l'éventuel risque lié à toute activité qui émet des rejets et des déchets. Il permet d'extrapoler des maillons inférieurs de la chaîne, considérés dans le processus pour des points finaux (d'évaluation et de mesure), jusqu'à l'homme. Fondamentalement, le processus d'évaluation des risques écologique permet de mieux appréhender les interactions existantes entre les différentes espèces vivantes des systèmes abiotiques.

VI.2. Conclusions et objectifs

L'objectif de cette étude est d'évaluer les risques pour la santé humaine et pour les écosystèmes liés à l'exposition des substances émises par les hôpitaux à partir de leurs rejets liquides. Les problèmes écologiques et sanitaires posés par les effluents hospitaliers ont à moyen-terme des coûts économiques et sociaux externes qui se manifesteront particulièrement au niveau de certains secteurs. Le tableau 10 illustre certains effets économiques et sociaux pouvant résulter de l'exposition des effluents hospitaliers.

Tableau 16 : Les effets économiques et sociaux pouvant résulter de l'exposition des E.H.

Exposition des effluents hospitaliers	Effets économiques et sociaux
Emission de polluants vers les écosystèmes naturels	Induction d'un danger pour les milieux vivants (eau, sol, air)
Pollution des eaux de surface et des nappes	Augmentation des coûts de production d'eau potable
Pollution des écosystèmes aquatiques et du sol	Destruction de la biodiversité des milieux avec des effets directs sur les populations, en particulier des bactéries, des algues, des invertébrés avec des conséquences sur le potentiel épuratoire des écosystèmes artificiels (les STEP) et des écosystèmes naturels . Effets indirects sur les peuplements des poissons qui représentent une source importante de protéine pour l'homme, et parfois la seule source de protéines pour des populations de PED
Contamination des coquillages	Diminution de la pêche à pied, effet indirect sur l'industrie de l'artisanat

Pour l'atteinte des objectifs de l'étude, la méthodologie générale de l'EDR fournit un cadre théorique permettant d'élaborer le modèle conceptuel à partir du mode gestion des effluents hospitaliers observé dans les pays industrialisés et dans les PED.

Dans les pays industrialisés les hôpitaux sont répertoriés comme des infrastructures collectives urbaines. Pour les activités de soins et de recherches médicales, les établissements de santé utilisent un important volume d'eau et beaucoup de substances chimiques. En France, Les dispositions prévues par les arrêtés préfectoraux spécifiques, concernant l'exploitation des établissements hospitaliers autorisés, leur attribuent le statut **d'Installations Classées pour la Protection de l'Environnement** (ICPE). Etant des établissements classés, les hôpitaux sont obligés de respecter un certain nombre de prescriptions, notamment en matière de rejets liquides (CLIN PARIS-NORD, 1999). Les effluents liquides ainsi générés par les hôpitaux, sont donc rejetés dans le réseau d'assainissement urbain pour être ensuite traités par la STEP communale. Etant un élément de l'ensemble du système urbain, les rejets hospitaliers deviennent donc, dans la gestion des sous-systèmes de la ville ou des réseaux physiques urbains, un objet de recherche rattaché aux politiques de santé publique et d'aménagement de l'espace. Pour mieux appréhender les modes de transfert des

polluants hospitaliers du terme source vers les cibles pré-sélectionnés, la figure 14 reproduit le mode de gestion des rejets liquides observé dans une grande ville du Sud-Est de la France.

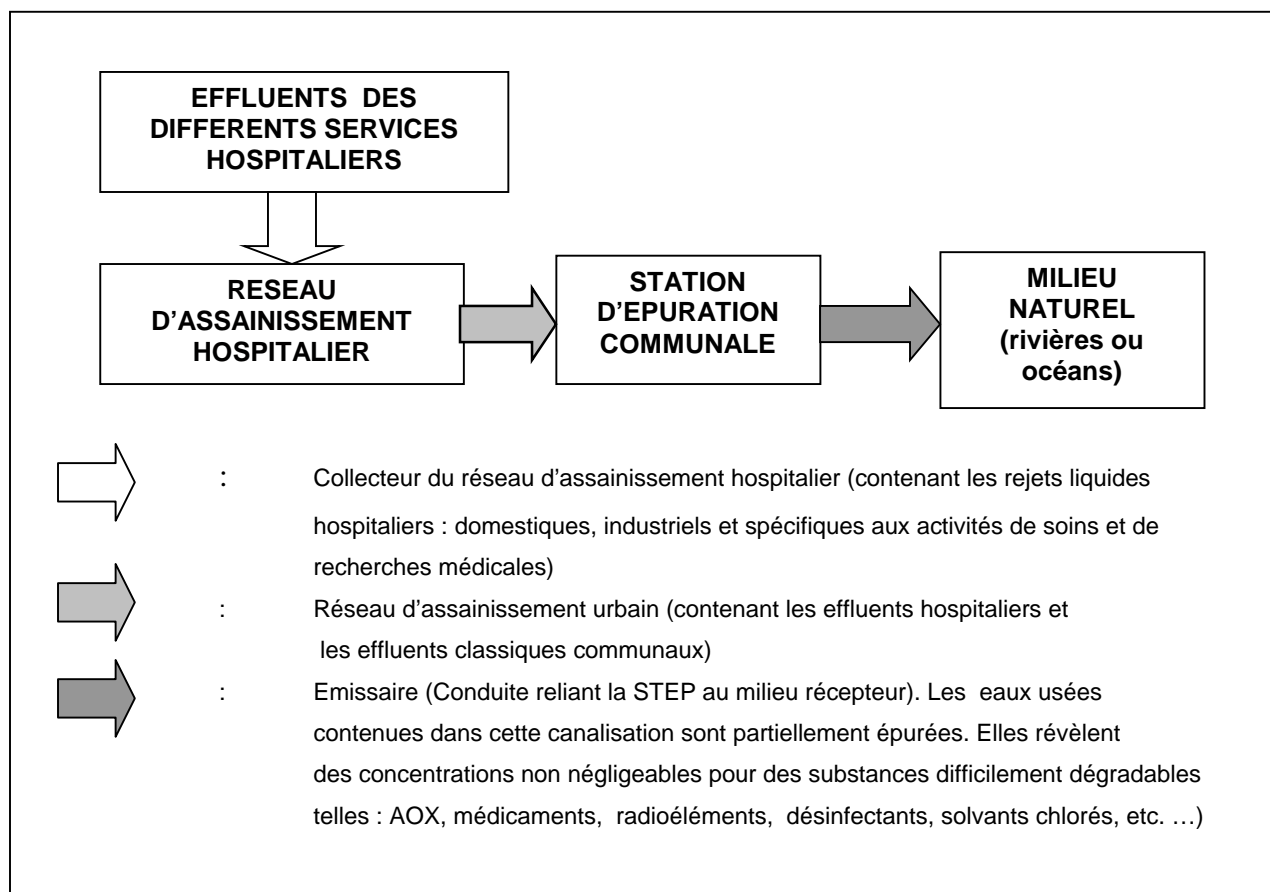


Figure 14: Mode de gestion des effluents liquides hospitaliers observé dans une grande ville du Sud-Est de la France.

La précarité des conditions économiques des pays en développement a fait du rejet des effluents dans les cours d'eau ou dans la mer et de l'épandage sur les sols, les seuls moyens de traitement et d'élimination des eaux usées. Ces méthodes provoquent, le plus souvent, la **contamination des eaux de surface, des eaux souterraines et du sol**. A Port-au-Prince, les eaux usées domestiques et industrielles collectées au niveau de cet espace urbain se déversent directement dans la mer sans aucun traitement préalable. Les collecteurs du système de drainage des eaux pluviales servent, entre autres, de latrines à des milliers de sans-abris de la zone métropolitaine (EMMANUEL et AZAEL, 1998). La figure 15 fournit une compréhension du mode de gestion des effluents liquides de certains hôpitaux de Port-au-Prince en Haïti.

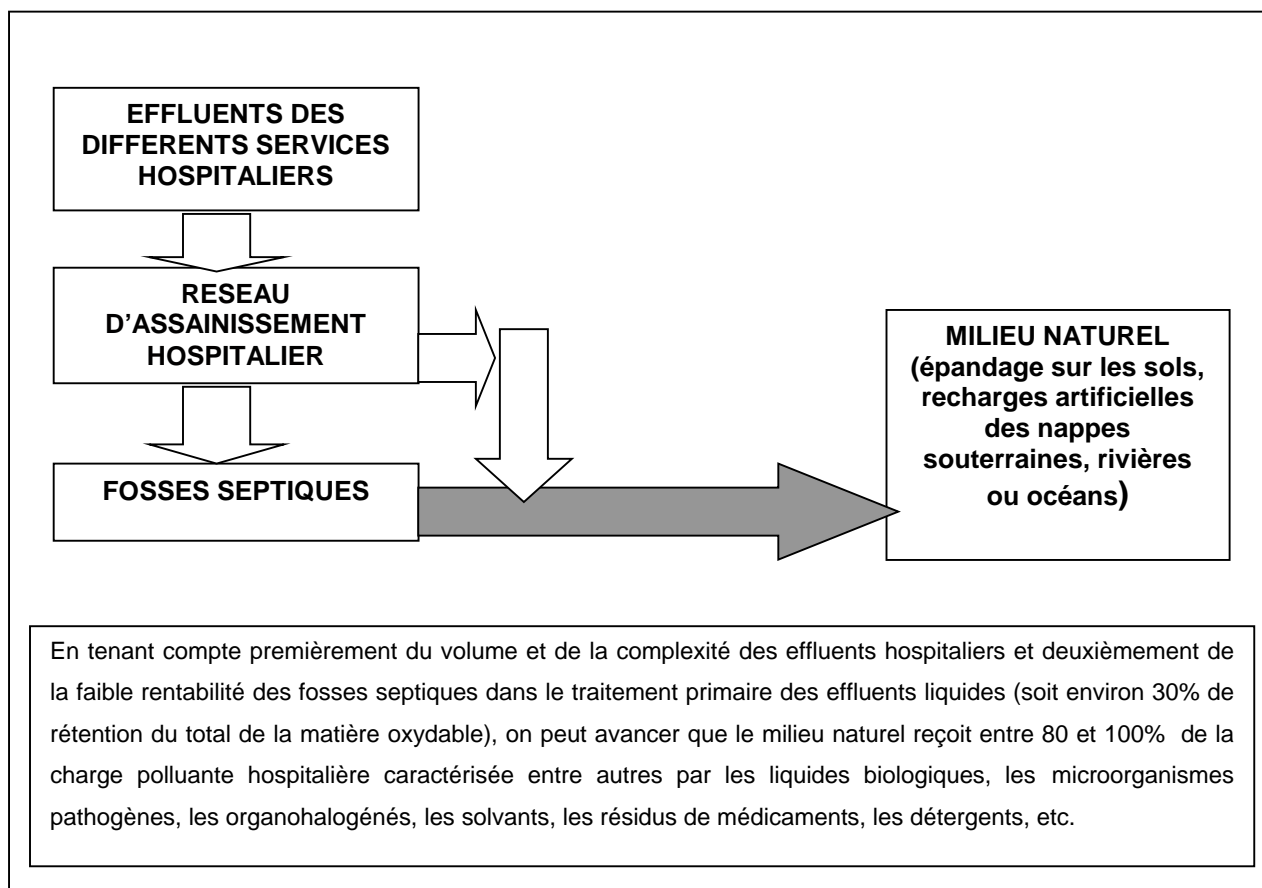


Figure 15 : Mode de gestion des effluents liquides de certains hôpitaux de Port-au-Prince en Haïti.

Les deux modes de gestion diffèrent par la dilution que connaissent les effluents hospitaliers dans le réseau d'assainissement urbain et dans les STEP des pays industrialisés avant d'arriver dans les milieux naturels, alors que dans les PED la charge polluante de ces rejets liquides arrive dans les écosystèmes pratiquement inchangée. Le danger, inhérent à ces effluents, pour les écosystèmes s'exprime dans les deux modes de gestion. Cependant il est généralement plus aigu dans l'environnement des PED, pour des raisons liées à une faible ou une absence de dilution.

En effet, il est reporté que les effluents hospitaliers sont dilués au moins de 100 fois dans la STEP (NICNAS, 1994 ; JOLIBOIS et *al.*, 2002) et certaines substances chimiques notamment les désinfectants et les détergents réagissent soit avec les protéines (NICNAS, 1994), soit avec les sucres pour donner des substances plus dégradables. En prenant en considération la possibilité pour une substance comme le glutaraldéhyde de réagir avec les protéines contenus dans les affluents et les facteurs de dilution de la STEP, JOLIBOIS et *al.* (2002) avancent « la concentration du glutaraldéhyde dans les effluents de la STEP et dans les eaux de surface est 1000 fois plus faible que celle mesurée dans le réseau d'assainissement de l'hôpital ».

Par ailleurs, la Commission Européenne (1995) recommande un facteur moyen de dilution de 10 pour les médicaments dans les eaux naturelles. Ce faible taux de dilution est dû probablement aux caractères peu biodégradables de ces molécules. La figure 16 présente les principaux stressés susceptibles de provoquer des effets indésirables aux écosystèmes.

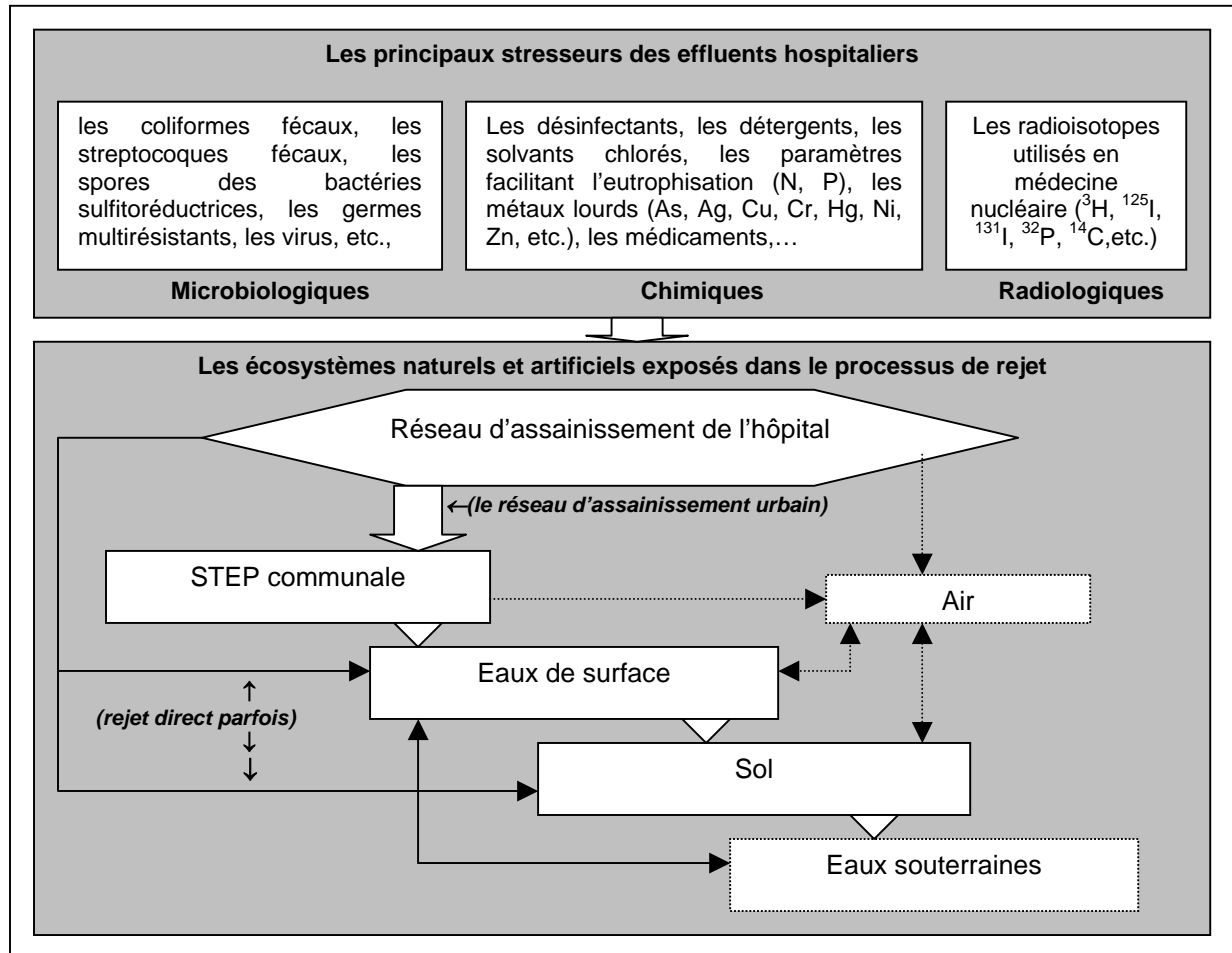


Figure 16 : Les principaux écosystèmes pouvant être exposés aux effluents hospitaliers.

Dans la figure 16, l'approche en cascade (PERRODIN *al.*, 2002) est utilisée pour illustrer la source et les voies de transferts des polluants. Cette approche permet également d'identifier les écosystèmes à protéger. Des pointillés sont utilisés pour représenter les effets jugés secondaires dans le cas des risques liés aux effluents hospitaliers. La figure 17 présente une synthèse de la littérature et le schéma général de l'évaluation des risques et l'objectif de ce travail de thèse.

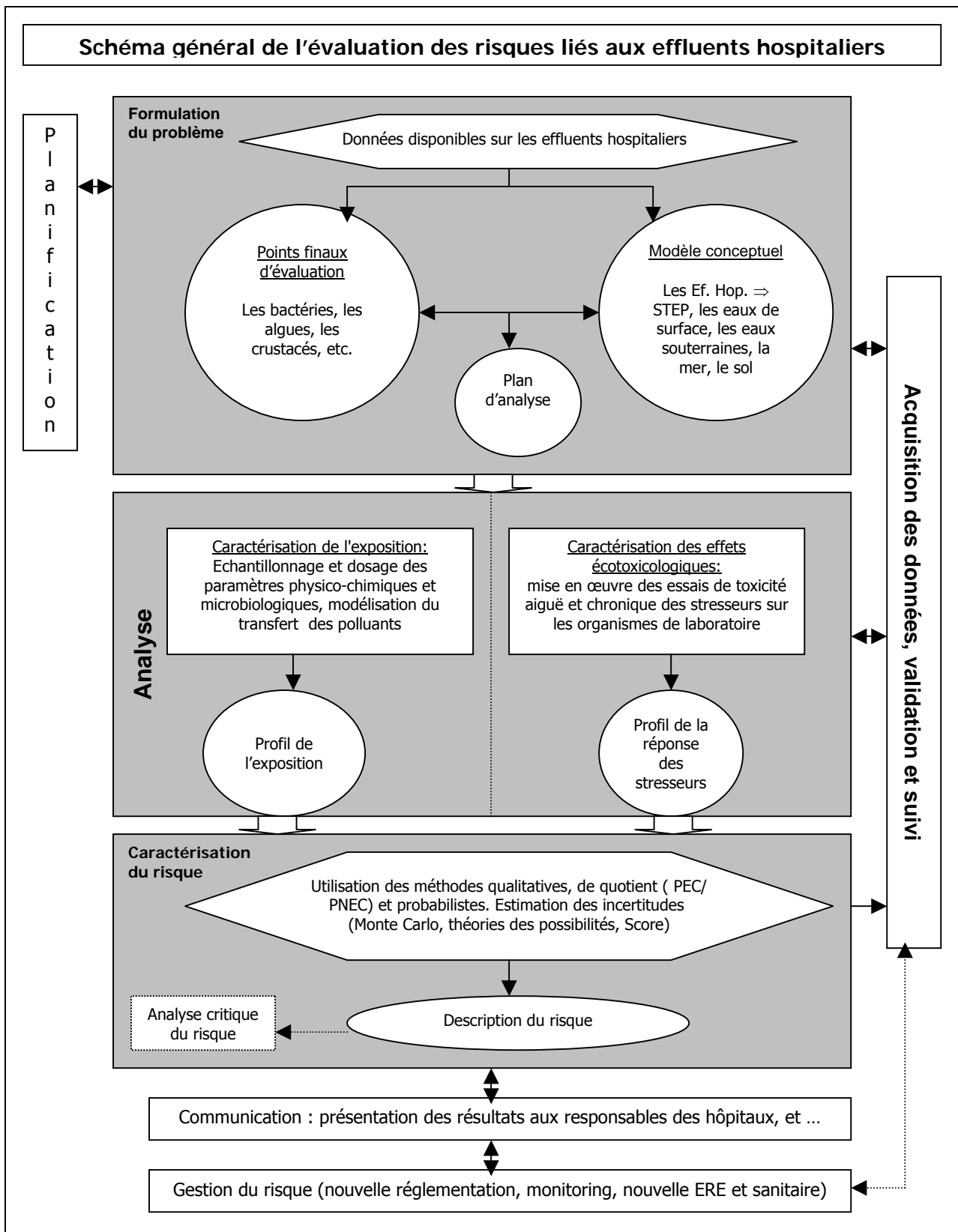


Figure 17 : Synthèse de l'approche de l'évaluation des risques et l'objectif général de cette étude.

CHAPITRE III ÉLABORATION DE MÉTHODOLOGIES POUR L'ÉVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ET ÉCOTOXICOLOGIQUES DES EFFLUENTS HOSPITALIERS

I. Introduction

I.1. Rappel de la problématique des effluents hospitaliers

Les substances chimiques utilisées dans les hôpitaux pour les activités de soins et pour la recherche médicale sont le plus souvent retrouvées dans les effluents liquides. Même si le volume élevé d'eaux usées généré par ces établissements, assure une dilution importante des polluants présents (EPA, 1989a), 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. En effet, les hôpitaux ont été identifiés comme une source incontestable d'émissions de composés chimiques dans les écosystèmes aquatiques (JOLIBOIS et *al.*, 2002). Les contaminants les plus fréquemment rencontrés sont des micro-organismes pathogènes (dont certains sont multi résistants aux antibiotiques), des métaux (LEPRAT, 1998, EPA, 1989a), des radio isotopes (RODIER, 1971 ; ERLANDSSON et MATSSON, 1978), des détergents (DELOFFRE-BONNAMOUR, 1995; EPA, 1989a), des composés organohalogénés et des résidus de médicaments (RICHARDSON et BOWRON, 1985; GARTISER et *al.*, 1996). Certains de ces polluants, particulièrement les résidus de médicaments et les composés organochlorés, quittent le plus souvent les stations d'épuration avec peu de dégradation.

I.2. Justification de la réalisation d'une évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques

La présence dans les effluents hospitaliers de micro-organismes pathogènes et des polluants répertoriés dans le chapitre 1, et rappelés ci-dessus, peut conduire à des problèmes sanitaires, via la contamination des milieux aquatiques et la consommation d'eau polluée. Par ailleurs, l'effet des médicaments et des composés organo-chlorés sur les écosystèmes aquatiques ont été étudiés (KÜMMERER et *al.*, 1997; HALLING-SORENSEN, 1998; SPREHE et *al.*, 1999). Le devenir du glutaraldéhyde par exemple, un désinfectant largement utilisé dans le nettoyage des endoscopes, est reporté dans la littérature (JOLIBOIS et *al.*, 2002). Cependant, peu d'études traitent du risque global lié à l'exposition simultanée des différents polluants présents dans les effluents hospitaliers.

La législation française fixe les conditions pour le raccordement du réseau de drainage sanitaire des hôpitaux au réseau d'assainissement urbain (MATE, 1998). Dans le règlement N° 793/93 sur l'exposition des personnes et des écosystèmes aux substances toxiques classées, l'Union Européenne fait exigence à ces Etats membres de réaliser une évaluation des risques sanitaires et

écologiques pour un ensemble de substances notamment : les médicaments, les désinfectants et les substances radioactives. Ces dispositions réglementaires s'inscrivent dans le contexte de la gestion des risques concernant l'homme et sa santé, et également dans la gestion de ceux concernant l'équilibre biologique des écosystèmes naturels. D'une manière très générale, la gestion des risques passe toujours – formellement ou non – par une étape préalable d'évaluation (BABUT et PERRODIN, 2001).

L'EPA a fait de l'évaluation des risques pour les écosystèmes un axe majeur de son programme pluriannuel de recherche écologique (EPA, 1998). Par des études de terrain «*place-based research*», elle cherche en particulier à développer les méthodes permettant d'évaluer les risques dans des situations de contamination multiple, voire de conjonction de « stresseurs » de différentes natures physique, biologique et chimique (BABUT et PERRODIN, 2001). L'objectif est de développer et de tester des méthodes, outils et techniques susceptibles de permettre une meilleure évaluation des risques (LINTHURST et *al.*, 2000 ; BABUT et PERRODIN, 2001).

I.3. Objectifs et contribution de cette thèse

A l'issue de l'étude bibliographique sur les effluents hospitaliers et sur les méthodes générales d'évaluation des risques sanitaires et écologiques, une démarche globale spécifique a été élaborée pour la mise en œuvre des évaluations de risques sanitaires et écotoxicologiques spécifiques des effluents hospitaliers. Ces méthodologies sont inspirée (pour leur cadre général) du schéma général de l'évaluation des risques sanitaires de l'Académie des Sciences des Etats-Unis (NRC, 1983), et de la méthode générale de l'évaluation des risques écologiques de l'EPA (EPA, 1998).

Dans le cadre de cette thèse, deux scénarii particuliers ont été sélectionnés :

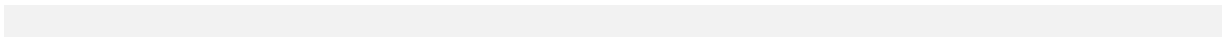
- ✓ un premier scénario décrivant un mode d'élimination des rejets liquides couramment observé dans les pays en développement. L'évaluation des risques pour la santé humaine, résultant de l'exposition directe de l'homme ou de l'utilisation des ressources naturelles en contact avec ces effluents, est mise en œuvre à partir de ce scénario ;
- ✓ un deuxième scénario décrivant un mode d'élimination des rejets liquides couramment observé dans les pays industrialisés. Il est utilisé pour évaluer les effets des substances contenues dans les effluents sur la santé des écosystèmes .

Face à un nombre restreint d'options de gestion des effluents hospitaliers, et en se référant au cadre réglementaire sur leur déversement dans le réseau d'assainissement urbain, cette thèse prétend uniquement élaborer et appliquer en situations réelles, un outil expérimental élaboré à partir de la connaissance disponible sur les risques résultant de l'exposition à des substances toxiques. **L'objectif fondamental de la démarche proposée est de permettre une meilleure compréhension des effets des polluants hospitaliers sur la santé humaine et sur celle des écosystèmes.** Il

s'agira alors de tester des possibilités d'application de la démarche théorique de l'évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques sur un nombre restreint de polluants "traceurs de risques" identifiés dans la littérature et présents dans les effluents des hôpitaux. En effet, la réalisation des évaluations de risques sanitaires et écologiques des substances toxiques enregistre le plus souvent deux grandes limitations : (1) les contraintes financières et (2) le temps alloué à la réalisation de l'étude. L'approche proposée se doit alors, pour être pratiquée largement par les gestionnaires, de reposer sur la mise en œuvre d'un nombre restreint de paramètres physico-chimiques et biologiques , et de faire appel à des outils de mesure les plus normalisés possible.

Le présent chapitre III est composé de deux parties principales:

- la première partie se consacre à la méthodologie élaborée pour l'**évaluation des risques sanitaires** liés aux effluents hospitaliers ; ceci pour un scénario fréquemment rencontré dans les PED,
- la deuxième partie présente la méthodologie élaborée pour l'**évaluation des risques écotoxicologiques** liés aux effluents hospitaliers, ceci pour un scénario fréquemment rencontré dans les pays industrialisés.



II. Élaboration de la méthodologie d'évaluation des risques sanitaires (ERS) - Etude d'un scénario fréquemment rencontré dans les PED

II.1. Présentation de la problématique générale de la gestion des effluents hospitaliers dans les PED

Dans les pays en développement (PED), à l'exception parfois des radioéléments, les hôpitaux utilisent presque toutes les substances généralement identifiées dans les hôpitaux des pays industrialisés. Pour des raisons liées aux difficultés économiques de ces pays, les effluents hospitaliers sont le plus souvent rejetés soit vers les canaux de drainage, soit vers des fosses septiques munies de puits d'infiltration. La figure 18 illustre la problématique des effluents hospitaliers déversés dans le milieu naturel après un simple traitement primaire par les fosses septiques.

Par ailleurs, TESSIER (1992) note que l'espace urbain crée un milieu épidémiologique spécifique, particulièrement dans les pays du Tiers-monde où s'accumulent pauvreté et « *tropicalité* »; la circulation des germes pathogènes au sein de la population transite en effet par des intermédiaires, parmi lesquels l'eau joue un rôle majeur. Dans ce contexte, il semble que dans les PED, les dangers pour la santé humaine sont beaucoup plus d'ordre microbiologique que chimique.

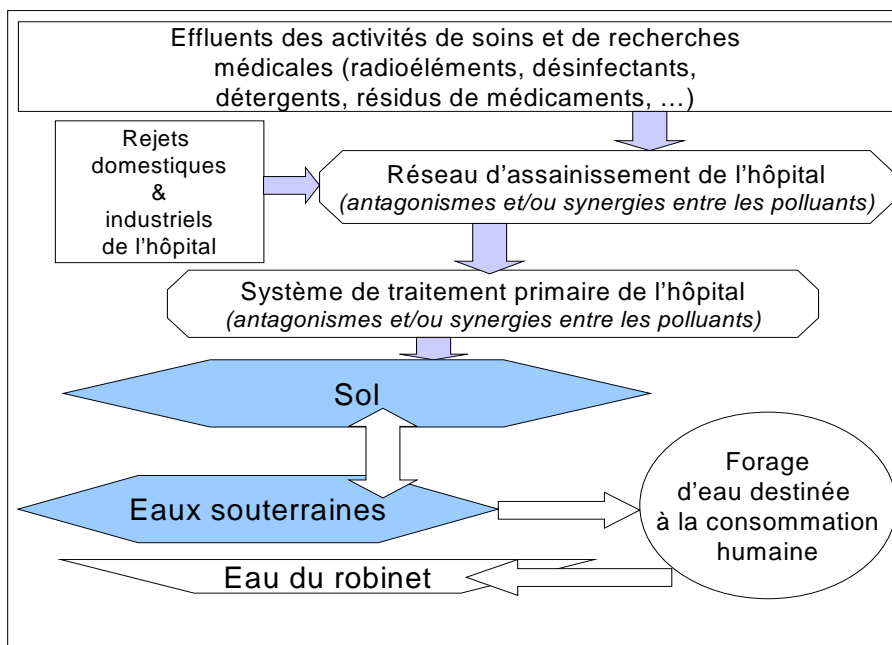


Figure 18 : Problématique des EH déversés directement dans le milieu naturel

II.2. Présentation des différentes étapes de l'ERS et de la méthodologie proposée pour le cas étudié

L'évaluation des risques sanitaires est l'activité consistant à évaluer les propriétés toxiques d'un produit chimique et les conditions de l'exposition humaine à ce produit, en vue de constater la réalité d'une exposition humaine et de caractériser la nature des effets qui peuvent en résulter (NCR, 1983).

La démarche générale de l'évaluation du risque sanitaire telle que définie par l'Académie des Sciences des Etats-Unis (NRC, 1983), et reprise en France dans le guide pour l'analyse du volet sanitaire des études d'impact (INVS, 2002), s'articule en quatre étapes: **l'identification du danger, l'étude de la relation dose-réponse, l'estimation de l'exposition, la caractérisation des risques.**

Dans les paragraphes ci-après, nous présentons la démarche spécifique (mais respectant les quatre étapes fondamentales ci-dessus) qui a été élaborée pour les effluents hospitaliers pour un mode de gestion fréquemment rencontré dans les pays en voie de développement; à savoir le rejet direct des effluents dans le sol périphérique de l'hôpital par l'intermédiaire de puits d'infiltration. Pour ce faire, un site d'étude a été sélectionné en Haïti et a fait l'objet d'un certain nombre de mesures et de caractérisations nécessaires à l'élaboration de la méthodologie.

II.3. Identification du danger

Cette étape, essentiellement qualitative, consiste dans un premier temps à identifier et à recenser l'ensemble des substances potentiellement nocives présentes sur le site. Elle conduit dans un second temps à sélectionner et à justifier les substances qui seront réellement étudiées (sélection des polluants « traceurs ») ainsi qu'à rassembler l'ensemble des connaissances acquises sur leurs effets toxiques.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons ajouté une étape supplémentaire à ces études de base. Cette étape dite « d'évaluation du danger », vise à éviter de poursuivre l'étude si aucun danger n'est avéré suite à l'analyse des traceurs.

II.3.1. Etude du site et identification des polluants potentiels

Le site sélectionné en Haïti est un hôpital d'urgence qui dispose actuellement d'une capacité de 63 lits. C'est un hôpital de classe 3 (AHA, 1986). Des travaux d'agrandissement de l'hôpital sont en cours. L'objectif de ces administrateurs est qu'il devienne un centre hospitalier universitaire.

Pour la désinfection des équipements médicaux, l'hôpital utilise le Cidex®. Ce produit est composé de 2,4% de glutaraldéhyde et 97,6% de substances (matières) inertes. Les surfaces et les autres équipements sont désinfectés au chlore (hypochlorite de sodium). Les rejets liquides des

différents services sont déversés dans le réseau d'assainissement de l'hôpital. Les eaux pluviales ne sont pas desservies par ce réseau. Les effluents recueillis sont répartis dans trois fosses septiques où ils subissent un traitement primaire qui consiste en une séparation des grosses matières solides des eaux. Les effluents de ces fosses sont rejetés directement dans des puits d'infiltration encastrés dans une matrice constituée d'une zone non saturée et d'une zone saturée. Les ressources en eau de la nappe phréatique sont utilisées à des fins d'AEP.

Une description synthétique de ce scénario est présentée dans la Figure 19. Les traits pleins (—) indiquent les transports et transferts des polluants qui sont pris en compte dans l'évaluation, alors que les traits en pointillés (.....) indiquent ceux qui ne sont pas pris en compte.

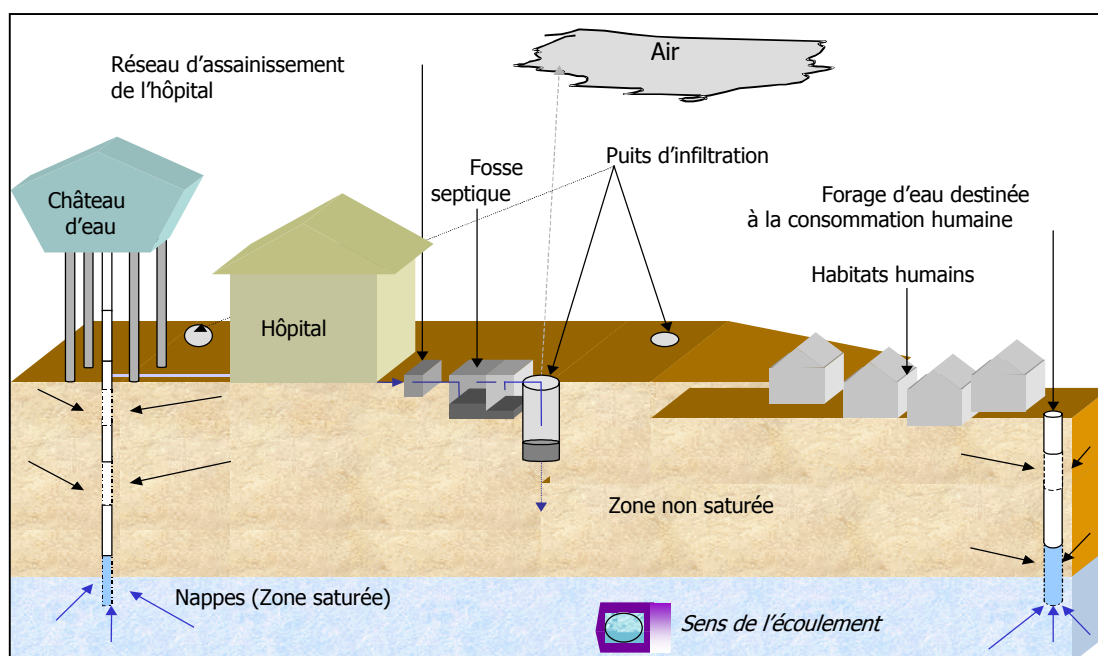


Figure 19 : Représentation graphique du scénario étudié

Le scénario met en évidence l'existence d'un réseau privé d'approvisionnement en eau potable et d'un système d'assainissement individuel. Il reproduit le mode d'AEP et de gestion des eaux usées de plus de 15% de la population de la région métropolitaine de Port-au-Prince (RMPP). En effet, l'alimentation en eau potable de la RMPP est assurée par la Centrale Autonome Métropolitaine d'Eau Potable (CAMEP). La production journalière de cette entreprise publique est de 120 000 m³ d'eau provenant de 12 forages dans la nappe la plaine du Cul-de-sac totalisant 600 L/s, et de 18 sources du massif de la Selle (2680m d'altitude) totalisant un débit de 923 L/s (CAMEP, 1996). Les besoins en approvisionnement en eau potable sont couverts à 54% et ceux de la collecte des déchets solides à 38% (OPS/OMS, 2001). La différence pour l'AEP est assurée par des entreprises privées ou par des

réseaux privés. Le périmètre dans lequel s'inscrit la RMPP est de 10 000 ha environ et a une densité moyenne de 200 hab/ha (LHERISSON, 1999).

A Port-au-Prince, l'absence d'un réseau de drainage sanitaire des effluents classiques urbains et de station d'épuration fait que tous les eaux usées générées par les activités humaines soient évacuées vers le réseau d'assainissement pluvial (en grande partie à ciel ouvert) et/ou rejetées directement dans les milieux naturels sans traitement préalable. Des concentrations importantes en plomb (1,67 mg/L) et en mercure (0,105 mg/L) ont été mesurées dans les effluents de certaines usines (CARRE, 1997). Par ailleurs, une importante circulation d'oocystes de *Cryptosporidium* sp. a été identifiée dans les eaux de surface et dans les eaux de distribution destinée à la consommation humaine dans certains quartiers de Port-au-Prince (BRASSEUR et al., 2002). Dans ce contexte géographique où, dans les milieux aquatiques, la température agit favorablement sur la croissance des germes pathogènes, les groupes cibles les plus sensibles aux différentes infections liés à l'eau des nappes sont les femmes enceintes, les personnes âgées, les nouveaux nés et les immunodéprimés. Pour ces différents groupes de la population sensible, il y a non seulement un risque élevé de morbidité et de mortalité liés aux agents pathogènes, mais également la possibilité d'apparition d'effets sévères liés aux agents dits opportunistes (HAAS et al., 1999).

Le scénario, tel que présenté dans la figure 19, met en perspective deux niveaux de danger pour la santé humaine, un premier qui pourrait résulter de l'inhalation des polluants contenus dans les effluents, et un autre plus important encore résultant de l'ingestion de l'eau partiellement ou non traitée provenant des nappes. Dans ce contexte, le rejet de ces effluents dans le sol et l'éventuelle exploitation de la nappe à des fins d'AEP peuvent contribuer, entre autres à l'existence de maladies infectieuses dans la zone d'étude.

II.3.2. Sélection des polluants « traceurs » et connaissances disponibles sur leurs effets toxiques

Sélection des polluants « traceurs »

Les principaux critères de choix des polluants « traceurs » généralement retenus (INVS, 2000 ; PERRODIN et al., 2001) sont les suivants :

- le niveau de concentration des polluants dans les émissions,
- le niveau de toxicité des polluants,
- la volonté de couvrir une gamme diversifiée de polluants (organiques et minéraux, cancérogènes ou non, chimiques et biologiques,...),
- la nécessité de sélectionner des polluants agissants par le biais des différentes voies d'exposition présentes dans le scénario.

Sur cette base, et compte-tenu des données d'émissions disponibles au moment du lancement de la thèse (données bibliographiques et premières données du terrain sur les concentrations dans les effluents hospitaliers, données toxicologiques disponibles dans la littérature et les bases de données internationales,...), nous avons retenu les polluants « traceurs » qui figurent au tableau 17:

Tableau 17 : Traceurs retenus pour l'étude sanitaire des effluents hospitaliers

Traceurs retenus	Voies d'exposition
<i>Bactériologie</i>	
Coliformes fécaux	Orale
<i>Polluants organiques</i>	
Glutaraldéhyde	Cutanée, Orale
Chloroforme	Orale
1,1-Dichlorométhane	Orale
Trichloroéthylène	Orale
Perchloroéthylène	Orale
<i>Métaux</i>	
Arsenic	Orale
Cadmium	Orale
Chrome	Orale
Cuivre	Orale
Nickel	Orale
Plomb	Orale

Connaissances disponibles sur les polluants « traceurs »

Certains éléments en trace, comme le cuivre, le zinc, le sélénium, sont essentiels à l'ensemble des organismes vivants. D'autres auraient, des fonctions plus ou moins importantes comme le nickel pour l'uréase, mais aussi l'arsenic et le chrome dans certains constituants. Enfin, certains n'ont pas de fonctions biologiques reconnues et sont mêmes des poisons, comme le cadmium, le mercure, le plomb. Cependant les éléments essentiels, ou ayant des fonctions biologiques reconnues (oligo-éléments) peuvent aussi, pour des teneurs élevées et sous une forme chimique « biodisponible » devenir toxiques. Si ces éléments en trace, appelés fréquemment métaux lourds, bien qu'ils ne soient pas tous métalliques, deviennent mobiles ; ils peuvent alors présenter un danger pour l'homme (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998). Les informations concernant les effets des polluants minéraux sur la santé de la population de la RMPP sont inexistantes. Par ailleurs, en Haïti, des maladies comme la typhoïde, la tuberculose et les diarrhées sont endémiques. La détermination de coliformes fécaux se révèle alors une mesure très pertinente.

Les principales caractéristiques, du point de vue sanitaire, des traceurs sélectionnés pour cette étude sont résumées ci-dessous :

Coliformes fécaux : Ce sont des indicateurs ou marqueurs de pollution fécale des eaux. Les maladies infectieuses sont transmises principalement par les excréta humains et animaux, notamment les fèces. S'il existe des malades ou des porteurs de germes dans la communauté, la contamination fécale de la source d'approvisionnement entraînera la présence des microorganismes responsables dans l'eau. La consommation de cette eau ou son utilisation pour la préparation des aliments ou la toilette et même son inhalation sous forme de vapeur ou d'aérosols peut provoquer une infection (OMS, 1994).

Glutaraldéhyde : Des cas de colites (ASSELAH et al., 1996), de rectite (LEDINGHEN et al., 1996) ou de proctite (BURTIN et al., 1993) ont été mentionnés chez des patients qui ont subi des examens réalisés par des équipements qui ont été désinfectés au glutaraldéhyde, et qui n'ont pas été suffisamment rincés. En raison de sa volatilité et de son nature irritante, l'asthme professionnel a été également rapporté parmi des ouvriers exposés au glutaraldéhyde à plusieurs reprises (CULLINAN et al., 1992; CHAN-YEUNG et al., 1993; STENTON et al., 1994; GANNON et al., 1995). L'autre évidence de la toxicité du glutaraldéhyde aux humains est limitée aux rapports de l'exposition professionnelle de son utilisation en tant qu'un désinfectant et agent de stérilisation. Les effets fréquemment observés de l'exposition incluent la sensibilité de peau : la dermatite ou l'eczéma allergique (FOUSSEREAU, 1985), et irritation des yeux et du nez avec accompagnement de rhinites (JORDAN et al., 1972; CORRADO et al., 1986; HANSEN, 1983; WIGGINS et al., 1989). Aucune information sur la toxicité par ingestion, voie d'exposition importante dans le scénario étudié, n'a été trouvée.

AOX et les organo halogénés : Les AOX sont des substances formées à la suite de réactions chimiques entre les composés halogénés et la matière organique. Ils sont légèrement hydrophiles, sans tendance à la bioaccumulation. Ils sont absorbés par l'homme dans la consommation de l'eau potable, la plus grande partie des organohalogénés absorbés semble être excrétée dans l'urine (SALINOJA-SALONEN et JOKELA, 1991).

U.S. EPA (1989a) a retenu le chloroforme et le 1,1-Dichlorométhane parmi les polluants prioritaires à détecter dans les effluents hospitaliers. Dans le cadre de cette évaluation nous avons retenu ces polluants pour étudier la toxicité des AOX contenus dans les effluents hospitaliers vis-à-vis de l'espèce humaine.

Les informations rapportées dans la littérature font état de la toxicité aiguë du chloroforme sur l'homme. Parmi les signes de cette toxicité aiguë, on note l'évanouissement, le vomissement, le vertige, la salivation, la fatigue, la migraine et les dépressions respiratoires (IRIS, 1993). BOMSKY et al. (1967) notent que CHCl_3 a une incidence sur le grossissement du foie et de l'ictère. Les excréments pulmonaires sont considérées comme le meilleur moyen d'élimination du chloroforme ingéré par simple dose de 0,5 ou 1,0 g CHCl_3 (FRY et al., 1972). Le chloroforme dans l'urine représente moins de 1% de la dose ingérée (IRIS, 1993).

L'INRS (1997) note que le dichlorométhane est surtout absorbé par voie respiratoire. Plus de la moitié du produit ayant ainsi pénétré dans l'organisme est éliminé sous forme par le poumon. Le reste subit un métabolisme qui conduit à deux produits terminaux : l'aldéhyde formique (voie du glutathion) et l'oxyde de carbone (oxydation en présence du cytochrome P 450).

Après ingestion du dichlorométhane, peuvent survenir des troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhée), des troubles respiratoires lés au passage trachéo-bronchique du solvant et des troubles de conscience. Le dichlorométhane entraîne une sensibilité aux substances dopaminergiques inférieure à celle des autres solvants chlorés. Des dermatoses peuvent survenir par contact répété avec la peau.

Arsenic : Il peut être absorbé par la voie digestive (facilement) et par la voie respiratoire. Il est éliminé dans les urines jusqu'à 75% ou dans les matières fécales (quelque %) en quelques jours (maximum une semaine). Il peut être retrouvé dans certains tissus humains : les phanères (cheveux, peau et ongles). L'accumulation dans l'organismes humain en cas d'exposition prolongée est mal connue (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

L'exposition chronique à l'arsenic entraîne des troubles cutanés à type d'hyperkératose palmaire et plantaire et de pigmentation noirâtre des plantes des pieds (mélano-dermie plantaire ou « maladie des pieds noirs » [black foot disease, BFD]). Cette maladie est en fait une maladie des petites artères périphériques. Elle a été décrite dans plusieurs cas d'exposition chronique à l'arsenic : traitement de la vigne, traitement médicamenteux par l'arséni-ate de potassium (solution de Fowler), eau de boisson, etc. Un excès de mortalité cardiopathie ischémique a également été mis en évidence dans la population taïwanaise résidant dans la zone d'endémie de la mélanodermie plantaire (CHEN et *al.*, 1994).

L'arsenic a été classé comme une substance « cancérogène pour l'homme » (groupe 1) par divers organismes internationaux dont le Centre International de Recherches sur le Cancer (IARC, 1987). Cette évaluation est basée principalement sur une série d'études épidémiologiques (TSENG et *al.*, 1968; BROWN et CHEN, 1994) portant sur des grandes populations de Taïwanais exposés à l'arsenic par l'eau de boisson. Ces études ont mis en évidence un excès de cancer de la vessie, du rein, de la peau, du poumon et du foie dans une région d'endémie de la mélanodermie plantaire, comparativement à la population générale de Taiwan. Dans cette région d'endémie les taux de mortalité standardisé (SMR) étaient plus élevés dans les villages utilisant de l'eau des puits artésiens (riches en As) comparativement aux villages à ressource mixte ou utilisant de l'eau de surface (pauvre en As). Les dernières études en date ont montré l'existence de relation dose-réponse entre le niveau d'arsenic dans les puits, la durée d'utilisation des puits et la mortalité par cancers de foie, du poumon, de la vessie ou des reins dans la plupart des groupes d'âge des deux sexes. BROWN et CHEN, (1994) ont mis en évidence des courbes de relation dose-effets non linéaires pour les cancers et ont montré une forte

relation entre l'exposition à l'arsenic et la mortalité par cancer de la vessie, du foie et du poumon pour les niveaux d'exposition supérieurs à 0,05 µg/L.

Par ailleurs, plusieurs études épidémiologiques réalisés sur des populations exposées professionnellement à l'arsenic par voie respiratoire ont mis en évidence une augmentation des risques d'apparition de cancers du poumon (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

Plomb : Les effets sur la santé découlant de l'exposition environnementale au plomb les mieux établis à l'heure actuelle concernent le système cardio-vasculaire, le système nerveux central et périphérique et le rein. Le fœtus et surtout le jeune enfant (moins de 2 ans) sont particulièrement sensibles à l'effet toxique neuro comportemental du plomb, sans traduction électro-physiologique ou clinique, mais caractérisé par une baisse peu ou pas réversible des facultés cognitives, appréciable par tests psychomoteurs divers (ex. : test du QI (*Quotient d'Intelligence*) verbal). La concentration critique du plomb dans le sang cordal lors de l'exposition anténatale pour l'apparition de cet effet toxique est de l'ordre de 100 µg/L, en raison de la relative perméabilité de la barrière placentaire (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

Par ailleurs, des niveaux très bas d'exposition au plomb induisent une baisse des seuils de perception auditive et visuelle chez l'homme. La néphropathie saturnine et son mécanisme biochimique peuvent contribuer à de tels déficits.

Chez l'adulte, l'exposition prolongée à des niveaux d'exposition élevés entraîne le déclin de la filtration glomérulaire qui pourrait découler d'une modification de la production des prostanoïdes par le rein (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

Cuivre : Il intervient dans deux nombreuses fonctions physiologiques : homatopoïèse, synthèse de l'élastine, du collagène ainsi que dans les réactions d'oxydoréduction. Le cuivre est le co-enzyme de nombreuses métallo-protéines.

Le cuivre est un élément essentiel et peu toxique. Les manifestations pathologiques sont plutôt liées à une carence en cuivre qui entraîne une anémie résistante au traitement par le fer, des retards de croissance associés à des troubles du métabolisme osseux, des lésions cardiaques, des troubles du système nerveux. Deux maladies associées à des anomalies génétiques sont liées à un défaut de l'absorption du cuivre (maladie de Menkès) et à une accumulation tissulaire du cuivre (maladie de Wilson). Ces anomalies de la biodisponibilité du cuivre sont modulées par l'interaction avec le zinc, ce dernier étant utilisé dans le traitement de Wilson pour abaisser le stockage de cuivre (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

Nickel : le métal est insoluble dans l'eau. Cependant, lorsqu'il est sous forme de très fines particules, il s'ionise sous forme de Ni²⁺ dans l'eau et dans les liquides biologiques tels que le sang. Lors d'expositions par voie respiratoire, les données émanant d'études de populations humaines décrivent essentiellement des pathologies respiratoires telles que la bronchite chronique, l'emphysème et la

réduction de la capacité vitale (CORNELL *et al.*, 1984). Par ailleurs, quelques cas d'asthme ont été rapportés résultant d'une irritation ou d'une réponse allergique (DAVIES, 1986; NIOSH, 1977).

Lors de contacts cutanés, les sels de nickel produisent une dermatite appelée gale de nickel. Il s'agit d'un eczéma allergique décrit dès 1947 (LAUWERYS, 1992). Elle peut être également la conséquence de l'inhalation de nickel chez des individus sensibilisés au métal (ATSDR, 1993).

Par voie orale, les effets majeurs observés sont le décès d'un enfant après ingestion de 570 mg de nickel/kg (DALDRUP *et al.*, 1983) et des troubles intestinaux tels des nausées, crampes abdominales et diarrhées (SUNDERMAN *et al.*, 1989).

Des effets immunologiques, hématologiques, hépatiques, rénaux, génotoxiques sur le développement embryonnaire et la reproduction ont été rapportés en fonction de la voie de pénétration dans l'organisme (ATSDR, 1993). Les études expérimentales ont en revanche décrit l'application de ces effets (WEISHER *et al.*, 1980; DUNNICK *et al.*, 1989).

Chrome : La toxicité intrinsèque du chrome varie considérablement en fonction de la valence présente, trivalent ou hexavalent, (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998). Le Cr(III) un élément essentiel aux êtres vivants puisqu'il joue un rôle indispensable dans le métabolisme glucidique comme activateur de l'insuline (DE FLORA *et WETTERHAHN*, 1989 ; OTABBONG, 1990; ALLOWAY, 1995). En effet, il a été montré que les diabétiques souffrent d'une carence et qu'un complément alimentaire en chrome pouvait provoquer une amélioration de l'intolérance au glucose (DE FLORA *et WETTERHAHN*, 1989; ALLOWAY, 1995). Une étude épidémiologique a même mis en évidence une corrélation entre une carence en chrome et des problèmes cardio-vasculaires ; dans des régions où les sols contiennent des niveaux importants en chrome (III), le taux de mortalité par accidents cardio-vasculaires s'en trouvent diminué (ALLOWAY, 1995).

Contrairement aux effets bénéfiques du Cr (III), un contact avec du Cr(VI) contenu dans de l'eau, des poussières ou des particules de sol provoquent des allergies cutanées (NORSETH, 1981; OTABBONG, 1990), des inhalations prolongées induisent des cancers broncho-pulmonaires chez les personnes en contact dans leur vie professionnelle, principalement dans les industries de production de dichromate et de pigments (NORSETH, 1981; INRS, 1987; DE FLORA *et WETTERHAHN*, 1989) et des concentrations supérieures à 100 mg de Cr(VI)/kg de poids peuvent devenir létales pour l'homme (RICHARD *et BOURG*, 1991).

II.3.3. Evaluation du danger

Dans la version classique de la méthodologie d'EDR sanitaires de la NRC, on passe à la phase suivante d'étude une fois les traceurs de risque choisis. Dans le but d'éviter la poursuite de l'étude si aucun danger n'est avéré suite à l'analyse des traceurs, nous avons inséré à ce niveau de l'étude une étape décisionnelle visant à comparer les différentes valeurs obtenues dans l'eau de nappe pour les polluants traceurs avec les concentrations prescrites sur le plan international dans les normes de

qualité pour l'eau potable (normes de l'Organisation Mondiale de la Santé quand elles existent (tableau18)).

Tableau 18 : Valeurs seuils retenues pour la caractérisation du danger sanitaire lié à la consommation des eaux de nappe

Traceurs de risque	Valeurs seuils	Origine
<i>Métaux</i>		
Arsenic	0,01 µg/L	(OMS, 1996)
Cadmium	3 µg/L	(OMS, 1996)
Chrome	50 µg/L	(OMS, 1996)
Cr(VI)	0,41 µg/L*	(U.S. EPA, 1999)
Cuivre	2000 µg/L	(OMS, 1996)
Nickel	20 µg/L	(OMS, 1996)
Plomb	10 µg/L	(OMS, 1996)
<i>Polluants organiques</i>		
Glutaraldéhyde	-	-
Chloroforme	200 µg/L	(OMS, 1996)
Dichlorométhane	20 µg/L	(OMS, 1996)
<i>Bactériologie</i>		
Coliformes fécaux	NPP<1 dans 100mL	(OMS, 1996)

* La concentration maximale du Cr(VI) prescrite par l'U.S. EPA (1999) est 0,1 ppm. (1ppm=4,09 mg/m³)

Pour tout rapport $C_n/N_q < 1$ (C_n : concentration en polluants dans les eaux de la nappe ; N_q : Norme de qualité de l'eau potable) et pour toute concentration en coliformes fécaux NPP<1 pour 100 mL, le danger (et donc le risque) est considéré comme négligeable et la procédure est interrompue.

A l'inverse, pour tout rapport $C_n/N_q > 1$ et pour toute concentration en coliformes fécaux NPP>1 pour 100 mL, la démarche recommande de passer aux étapes suivantes de l'évaluation des risques sanitaires à proprement parlée.

Le logigramme présenté dans la figure 20 résume la démarche élaborée pour l'évaluation des dangers sanitaires liés aux effluents hospitaliers.

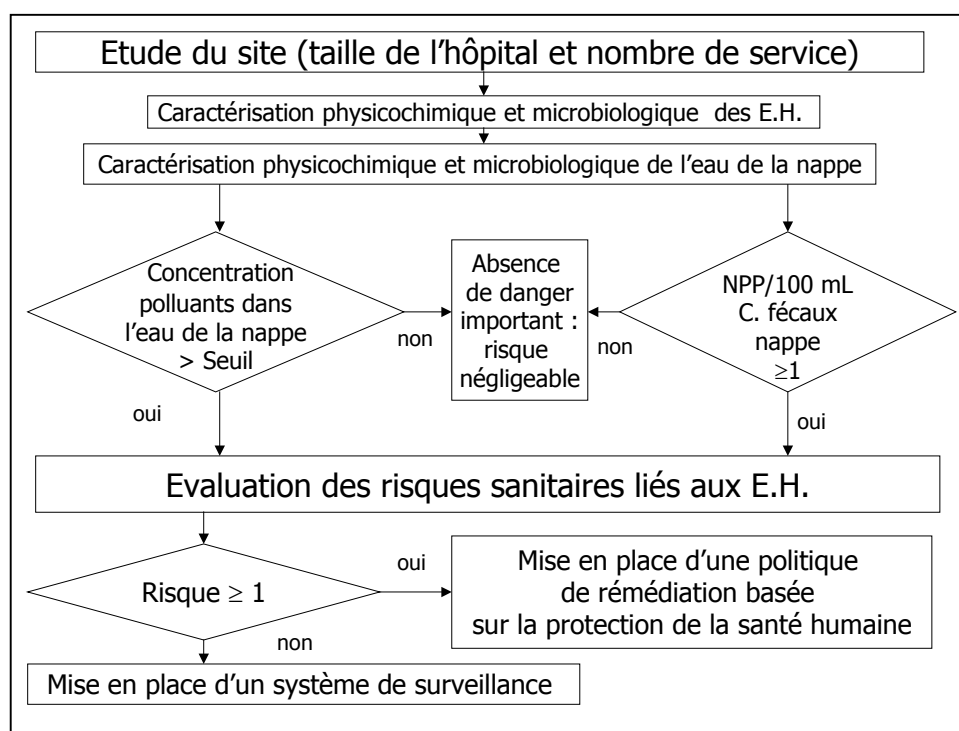


Figure 20 : Logigramme élaboré pour la démarche d'évaluation des dangers sanitaires liés aux effluents hospitaliers et les suites à donner

II.4. Définition des relations dose-réponse (ou dose-effet)

La relation dose-réponse, spécifique d'une voie d'exposition, établit un lien entre la dose d'une substance mise en contact avec l'organisme et l'occurrence d'un effet toxique jugé critique. Cette fonction est synthétisée par une entité numérique appelée indice ou valeur toxicologique de référence (VTR).

Pour une exposition orale ou cutanée, la VTR est appelée dose journalière admissible (DJA), exprimée en mg de substance chimique par kilogramme de poids corporel et par jour, et correspond à la quantité de toxique rapportée au poids corporel qui peut être administrée quotidiennement à un individu sans provoquer d'effet nuisible en l'état actuel des connaissances (INVS, 2000).

Pour les substances considérées comme cancérigènes, la valeur guide est la concentration dans l'eau de boisson correspondant à un risque additionnel de cancer durant la vie entière de 10-5 (un cancer additionnel pour 100 000 personnes qui consommeraient pendant 70 ans une eau de boisson contenant la substance en cause à une concentration égale à la valeur guide) (OMS, 1996).

Les valeurs des DJA répertoriées pour les traceurs de risque sélectionnés pour les effluents hospitaliers et leurs origines sont présentées dans le tableau 19.

Tableau 19 : Valeurs des DJA pour les traceurs sélectionnés

Traceurs de risque	DJA mg/kg-jour	Voie d'exposition	Origine
<i>Métaux</i>			
Arsenic	3×10^{-4}	Orale	(U.S. EPA, 1993)
Cadmium	1×10^{-3}	Orale	(OMS, 1994)
Chrome III	1,5	Orale	(U.S. EPA, 1998)
Chrome VI	3×10^{-3}		(U.S. EPA, 1998)
Cuivre	0,5	Orale	(OMS, 1996)
Nickel	2×10^{-2}	Orale	(Académie des Sciences, 1998)
Plomb	$3,5 \times 10^{-3}$	Orale	(OMS, 1993)
<i>Polluants organiques</i>			
Glutaraldéhyde	- 0.2 « ppm »	Orale Cutanée	(OSHA, 1989)
Chloroforme	0,01	Orale	(U.S. EPA, 2001)
Dichlorométhane	5×10^{-2}	Eau potable	(IRIS, 2001)
<i>Bactériologie</i>			
Coliformes fécaux	-	Orale	-

II.5. Evaluation de l'exposition

L'évaluation de l'exposition comporte classiquement trois phases (INVS, 2000):

- la première vise à juger du niveau potentiel de contamination des milieux en rapport avec la source pollution étudiée. Dans notre cas, elle visera à étudier la contamination potentielle des eaux de nappe situées sous le site, par les effluents hospitaliers,
- la seconde se rapporte à la définition des populations exposées via l'étude des voies d'exposition possibles,
- la troisième concerne l'estimation quantitative de l'exposition humaine (calcul des doses moyenne journalières ou DMJ).

II.5.1. Etude de la contamination potentielle des eaux de nappe situées sous le site

L'étude de la contamination des eaux de nappe situées sous le site passe essentiellement par une étude géologique et hydro-géologique du site où est implanté l'hôpital étudié. Cette étude est abordée ici en deux temps :

- une étude géologique et hydro-géologique générale de la région où est implanté l'hôpital, basée essentiellement sur des données bibliographiques et provenant d'étude antérieures,

- une étude géologique et hydro-géologique plus localisée, basée notamment sur les études effectuées à l'occasion du forage de l'AEP de l'hôpital.

Etude géologique et hydro-géologique de la région d'implantation de l'hôpital

L'étude géologique et hydro-géologique de la région d'implantation de l'hôpital se caractérise principalement par la présence d'un aquifère karstique. La principale caractéristique des aquifères karstiques est l'existence de réseaux irréguliers de pores, de fissures, de fractures et de conduites de formes et de dimensions variées. Une telle structure, d'une importante hétérogénéité physique et géométrique, cause des conditions hydrauliques complexes et la variabilité spatiale et temporelle des paramètres hydrauliques. Après une averse, la recharge rapide et turbulente des eaux souterraines se produit par le drainage dans de grands conduits de volume élevé d'eau non filtrée (DENIC-JUKIC et JUKIC, 2003).

Le massif de la Selle, la chaîne la plus élevée de la République d'Haïti, est abondamment arrosé par les eaux de précipitation. Dans son bassin versant septentrional, qui est le bassin présentant un intérêt pour les ressources en eau de Port-au-Prince, il contient des calcaires intensément fracturés et karstifiés, autorisant le stockage et la circulation d'eau souterraine. Il en découle qu'il s'agit d'un aquifère majeur, véritable château d'eau potentiel pour la RMPP (TRACTEBEL, 1998). Des calcaires inter stratifiés inclus dans des roches basaltiques ont été identifiés dans son bassin méridional (WOODRING et *al.*, 1924 ; BUTTERLIN, 1960).

L'aquifère de la Plaine du Cul-de-sac (coordonnées géographiques : 18°36' N et 72°10' O) a une surface de 500 Km². Elle est dominée par des bassins versants couvrant 1500 Km² (PNUD, 1991). Les reliefs qui encadrent la plaine sont très étendus et élevés au Sud (jusqu'à plus de 2000m d'altitude) et plus étroits et bas au Nord (autour de 1000m d'altitude). La hauteur pluviométrique moyenne est surtout fonction de l'altitude avec 1239 mm à une altitude de 160m, 1431mm à altitude : 140m et 1888mm à 1 504m, et semble augmenter (pour une altitude) d'Ouest en Est à 2036mm pour une altitude de 760m). Sur les massifs Nord de la plaine, il n'y a pas de station pluviométrique, mais la hauteur annuelle moyenne serait de l'ordre de 1200mm. Les périodes pluvieuses se produisent en avril, mai, juin et août, septembre, octobre et la période sèche de décembre à mars (SIMONOT, 1982).

La géologie et la morphologie de la plaine ont fait l'objet de nombreuses études. BUTTERLIN (1960) note que la plaine du Cul-de-sac (PCS) serait un synclinorium oligo-miocène effondré (Graben) par le jeu de deux grandes failles Est et Sud. Ce synclinorium est comblé par les éléments détritiques arrachés aux massifs qui l'encadrent. Selon les conclusions de cette étude, le substratum sous les formations alluviales serait constitué de grés, sables, argiles conglomérats et calcaires de l'oligo-miocène qui ont près de 1400m d'épaisseur et affleurent sur les collines de la bordure méridionale de

la plaine, avec des dépôts coralliens (calcaires récifaux) du pio-quaternaire au Nord et à l'Est (figure 21).

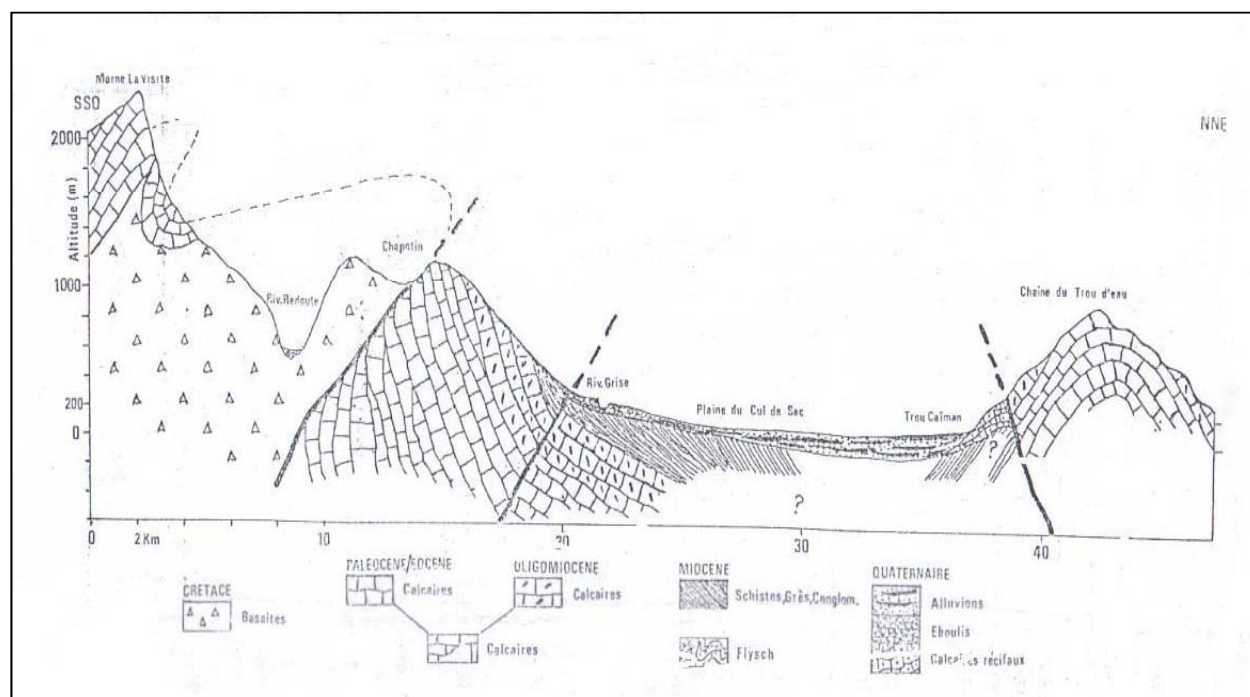


Figure 21: Coupe géologique du bassin versant de la PCS (BUTTERLIN, 1960)

La géomorphologie, selon DESREUMAUX (1987), serait le résultat de mouvement tangentiels récents qui ont conduit à des superpositions anormales des couches, dues au déversement des plis. Ce qui aurait provoqué une répétition de la série Eocène et Oligo-miocène (figure 22). Au-dessus de ces formations dont les caractéristiques hydrogéologiques ne sont pas connues, se sont amassées dans la plaine les couches alluviales quaternaires et actuelles sur une épaisseur très variable, mais qui se situe en moyenne autour de 100 et peut atteindre plus de 200m dans certains secteurs. L'alternance de ces couches alluviales perméables et imperméables (ou semi-perméables) est très irrégulière verticalement et latéralement, mais les corrélations faites à partir des couches géologiques de forages disponibles montrent que, d'une façon générale, leurs proportions sont à peu près égales ; c'est-à-dire qu'en moyenne, sur 100m de forage, on rencontre 50m de formations perméables aquifères. Malgré la grande variabilité des couches, on distingue schématiquement de haut en bas trois à quatre niveaux aquifères :

1. une nappe phréatique généralement située dans les formations récentes, superficielles, argilo sableuses et épaisses de quelques mètres à quelques dizaines de mètres (une trentaine au maximum) : l'eau provient des formations aquifères sous-jacentes sous pression, et peut affleurer à la surface sous forme de sources (assez rares), soit en nappe d'eau libre ;

2. un second niveau aquifère, sous pression sur la plus grande partie de la plaine, le plus exploité actuellement est constitué de sables et graviers et situé entre 30 et 60m de profondeur ;
3. un troisième, et quelquefois un quatrième niveau aquifère, sous pression, graveleux et situé entre 60 et 100 à 150 de profondeur, et généralement capté par les grands forages d'exploitation. Aucune reconnaissance hydrogéologique n'a été poussée plus profond. On ignore quels sont les éventuels potentiels en eau souterraine au-delà de 200 mètres.

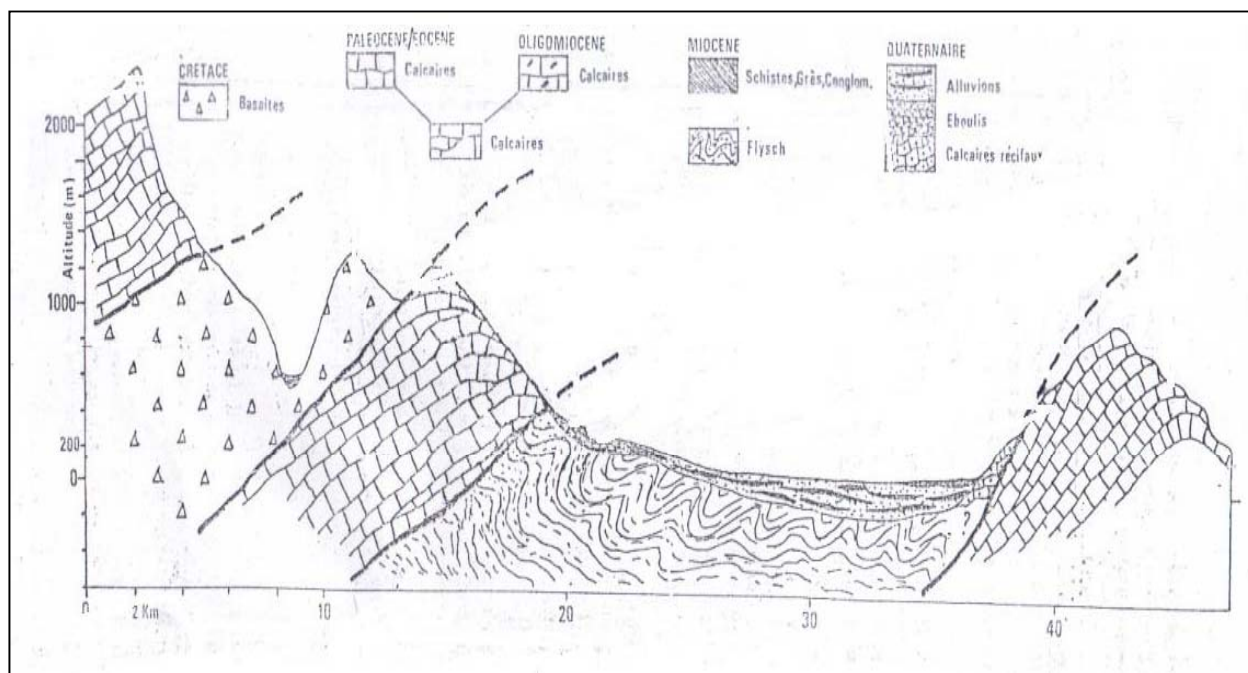


Figure 22 : Coupe géologique du bassin versant de la PCS (DESREUMAUX, 1987)

La nappe du cul de Sac constitue un système aquifère en partie ouvert sur la mer. Son équilibre hydrologique est alors conditionné par la circulation de l'eau souterraine, depuis ses zones d'alimentation jusqu'à ses exutoires. Le mécanisme hydrogéologique, selon SIMONOT (1982) s'apparente d'une façon générale et schématique au système des vases communicants (figure 23). D'un côté, l'eau douce d'origine météorique et dont le niveau est influencé par : (i) les infiltrations directes sur la plaine. Les infiltrations directes sont considérées comme étant faibles, car l'eau de pluie est majoritairement reprise par l'évapotranspiration ; (ii) les infiltrations le long des rivières dont les lits de galets et de graviers sont perméables. Les cours d'eau les plus importants (Rivière Grise et Fond Parisien) descendent du massif de la Selle et s'infiltrent dans la plaine (PNUD, 1991) ; (iii) les infiltrations au travers du contact généralement faillé, entre les formations alluviales de la plaine et les reliefs calcaires. Des réseaux karstiques alimentent ces formations par abouchement. A ce niveau aussi, l'alimentation est tributaire de la fréquence et de l'intensité des pluies enregistrées, de l'occupation du sol. Beaucoup d'études sur les systèmes aquifères de la région de Port-au-Prince

soutiennent que les réseaux karstiques de cette région sont très développés. De ce fait, on peut affirmer, sans risque de se tromper, que cette alimentation est abondante.

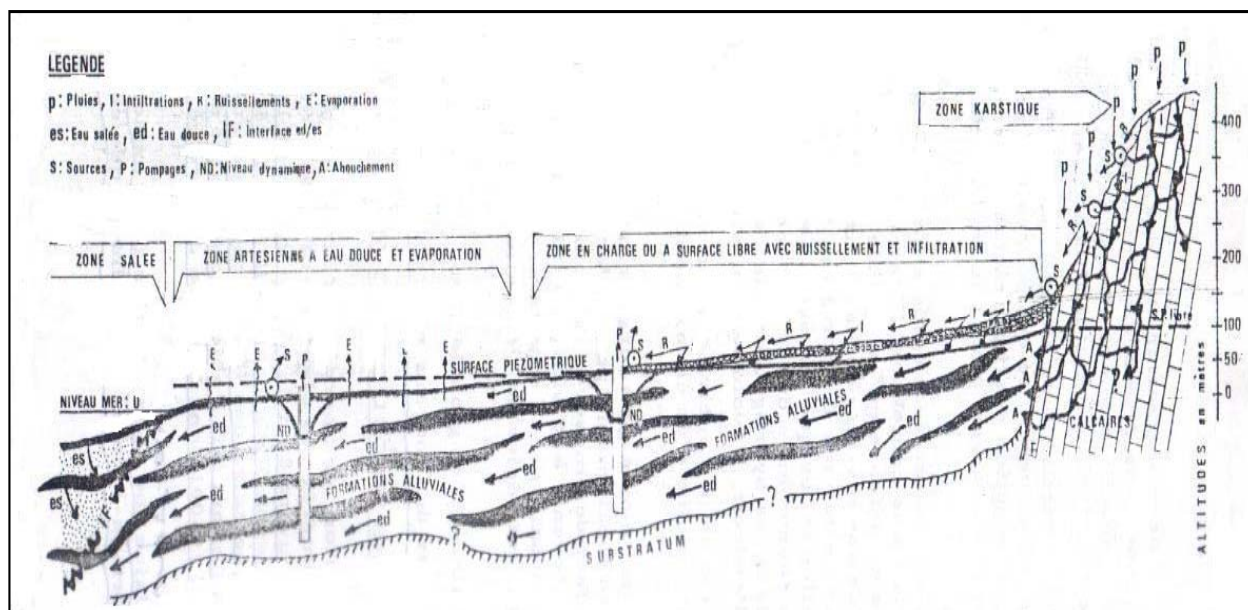


Figure 23 : Mécanisme hydrogéologique de l'aquifère (SIMONOT, 1982)

Etude géologique et hydro-géologique locale

Les informations rapportées sur le forage d'alimentation en eau de l'hôpital (SIGCSFP, 1994), les différentes formations géologique de la zone non saturée et le plan de tubage du forage, sont résumées dans la figure 24. Des crépines sont placés à plusieurs endroits au long du tubage. Ces accessoires impliquent le captage de plusieurs aquifères durant les heures de pompage. Ces accessoires peuvent également remplir une fonction de drains d'évacuation d'eau en période de répit de la pompe, ce qui peut conduire à un transfert des polluants hospitaliers vers les eaux de la nappe profonde.

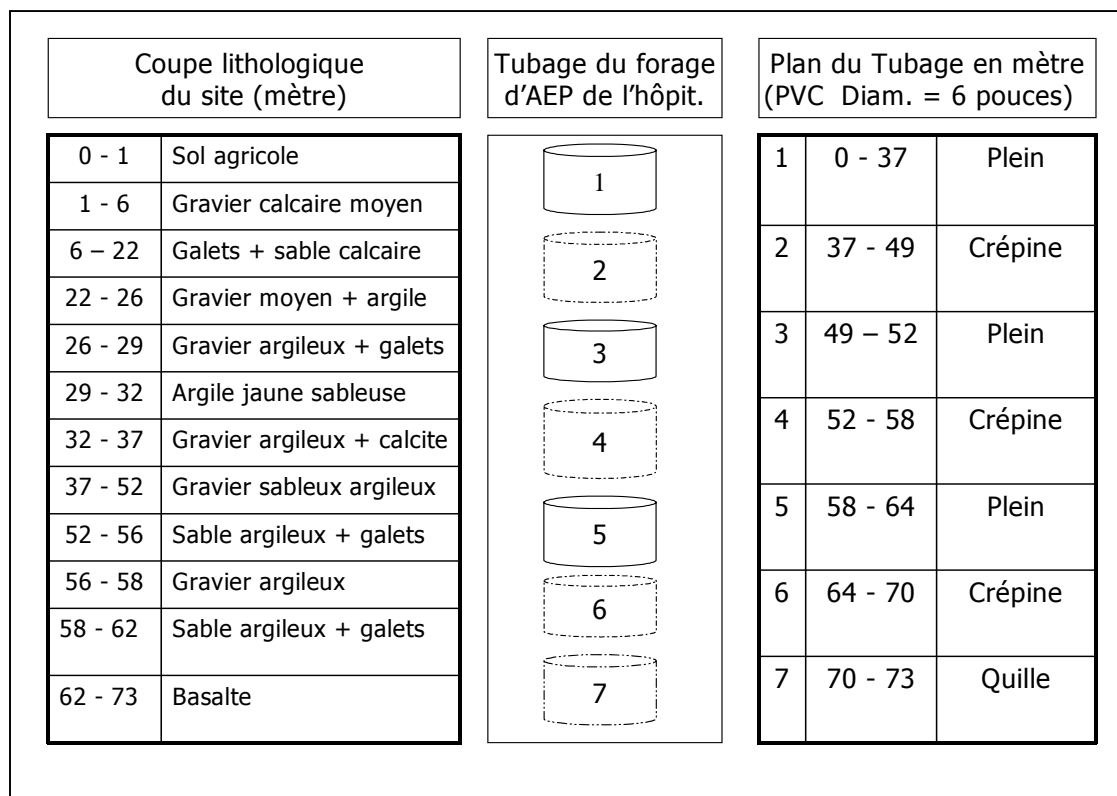


Figure 24 : Plan de tubage du forage d'AEP de l'hôpital

Sur la base des informations générales collectées lors des études géologiques et hydrogéologiques de la région du site ainsi que des données relatives au forage de l'AEP de l'hôpital, une synthèse de la circulation des flux est présentée dans la figure 25.

Cette synthèse implique l'hypothèse d'une connexion entre les effluents hospitaliers rejetés au niveau des puits d'infiltration et l'eau de pompage de l'AEP de l'hôpital, sans qu'il soit possible, compte-tenu de la complexité du transfert des polluants en zone karstique, de la modéliser et de la quantifier précisément.

Dans ces conditions, et compte tenu de la possibilité d'effectuer des mesures sur les eaux de forage, l'évaluation des expositions a été réalisée à partir des analyses effectuées sur les eaux de nappe, et non pas à partir de l'analyse des eaux du puits d'infiltration suivie d'une modélisation des transferts dans les sols vers la nappe. Ce choix, qui peut paraître évident en terme de réalisme des concentrations d'exposition finales estimées, ne peut pas toujours être effectué dans les EDR car il peut, dans certains cas, transformer l'évaluation des risques sanitaires réalisée sur une source de pollution donnée (ici le rejet des effluents hospitaliers via les puits d'infiltration) en une évaluation des risques liée à la nappe en générale (quelque-soit l'origine de sa pollution). Dans le cas présent, la

connexion entre le rejet des effluents hospitaliers et la nappe étant démontrée, et aucune autre pollution majeure n'étant identifiée dans le secteur, l'évaluation des risques liés aux effluents hospitaliers peut passer par l'analyse des eaux de nappe polluées.

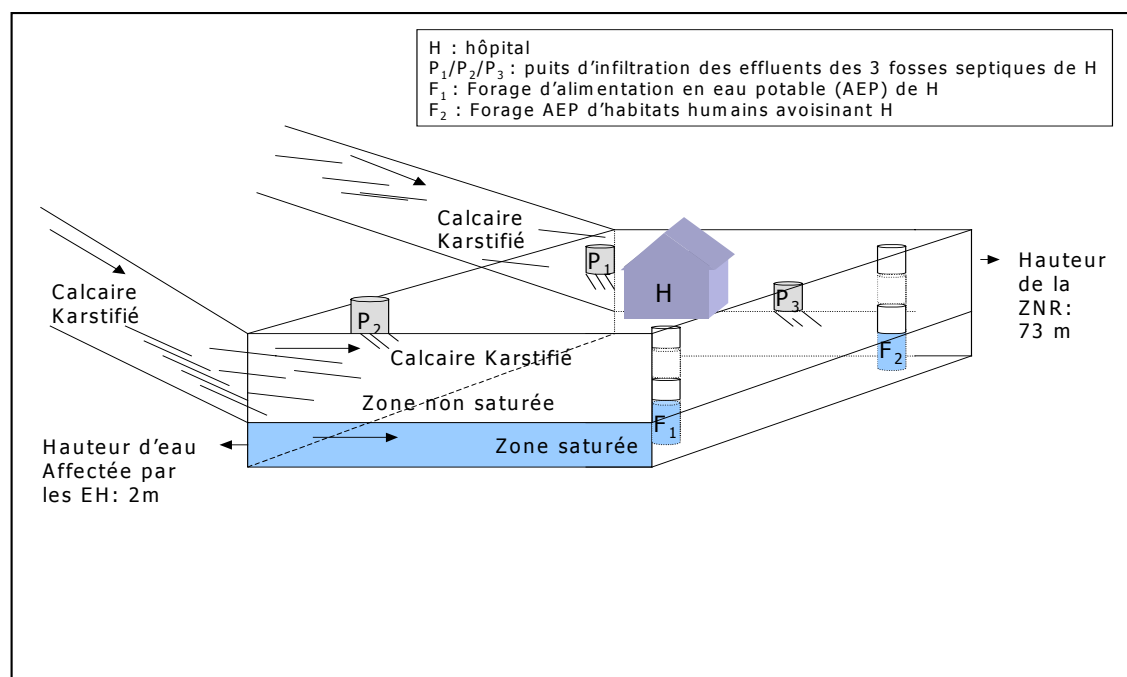


Figure 25: Circulation des flux sur le site d'étude

Cas particulier de l'évaluation des concentrations en glutaraldéhyde et en chloroforme dans la nappe.

Evaluation des teneurs en Glutaraldéhyde

Le dosage du glutaraldéhyde n'est pas réalisable en Haïti dans l'état actuel des équipements disponibles. Pour estimer la concentration de celui-ci dans l'eau de nappe, nous avons procédé en deux étapes. Dans un premier temps, l'exploitation de la revue bibliographique présentée dans le chapitre 1 montre que la teneur du glutaraldéhyde dans les effluents hospitaliers sur le plan international varie entre 0,5 et 3,72 mg/L (JOLIBOIS et al., 2002). Par principe de précaution, nous avons retenu la valeur de 4 mg/L pour l'évaluation des risques sanitaire du site d'Haïti. Pour estimer la teneur du glutaraldéhyde dans l'eau de nappe à partir de cette valeur, nous avons ensuite considéré que le glutaraldéhyde subissait le même facteur de dilution que la DCO qui a été mesurée à la fois dans les effluents et dans les eaux de nappe.

Evaluation des teneurs en Chloroforme et en dichlorométhane

Pour les mêmes raisons que précédemment le chloroforme et le dichlorométhane n'ont pas pu être dosés en Haïti. Par ailleurs, comme nous l'avons vu précédemment, ils sont des représentants des composés organo-halogénés (évaluables globalement par la teneur en AOX) générés par l'action de

l'eau de Javel sur les molécules organiques présentes dans les effluents (EMMANUEL et *al.*, 2003). Nous avons évalué sa teneur en trois étapes. Dans un premier temps, la teneur globale en AOX a été estimée par corrélation de cette dernière avec la teneur en chlorures dans les effluents hospitaliers, ceci grâce à l'étude présentée dans le chapitre 6. De même que précédemment, le facteur de dilution des AOX des effluents dans l'eau de nappe a été supposé identique à celui de la DCO. Enfin, les teneurs en chloroforme et en dichlorométhane ont été assimilées à la teneur globale en AOX, de manière à prendre en compte dans l'évaluation des risques les autres molécules présentes dans les AOX.

Ces hypothèses "fortes", effectuées en l'absence d'autres possibilités à court terme et avec la volonté de garder une méthodologie opérationnelle et au coût non rédhibitoire pour Haïti, devront être confirmées à l'avenir par la mesure réelle du glutaraldéhyde, du chloroforme et du dichlorométhane dans l'eau de nappe du site étudié.

II.5.2. Définition des populations exposées via l'étude des voies d'exposition possibles

Les populations concernées par notre évaluation des risques sont les personnels et les malades qui vivent à l'hôpital (environ 200 personnes au total dont approximativement 50 enfants) ainsi que les personnes qui vivent à proximité de l'hôpital et consomment la même eau de nappe. Un espace d'une superficie totale de 20 ha est retenue pour cette évaluation (soit un total de 4000 personnes environ (LHERISSON, 1999) dont 1600 enfants environ de moins de 10 ans).

Les voies d'exposition principales identifiées et étudiées sont la consommation d'eau potable pour l'ensemble des paramètres et le contact cutané (à l'occasion des bains) pour le glutaraldéhyde.

II.5.3. Estimation quantitative de l'exposition humaine (Calcul des Doses Moyenne Journalières (DMJ))

Pour une substance chimique et une voie d'exposition données, l'équation générale de calcul de la dose moyenne journalière (DMJ), administrée par le vecteur d'exposition "i", est la suivante (INVS, 2000) :

$$DMJ_i = C_i * Q_i * TE * DE / PC * TP \quad \text{Eq. 11}$$

Où C_i est la concentration du toxique dans le milieu pollué "i", Q_i la quantité de ce vecteur mise quotidiennement en contact avec l'organisme par la voie considérée (exprimée en l/j pour les

milieux liquides), TE est le taux d'exposition (sans unité) c'est à dire le nombre annuel de jours d'exposition ramené au nombre total de jours, DE est la durée d'exposition (en années), PC est le poids corporel (en kg) et TP le temps de pondération TP est la durée (en années) sur laquelle la dose est pondérée.

Dans cette formule, par convention, le temps de pondération est identique à la durée de l'exposition (TP=DE) pour les effets à seuil : la DMJ se rapproche d'une moyenne annuelle ne tenant plus compte de la période totale d'exposition.

Pour les effets cancérigènes, la valeur attribuée au TP est toujours 70 ans : l'estimation de la dose est dans ce cas proportionnelle au rapport de la durée d'exposition sur la durée de la vie entière (DMJ vie entière). Cette pondération est réalisée sous l'hypothèse d'un cumul de dose : le risque cancer se rapportant à une unité de dose quotidienne reçue pendant 10 ans est équivalent au risque lié à la moitié de cette dose délivrée pendant 20 ans.

II.6. Caractérisation des risques

Le calcul du risque pour l'homme consiste à mettre en relation les données sur les niveaux d'exposition avec les relations dose-réponse.

Les risques sont estimés de manières différentes selon que les substances agissent ou non avec un seuil d'effet.

Pour les composés agissant avec un seuil d'effet, un quotient de danger (QD) est calculé en faisant le rapport entre la DMJ et la DJA pour la voie d'exposition considérée. Cette valeur numérique n'est pas un risque à proprement parlé et l'évaluation est ici de nature qualitative : un rapport inférieur à 1 signifie que la population est exposée est théoriquement hors de danger, alors qu'un quotient supérieur à 1 signifie que l'effet toxique peut se déclarer sans qu'il soit possible de prédire la probabilité de survenue de cet événement (INVS, 2000).

Pour les substances cancérigènes et mutagènes, agissant sans seuil d'effet, l'évaluation des risques est véritablement quantitative. La probabilité d'occurrence du cancer pour la vie entière des sujets exposés, qui vient s'ajouter au risque de base non lié à cette exposition, est appelée excès de risque individuel (ERI) : elle est calculée, pour chaque voie, en multipliant l'ERU par la dose moyenne journalière totale "vie entière" (INVS, 2000).

$$ERI_{\text{voie } x} = DMJ_{\text{voie } x} * ERU_{\text{voie } x}$$

Eq. 12

Le produit de ce risque par l'effectif de la population qui lui est soumise fournit l'excès de risque collectif (ERC). Il représente une estimation du nombre de cancers en excès, lié à l'exposition étudiée, qui devrait survenir au cours de la vie de ce groupe d'individus.

$$\text{ERC}_{\text{voie x}} = \text{ERI}_{\text{voie x}} * n \quad \text{Eq. 13}$$

Pour la caractérisation du risque bactériologique généré par la E. coli, le modèle de distribution « Bêta-Poisson » (Haas et al., 1999) a été appliqué:

$$P(d) = 1 - \left[1 + \frac{d}{N_{50}} (2^{1/\alpha} - 1) \right]^{-\alpha}$$

d : dose d'exposition

N₅₀ : dose infectante moyenne égale à 8.60x10⁷ pour E. coli

α : paramètre de la fonction de probabilité égale à 0,1778 pour E. coli.

Aspects pratiques de la mise en œuvre de la méthodologie sur le site d'Haïti

Campagnes de prélèvements et analyses

La caractérisation des effluents et des eaux de nappe sur le site d'Haïti a été réalisée à l'occasion de plusieurs campagnes de prélèvements successives. Les premières campagnes ont été réalisées à titre exploratoire et pour tester la faisabilité des prélèvements et mesures. Les campagnes suivantes ont permis de compléter les premières mesures et, pour certains paramètres, de dupliquer les analyses de manière à prendre en compte au minimum la variabilité inévitable de celles-ci dans le temps.

Trois campagnes de prélèvements, dont une en 2002 (période de sécheresse) et deux en 2003 (période de pluie), d'échantillons d'effluents liquides ont été réalisées sur une des 3 fosses septiques de l'hôpital (fosse desservant le service d'hospitalisation dont la capacité est de 22 lits) et sur les eaux du forage d'AEP de l'hôpital.

Campagne de prélèvement de 2002

Les prélèvements de la campagne de 2002 ont été effectués sur les points suivants:

1. la ligne de refoulement du forage d'AEP de l'hôpital,
2. les affluents du puits d'infiltration (effluents de la fosse septique).

Les effluents ont été prélevés entre 7:30 et 11:30 heures du matin sur une période de 5 jours, soit du 4 au 8 décembre 2002 (période de sécheresse). Tous les échantillons ont été placés dans des récipients en plastique d'un volume d'un litre. Ces récipients ont été rincés en 3 fois avec l'eau à

examiner. Pour le remplissage des récipients, nous avons utilisé une méthode de prélèvement manuelle améliorée consistant en la préparation d'un échantillon moyen sur 100 minutes (une heure et 40 minutes) à raison d'un prélèvement de 100 ml d'échantillon chaque 10 minutes. Les mesures de pH ont été effectués sur tous les prélèvements faits sous la base de cette méthode. Les récipients, contenant les échantillons des points choisis pour les prélèvements, ont été soigneusement étiquetés et conservés à 4°C. Une fois prélevés, ils ont été transportés en moins d'une heure au Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement de l'Université Quisqueya à Port-au-Prince.

Paramètres mesurés en 2002 à Port-au-Prince

Le tableau 20 donne la liste des paramètres mesurés en 2002 et les laboratoires de réalisation à Port-au-Prince. Les protocoles français et européens décrits dans « *L'analyse de l'eau* » (RODIER, 1996) et les protocoles des Etats-Unis décrits dans le « *Standard Methods for water and wastewater* » (EATON et *al.*, 1995) ont été utilisés pour le dosage des paramètres mesurés. Ces paramètres correspondent aux traceurs de risque sélectionnés facilement dosables ainsi qu'à diverses mesures d'accompagnement (pH, MEST, Conductivité, DCO, Nitrates, NH₄N,...) destinées à affiner la connaissance du niveau de pollution des milieux liquides concernés.

Tableau 20 : Paramètres mesurés en 2002 à Port-au-Prince

Paramètres	Laboratoire d'exécution
MEST, conductivité électrique, pH, DCO, Chlorures, Nitrates, NH ₄ N	Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement (LAQUE) – Université Quisqueya
Cr, Cu, Ni, Pb, Zn	Unité de Recherche en Environnement (URE) – Faculté des Sciences, Université d'Etat d'Haïti

La détermination des paramètres physico-chimiques (conductivité électrique et MEST) ainsi que celle des indicateurs de pollution (Chlorures, DCO, NO₃-N et NH₄-N) a été effectuée dès l'arrivée des échantillons au laboratoire. Les échantillons destinés à la détermination de la concentration des éléments en trace ont été traités à l'acide nitrique (HNO₃) concentré (pH<2) et passés au travers d'une membrane filtrante de 0,45 µm.

Première campagne de prélèvement de 2003

Trois échantillons ont été prélevés sur les effluents de la fosse septique entre le 25 et le 29 avril 2003 (début de la première période pluvieuse). La méthode de prélèvement manuel instantané a été utilisé pour la collecte des échantillons. Le dosage de tous les paramètres de cette campagne a été réalisée en France dans des laboratoire de la Ville de Lyon. Les échantillons destinés aux examens bactériologiques ont été placés dans des récipients stérile en plastique contenant du thiosulfate et conservés à l'obscurité à 4°C.

Les coliformes fécaux ont été déterminés par la méthode NF T 90-433 microplaque. La norme française NF T 90-432 microplaque a été utilisée pour le dosage des entérocoques fécaux, et les prescriptions de la NF T 90-145 ont été suivies pour les spores anaérobies sulfito-réductrices.

La mesure des métaux a été réalisée, selon le protocole ISO 11 885, sur des échantillons filtrés à 0,45 µm, traités à l'acide nitrique pur (pH<2) et passés à l'ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atom Emission Spectroscopy). L'arsenic, le chrome, le nickel, le plomb et le fer ont été déterminés respectivement aux longueurs d'onde suivantes : 189,04 ; 267,716 ; 231,604 ; 220,353 et 259,94 nm.

Durant cette campagne trois échantillons spéciaux de 500 mL prélevés sur une durée d'une heure chacun ont été préparés pour une étude qualitative des micropolluants organiques. Des cartouches SPE LiChrolut® EN 200 mg (MERCK, Allemagne) ont été utilisées pour les extractions. Les 3 échantillons de 500 mL ont été filtrés à 0,45 µm et acidifiés à l'acide nitrique (pH 3). Les cartouches ont été rincées avec 3 ml de propanol (pour HPLC, Sigma Aldrich) avant le passage des échantillons (débit de l'extraction : 10 mL/minute). 3 mL d'eau distillée ont été utilisées pour le lavage des cartouches. Les extraits prélevés par l'ajout de 6 mL de propanol ont été placés dans des fioles de 25mL et transportés avec les cartouches en France pour être analysés par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse GS/MS. Les résultats de ces caractérisations que nous avons lancées dans le cadre de cette thèse à titre de compléments des analyses des traceurs de risque sélectionnés n'ont toutefois pas pu être exploités pour l'instant.

Deuxième campagne de prélèvement de 2003

Une troisième campagne de prélèvement a été réalisée du 20 au 26 août 2003. Cinq échantillons ont été prélevés sur le forage alimentant le château de l'hôpital et sur les effluents de la fosse septique. L'objectif de cette campagne a été de procéder à la spéciation du chrome. En effet, le chrome est le seul métal présent dans tous les échantillons prélevés au cours des deux précédentes campagnes. Des mesures du Fe²⁺, de la DCO et des coliformes fécaux ont été également faites sur ces échantillons.

Le dosage du Cr(VI) a été réalisé, selon la méthode 8023 de HACH en utilisant un spectrophotomètre HACH 2010, sur des échantillons filtrés. Le principe du dosage est de complexer le Cr(VI) de façon spécifique en utilisant une solution acide de 1,5-Diphénylcarbazine, le complexe formé Cr(VI)/diphénylcarbazine est rose-violet et absorbe dans le visible à 540 nm. Le chrome total a été réalisé sur des échantillons filtrés, selon la méthode 8024 de HACH en utilisant un spectrophotomètre HACH 2010. C'est une méthode d'oxydation alcaline à l'hypobromite dans le visible à 540 nm. Le Fe²⁺ a été dosé selon la méthode 8146 de HACH en utilisant un spectrophotomètre HACH 2010, sur des échantillons filtrés. La technique avec du réactif 1,10 Phénanthroline en gélules a été utilisée. Les mesures sont faites dans le visible à 510 nm.



III. Élaboration de la méthodologie d'évaluation des risques écotoxicologiques - Etude d'un scénario fréquemment rencontré dans les pays industrialisés.

III.1. Présentation de la problématique générale de la gestion des effluents hospitaliers dans les pays industrialisés

Dans les pays industrialisés les effluents hospitaliers sont le plus souvent rejetés au même titre que les effluents classiques urbains (figure 26) dans le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable (LEPRAT, 1998 ; CLIN PARIS-NORD, 1999).

Certains des polluants présents, particulièrement les résidus de médicaments et les composés organo-halogénés, quittent les stations d'épuration avec peu de dégradation (Kümmerer, 2001). Ainsi, des polluants d'origine hospitalière ont été mesurés dans les effluents des STEP ainsi que dans les eaux de surface (Sprehe et *al.*, 1999). Les hôpitaux sont alors identifiés comme une source incontestable d'émissions de composés chimiques dans les écosystèmes aquatiques (Jolibois et *al.*, 2002).

Les informations disponibles dans la littérature mettent en évidence la toxicité élevée des effluents hospitaliers sur les organismes aquatiques (Johannin, 1999; Emmanuel et *al.*, 2002); ainsi que souvent une très faible concentration de la flore bactérienne (Bernet et Fines, 2000). La faible concentration de la flore bactérienne et l'écotoxicité des effluents hospitaliers ont été attribuées par certains auteurs à la présence de médicaments et de désinfectants dans les effluents hospitaliers (Deloffre-Bonnamour, 1995).

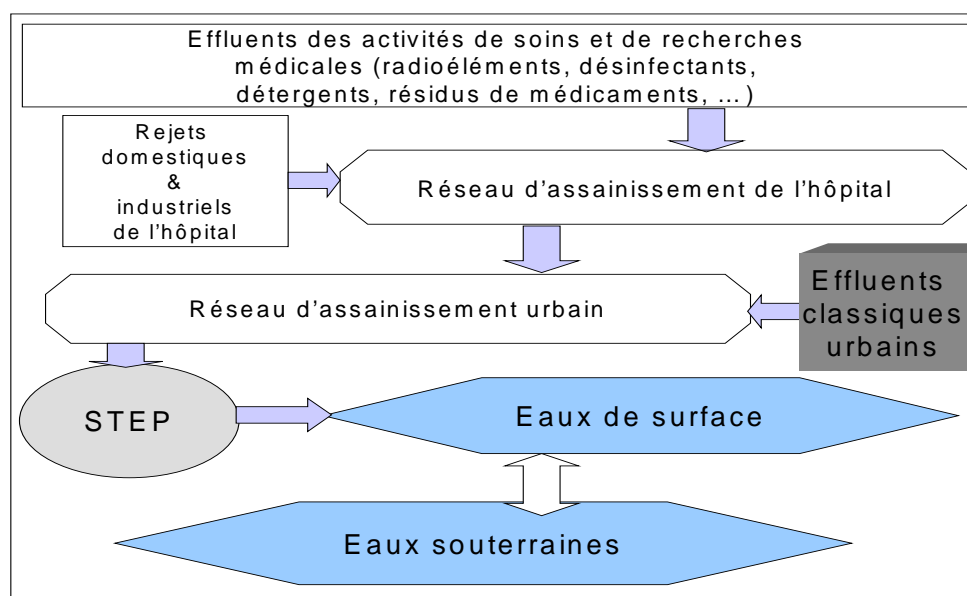


Figure 26 : Problématique des effluents hospitaliers dans les pays industrialisés

La présence de polluants d'origine hospitalière dans les milieux aquatiques conduit donc à prendre en considération l'éventualité de risques pour les organismes vivants qui les peuplent. Les effets des molécules concernées sur les écosystèmes aquatiques ont fait l'objet de premières études (Kümmerer et *al.*, 1997; Halling-Sorensen et *al.*, 1998; Sprehe et *al.*, 1999). Le devenir du glutaraldéhyde par exemple, un désinfectant largement utilisé dans le nettoyage des endoscopes, est reporté dans la littérature (Jolibois et *al.*, 2002). Cependant, peu d'études traitent du risque global lié à l'exposition simultanée aux différents polluants présents dans les effluents hospitaliers.

La législation française fixe les conditions pour le raccordement du réseau de drainage sanitaire des hôpitaux au réseau d'assainissement urbain (MATE, 1998). Dans le règlement N° 793/93 sur l'exposition des personnes et des écosystèmes aux substances toxiques classées, l'Union Européenne fait exigence à ses Etats membres de réaliser une évaluation des risques sanitaires et écologiques pour un ensemble de substances notamment : les médicaments, les désinfectants et les substances radioactives. Ces dispositions réglementaires s'inscrivent dans le contexte de la gestion des risques concernant l'homme et sa santé, et également dans la gestion de ceux concernant l'équilibre biologique des écosystèmes naturels. D'une manière très générale, la gestion des risques passe toujours – formellement ou non – par une étape préalable d'évaluation (Babut et Perrodin, 2001).

III.2. Présentation des différentes étapes de la méthodologie d'évaluation des risques écotoxicologiques élaborée pour le cas étudié

La démarche que nous avons élaboré pour l'évaluation des risques écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers dans les pays industrialisés comprend deux étapes principales :

- une étape « légère » basée sur une caractérisation des dangers liés aux effluents hospitaliers,
- et, si un danger est avéré, une étape plus « lourde », basée sur une évaluation des risques écotoxicologiques liés au rejet de ces effluents dans le réseau collectif urbain, puis au milieu naturel.

Nous présentons ci-après les procédures élaborées pour ces étapes « évaluation des dangers » et « évaluation des risques », pour les effluents d'un service de maladies tropicales et infectieuses d'un hôpital se trouvant dans une grande ville du Sud-est de la France.

III.3. Etape "Evaluation des dangers écotoxicologiques"

La démarche élaborée pour l'évaluation des dangers écotoxicologiques (figure 27) est basée sur une caractérisation des effluents hospitaliers en fonction de :

- de leur composition chimique (mesure des paramètres globaux et des éléments en trace) ;
- de leur flore bactérienne (mesure du nombre le plus probable « NPP » de coliformes fécaux) ;
- de leur écotoxicité intrinsèque (mise en œuvre des essais de luminescence bactérienne, de toxicité sur la croissance des algues et de toxicité sur la mobilité la daphnie).

Les paramètres retenus pour ces caractérisations sont :

- la DCO et la DBO₅ pour la mesure de la charge organique globale;
- les AOX (composés organo-halogénés adsorbables sur charbon actif) pour l'évaluation de la teneur en composés organo-halogénés;
- les métaux (arsenic, cadmium, chrome, cuivre, mercure, nickel, plomb et zinc) pour la caractérisation de la pollution minérale;
- le nombre de coliformes fécaux pour la caractérisation de la flore bactérienne et pour une détection indirecte de la présence massive de désinfectants et/ou d'antibiotiques ;
- la mesure de la luminescence bactérienne (*Vibrio fischeri*), de la croissance algale (*Pseudokirchneriella subcapitata*) et de la mobilité de la daphnie (*Daphnia magna*) pour la caractérisation de l'écotoxicité intrinsèque des effluents.

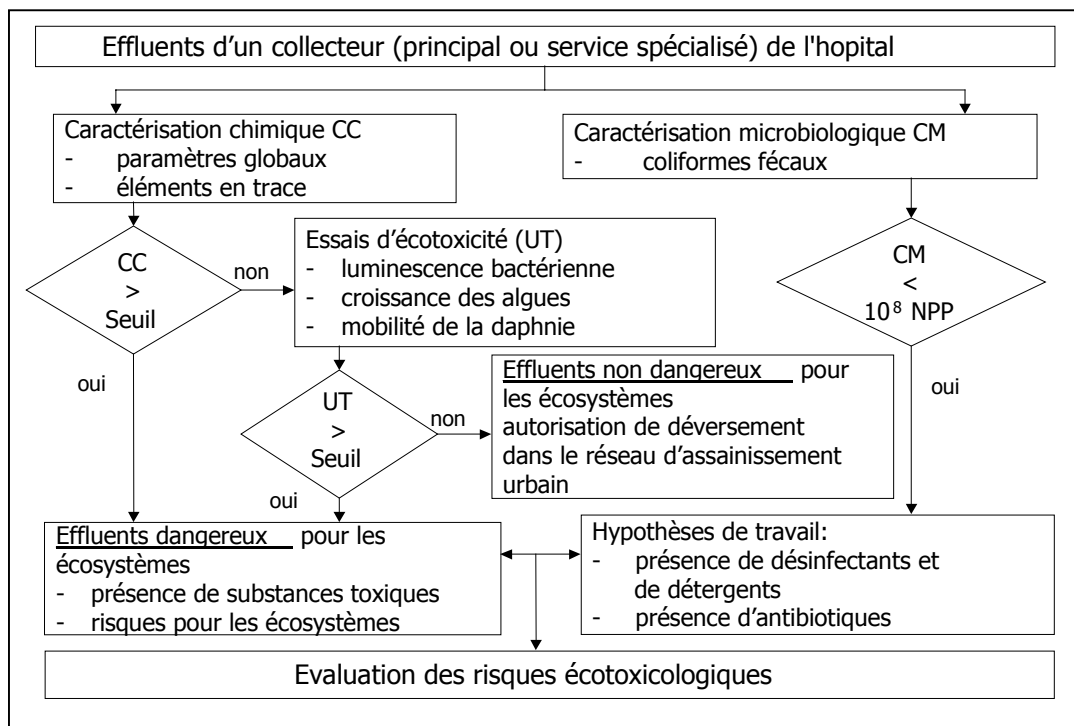


Figure 27: Logigramme de la démarche élaborée pour l'évaluation des dangers écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers

Les mesures effectuées pour ces différents paramètres sont comparées à des valeurs seuils qui ont été établies de la manière suivante :

- paramètres globaux et polluants : valeurs limites réglementaires pour le rejet des effluents dans les réseaux d'assainissement urbains (tableau 21);
- paramètres écotoxicologiques : valeurs seuils fixées à 2 Unités Toxiques (UT) (EPA, 1989) pour chacun des organismes tests sélectionnés;
- paramètre microbiologique : valeur seuil fixée à 1×10^8 coliformes pour 100 mL, valeur correspondant à la teneur moyenne de ces bactéries fécales dans les effluents urbains classiques (METCALF et EDDY, 1991).

NB : Dans le cadre de l'évaluation des risques sanitaires liés au rejet des effluents hospitaliers (présentée dans le paragraphe précédent), la concentration en coliformes fécaux est utilisée comme un indicateur du degré de pollution des eaux par des germes fécaux. Elle est considérée ici comme un indicateur indirect de la présence massive d'antibiotiques et/ou de désinfectants.

Tableau 21: Synthèse des valeurs seuils retenues

Paramètres	Valeurs seuils	Origine
Physico-chimie		
DBO ₅	30 mg/l	(MATE, 1998)
DCO	125 mg/l	MATE, 1998)
AOX	1 mg/l	MATE, 1998)
Arsenic	0,004 mg/L	MATE, 1998)
Cadmium	0,001 mg/L	MATE, 1998)
Chrome	0,5 mg/l	MATE, 1998
Cuivre	0,5 mg/l	MATE, 1998
Mercure	30×10^{-6} mg/L	MATE, 1998)
Nickel	0,5 mg/l	MATE, 1998
Plomb	0,5 mg/l	MATE, 1998
Zinc	2 mg /l	MATE, 1998
Bactériologie		
Coliformes fécaux	1×10^8	Metcalf et Eddy, 1991
Bioessais		
<i>Vibrio fischeri</i> 30 min	2 UT	
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 72 h	2 UT	
<i>Daphnia magna</i> 48 h	2 UT	

Pour tout rapport $C_p/V_s > 1$ (C_p : concentration en polluants dans les effluents hospitaliers ; V_s : valeurs seuils) et pour toute concentration en coliformes fécaux inférieure à 1×10^8 NPP pour 100mL, la démarche recommande de passer à l'étape suivante d'évaluation des risques écotoxicologiques.

Il est nécessaire de souligner que dans cette démarche, et comme c'est le cas observé dans presque tous les hôpitaux où une politique de lutte contre les infections nosocomiales est appliquée, la flore bactérienne et la concentration moyenne pour les paramètres physico-chimiques des effluents ne varient pas dans le même sens. Ce qui permet d'avancer que « *Moins élevée est la flore bactérienne des effluents hospitaliers, plus élevée sera la toxicité aiguë des polluants organiques et minéraux sur les organismes aquatiques* ».

Elaborée à partir des informations rapportées dans la littérature sur les problèmes environnementaux posés par les effluents hospitaliers dans les espaces urbains, cette démarche permet de mieux appréhender l'analyse de l'exposition des écosystèmes à ces effluents. Elle répond parfaitement à l'illustration de la problématique environnementale des effluents hospitaliers, telle que présentée dans la figure 26. Cependant, il paraît évident que son application se limite uniquement à des schémas généraux où le réseau d'assainissement de l'hôpital est raccordé au réseau d'assainissement urbain et où les effluents sont finalement traités dans la station d'épuration communale.

III.4. Etape "Evaluation des risques écotoxicologiques"

L'évaluation des risques écotoxicologiques est un sous-ensemble de l'évaluation des risques écologiques et peut donc, à ce titre, être traitée selon une approche du même type. L'évaluation des risques écologiques consiste à évaluer la probabilité que des effets écologiques défavorables arrivent par suite de l'exposition à une ou plusieurs substances dangereuses ou toxiques (U.S. EPA, 1992). Comme cela a été présenté dans le détail dans le chapitre 2, elle se conduit classiquement en 3 phases: **la formulation du problème, la phase d'analyse** (comprenant la caractérisation de l'exposition et des effets) **et la caractérisation finale des risques** (figure 6).

III.4.1. Formulation du problème

Cette première étape de l'évaluation des risques écologiques est une étape critique. Son objectif est de cadrer les phases d'analyse et de caractérisation, en identifiant précisément les données à acquérir, les techniques de mesure ou d'évaluation et le cadre d'interprétation (BABUT et PERRODIN, 2001). Cette phase comprend essentiellement deux éléments (U.S. EPA, 1998a): (a) la description détaillée du contexte et l'intégration des données disponibles, (b) l'élaboration du modèle conceptuel et la sélection des paramètres d'évaluation des effets.

Les paramètres d'évaluation des effets (ou points finaux de mesure) sont une expression formelle de ce que l'on veut protéger ou évaluer dans les écosystèmes concernés (SUTER, 1993). Ils représentent des éléments de l'écosystème susceptible d'être affectés par le ou les facteurs de risque étudiés, sans pour autant nécessairement être directement mesurables (EPA, 1998).

Le modèle conceptuel est une série d'hypothèses basées sur les relations entre les sources du « stress » étudié, les effets de ce stress et les « points finaux de mesure - ou paramètres d'effet » (EPA, 1998).

a. Description du contexte de cette évaluation écotoxicologique

Cette description, qui a pour but d'appréhender au mieux l'exposition des écosystèmes aux effluents hospitaliers, a été réalisée pour un scénario de gestion des effluents hospitaliers couramment observé dans les pays industrialisés. Celui-ci prévoit le raccordement du réseau d'assainissement de l'hôpital au réseau d'assainissement urbain, ainsi que le traitement des eaux urbaines dans une station d'épuration biologique qui rejette ses propres effluents dans le milieu naturel.

Une description synthétique de ce scénario est présentée dans la figure 28. Les traits pleins (—) indiquent les transports et transferts des polluants qui sont pris en compte dans l'évaluation, alors que les traits en pointillés (.....) indiquent ceux qui ne sont pas pris en compte.

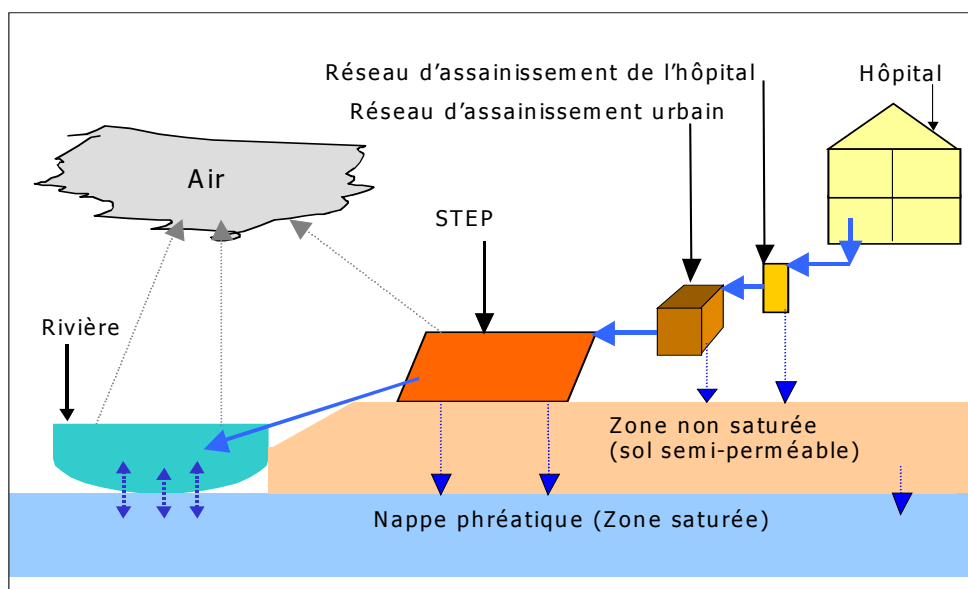


Figure 28: Présentation synthétique du scénario étudié

b. Les espèces exposées et les écosystèmes concernés

Le scénario met en jeu deux types d'écosystèmes (tableau 22) qui sont exposés aux polluants contenus dans les effluents hospitaliers :

- les écosystèmes artificiels représentés dans le contexte de cette évaluation par la STEP,
- les écosystèmes naturels représentés dans le cadre de cette étude par l'air, le sol, les eaux de surface et la nappe phréatique.

Tableau 22: les écosystèmes concernés

Ecosystèmes		Eléments susceptibles d'être affectés
Artificiels	STEP	les bactéries et les algues et les protozoaires (dans le cas où les unités de traitement biologique disposent de réacteurs de décomposition fonctionnant sous le mode « aérobie »).
Naturels	Air	les oiseaux essentiellement et les insectes
	Sol	les microorganismes du sol ; les insectes et les vers de terre ; les végétaux du sol.
	Eaux de surface	les producteurs primaires (phytoplancton), dont des algues vertes uni et pluricellulaires ; les consommateurs primaires (invertébrés), en particulier des crustacés; et les consommateurs secondaires, dont les poissons et les oiseaux aquatiques.
	Nappe phréatique	la protection des ressources en eau douce

c. Elaboration du modèle conceptuel et choix des paramètres d'évaluation

Dans le scénario présenté, les différents polluants contenus dans les effluents hospitaliers vont transiter dans les canalisations du réseau d'assainissement urbain, voie de transfert de ces substances vers la STEP. Les polluants qui résistent aux mécanismes d'épuration de la STEP vont ensuite migrer dans les eaux de surface. Dans ces conditions, l'exposition des écosystèmes cibles se fera essentiellement par le biais de la dilution des polluants dans le réseau et la station tout d'abord, puis à leur arrivée dans le milieu naturel. Les voies d'exposition potentielles liées aux fuites du réseau vers le sol et/ou la nappe n'ont pas été prises en compte dans le cadre de cette étude. Par ailleurs, il ne faudra pas oublier, au moment de l'interprétation finale, les phénomènes de transformation biologique et physico-chimique qui concernent potentiellement certains polluants tout au long de leur parcours dans le réseau, la STEP et à leur arrivée dans le milieu naturel.

Pour la caractérisation des effets, deux hypothèses de travail ont été fixées :

- hypothèse 1 : "le rejet des polluants hospitaliers dans la STEP ne devra pas perturber les processus d'épuration biologique des eaux usées, en portant atteinte à la communauté d'organismes chargée de la décomposition biologique de la matière organique";
- hypothèse 2 : les effluents de la STEP recevant les effluents hospitaliers ne devront pas entraîner d'effets sur les espèces vivantes des milieux aquatiques naturels".

Pour l'évaluation des effets des polluants d'origine hospitalière sur la survie des bactéries, la croissance des algues et la survie des crustacés d'eau, il a été choisi de travailler avec des essais écotoxicologiques standardisés. Dans ces conditions, les bactéries sont représentées par « *Vibrio fischeri* », les espèces constituant les producteurs primaires (phytoplancton) sont représentées par l'algue « *Pseudokirchneriella subcapitata* », et le crustacé d'eau douce « *Daphnia magna Strauss* » assure la représentation des consommateurs primaires.

La figure 29 présente le modèle conceptuel résultant de ces choix d'application.

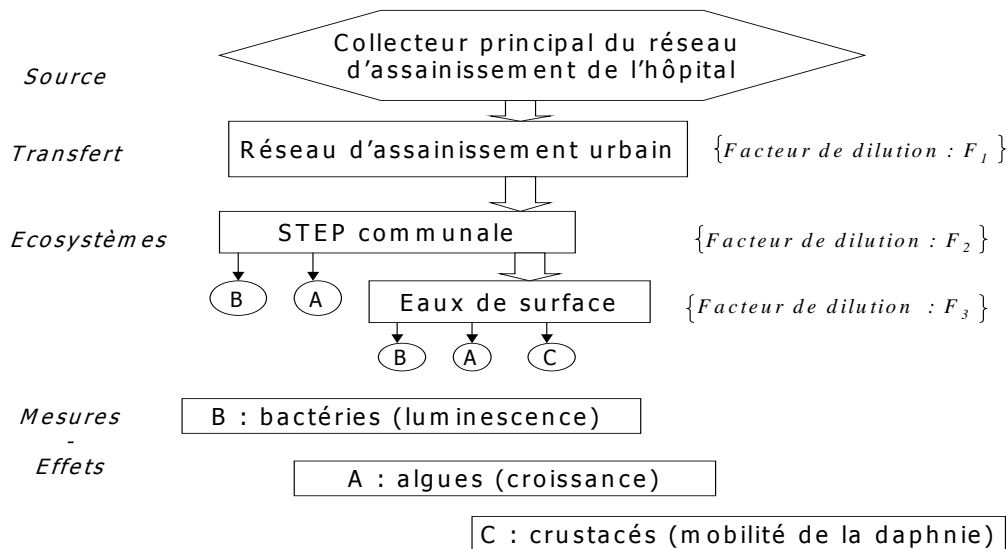


Figure 29: Modèle conceptuel du scénario étudié

La STEP, les eaux douces de surface et les espèces des deux premiers niveaux trophiques sont les seules cibles retenues dans le cadre de cette évaluation. La non prise en compte des autres écosystèmes et des autres espèces ne signifie pas que ceux-ci soient de moindre importance sur le plan écologique, mais simplement qu'ils n'ont pas été pris en compte dans cette première étape de l'élaboration de la méthodologie.

En complément des paramètres d'évaluation sélectionnés, un certain nombre de mesures complémentaires ont été réalisées afin de mieux expliquer les résultats obtenus. Le tableau 23 présente l'ensemble des paramètres physico-chimiques et microbiologiques suivis.

Tableau 23 : Paramètres physico-chimique et microbiologiques mesurés

Type de Caractérisation	Paramètres
Physico-chimique	DBO ₅ , pH, DCO, AOX, CT, COT, Cl ⁻ , MEST, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Ag, Hg
Microbiologique	Coliformes fécaux, Entérocoques fécaux, Spores anaérobies sulfito-réductrices

III.4.2. Phase d'analyse

Cette phase consiste en l'acquisition de données nécessaires à la caractérisation de l'exposition des différents écosystèmes concernés et à la caractérisation des effets des polluants sur les écosystèmes.

La caractérisation de l'exposition consiste en principe à déterminer les probabilités de contact entre le facteur causal (stresseur) et les « cibles » (récepteurs) (EPA, 1998). Elle passe donc en général par l'analyse des sources, des transferts depuis ces sources, et de la distribution du contaminant dans l'environnement. Cette analyse peut être réalisée à l'aide de calculs théoriques (bilan hydrique du site sur la base des données issues de l'étude hydrogéologique du site par exemple) ainsi que sur la base de résultats expérimentaux (tests en colonne pour évaluer le transfert des polluants dans le contexte du bilan hydrique, par exemple) (BABUT et PERRODIN, 2001). Dans le cas présent, et compte tenu des simplifications effectuées, l'acquisition des données concernant les différentes dilutions des effluents hospitaliers dans le réseau et le milieu aquatique naturel sera suffisante pour calculer les concentrations d'exposition des organismes cibles aux effluents étudiés.

La caractérisation des effets s'appuie elle sur des approches biologiques, incluant principalement des bioessais et des bio indicateurs (DILLON et GIBSON, 1990; BURTON et *al.*, 1992; BURTON et MCPHERSON, 1995; BABUT et PERRODIN, 2001).

La mise en œuvre concrète de la phase d'analyse pour le site d'application étudié est présentée ci-après.

Caractéristiques générales du site d'étude

Les effluents liquides d'un centre hospitalier universitaire d'une grande ville de Sud-est de la France ont été utilisés pour la réalisation de la phase expérimentale de cette étude. Il s'agit d'un hôpital de taille moyenne, de 750 lits environ. La consommation en eau de l'hôpital est estimée à 1m³/lit/jour. Les rejets liquides des différents services sont déversés dans le réseau d'assainissement de l'hôpital. Ce réseau est constitué de plusieurs collecteurs répartis par service ou groupe de services connexes. L'institution dispose d'un réseau d'égout combiné (eaux pluviales + eaux vanne). A priori, l'existence d'un tel réseau peut occasionner une augmentation de la concentration des substances azotées durant les premiers jours de pluie et une dilution (réduction de la concentration) de tous les polluants azotés ou non durant les autres jours de pluie (Harremoes et Sieker, 1993). Ce réseau peut également provoquer une augmentation ponctuelle de la teneur de certains métaux lourds, notamment le zinc.

Prélèvement des échantillons

Deux campagnes de prélèvements (2001 et 2002) d'échantillons d'effluents liquides ont été réalisées sur le site. Durant les deux campagnes, les prélèvements ont été effectués uniquement sur les effluents d'un service de maladies infectieuses et tropicales. Ce choix est justifié par le fait que ce service traite, entre autres, deux pathologies qui sont endémiques en Haïti « *la tuberculose et le paludisme* ». L'objectif a été d'identifier sur le plan métrologique des indicateurs qui se révéleraient très pertinents pour les travaux de caractérisation à réaliser sur les effluents liquides d'un hôpital d'Haïti.

Point de prélèvement des échantillons de la campagne de 2001

Le service retenu a une capacité de 144 lits. Ses effluents sont directement déversés dans le réseau spécifique qui lui est attribué. Ce système d'égout est constitué de canalisations de 250 à 500mm de diamètre et de deux regards de 1m² de surface. et de 4 m de hauteur. La figure 30 reproduit partiellement la vue en plan des regards. Les prélèvements d'échantillons pour les différentes analyses de laboratoire et les mesures de débit ont été effectués sur le regard R₂.

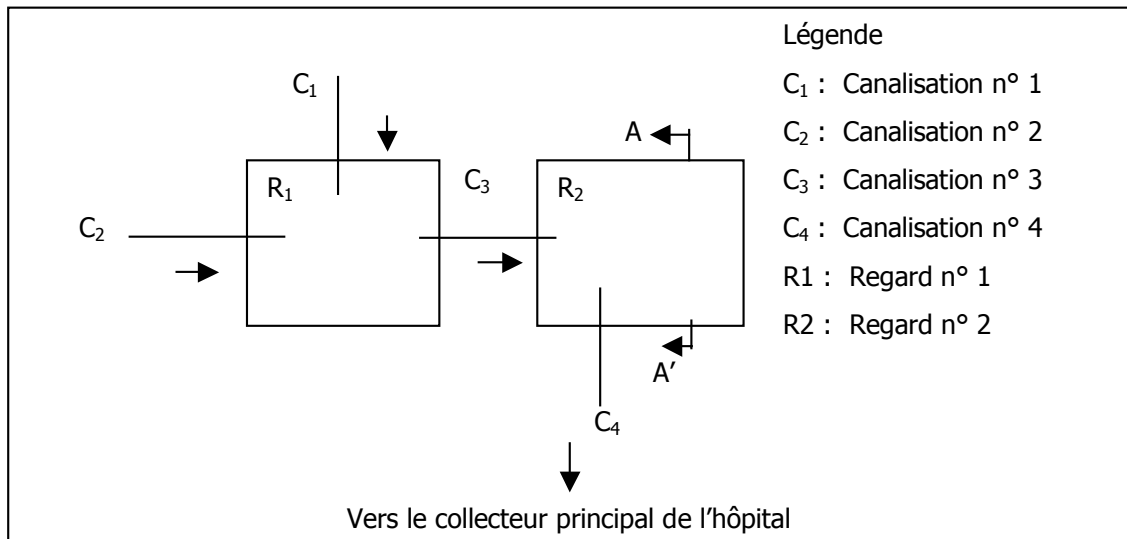


Figure 30 : Vue en plan des deux regards (dessin non à l'échelle)

La figure 31 présente la coupe transversale « AA' » du regard R₂.

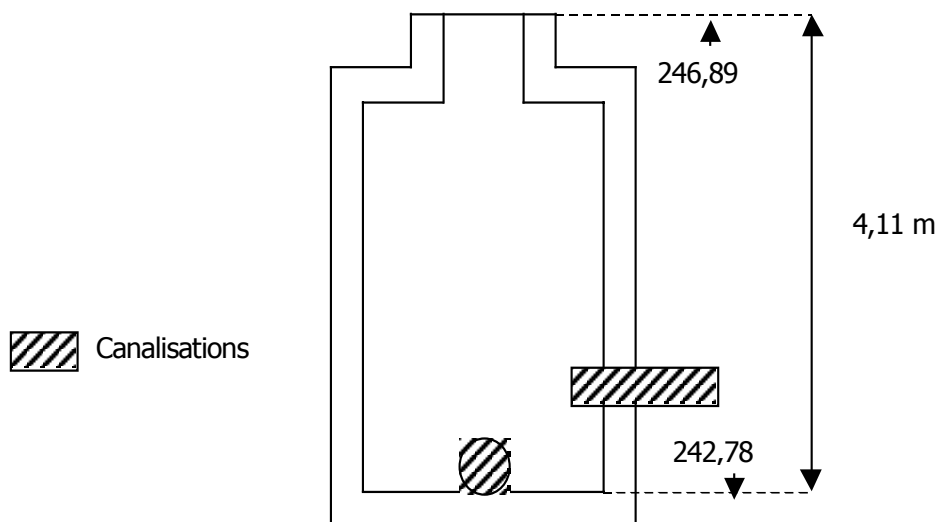


Figure 31 : Vue de la coupe transversale « AA' » du regard R₂ (dessin non à l'échelle)

Le tableau 24 fournit les informations techniques du système d'égout considéré.

Tableau 24 : Données techniques sur les regards et les conduites hydrauliques

Ouvrages	Surface	Hauteur : R et Diamètre : C	Côte inférieure	Côte supérieure	Débit maximum admissible
R ₁	1,00 m ²	4,11 m	242,78 m	246,89 m	-
R ₂	1,00 m ²	4,30 m	242,45 m	246,70 m	-
C ₁	0,05 m ²	250 mm	-	-	38 L/s
C ₂	0,07 m ²	300 mm	-	-	79 L/s
C ₃	-	-	-	-	-
C ₄	0,20 m ²	500 mm	-	-	360 L/s

Horaire des prélèvements

Les différentes analyses physico-chimiques (à l'exception de l'argent) sont réalisées à partir d'échantillons moyens d'effluents, qui sont prélevés pendant cinq jours à raison de trois prises ponctuelles par jour et d'un volume total de 1 litre par prise. En se basant sur l'hypothèse que les concentrations maximales pour les différents polluants peuvent être observées durant le jour, l'horaire suivant a été adopté pour les prélèvements :

- a- un prélèvement entre 8:30 et 10:30 heures
- b- un prélèvement entre 11:30 et 13:30 heures
- c- un prélèvement entre 17:00 et 19:00 heures.

Méthode de prélèvement et traitements des échantillons

La méthode de prélèvement manuel instantané a été utilisée pour la collecte des échantillons. A l'exception des échantillons destinés aux examens bactériologiques qui ont été placés dans des récipients en plastique contenant du thiosulfate, tous les échantillons ont été placés dans des flacons parfaitement propres en verre. Les récipients ont été rincés au moment de l'emploi avec l'eau à examiner, et remplis complètement. Les récipients, contenant les échantillons de rejets liquides, ont été soigneusement étiquetés et conservés à 4 °C. Ils ont été transportés jusqu'au laboratoire dans un laps de temps ne dépassant pas 3 heures. Un échantillon moyen par jour a été réalisé juste après le troisième prélèvement.

Les paramètres mesurés en 2001 et leur protocole d'exécution

Pour des raisons pratiques, on a jugé utile de sous-traiter le dosage de certains paramètres à des laboratoires de routine, certifiés ISO « Bonne Pratique de Laboratoire ». Le tableau 25 détaille les paramètres mesurés, les laboratoires et les protocoles d'exécution.

Tableau 25 : les paramètres mesurés en 2001 et les laboratoire d'exécution

Paramètres	Laboratoire	Protocole d'exécution
MEST	LAEPSI - INSA	NF EN 872
DBO ₅	Lab. WOLFF Env.	NF EN 1899-1, 05/98
DCO	POLDEN - INSA	HACH
Phosphore total	Lab. WOLFF Env.	NF EN ISO 11885
CL ⁻	Lab. WOLFF Env.	NF EN ISO 10304-2
Ag ⁺	ICP-AES	NF EN ISO 11885
Hg ⁺	Lab. WOLFF Env.	XP 90-113-2, 02/97
AOX	Lab. WOLFF Env.	NF EN 1485, 10/96*
pH	LAEPSI - INSA	NF T90-008
Température	LAEPSI - INSA	
Conductivité électrique	LAEPSI - INSA	NF EN 27888, ISO 7888
COT	Wessling de Lyon	EN 1484
MICROTOX	L.S.E. - ENTPE	NF T 90-320, 08/91
Daphnia magna Straus	POLDEN - INSA	NF T 90-301/NFEN ISO 6341
Coliformes fécaux	Laboratoire Santé Environnement	NF T 90-413
Streptocoques fécaux	Hygiène (LSEH) de Lyon	XP T 90-411

* Adsorption en batch

Campagne de prélèvement de 2002

La campagne de prélèvement de l'année 2002 a été réalisée dans les mêmes conditions techniques que celle de 2001. Tous les échantillons ont été prélevés sur le regard R₂ par la méthode de prélèvement manuel instantané. Les seules différences entre les campagnes 2001 et 2002 sont les suivantes:

- un seul échantillon a été prélevé par jour entre 11:30 et 13:30 heures, ce qui donne un total de 5 prélèvements effectués au cours de l'année 2002 ;
- un volume total de 2 litres a été prélevé par prise/jour ;
- les effluents destinés à la détermination des AOX ont été placés dans un récipient spécial préalablement conditionné pour ce test ;
- le nombre de paramètres à mesurer a été augmenté et le nombre de laboratoire a été réduit ;
- l'argent et le mercure n'ont pas été dosés ;
- les effluents destinés au dosage des éléments traces (métaux lourds) ont été traités à l'acide nitrique.

Le tableau 26 donne la liste des paramètres qui ont été mesurés en 2002 et les laboratoires de réalisation.

Tableau 26 : les paramètres dosés en 2002 et les laboratoires de réalisation

Type de Caractérisation	Paramètres	Laboratoire d'exécution
Physico-chimique	MEST, conductivité électrique, température, pH, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn et P	LAEPSI – INSA de Lyon
	COT, Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺⁺ , Mg ⁺⁺ , NH ₄ ⁺ , Cl ⁻ , Nitrates, Sulfates, Phosphates,	L.S.E. - ENTPE
	DBO ₅ , pH, DCO, Sulfures, Sulfates, AOX,	LSEH de Lyon
Microbiologique	Coliformes fécaux Entérocoques fécaux Spores anaérobies sulfito-réductrices	LSEH de Lyon
Ecotoxicologique	Microtox 15 et 30 minutes, algue 72h, daphnie 24 et 48 h	POLDEN – INSA de Lyon

Méthodes de détermination des paramètres physicochimiques

La mesure des métaux a été réalisée, selon le protocole ISO 11 885, sur des échantillons filtrés à 0,45 µm, traités à l'acide nitrique pur (pH<2) et passés à l'ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atom Emission Spectroscopy).

Le dosage des autres paramètres physicochimiques a été effectué selon les protocoles suivants : pH – NF T 90-008, DBO5 – NF EN 1899-1, DCO – NF T 90-001, chlorures – ISO 10 304 et AOX – ISO 9562.

Bactériologie

Les coliformes fécaux ont été déterminés par la méthode NF T 90-433 microplaque. La norme française NF T 90-432 microplaque a été utilisée pour le dosage des entérocoques fécaux, et les prescriptions de la NF T 90-145 ont été suivies pour les spores anaérobies sulfito-réductrices.

Présentation des différents essais d'écotoxicité utilisés

L'essai Microtox

Cet essai a le statut de norme homologuée de l'AFNOR. Il est référencé au NF T90-320-3 (NF EN ISO 11348-3), février 1999. Il porte le titre de : « Qualité de l'eau – Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai de bactéries luminescentes). Partie 3 : Méthode utilisant des bactéries lyophilisées ».

a. Principe de l'essai

Proposé par BULICH (1979), l'essai de toxicité aiguë « Microtox » consiste à évaluer l'inhibition de la luminescence produite par des suspensions d'une bactérie marine *Vibrio fischeri* (bactérie marine) au contact d'une gamme de dilutions d'échantillons d'eaux. Cette luminescence est produite par un enchaînement de réactions biochimiques liées à la respiration cellulaire. Ainsi une diminution de la luminescence sera révélatrice d'une altération des activités métabolique de la bactérie. Le critère d'essai est la diminution de la luminescence mesurée après 5, 15 et 30 minutes d'incubation par rapport à un témoin sans échantillon.

b. Méthodologie

La norme AFNOR «NF T90-320-3 (NF EN ISO 11348-3)» prévoit de possibles interférences avec des échantillons colorés, turbides, ou en présence de matières en suspension (absorption ou diffusion de la luminescence bactérienne). Dans le souci d'empêcher ces interférences de se manifester, le libre passage les échantillons au travers d'un filtre en fibre de verre a été réalisé avant la mise en œuvre des autres étapes de l'essai. De leur prélèvement à la réalisation des essais, les échantillons sont conservés en chambre froide à environ +4°C.

L'essai est réalisé avec des organismes lyophilisés du commerce. Le milieu de dilution est de l'eau distillée salée à 20 g NaCl/L. Une gamme de 8 concentrations de l'échantillon d'effluents hospitaliers dans le milieu de référence est réalisée parallèlement à deux témoins sans les effluents à étudier. L'essai se déroule en tubes à essais. La salinité des éluats est évaluée avant l'essai et ajustée à environ 20 g/L par ajout de NaCl. Cet ajustement a permis de réaliser l'essai sur toutes les dilutions des échantillons prélevés à une conductivité électrique comprise entre 35 et 70 mS/cm.

c. Sensibilité de la souche bactérienne

La sensibilité des souches commerciales est contrôlée par des essais réguliers avec du 3,5-dichlorophénol, du sulfate de zinc et du dichromate de potassium.

d. Calcul de l'inhibition de la luminescence

La détermination de l'inhibition de la luminescence bactérienne comprend :

- ✓ le calcul d'un facteur de correction (f_{kt});
- ✓ le calcul d'une valeur de correction (I_{ct}) de la luminescence des témoins au temps zéro ;
- ✓ le calcul d'un effet inhibiteur (H_t) ;
- ✓ le calcul de la relation concentration /effet (Γ_t)

d.1. Calcul d'un facteur de correction (f_{kt})

Le facteur de correction (f_{kt}) traduit l'évolution de la luminescence (mesurée en unités relatives) dans les suspensions bactériennes témoins. Il se calcule par l'équation suivante :

$$f_{kt} = \frac{I_{kt}}{I_0} \quad \text{Eq. 14}$$

avec :

f_{kt} : facteur de correction

I_{kt} : luminescence des témoins au temps t (5, 15 ou 30 min)

I_0 : luminescence des témoins au temps zéro

d.2. Calcul de la valeur de correction (I_{ct}) de la luminescence des témoins

Pour chaque dilution de l'échantillon, on calcule les I_{ct} à l'aide de l'équation :

$$I_{ct} = I_0 \times \bar{f}_{kt} \quad \text{Eq. 15}$$

avec :

I_{ct} : valeur corrigée de I_0 pour les cuves de mesure, immédiatement avant l'ajout de l'échantillon pour essai

I_0 : luminescence des suspensions au temps zéro

\bar{f}_{kt} : moyenne des f_{kt} obtenus pour les témoins

d.3. Calcul de l'effet inhibiteur (H_t)

L'effet inhibiteur (H_t) de chaque dilution à l'aide de l'équation:

$$H_t = \frac{I_{ct} - I_{Tt}}{I_{ct}} \times 100 \quad \text{Eq. 16}$$

avec :

H_t : effet inhibiteur de chaque dilution

I_{Tt} : luminescence de l'échantillon après un temps de contact

I_{ct} : valeur corrigée de I_0 pour les cuves de mesure, immédiatement avant l'ajout de l'échantillon pour essai

d.4. Calcul de la relation concentration /effet (Γ_t)

On évalue enfin la relation concentration /effet (Γ_t) pour chaque dilution :

$$\Gamma_t = \frac{H_t}{100 - H_t} \quad \text{Eq. 17}$$

avec :

(Γ_t) : relation concentration/effet

H_t : effet inhibiteur de chaque dilution

Seules les valeurs de Γ_t comprises entre 10% et 90% sont utilisées pour le calcul de l'effet inhibiteur.

e. Critères de validité

L'essai est validé si les conditions suivantes sont remplies :

- la valeur de f_{kt} pour un temps d'incubation de 30 minutes est comprise entre 0,6 et 1,8
- l'écart observé entre les déterminations effectuées en double ne doit pas dépasser 3% de leur moyenne
- es trois substances de référence provoquent une inhibition comprise entre 20% et 80% après un temps de contact de 30 minutes aux concentrations suivantes :
 - ✓ 3,4 mg/l de 3,5-dichlorophénol
 - ✓ 2,2 mg/l de Zn^{++} (sous forme de sulfate de zinc heptahydraté)
 - ✓ 18,7 mg/l de Cr^{6+} (sous forme de dichromate de potassium).

Dans le cadre de cette étude, la mise en œuvre de l'essai Microtox a rencontré les critères de validité de l'essai.

f. Expression des résultats

La CE 50t (en pourcentage de dilution de l'échantillon) est déterminée par une méthode de régression appropriée. Le résultat peut aussi être exprimé en unités toxiques ($UT = 100/CE50_t \%$).

L'essai Algue

Cet essai a le statut de norme homologuée de l'AFNOR. Il est référencié au NF T90-375, décembre 1998. Il porte le titre de : « Qualité de l'eau – Détermination de la **toxicité chronique** des eaux par inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*) ».

a. Principe de l'essai

L'essai est réalisé avec un inoculum d'algues *Pseudokirchneriella subcapitata* (anciennement *Selenastrum capricornutum* puis *Raphidocelis subcapitata*) issu des cultures du laboratoires alors qu'elles sont en phase exponentielle de croissance.

b. Méthodologie

Les échantillons sont filtrés à 0.45 µm de façon à éliminer les particules en suspension susceptibles d'adsorber les algues et de provoquer leur décantation, ainsi que d'éventuels protozoaires ou microorganismes pouvant interférer avec la croissance des algues. Le milieu de dilution est le milieu normalisé (avec 0,1 mg d'EDTA par litre de solution d'essai).

De leur prélèvement à la réalisation des essais, les échantillons sont conservés en chambre froide à environ 4°C ± 3°C. Les essais sont mis en route au maximum 72 heures après le prélèvement.

Un essai préliminaire est réalisé en 72 heures. Pour l'essai définitif, une gamme de 5 concentrations de l'échantillon dans le milieu de référence sera réalisée parallèlement à un témoin sans éluat (et à des témoins négatifs sans inoculum algal). L'essai se déroule en flacons contenant chacun 25 ml de solution d'essai, avec trois répétitions par concentration. L'essai est statique, sous agitation magnétique et sous éclairage constant, à 23°C ± 2°C . Les mesures de concentration algale sont réalisées toutes les 24 heures, par comptage à la cellule de Malassez, au microscope optique.

c. Sensibilité de la souche algale

La sensibilité de la souche du laboratoire est contrôlée par des essais réguliers avec le bichromate de potassium.

d. Critères de validité de l'essai Algue

L'essai est validé si les conditions suivantes sont remplies :

- la concentration cellulaire moyenne du lot témoin doit avoir été multipliée par un facteur supérieur à 32 en 72 heures
- il ne doit pas y avoir de développement algal dans les essais témoins négatifs

Dans le cadre de cette étude, la mise en œuvre de l'essai Algue a rencontré les critères de validité de l'essai.

e. Calcul de l'inhibition de la croissance des algues et expression des résultats

Pour les 3 premiers échantillons de l'année 2002, les lectures sont effectuées toutes les 24 heures. Les aires situées sous les courbes de croissances (biomasse intégrale) obtenues pour chacune des concentrations de l'échantillon sont calculées, et le pourcentage d'inhibition pour chaque concentration est calculé par rapport à l'aire sous la courbe de croissance obtenue pour le lot témoin.

Pour les autres échantillons, les lectures sont effectuées uniquement en fin d'essai. Le pourcentage d'inhibition de la croissance à 72 heures par rapport à la croissance obtenue pour le lot témoin est calculé pour chaque concentration.

Dans les deux cas, on a tracé la droite correspondant aux pourcentages d'inhibition par rapport aux concentrations, et on a déterminé la CE₅₀.

L'essai Daphnie

Cet essai a le statut de norme homologuée de l'AFNOR. Il est référencié au NF EN ISO 6341, mai 1996 (T90-301). Il porte le titre de : « Qualité de l'eau – Détermination de la mobilité de *Daphnia magna Strauss* (cladocera, crustacea) – Essai de **toxicité aiguë** ».

a. Principe

L'essai consiste à déterminer la concentration initiale (présente en début d'essai) qui, en 24 heures ou 48 heures, immobilise 50 des daphnies mises en expérimentation.

b. Méthodologie

L'essai est réalisé avec des organismes issus de l'élevage du laboratoire et âgés de moins de 24 heures. Un essai préliminaire est réalisé en 24 heures. Pour l'essai définitif, une gamme de 5 à 10 concentrations de l'échantillon d'effluents hospitaliers dans le milieu de référence est réalisée parallèlement à un témoin sans effluent. L'essai se déroule en tubes à essais, avec quatre répétitions de 5 daphnies par concentration.

A la fin de la période d'essai (24 et / ou 48h), on a dénombré dans chaque tube à essai le nombre de daphnies mobiles. L'essai est statique et se déroule à l'obscurité à une température de 20 +/-2°C. Le milieu de dilution est le milieu normalisé (sans EDTA).

c. Sensibilité de la souche utilisée

La sensibilité de la souche du laboratoire est contrôlée par des essais réguliers avec le bichromate de potassium.

d. Critères de validité de l'essai Daphnia magna Strauss

L'essai est validé si les conditions suivantes sont remplies :

- la teneur en oxygène dissous mesurée dans le lot témoin en fin d'essai est ≥ 2 mg/L ;
- le pourcentage d'immobilisation observé dans les récipients témoins est $\leq 10\%$;
- la CE50 24h du bichromate de potassium est comprise entre 0,6 et 1,7 mg/L.

Dans le cadre de cette étude, la mise en œuvre de l'essai *Daphnia magna Strauss* a rencontré les critères de validité de l'essai.

e. Estimation de la mobilité de la daphnie et expression des résultats

Pour chaque concentration de l'échantillon, on a calculé le pourcentage d'immobilisation par rapport au nombre initial de daphnies mises en expérimentation (habituellement 20). La CE 50t est déterminée par la méthode statistique de Litchfield-Wilcoxon (méthode des probit).

Les résultats sont exprimés en CE₅₀ 24h, en CE50 48h et en Unités Toxiques (1UT = 100/CE50) avec leurs intervalles de confiance, en pourcentage de dilution de l'échantillon.

f. Justification des essais choisis

Pour la réalisation de cette étude sur l'ERE liés aux effluents hospitaliers, les différents essais écotoxicologiques ont été choisis à la suite des conclusions des études bibliographiques sur les impacts des effluents liquides provenant des hôpitaux.

Ces essais sont tous normalisés, sensibles et les à mettre en œuvre. Leur réalisation ne nécessite pas un volume élevé d'effluents. Leur choix est surtout justifié par le fait qu'ils permettent d'obtenir des réponses à la fois en terme de toxicité aiguë et de toxicité chronique à des niveaux trophiques différents.

III.4.3. Caractérisation finale des risques

Cette opération est l'étape finale du processus d'évaluation des risques écologiques. Elle est la confrontation de l'évaluation des effets à celle de l'exposition. Comme nous l'avons vu dans le chapitre 2, il existe un éventail de méthodes possibles, de complexité variable (Babut et Perrodin, 2001). Le choix va dépendre des contraintes opérationnelles et des données disponibles. Rivière (1998) note que le risque écologique peut être exprimé de différentes manières : qualitatives (absence ou non de risque), semi-quantitatives (risque faible, moyen, élevé), en termes probabilistes (le risque est de x%).

Nous avons retenu ici la méthode dite « du quotient » qui est la méthode la plus simple et la plus répandue pour la caractérisation des risques. Cette méthode consiste à calculer le rapport de la « concentration probable d'exposition » sur la « concentration probable sans effet » vis à vis de l'organisme concerné. Dans notre cas, cette « concentration probable sans effet » est estimée à l'aide des résultats des bioessais. Lorsque la valeur de quotient « Q » est supérieure à 1, on considérera que le risque est significatif, et d'autant plus fort que le quotient est grand. Inversement, plus le quotient est inférieur à 1, plus le risque sera considéré comme faible.

La « concentration probable sans effet » sur l'organisme est, dans la pratique, le plus souvent représentée par la CE10, ou la CE20, ou encore la NOEC, divisée par un facteur de sécurité (10 le plus souvent) permettant de compenser les limites d'une évaluation effectuée à l'aide de quelques organismes tests seulement, et en utilisant des essais qui, même s'ils portent sur la toxicité chronique,

ne sont jamais complètement représentatifs de ce qui se passe à long terme sur le terrain. A défaut d'une CE10 ou d'une NOEC, la CE 50 peut être utilisée, mais avec un facteur de sécurité majoré.

CHAPITRE IV APPLICATION DE LA MÉTHODOLOGIE ÉLABORÉE POUR L'ÉVALUATION DES RISQUES SANITAIRES LIÉS AUX EFFLUENTS HOSPITALIERS SE TROUVANT EN MILIEU TROPICAL SEMI-URBANISÉ D'UN PED

I. Introduction

La présence dans l'environnement aquatique de substances chimiques provenant des activités d'hôpital représente un objet important de recherche dans le domaine de l'évaluation des risques pour la santé humaine. Les contaminants les plus fréquemment rencontrés sont des micro-organismes pathogènes (dont certains sont multi résistants aux antibiotiques), des métaux lourds (Leprat, 1998; EPA, 1989), des radio-isotopes (Rodier, 1971 ; Erlandsson et Matsson, 1978), des détergents (Deloffre-Bonnamour, 1995; EPA, 1989), des composés organo-halogénés (issus notamment de l'action de l'eau de Javel sur les molécules organiques présentes dans les effluents) et des résidus de médicaments (Richardson et Bowron, 1985; Gartiser et *al.*, 1996). Certains de ces polluants, particulièrement les résidus de médicaments et les composés organo-halogénés, quittent le plus souvent les stations d'épuration avec peu de dégradation (Kümmerer, 2001).

Une procédure pour la gestion et l'évaluation des risques pour la santé humaine a été élaborée pour un scénario habituellement observé dans les régions semi urbaines des pays en voie de développement. L'évaluation des risques pour la santé humaine, résultant de l'exposition directe de l'homme ou de l'utilisation des ressources naturelles en contact avec ces effluents, a été mise en œuvre à partir de ce scénario. Le scénario a permis alors d'étudier les risques générés par le rejet dans le sol, via une fosse septique munie de puits d'infiltration d'effluents hospitaliers, et a été appliqué sur les effluents d'un hôpital de Port-au-Prince en Haïti.

Dans le but d'éviter une évaluation trop lourde, la procédure a inséré au niveau de la phase de la caractérisation du danger une étape décisionnelle visant à comparer les différentes valeurs obtenues dans l'eau de nappe pour les polluants traceurs avec les concentrations prescrites sur le plan international dans les normes de qualité pour l'eau potable (normes de l'Organisation Mondiale de la Santé quand elles existent).

Pour tout rapport $C_n/N_q < 1$ (C_n : concentration en polluants dans les eaux de la nappe ; N_q : Norme de qualité de l'eau potable) et pour toute concentration en coliformes fécaux $NPP < 1$ pour 100 mL, le danger (et donc le risque) est considéré comme négligeable et la procédure est interrompue.

A l'inverse, pour tout rapport $C_n/N_q > 1$ et pour toute concentration en coliformes fécaux $NPP > 1$ pour 100 mL, la démarche recommande de passer aux étapes suivantes de l'évaluation des risques sanitaires à proprement parlée.

L'objectif de ce chapitre est de présenter les résultats obtenus de l'application de la procédure élaborée sur les effluents hospitaliers étudiés.

II. Résultats des analyses physicochimiques des effluents de la fosse septique

Les résultats de la caractérisation physicochimique des effluents de la fosse septique étudiée sont résumés dans le tableau 27. Le pH des échantillons étudiés au cours des trois campagnes oscille entre 7,4 et 8 ce qui met en évidence l'existence d'un milieu légèrement alcalin. La variation notée dans les mesures de pH des effluents hospitaliers est inférieure à 1 unité de pH.

Les concentrations mesurées pour l'arsenic, le cadmium et le cuivre pour tous les échantillons prélevés (effluents hospitaliers et eau de la nappe) sont en dessous du seuil de détection et ne sont pas présentés dans les tableaux des résultats.

Tableau 27: Résultats de la Caractérisation physicochimique et bactériologique des effluents de la fosse septique

Paramètres	Unité	Moyenne	Minima	Maxima	SD	n
pH	U	7,7	7,4	8	0,18	5
Conductivité	$\mu\text{S/cm}$	313	297	324	12	5
Chlorures	mg/L	179	172	191	8	5
$\text{NO}_3\text{-N}$	mg/L	1	0,2	1,05	0,3	5
DCO	mg/L	510	425	618	70	5
Pb	$\mu\text{g/L}$	19	3,26	49	18	7
Ni	$\mu\text{g/L}$	71	18	180	63	8
Cr_{total}	$\mu\text{g/L}$	197	18	440	163	8
Cr^{6+}	$\mu\text{g/L}$	17	10	20	6	3
Fe_{total}	$\mu\text{g/L}$	59	56	65	5	3
Fe^{2+}	$\mu\text{g/L}$	22	20	25	3	3
Mn	$\mu\text{g/L}$	55	26	71	25	3

II.1. Analyses bactériologiques

Les résultats de la caractérisation bactériologique des effluents de la fosse septique étudiée sont résumés dans le tableau 28.

Tableau 28 : Analyses bactériologiques des effluents hospitaliers

Paramètres	Unité	Moyenne	Minima	Maxima	SD	n
C. fécaux	NPP/100mL	7,5x10 ⁴	2x10 ⁵	119x10 ⁴	36x10 ⁴	6
Entérocoques fécaux	NPP/100 mL	55000	22000	120000	56294	3
Spores anaérobies sulfito-réductrices	UFC/20 mL	150	64	260	100	3

II.2. Résultats des analyses physicochimiques et bactériologiques des eaux de la nappe

Les résultats des analyses physicochimiques et bactériologiques des eaux de la nappe sont résumés dans le tableau 29. Le pH des échantillons étudiés au cours des trois campagnes varie de 6,7 à 8. Quoique supérieure à 1 unité de pH, cette variation est à l'intérieur des limites proposées par l'OMS (1994) pour l'eau potable.

Tableau 29 : Résultats de la Caractérisation physicochimique et bactériologique des eaux de la nappe phréatique

Paramètres	Unité	Moyenne	Minima	Maxima	SD	n
PH	U	7,4	6,7	8	0,45	13
Conductivité	µS/cm	316	300	330	15	5
Chlorures	mg/L	221	200	231	13	5
NO ₃ -N	mg/L	28	25	33	4	5
DCO	mg/L	82	59	112	17	10
Pb	µg/L	25	3,26	40	17	7
Ni	µg/L	100	0	250	96	8
Cr _{total}	µg/L	326	18	470	88	8
Cr ⁶⁺	µg/L	7	0	10	5	3
Fe _{total}	µg/L	20	18	22	2	3
Fe ²⁺	µg/L	9	6	12	3	3
C. fécaux	NPP/100mL	533	300	700	208	3

II.3. Estimation des AOX, des solvants chlorés et du glutaraldéhyde dans les eaux de la nappe

Les concentrations mesurés pour la DCO sont importantes dans les eaux de la nappe. Bien que ce paramètre n'a pas été directement considéré comme traceur de risque, il convient de souligner que sa concentration minimale est largement supérieure à la valeur seuil de 5 mg/L prescrite par la norme belge (DGRNE, 1998) pour l'eau destinée à la consommation humaine, ce qui traduit probablement la présence en concentrations importantes de substances organiques dans les eaux de la nappe (Rodier et al., 1996).

Dans le cadre de cette étude, le facteur de dilution (FD) entre la concentration de la DCO dans les effluents et les eaux de la nappe, soit FD moyen = 6 a été retenu pour caractériser de manière globale la concentration de solvants chlorés dans les eaux de la nappe.

Emmanuel et al. (2003) notent une bonne corrélation ($y=0,0031x+0,1178$; $r=0,99$; $r^2=0,98$) entre les chlorures (variables indépendantes) et les AOX (variables dépendantes) contenus dans des effluents hospitaliers provenant de service n'utilisant pas d'agents de contraste iodé, substances responsables en grande partie de la formation des AOX dans les effluents hospitaliers (Sprehe et al., 2001). La caractérisation des chloroformes a été réalisée à partir des concentrations estimées pour les AOX et en conformité avec la procédure décrite dans le chapitre III. Le tableau 30 donne les résultats de ces différentes estimations.

Tableau 30 : Valeurs estimées pour les AOX, les solvants chlorés et le glutaraldéhyde

Paramètres	Unité	Concentration estimée dans les EH	FD	Concentration dans la nappe
AOX	mg/L	0,71	6	0,118
Chloroforme	mg/L	0,71	6	0,118
Dichlorométhane	mg/L	0,71	6	0,118
Glutaraldéhyde	mg/L	4,00	6	0,8

III. Evaluation des dangers pour la santé humaine

Cette étape, qui a été introduite dans la méthodologie générale de l'évaluation des risques sanitaires (NCR, 1983), consiste à comparer les concentrations mesurées dans les eaux de la nappe pour les traceurs de risque sélectionnés les valeurs guides pour l'eau potable prescrites par l'OMS et présentées dans le chapitre III. Cette comparaison est effectuée dans le tableau 31.

Tableau 31: Comparaison des concentrations maximales mesurées avec les valeurs seuils

Paramètres	Unités	Concentration maximale mesurées	Valeurs seuils	Rapports C_P/N_q
<i>Physicochimique</i>				
Chloroforme	µg/L	118	200	< 1
Dichlorométhane	µg/L	118	20	> 1
Glutaraldéhyde	ppm	144	0,2	> 1
Crtotal	µg/L	470	50	> 1
Cr(VI)	µg/L	10	0,41	> 1
Ni	µg/L	250	20	> 1
Pb	µg/L	40	10	> 1
<i>Bactériologie</i>				
Coliformes fécaux	NPP/100 mL	700	<1	> 1

A l'exception du chloroforme, tous les autres paramètres physico-chimiques sont à des concentrations supérieures aux valeurs seuils pour l'eau destinée à la consommation humaine. Par ailleurs, la voie d'exposition retenu pour le glutaraldéhyde est le contact cutané. Le ratio calculé pour cette substance est également supérieure à 1.

Le rapport entre le nombre maximal de coliformes fécaux présents dans les eaux de la nappe et les normes de qualité bactériologique de l'eau destinée à la consommation humaine est largement supérieur à 1.

Ces résultats confirment l'existence de dangers pour la santé de la population qui consomment les eaux provenant de la nappe, et donc la nécessité de poursuivre la démarche par la mise en œuvre d'une évaluation des risques sanitaires pour la population concernée.

IV. Caractérisation des risques pour la santé humaine

IV.1. Risques microbiologiques

Le risque infectieux calculé pour les coliformes fécaux a donné un résultats de 10^{-5} infection par an.

Par ailleurs, aux Etats-Unis, 10^{-4} infection par an et par personne a souvent été avancé comme le niveau de risque tolérable liée à la consommation d'eau de boisson. Ce niveau maximal est remis en cause et considéré comme irréaliste pour certains (Haas, 1996). En effet, des estimations de *Centres for Disease Control and Prevention* indiqueraient que le nombre total de troubles pathologiques liés à l'eau de distribution serait de plusieurs millions de cas par an aux Etats-Unis, soit un taux annuel de 1%. Haas (1996) note que Le critère de 10^{-4} paraît alors inapproprié et hors portée, et considère un objectif de 10^{-3} infection par an et par personne (voire plus élevé) comme plus adapté.

Dans un pays tropical, où la température contribue favorablement au développement et à la croissance des germes pathogènes, 10^{-5} infection par an et par personne indique une très forte contamination des eaux souterraines par des eaux usées et le très haut niveau de risque bactériologique dont est exposé la population cible et de manière plus large la population de la RMPP. Les concentrations importantes en DCO dans l'eau nappe poussent à avancer qu'un simple traitement au chlore ne permettra pas à ces eaux d'être utilisées à la consommation humaine. Au contraire, cette chloration pourra contribuer à la formation de composés organo halogénés dont certains sont rémanents et toxiques, et au développement de germes multi résistants au chlore.

La démarche présentée conduit à une évaluation quantitative des risques infectieux. Elle devra être amélioré sur l'aspect du risque lié aux *Cryptosporidium* et aux entérocoques qui sont aujourd'hui des indicateurs plus performants de la pollution fécale. Il convient alors, dans le cadre de la gestion du risque pour la santé humaine lié à la contamination des ressources en eau douce de Port-au-Prince par les effluents hospitaliers, de procéder à l'avenir, à la vérification de ces premiers résultats par la mesure d'autres indicateurs de pollution fécale des eaux tels que : les entérocoques fécaux, *Cryptosporidium* spp., les parasites et si possibles les entéro virus. Il semble donc nécessaire, dans le cadre d'un politique de santé publique basée sur la prévention des maladies infectieuses hydriques de procéder à la mise d'un observatoire de qualité bactériologique des ressources en eau souterraine de la RMPP.

V.2. Risques Chimiques

Le glutaraldéhyde n'est pas classé par l'IARC et l'U.S. EPA comme étant cancérigène (IARC, 1987 ; U.S. EPA, 1995). Compte tenu de la voie d'exposition considéré, son niveau de risque a été jugé en référence à un indice de risque, ou le ratio de danger présenté dans le tableau.

L'U.S. EPA (1989) et l'ATSDR (1999) ne proposent pour le plomb et ses dérivées inorganiques aucune valeur pour les effets non cancérigènes aussi bien que pour les effets cancérigènes. L'âge, l'état de santé, la charge pondérale en plomb, et la durée de l'exposition sont autant de facteur qui jouent sur le métabolisme du plomb, et compliquent l'établissement de ces valeurs (INERIS, 2002).

L'U.S. EPA (1998) note qu'il y a une insuffisance d'information pour déterminer dans l'eau et dans les aliments les effets cancérigènes du Cr(VI) et du Cr(III). Quant au nickel, l'essentiel sur l'exposition humaine par la voie orale, et plus particulière par la consommation d'eau contaminée par ce métal, n'est pas encore établi. Ainsi, les calculs de risque pour les métaux ont été effectués par la méthode habituellement utilisée pour les substances non cancérigènes, c'est-à-dire les substances agissant avec un seuil d'effet.

Le niveau de risque cancérigène est apprécié à un risque de 1 pour 100 000 (ou 10^{-5}), niveau repère retenu par différentes instances internationales pour la gestion des risques environnementaux. Ce niveau de risque signifie que sur une population de 100 000 personnes exposées pendant une vie entière, l'exposition à une substance ou un ensemble de substances toxiques est susceptible d'induire un cancer en plus de ceux qui seraient advenus dans le même temps en dehors de l'exposition considérée. Il s'agit d'une valeur indicative ; d'autres sont possibles (INERIS, 2002). Ainsi, l'U.S. EPA (1992) prend en considération un risque repère de pour un risque collectif touchant l'ensemble d'une population, et la valeur maximale de pour juger du risque auquel un individu peut être exposé. En outre, les niveaux de risques ainsi calculés résultent de la mise en œuvre de modèles mathématiques permettant d'extrapoler à l'homme des données expérimentales obtenues sur l'animal, en faisant en sorte, par précaution, que les incertitudes inhérentes à ce type d'approche viennent systématiquement majoré le risque évalué (INERIS, 2002).

Pour le calcul des DMJ, une consommation totale de 2L/jour a été retenue pour les adultes, et de 0,75 L/jour pour les enfants. Des poids corporel de 70 kg et 10 kg ont été respectivement attribués aux adultes et aux enfants de moins de 10 ans. Pour l'interprétation des risques, trois niveaux ont été considérés :

R < 1	F : Faible
R = 1	M : Moyen
R > 1	E : Elevé

a. Substances avec seuil d'effet : risque non cancérigène

Le tableau 32 présente les niveaux de risques calculés pour les substances non cancérigènes par l'eau de boisson.

Tableau 32 : Risque calculé pour les substances à effet de seuil :

Substances	CAS #	DJM (mg/kg-jour) ⁻¹		DJA (mg/kg-jour) ⁻¹	Quotient de risque		Niveau	
		Adulte	enfant		Adulte	enfant	Adulte	enfant
Cr(III)	16065-83-1	2,03	5,32	1,5	1	4	M	E
Cr(VI)	18540-29-9	0,04	0,12	0,003	15	39	E	E
Ni	7440-02-0	2,57	2,89	0,02	129	145	E	E
Pb	7439-92-1	0,18	0,46	0,0035	50	132	E	E

A l'exception du chrome accusant un risque moyen pour les adultes, tous les autres métaux ont un risque élevé pour les adultes et aussi bien pour les enfants.

En défit, de l'incertitude qui règne sur le caractère cancérigène ou non de substances telles : Cr(IV) ; Cr(III) et Ni, les résultats obtenus ont montré que la population est exposée à un important risque chimique.

Une évaluation du risque ne se contente pas d'apprécier l'exposition en référence à des valeurs réglementaires ou des DJA. Lorsque les données s'y prêtent, l'évaluation du risque cherche à estimer les conséquences sanitaires. Ici, on appréciera le risque d'altération du développement psychique des enfants exposés, car la neurotoxicité est, chez le jeune enfant, la conséquence la plus redoutable de l'exposition au plomb (ZMIROU et PERRODIN, 1999). La littérature scientifique ample sur ce sujet a permis d'établir des « fonctions doses-réponses » entre le niveau d'exposition et la dégradation du quotient intellectuel des enfants (INSERM, 1999). Ces données indiquent qu'un apport de +10 µg/L de plomb par jour dans l'eau de boisson des enfants conduit à une augmentation de la concentration en plomb dans le sang de +16 µg/L. On estime que +100 µg/L de plomb dans le sang d'un enfant peuvent être associées à une baisse du quotient intellectuel de 2 à 3% (ZMIROU et PERRODIN, 1999).

Il en résulte qu'une ingestion de quotidienne de + 40 µg/L (concentration maximale mesurée dans les eaux de la nappe étudiée) conduit à une concentration qui augmente sensiblement dans le sang, et pour laquelle l'altération hypothétique du QI qui en résulterait serait, en moyenne, de 1%, situation qui ne peut être négligée. Cette dernière analyse, est toutefois effectuée sous réserve de la linéarité de la fonction « dose-réponse » en question pour la zone étudiée, ce qui en l'état actuel des connaissances ne peut être ni affirmé, ni infirmé totalement. Il faudra donc à l'avenir réaliser une caractérisation plus importante du plomb dans les ressources en eau de la Plaine du Cul-de-sac, couplée à une étude épidémiologique.

b. *Substance sans seuil d'effet : risque cancérigène*

Le tableau 33 présente les niveaux de risques calculés pour les substances cancérigènes retenue.

Tableau 33 : Risque cancérigène

Traceur	Cas N°.	IARC	ERU (orale) (mg/kg-jour) ⁻¹	DMJ (mg/kg-jour) ⁻¹		ERI	
				Adulte	Enfant	Adulte	Enfant
Dichlorométhane	75-09-2		$7,5 \times 10^{-3}$	0,5	1,31	3×10^{-3}	9×10^{-3}

Les résultats obtenus pour le risque cancérigène lié au dichlorométhane donnent un risque supérieur au niveau repère de 1 pour 100 000 (ou 10^{-5}) retenu par différentes instances internationales.

Dans la cadre du scénario étudié, ce résumé succinct sur la toxicité chronique des plus importants polluants (organiques et métaux) en terme de risque calculé, permet de retenir parmi les différents effets celui des **troubles de la mémoire** et celui de la **dégradation du quotient intellectuel des enfants** résultant de la forte teneur au plomb. Cette observation demeure importante et nécessite une prise de décision devant permettre aux enfants exposés, par des actions visant la gestion de la qualité de l'eau, de mieux profiter de tous les avantages qu'offre la scolarisation.

V. Conclusion

La qualité de l'évaluation des risques dépend de la validité des diverses données utilisées pour son exécution : données physicochimiques, toxicologiques, épidémiologiques ... ainsi que la construction de scénarii réalistes (ZMIROU et PERRODIN, 1999). Les incertitudes de l'approche effectuée restent cependant toujours nombreuses. Dans le cas du scénario étudié, on peut notamment citer le choix des polluants, la technique appliquée pour le calcul des teneurs des solvants chlorés (même dilution que la DCO) et d'autres polluants, les données toxicologiques sur le caractère cancérigène ou non des polluants minéraux dans l'eau potable. Ces incertitudes sont presque toujours présentes, dans le domaine de gestion des risques sanitaires.

L'évaluation des risques reste une activité scientifique permettant de prévoir les probables effets des polluants sur l'homme. Toutefois, il demeure évident que les résultats de ces évaluation permettent l'adoption de politique permettant d'éviter le pire. Dans le cas du scénario étudié, il y a lieu de retenir que la dégradation des eaux souterraines est une fonction des activités humaines. La teneur mesurée pour les polluants minéraux est largement supérieure aux valeurs naturellement présentes dans ces ressources en eau.

Le scénario présenté conduit à une évaluation quantitative des risques pour la santé humaine. L'évaluation des risques sanitaires présentée dans ce chapitre montre un risque sanitaire important pour les populations avoisinantes qui consomment l'eau de la nappe, lié essentiellement à l'apport du plomb, du chrome et des solvants chlorés. Il faudra à l'avenir valider ces résultats indicatifs par des évaluations de risques sanitaires plus précises incluant entre autres le dosage du glutaraldéhyde et l'étude de ses effets sur la santé humaine par la voie orale, le dosage des autres polluants chimiques (et non pas leur évaluation théorique par le biais de la bibliographie et d'un calcul de leur concentration basé sur la supposition qu'ils sont dilués dans la nappe à l'identique de la DCO), la détermination d'autres indicateurs biologiques de pollution fécale de l'eau notamment les *Cryptosporidium* spp., les entérocoques fécaux et les entérovirus, couplés à des études épidémiologiques. L'évaluation nécessitera également une meilleure connaissance des différents aquifères locaux rapportés dans la littérature.

CHAPITRE V APPLICATION DE LA MÉTHODOLOGIE ÉLABORÉE POUR L'ÉVALUATION DES RISQUES ÉCOTOXICOLOGIQUES LIÉS AUX EFFLUENTS HOSPITALIERS D'UNE VILLE D'UN PAYS DÉVELOPPÉ TEMPÉRÉ

I. Présentation des résultats

La méthodologie élaborée, et présentée dans le chapitre III, pour l'évaluation des risques écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers ainsi que les résultats de son application sur les effluents de l'hôpital étudié ont fait l'objet d'un article de Evens Emmanuel, Yves Perrodin, Gérard Keck, Jean-Marie Blanchard, Paul Vermande. Cet article a été soumis en novembre 2003 à la revue « *The Journal of Hazardous Materials* ». Le résumé ainsi que l'article sont présentés dans les paragraphes qui suivent.

I.1. Résumé

Les substances chimiques utilisées dans les hôpitaux pour les activités de soins et de recherche médicale sont le plus souvent retrouvées dans les effluents liquides. Cette forme d'évacuation n'est pas exemptée de risques pour les espèces vivantes des écosystèmes qui sont exposés. L'objectif de cet article est de présenter (i) les étapes d'une procédure élaborée pour la gestion et l'évaluation des risques écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers rejetés dans une STEP puis dans un milieu récepteur aquatique; et (ii) les résultats de son application sur les effluents d'un service de maladies tropicales et infectieuses d'un hôpital se trouvant dans une grande ville du Sud-est de la France. La démarche fait appel à une caractérisation des effluents hospitaliers en fonction de leur composition chimique; de la flore bactérienne présente; et de leur toxicité vis-à-vis de différents organismes représentatifs des écosystèmes « cibles ». Pour la caractérisation des effets, deux hypothèses de travail ont été élaborées. Elles concernent : (a) les effets sur les processus biologiques de la STEP, en particulier sur la communauté d'organismes chargée de la décomposition biologique de la matière organique ; (b) les effets sur les espèces des milieux aquatiques récepteurs des effluents de la STEP. Le scénario présenté conduit à une évaluation semi-quantitative des risques. Il devra être amélioré sur certains aspects, particulièrement ceux concernant : l'évolution de la toxicité à long terme sur les organismes cibles (effets génotoxiques, effet liés à la bioaccumulation des polluants,...), les interactions entre les médicaments, les désinfectants utilisés pour les soins et le nettoyage des locaux, et les détergents utilisés pour le nettoyage des locaux ; les interactions dans le réseau d'assainissement urbain et dans la STEP, entre les effluents hospitaliers (EH) et les effluents urbains classiques.

II. Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater : a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network

Evens Emmanuel^{1,2,*}, Yves Perrodin¹, Gérard Keck³, Jean-Marie Blanchard², Paul Vermande²

¹ Laboratoire des Sciences de l'Environnement, École Nationale des Travaux Publics de l'État, Rue Maurice Audin, 69518 Vaulx-en-Velin, France

² Laboratoire d'Analyse Environnementale des Procédés et Systèmes Industriels, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 20 avenue Albert Einstein, 69621 Villeurbanne Cedex, France

³ Unité d'Ecotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, BP 83, 69280 Marcy l'Etoile, France

Keywords : Hospital wastewater, ecotoxicological risk assessment, pharmaceuticals, disinfectants, toxicity, *Vibrio fischeri*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna*

* Corresponding author. Tel : +(33) 4 72 04 72 89; fax: +(33) 4 72 04 77 43
E-mail address : evemml@yahoo.fr

Abstract

In hospital a variety of substances are in use for medical purposes as diagnostics and research. After application, diagnostic agents, disinfectants and excreted non-metabolized pharmaceuticals by patients, reach the wastewater. This form of elimination may generate risks for aquatic organisms. The aim of this study was to present (i) the steps of an ecological risk assessment and management framework related to hospital effluents evacuating into wastewater treatment plant (WWTP) without preliminary treatment; and (ii) the results of its application on wastewater from an infectious and tropical diseases department of a hospital of a big city of the southeast of France. The characterization of effects has been made under two assumptions, which were related to : (a) the effects of hospital wastewater on biological treatment process of WWTP, particularly on the community of organisms in charge of the biological decomposition of the organic matter; (b) the effects on aquatic organisms. COD and BOD₅ have been measured for studying global organic charge. Assessment of organo halogenated compounds was made using AOX (halogenated organic compounds absorbable on activated carbon) concentrations. (3) Heavy metals (arsenic, cadmium, chrome, copper, mercury, nickel, lead and zinc) were measured. Low MPP (most probable number) for fecal bacteria has been considered as an indirect detection of antibiotics and disinfectants presence. For toxicity assessment, bioluminescence assay using *Vibrio fischeri* photobacteria, 72-h EC₅₀ algae growth *Pseudokirchneriella subcapitata* and 24-h EC₅₀ on *Daphnia magna* were used. The scenario allows to a semi-quantitative risk characterization. It needs to be improved on some aspects, particularly those linked: to long term toxicity assessment on target organisms (bioaccumulation of pollutants, genotoxicity, etc.); to ecotoxicological interactions between pharmaceuticals, disinfectants used both in diagnostics and in cleaning of surfaces, and detergents used in cleaning of surfaces ; to the interactions into the sewage network, between the hospital effluents and the aquatic ecosystem.

I. Introduction

Hospitals use a variety of chemical substances such as pharmaceuticals, radionuclides, solvents, disinfectants for medical purposes as diagnostics, disinfections and research [1-3]. After application, some of these substances and excreted non-metabolized drugs by the patients enter into the hospital effluents [4, 5], which generally reach, as well as the urban wastewater (figure 1), the municipal sewer network without preliminary treatment [6, 7]. Unused medications also are sometimes disposed of hospital drains [5]. Pollutants from hospital were measured in the effluents of WWTP, and in surface water [8]. Due to laboratory and research activities or medicine excretion into wastewater, hospitals may represent an incontestable release source of many toxic substances in the aquatic environment [9].

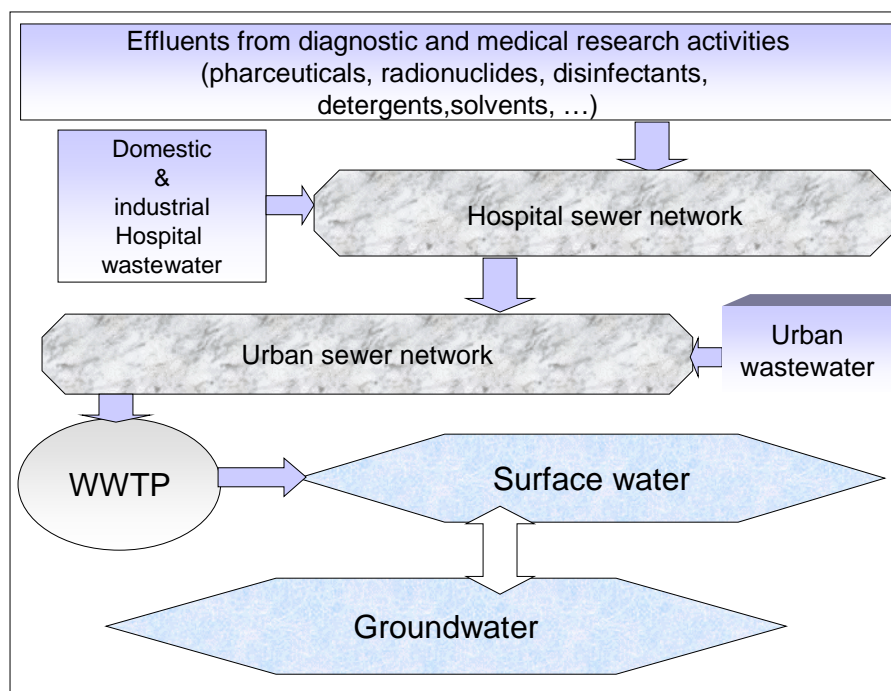


Figure 1 : Problems of hospital effluents and their impacts on WWTP and natural environments

The contact of hospital pollutants with aquatic ecosystems leads to a risk directly related to the existence of hazardous substances which could have potential negative effects on biological balance of natural environments. Risk is the probability of appearance of toxic effects after organism exposure to hazardous substances [10]. In the context of hospital wastewater discharge into the aquatic ecosystem, the exposure to hazardous substances, particularly disinfectants, non-metabolized pharmaceuticals and radionuclides, requires to consider possible risks for aquatic organisms. The fate of pharmaceuticals in the aquatic environment have been reported in different reviews of the literature [3, 4, 8, 11]. The ecological risk of glutaraldehyde, a dialdehyde usually recommended as the disinfectant of choice for reusable fiber-optic endoscopes, has been also treated in other study [9]. However, few studies treat with total risk resulting from the simultaneous exposure to various pollutants present in the hospital effluents.

French legislation fixes the conditions for the connection of hospital wastewater system into the urban sewer network [12]. In the Directive N° 793/93, on the human and ecosystem exposures to the classified toxic substances, the European Commission [13] requires to all member states to carry out a sanitary and ecological risk assessment for substances such as: drugs, disinfectants and radioactive substances. These regulations fall under the context of the risk management concerning human health, and also the management of those concerning the biological balance of the natural ecosystems. In a very general way, the risk management always passes - formally or not - by the preliminary phases of risk assessment [14]. The aim of this study was to present: (i) an implemented

framework for hospital wastewater management, which includes two steps : a "light" step based on the hazard assessment related to hospital effluents and, if proof of hazard existence occurred, the execution of a "heavy" step, based on an ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater discharging into the urban sewer network, then into the natural environment (ii) detailed elaborated procedures for the steps of "hazard assessment" and "risk assessment" (iii) the results of their application on the effluents of an infectious and tropical diseases department (ITDD) of a hospital of a big city of the southeast of France.

II. Effects of hospital wastewater on aquatic ecosystems

Hospitals consume an important volume of water per day. The minimal domestic water consumption is 100 liters/person/day [15], whereas the value demand for the hospitals generally varies from 400 to 1200 liters/bed/day [16, 7]. In the United States of America, the hospital average water consumption is 968 liters/bed/day [17]. In France, the water average needs of university hospital centers is estimated at 750 liters/bed/day [7]. In the developing countries, this consumption seems to be around 500 liters/bed/day [18]. This important consumption in water of hospitals gives significant volumes of wastewater. Results of toxicity studies using the bacteria bioluminescence and *Daphnia magna* have revealed the important toxic activities of hospital wastewater on aquatic organisms [19].

The most frequent contaminants in hospital wastewater are : viruses and pathogenic bacteria (some of them are antibacterial resistant characters) [20], molecules from unused and excreted non-metabolized pharmaceuticals [4], organohalogen compounds, such as the AOX (halogenated organic compounds adsorbable on activated carbon) [5], radioisotopes [21, 1].

Results on the microbiological characterization of hospital wastewater [20] reported these effluents have bacteria concentrations lower than $10^8/100\text{mL}$ generally present in the municipal sewage system [21]. The low most probable number (MPN) detected for fecal bacteria in hospital is probably due to the presence of disinfectants and antibiotics [6, 20]. Markers of viral pollution of water, such as enterovirus, and other viruses have been identified in the hospital effluents [23]. Studies on the bacteria flora of hospital wastewater into WWTP showed that bacteria acquired resistant character [24]. Antibacterial resistant is a threat to the efficacy of antibacterial substances. The development of resistance to antimicrobial agents by many bacterial pathogens has compromised traditional therapeutic regimens, making treatment of infections more difficult [4]. Three factors have contributed to the development and spread of resistance: mutation in common genes that extend their spectrum of resistance, transfer of resistance genes among diverse microorganisms, and increase in selective pressures that enhance the development of resistant organisms [24, 25, 26, 4, 27, 28]

Hospital effluents reveal the presence of organochlorine compounds in high concentrations [6]. AOX up to 10 mg/L were proved in the effluents of the hospitalization services of a university hospital

center [29]. The major mass carriers for the AOX in hospital effluents are most likely iodized X-ray contrast media, solvents, disinfectants, cleaners and drugs containing chlorine. Brominated organic compounds are negligible for the AOX in the hospital effluents [5]. In general, the maximum contribution of drugs to the AOX is not above 11% [30]. Beyond that it is also known that the AOX concentration in the urine of patients not treated with drugs is very low. It is normally between 0.001 to 0.2 mg/L [31]. Due to the dilution effect, no substantial contribution from this source is consequently expected [5]. The assessment of AOX shows that those non conventional pollutants have a bad biodegradability and a bad behavior of adsorption [8].

III. Hazard assessment

The conceptual framework for hazard assessment of hospital wastewater (figure 2), is based on a characterization of the hospital effluents in function: (i) of their chemical composition (measurement of global parameters and the mineral and organic pollutants); (ii) of their microbiological characterization; (iii) and of their intrinsic ecotoxicity.

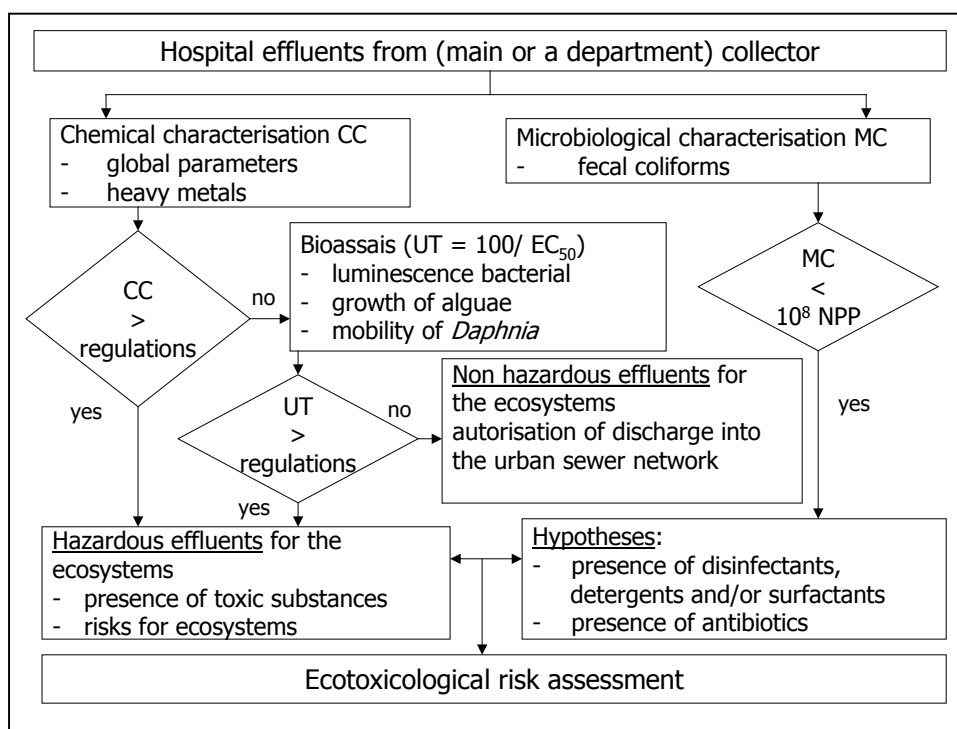


Figure 2 : Conceptual framework for ecotoxicological hazard assessment of hospital wastewater

The selected parameters (stressors and assessment endpoints) for these characterizations were: (1) COD and the BOD₅ for the measurement of the total organic load; (2) the AOX (organohalogen compounds adsorbables on activated carbon) for the evaluation of the contained organohalogen compounds; (3) heavy metals (arsenic, cadmium, chromium, copper, mercury, nickel, lead and zinc) for the mineral pollution characterization; (4) the most probable number of fecal bacteria for the microbiological characterization (this parameter was also considered in this study like an indirect

detection of the massive presence of disinfectants and/or antibiotics); (5) the measurement of EC₅₀ of hospital wastewater on bacterial luminescence (*Vibrio fischeri*), on the algae growth (*Pseudokirchneriella subcapitata*) and on the mobility of *Daphnia magna* for the characterization of the intrinsic ecotoxicity of the effluents.

The obtained results for these parameters have been compared with threshold values which were established in the following way : 1) global parameters: French regulations on effluents discharge (table 1); (2) ecotoxicological parameters: adopted threshold values at 2 Toxic Units (UT) [32, 19] for each of selected bioassays; (3) microbiological parameter : value threshold fixed at 1x10⁸ fecal coliforms for 100 ml, value corresponding to the average content of these fecal bacteria in the conventional urban sewer network [22].

Table 1: Threshold values for the different endpoints

Parameters	Threshold values	Origin
<i>Physicochemical</i>		
BOD ₅	30 mg/L	[12]
COD	125	[12]
AOX	1	[12]
Arsenic	-	
Cadmium	-	
Chromium	0.5	[12]
Copper	0.5	[12]
Mercury	-	
Nickel	0.5	[12]
Lead	0.5	[12]
Zinc	2	[12]
<i>Microbiological</i>		
Fecal coliforms	1x10 ⁸	[22]
<i>Bioassais</i>		
EC ₅₀ 30 minutes <i>Vibrio fischeri</i>	2 UT	[32, 19]
EC ₅₀ 72-h <i>Pseudokirchneriella subcapita</i>	2 UT	[32, 19]
EC ₅₀ 48-h <i>Daphnia magna</i>	2 UT	[32, 19]

For any ratio $P_c/V_t > 1$ (P_c : pollutant concentration in the hospital effluents; V_t : threshold values) and for any number in fecal bacteria lower than 1x10⁸ NPP for 100mL, the framework recommends to pass at the following step : "the ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater".

IV. Methodological approach for the ecological risk assessment

The ecotoxicological risk assessment is a subset of the ecological risk assessment and can thus, for this reason, being treated according to an approach of the same type. Ecological risk assessment is a process that evaluates the likelihood to one or more stressors [33]. This process is based on two major elements: characterization of effects and characterization of exposure; these provide the focus for conducting the three phases of risk assessment (figure 3): problem formulation, analysis phase and risk characterization phase [34].

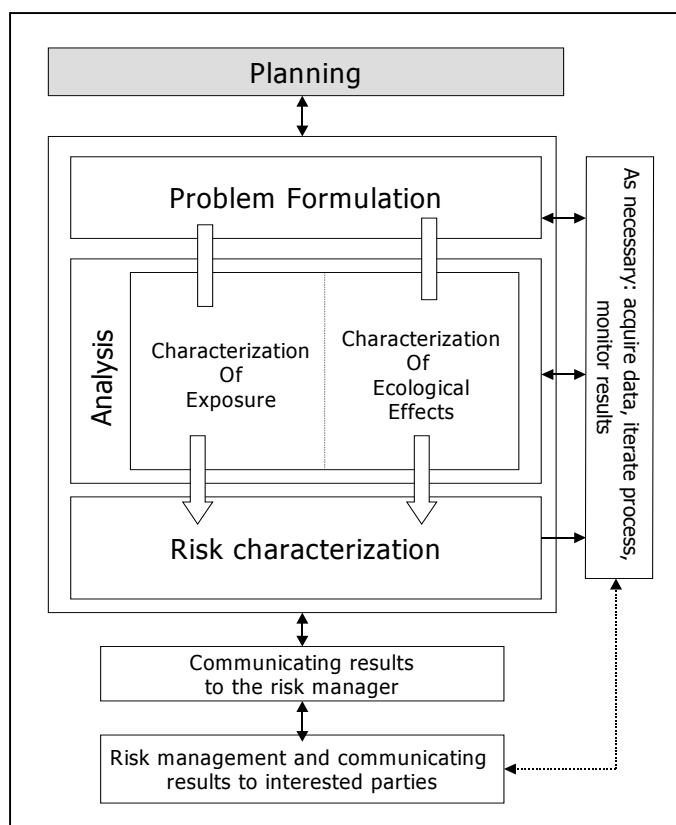


Figure 3 : The framework for ecological risk assessment [33]

Problem formulation

The step is a process for generating and evaluating hypotheses about why ecological effects have occurred, or may occur, from human activities [34]. It provides the foundation for the entire ecological risk assessment. Problem formulation results in three products [34]: (1) assessment endpoints that adequately reflect management goals and the ecosystem they represent, (2) conceptual models that describe key relationships between a stressor and assessment endpoint or between several stressors and assessment endpoints, and (3) an analysis plan.

Description of the context of ecotoxicological risk assessment

This description, whose aim was to apprehend as well as possible the ecosystem exposure to the hospital effluents, was carried out for a management scenario of hospital wastewater usually observed in industrialized countries. This scenario envisages the connection of the hospital sewer network to the urban sewer network, as well as the biological WWTP which discharge its own effluents into the natural environment. A synthetic description of this scenario is presented in Figure 4. The full features (—) indicated transport and transfers of the pollutants which has been taken into account in the study, whereas the features in dotted lines (.....) indicate those which were not taken into account.

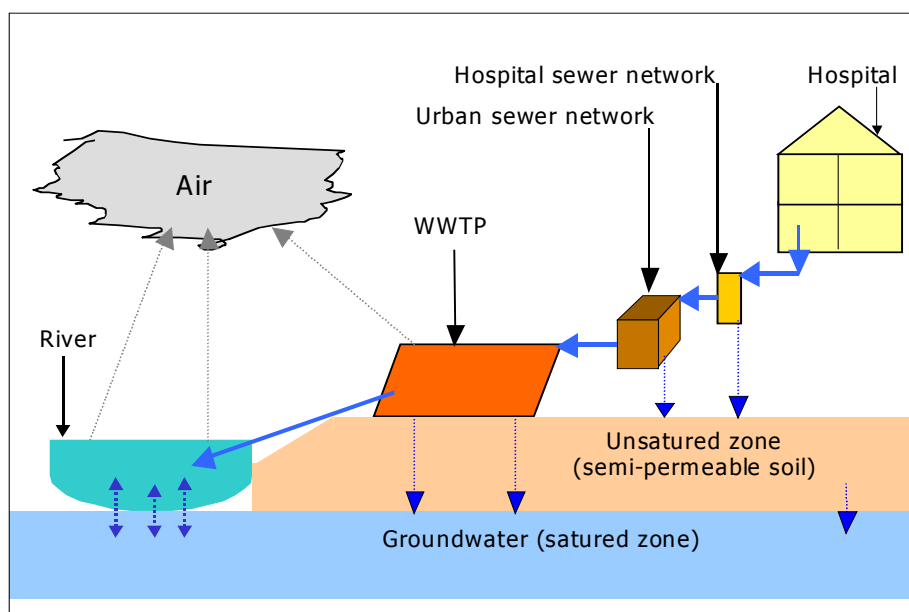


Figure 4 : Synthetic presentation of the studied scenario

Two types of exposed ecosystems to the hospital wastewater pollutants have been considered in the studied scenario (table 2): (1) artificial ecosystems represented by the WWTP and (2) natural ecosystems represented by air, soils, surface water and groundwater.

Table 2: concerned ecosystems

Ecosystems		Susceptible elements to be affected
Artificial	WWTP	bacteria, algae and protozoa (in case where the biological treatment units have reactors of decomposition functioning under the "aerobic" mode).
Natural	Air	The birds and the insects
	Soil	Microorganisms of the soils ; Wildlife of soils (insects, earth worms,...) ; Soil vegetables
	Surface water	The primary producers (phytoplankton), of which unicellular and pluricellular green algae ; the primary (invertebrate), in particular of the crustaceans ; and secondary consumers, of which fish and water birds
	Groundwater	Protection of fresh water resources

Development of the conceptual model and choice of the parameters of evaluation

Within the framework of this evaluation, the WWTP, the fresh surface water and the species at the two first levels of food chains have been considered as the targets (figure 5). The fact, that the other ecosystems and the other species do not have been considered, does not mean that those are less importance in the ecological level, but simply which they were not taken into account in this first stage of the methodology development.

For the characterization of the effects, two assumptions were elaborated. They have been related to the ecological values to be protected: (a) "the discharge of hospital pollutants into the WWTP will not affect the biological treatment process of WWTP, with possible adverse effects on the community of organisms in charge of the biological decomposition of the organic matter "; (b) "the WWTP effluents will not have toxicological effects on the living species of the natural aquatic environments".

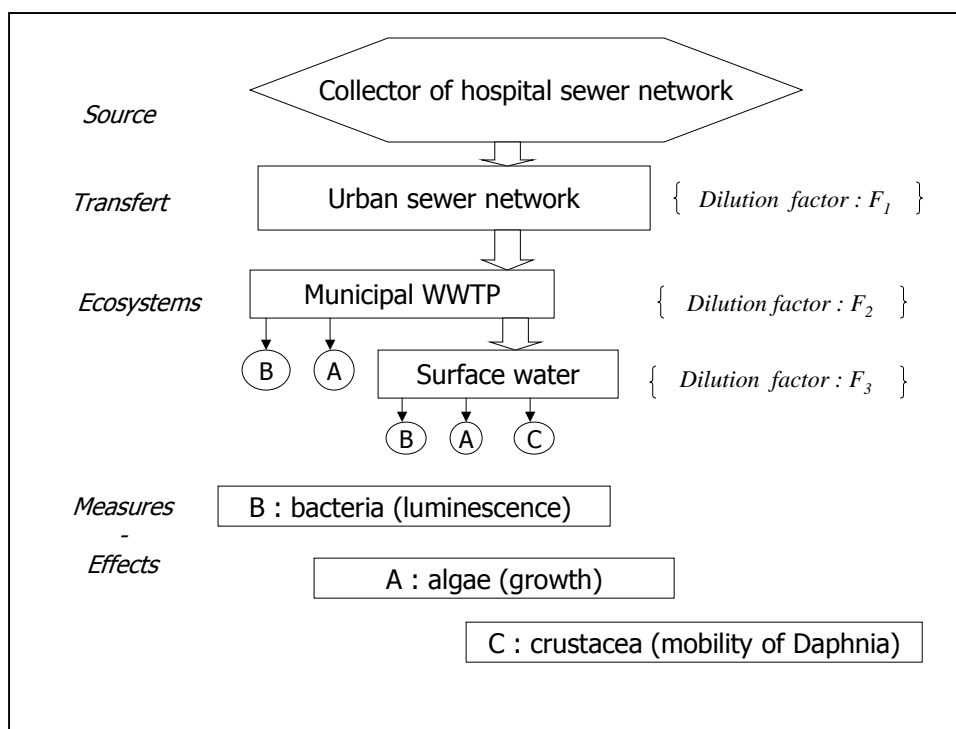


Figure 5 : Conceptual model of the studied scenario

The characterization of the ecological effects of hospital pollutants on the bacteria, the algae growth and the crustacean survival, was carried out using standardized bioassays. In this context, the bacteria were represented by "*Vibrio fischeri*", the species constituting the primary producers (phytoplankton) were represented by the algae "*Pseudokirchneriella subcapitata*", and the fresh water crustaceans "*Daphnia magna Strauss*" ensured the representation of the primary consumers.

Analysis phase

Analysis is a process that examines the two primary components of risk, exposure and effects, and their relationships between each other and ecosystem characteristics [34].

Analysis phase: characterization of exposure and ecotoxicological effects

General characteristics of studied site

Wastewater from a hospital of a big city of the southeast of France were used for the realization of the experimental phase of this study. It is a hospital of 750 beds approximately. Water consumption is estimated at $1\text{m}^3/\text{lit}/\text{day}$. The effluents from the various departments are discharged into the hospital

network sewer. This network consists of several collectors broken down by service or group of related services. The institution has a combined sewage system. The existence of such network could increase the concentration of the nitrogen substances during the first raining days and a dilution of all the pollutants during the other raining days [35]. This network could also increase the concentration of certain heavy metals, particularly zinc.

Effluents sampling

Two campaigns of sampling (2001 and 2002) were realized on the effluents from the infectious and tropical diseases department (ITDD), with a capacity of 144 beds, of the hospital. Wastewater was collected before entering into the entire hospital sewer network, which discharges the total volume of effluents from the various departments into the urban wastewater network without pre-treatment. This ITDD collector does not receive effluents containing iodized X-ray contrast media from radiography department, substances which mainly contribute to AOX formation in hospital wastewater [8]. Water samples were collected by means of a telescopic perch in a 1-L glass flask. All the water samples and the mixture were kept at 4°C until analysis.

Physicochemical analysis

pH was measured directly on site after sampling with a pH meter HANNA instrument HI 8417 (accuracy $\text{pH} \pm 0.01\text{pH}$, $\text{mV} \pm 0.2 \text{ mV} \pm 1$, $^{\circ}\text{C} \pm 0.4^{\circ}\text{C}$) digit and standard electrode HI 1131 B (refillable glass combination pH electrode).

Heavy metals have been determined according to ISO 11 885 protocol on filtered sample (0.45 μm) and acidified using nitric acid ($\text{pH} < 2$) and using ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atom Emission Spectroscopy).

Total suspended solids (TSS) concentrations were determined in conformity with the European standard NF EN 872 after filtration through a 1.2 μm membrane and dewatering at 105 $^{\circ}\text{C}$.

Chlorides were determined by following the European standard NF EN ISO 10304-1 on diluted and filtered samples at 0.45 μm by using DIONEX DX-100 ion chromatograph with suppressed conductivity detection from 0.0 to 1000 μS . Ionpac AS14 4x250 mm analytical column (P/N 046124) was used for chloride sample analysis. AOX were measured according to European standard EN 1485. COD concentrations in 2001 samples was measured by potassium dichromate method using HACH spectrophotometer 2010 and test procedure provided by the supplier. French standard NF T90-001 had been followed in the determination of COD concentrations in 2002 samples. BOD₅ concentrations in the 2001 and 2002 samples were carried out by following European and French standard NF EN 1899-1.

Total Organic Carbon (TOC) was carried out on filtered samples at 0.45 µm and pre-treated with orthophosphoric acid (H₃PO₄). French standard T90-102 was followed by using a carbon analyzer SPECTRA France, LABTOC model, with potassium per sulfate reagent (K₂S₂O₈) and UV oxidation.

Microbiological analysis

Fecal bacteria have been studied using French standard NF T 90-433 micro plaque. The French standard NF T 90-432 micro plaque and NF T 90-145 have been respectively used for the determination of *faecal streptococci* and Clostridia (anaerobic spore forming bacterium).

Toxicity test procedures

For the study of assessment endpoints, three standardized bioassays were carried out. Results of EC₅₀ for all these bioassays, with their confidence interval, are expressed in percentage of sample dilution in toxic unit TU (1 TU = 100 / EC₅₀).

The bioassay on bacteria luminescence was carried out with a LUMISTox system (Dr Lange GmbH, Duesseldorf, Germany) following the standard procedure of the European standard NF EN ISO 11348-3 (AFNOR, 1999). Tests were performed using gram negative marine bioluminescent bacteria of the species *Vibrio fischeri* NRRL-B-11177 of the *Vibrionaceae* family. In order to prevent the interferences of TSS on the bacteria luminescence, samples were filtered using a 0.45µm pore size membrane. The samples were treated with NaCl solution of 20 g/L and brought to 50 mS/cm of conductivity before the analysis. Starting from the concentration of the sample, eight consecutive elutions were tested (dilution factor 1:2); the inhibition of bioluminescence was measured at a wavelength of 490 nm, with readings after 5, 15 and 30 minutes of incubation at 15 °C. The EC₅₀ values were calculated as reported by Bulich [36].

The 72-h EC₅₀ algae growth toxicity test was monitored using French standard NF T90-375. Assays was carried out with the green algae inoculums *Pseudokirchneriella subcapitata* (formerly *Selenastrum capricornutum*) resulting from laboratory culture in exponential growth phases (POLDEN of the National Institute of Applied Sciences of Lyon – INSA de Lyon). The sensibility of the laboratory species was controlled by regular tests with potassium dichromate. Standard diluted medium was used with 0.1 mg of EDTA per liter of assay solution. In order to avoid the interferences of suspended solids and other microorganisms on algae growth during the realization of the assay, experimental solutions were filtered at 0.45 µm. Experimental solutions were maintained at 4°C ± 3°C. A set of five concentrations of experimental solution samples in the reference medium and a control were examined in each test. Assays were carried out in glass cups containing 25 mL of samples, with 3 replicates by concentration. The assay is static, under magnetic agitator and under constant luminosity, at 23°C ± 2°C . Algae concentration were measured all the 24 hours using Malassez cell and optic microscope.

The determination of the inhibition of *Daphnia magna* mobility is an acute toxicity assay. Its objective is to identify the initial concentration of a pollutant in solution or an aqueous mixture which may immobilize in 24 or 48 hours 50% of exposed daphnia into polluted solutions. According to the European standard NF EN ISO 6341, the different assays were carried out on *Daphnia* sp. maintained in parthenogenetic culture in the laboratory (POLDEN of the National Institute of Applied Sciences of Lyon – INSA de Lyon). The sensibility of the laboratory species was controlled by regular tests with potassium dichromate. Young female *Daphnia*, aged less than 24 h were only used. The normal medium, without EDTA, was also used. The assays were realized at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ under darkness condition. All the assays were carried out in a limit of time from 6 to 48 h after sampling. Because hospital wastewater is considered as toxic for aquatic environment, a volume of 250 mL unfiltered samples was taken for each assay. In order to understand the effects of color, turbidity and TSS present in hospital effluent samples on *Daphnia* sp., the toxicity of 250 mL filtered sample (0.45 μm pore size membrane) was studied by comparing the results with the unfiltered volume of the same sample. The three required conditions for the validity of assays were observed: (i) the concentration of dissolved oxygen (DO), in the control group, was ≥ 2 mg/L at the end of each assay; (ii) the observed percentage of immobilization in the control group vessels was $\leq 10\%$; (iii) EC_{50} in 24h of potassium dichromate was between 0.6 to 1.7 mg/L.

Risk characterization phase

This operation is the final phase of ecological risk assessment and is the culmination of the planning, problem formulation, and analysis of predicted or observed adverse ecological effects related to the assessment endpoints [34]. There is a range of possible methods, of variable complexity [14]. The choice will depend on the operational constraints and the available data. Rivière [10] note "the ecological risk can be expressed of various manners: qualitative (absence or not of risk), semi-quantitative (weak, average, high risk), in probabilistic terms (the risk is x%)".

The method known as "the quotient" is the most widespread method for the semi-quantitative characterization of risks. This method consists in calculating the ratio (or quotient) which is expressed as a "probable exposure concentration (PEC)" divided by a "probable non concentration effect (PNEC)" [34]. This "probable concentration without effect" can be estimated starting from the available data in the literature for the pure substances, and using experimental measurements (bioassays) for the mixture such as the hospital effluents. Although the toxicity of a chemical mixture may be greater or less than predicted from toxicities of individual constituents of the mixture, a quotient addition approach assumes that toxicities are additive or approximately additive [34]. This assumption may be most applicable when the modes of actions of chemicals in a mixture are similar, but there is evidence that even with chemicals having dissimilar modes of action, additive or near-additive interactions are common [37, 38, 39, 34].

When the quotient value "Q" is greater than 1, the risk is considered as significant, and all the more extremely as the quotient is large. Conversely, more the quotient is lower than 1, more the risk is regarded as weak. The "probable concentration without effect" on the organism is, in practice, generally represented by a EC₁₀, or a EC₂₀, or a NOEC, divided by a safety factor (10 for example). In the absence of a EC₁₀ or of a NOEC, the EC₅₀ is sometimes used with a rated-up safety factor [14].

V. Application of the step to the effluents of the studied hospital

Results of the physicochemical analysis

The highest concentrations obtained for the physicochemical characterization of the hospital wastewater from ITDD are summarized in tables 3. In all studied samples of the two campaigns (2001 and 2002), pH was always in an alkaline range (7.7 – 8.8) with a variation lower than 1 pH unit.

Table 3 : Physicochemical characterization of hospital wastewater from ITDD

Parameters	Units	Highest concentrations	
		2001	2002
pH	U	8.8	8.2
Chlorides	mg/L	359	127.1
AOX	mg/L	1.24	1.61
TSS	mg/L	298	236
BOD ₅	mg/L	1559	1530
COD	mg/L	2516	2664
TOC	mg/L	350	3095
TC	mg/L	376	3183
<i>Heavy metals</i>			
Silver	mg/L	<0,0005	ND
Arsenic	mg/L	ND	0,011
Cadmium	mg/L	ND	<0,007
Chromium	mg/L	ND	<0,004
Copper	mg/L	ND	0,112
Mercury	mg/L	<0,0005	NM
Nickel	mg/L	ND	<0,0007
Lead	mg/L	ND	<0,0035
Zinc	mg/L	ND	0,536

Microbiological characterization

Low concentrations of bacteria flora were deduced for the hospital effluents. The results of the bacteriological characterization are summarized in table 4.

Table 4 : Microbiological characterization of hospital effluents from ITDD

Parameters	Units	Maximal concentrations	
		2001	2002
Fecal coliforms	MPN/100 mL	2 x 10 ³	1 x 10 ⁶
Fecal streptococcus	MPN/100 mL	1 x 10 ³	9 x 10 ⁵
Clostridia	UFC/20 mL	ND	104

Ecotoxicological characterization of ITDD wastewater

The obtained results for the bioassays are synthesized in table 5. All obtained CE_{50} from algae and *Daphnia magna* bioassays were greater than 2 TU. The results of toxicity test on *Vibrio fischeri* obtained for the year 2001, lead to EC_{50} (5 minutes) greater than 50% of effluent for all the samples, i.e. with an ecotoxicity, expressed in UT, always lower than 2 UT. These results showed that 5 min assay can be considered as no toxic. However, significant differences were observed between EC_{50} (5 minutes) and obtained results for EC_{50} (15 and 30 minutes). In addition, there exists very little differences between the obtained results for 15 and 30 minutes assays. This report can be correlated with the contact time of 20 minutes contact required by chlorinated disinfectants to inactivate bacteria [40]. The results of 15 and 30 min greater than 2 TU. The maximal concentrations ranged from 4.2 to 4.6 showed that the hospital wastewater toxicity on *Vibrio fischeri* are similar to domestic wastewater toxicity. However, all the obtained results were lower than the means of 6.75 TU reported by the literature for the toxicity of hospital wastewater on *V. fischeri* completed after 30 min of exposure [19].

Table 5 : Ecotoxicological characterizations of hospital wastewater

Parameters	Units	Highest effective concentrations (H EC_{50}).		Variations of EC_{50} (2001-2002)				
		2001	2002	Means	Minima	Maxima	SD	n
EC_{50} 5 min. <i>Vibrio fischeri</i>	UT	1,54	2,5	-	<1,3	2,5	-	9
EC_{50} 15 min. <i>Vibrio fischeri</i>	UT	4,15	4,2	-	<1,3	4,2	-	9
EC_{50} 30 min. <i>Vibrio fischeri</i>	UT	NM	4,6	-	<1,3	4,6	-	5
EC_{50} 72 h <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	UT	NM	56	32	9	56	18	5
EC_{50} 24 h <i>Daphnia</i>	UT	117	62	43	10	117	27	13
EC_{50} 48 h <i>Daphnia</i>	UT	NM	71	58	52	71	9	4

Hazard assessment

According to the proposed framework, the hazard assessment of hospital effluents to the aquatic ecosystems consists to compare the obtained results for physicochemical, microbiological and ecotoxicological characterizations with the threshold values presented in table 1 for the different parameters. Table 6 showed the results of this comparison.

Table 6 : Comparison of the highest concentrations with the threshold values

Parameters	Units	Highest measured concentrations	Threshold values	Ratio P_c/V_t
<i>Physicochemical</i>				
BOD ₅	mg/L	1559	30	> 1
COD	mg/L	2664	125	> 1
AOX	mg/L	1,61	1	> 1
Chromium	mg/L	<0,004	0,5	< 1
Copper	mg/L	0,112	0,5	< 1
Nickel	mg/L	<0,0007	0,5	< 1
Lead	mg/L	<0,0035	0,5	< 1
Zinc	mg/L	0,536	2	< 1
<i>Microbiological</i>				
Fecal bacteria	NPP/100 mL	1 x 10 ⁶	1x10 ⁸	< 1
<i>Ecotoxicological</i>				
EC ₅₀ 30 min. <i>Vibrio fischeri</i>	UT	4,6	2	> 1
EC ₅₀ 72 h <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	UT	56	2	> 1
EC ₅₀ 24 h <i>Daphnia</i>	UT	117	2	> 1
EC ₅₀ 48 h <i>Daphnia</i>	UT	71	2	> 1

With the exception of the heavy metals, all the ratios P_c/V_t carried out for the other physicochemical parameters were greater than 1. The same observation was made for the bioassays ratios. In addition, the results of genotoxicity tests on hospital wastewater using AMES and HAMSTER, reported in the literature, indicated that the effluents from clinical services and hospital laboratories have presented a genotoxicity character [29].

The ratio, by dividing the MPN/100 mL of fecal bacteria from hospital wastewater with the average of those usually found in the urban effluents, was largely lower than 1, that could, at least partially, being related to the presence of disinfectants and/or antibiotics in the effluents.

All the results confirm the existence of hazardous substances in the studied hospital effluents, and thus the need for continuing the approach by the setting of the ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater for the concerned aquatic ecosystems (WWTP and natural environment).

Ecotoxicological risk assessment

In the absence within the hospital of pollution control practices for wastewater, or of its own WWTP, all the contained pollutants into the ITDD effluents as those of the whole of the hospital are evacuated towards the municipal WWTP. In the proposed scenario, an artificial ecosystem "the WWTP" as well as the natural aquatic ecosystem were retained as targets, by restricting the study to the species of the two first levels of aquatic food chains.

Impacts on the WWTP

Assumption: " the discharge of hospital pollutants into the WWTP will not affect the biological treatment process of WWTP, with possible adverse effects on the community of organisms in charge of the biological decomposition of the organic matter ".

The preservation of the biological efficiency of a WWTP can, in a first approach, being evaluated by means of the biodegradability studies of inflow pollutants. The biodegradability of organic substances is a measure of the speed and completeness of its biodegradability by microorganisms [41], and therefore the BOD₅/COD ratios could be used to analyze the difficulty or not for organic substances to be degraded [42]. A BOD₅/COD of ratio 0.5 or greater could be considered as threshold value to study the biodegradability of organic substances into the ITDD hospital wastewater. The variations of BOD₅, COD, and the BOD₅/COD ratio in the samples of ITDD hospital wastewater, for the 2002 campaign, are showed in table 7. BOD₅/DCO ratio oscillated between 0.38 and 0.57, which indicate that the pollutants would be sometimes difficult to degrade, which describes a potential impact on the WWTP efficiency.

Table 7 : Variations of BOD₅, COD, and BOD₅/COD ratio

Parameters	Units	Means	Minima	Maxima	SD	n
BOD ₅	mg/L	892	200	1530	558	5
COD	mg/L	1745	520	2664	894	5
BOD ₅ /DCO	-	0,48	0,38	0,57	0,08	5

To evaluate in a semi-quantitative way the risks of a term-source on the ecosystems in a specific context, it is possible in a first approach, to consider the dilution coefficients generated by the global system. Within the framework of this study, three assumptions of dilution were considered for the risk characterization of hospital wastewater on the WWTP: (i) the daily flow of water supply by bed per day is equal to the volume of wastewater generated by bed per day; (ii) the ITDD generates a volume of wastewater of 144 m³/day. In absence of specific considerations on the interactions between the various pollutants inside the hospital sewer network, the contained organic pollutants in the effluents of the service will be diluted at least of 4 times in total volume, i.e. 750 m³/day of wastewater on average are generated by the different services of the hospital, before entering the urban sewer network; (iii) the ITDD effluents are treated into the WWTP of the considered city, this plant receives on average a hydraulic daily load of 87000 m³, which ensures a dilution of the measured pollutant concentrations in the hospital effluents at least of 600 times.

In this context, the ITDD effluents will not have a significant effect on total efficiency of the WWTP. Indeed, if taking into account the fact that the evaluation of WWTP efficiency is expressed as a percentage (70 to 90 %) of degradation of the organic matters, the WWTP mechanisms will be always

able to reach this efficiency level fixed by the regulation, since this performance at the end of process remains a function of the input concentrations. However, this method of evaluation will not allow to prevent the discharge into WWTP effluents of low biodegradable and toxic pollutants (like pharmaceutical residues and AOX) for the ecosystems.

Impacts on the natural aquatic ecosystems

Assumption: "the WWTP effluents will not have toxicological effects on the living species of the natural aquatic environments".

The ecotoxicity tests carried out for the hazard assessment can be reused in this step, but by interpreting their results in the light of the specific conditions of the studied scenario, in particular by taking in account the dilution of hospital wastewater in the urban network then in the target natural aquatic environment. It was seen previously that the dilution of hospital effluents in WWTP was equal to 600. For this, it is necessary to add, in the studied case, a dilution by 1000 of the WWTP effluents in the river water bodies. That led *in fine* to a dilution of 6×10^5 of the hospital effluents to their arrival in the receiving receptor. On this basis, the results of the various bioassays carried out on the effluents (table 8) show that dilutions in the natural environment are largely sufficient to protect itself from the studied ecotoxicity effects.

This very simplified and very operational first approach implies however assumptions which for some are rather pessimistic and, for others, relatively "imperfect" and being able, so to lead to an incomplete assessment of long-term impacts of the hospital effluents on the natural environments.

Concerning the "pessimistic" aspects, the reasoning is led as if the pollutants in the hospital effluents were not degraded, and any volatilization process has been occurred during their transport in the urban sewer network, and during their passage in the WWTP. However, this interpretation is not completely aberrant in comparison with the characteristics of some pollutants such as the AOX, which are considered to be non biodegradable with 90% by certain authors like Sprehe et al. [43]. If these assumptions had led *in fine* to a positive evaluation of the ecotoxicological risks, it would have been necessary to conduct a thorough study of the concerned phenomena. In the contrary case which we are concerned, savings of time and means (and thus "effectiveness") were carried out on these points.

Concerning the aspects "incomplete assessment", the approach based on standardized ecotoxicity test and the dilution of the effluents in the natural environment implies imperfections on several levels: (1) the battery of the selected bioassays is limited. Thus organisms such as fish, for example, were not taken into account, (2) the long-term effects of the pollutants in question on the ecosystems are complex and difficult to evaluate on the basis of mono-specific simple test of ecotoxicity. Thus

phenomena such as the genotoxicity of the pollutants or the their bio-accumulation in the food chains or the sediments of the river (with delay effect) were not treated. Field work and/or on reconstituted ecosystems in laboratory, such as tests on microcosms [44, 45] would make it possible to better apprehend these complex phenomena, (3) the reasoning on the basis of dilution cannot be sufficient in term of decision for the environmental protection. Indeed, of many other effluents are rejected into the same "target" medium. It will be thus more judicious in the future, and for an enlightened decision-making of the managers, to reason rather in term of contribution of the hospital effluents to the total risk generated by the discharge of all the industrial and urban effluents in the concerned river.

Conclusion

This study has demonstrated that it is possible to carry out the ecotoxicological risk assessment of hospital effluents by the use of standardized bioassays, global physicochemical parameters and the analysis of some targeted pollutants. The proposed scenario allows to a semi-quantitative risk characterization for the WWTP and the fresh surface water. The evaluation will have now to be improved on certain aspects, and will require in particular a better knowledge on the fates of pollutants in the urban sewer network and in the WWTP. This improvement of knowledge will relate in particular to the study of chemical and ecotoxicological interactions between pharmaceuticals, disinfectants, and surfactants. It seems necessary to characterize the ecotoxicological risk of the hospital effluents by experimental and fundamental studies on the fates of disinfectants, pharmaceuticals and surfactants present in the hospital effluents, while having care to include, on the ecotoxicological plan, the transfers towards the food chains.

References

- [1] B. Erlandsson and S. Matsson, *Water, Air, and Soil Pollution* 2 (1978) 199
- [2] M.L. Richardson and J.M. Bowron, *Pharmacol.* 37 (1985) 1
- [3] K. Kümmerer, M. Meyer, T. Steger-Hartmann, *Wat. Res.* 11 (1997) 2705
- [4] B. Halling-Sørensen, N. Nielsen, P.F. Lanzky, F. Ingerslev, H.C. Holten-Lützhøft, S.E. Jørgensen, *Chemosphere* 36 (1998) 357
- [5] K. Kümmerer, *Chemosphere* 45 (2001) 957
- [6] P. Leprat, *Revue Techniques hospitalières* 632 (1998) 49
- [7] CLIN (Coordination de Lutttes contre les Infections Nosocomiales), *Élimination des effluents liquides des établissements hospitaliers – Recommandations*. Institut Biomédical des Cordeliers, Paris, 1999, p. 74.
- [8] M. Sprehe, S-U. Geißen, A. Vogelpohl, *Korrespondenz Abwasser* 4 (1999) 548
- [9] B. Jolibois, M. Guerber, S. Vassal, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42 (2002) 137 2002
- [10] J-L. Rivière, *Évaluation du risque écologique des sols pollués*. Association RE.C.O.R.D., Lavoisier Tec&Doc, Paris, 1998, p. 230.

- [11] T. Heberer, *Toxicology Letters*, 131 (2002) 5
- [12] MATE (Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement), *Journal Officiel de la France* 52 (1998) 3247
- [13] European Commission, Technical guidance document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) n° 1488/94 on risk assessment for existing substances, Brussels, 1995.
- [14] M. Babut and Y. Perrodin, *Evaluation écotoxicologique de sédiments contaminés ou de matériaux de dragage – (I) Présentation & Justification de la démarche*. Cemagref – ENTPE, Lyon, 2001, 59 p.
- [15] F. Gadelle, *Sécheresse* 1 (1995) 11
- [16] N. Deloffre-Bonnamour, *Les rejets des établissements de santé : des effluents liquides aux déchets solides*. Mémoire de Maîtrise, Université Claude Bernard-Lyon1, Institut Universitaire Professionnalisé, Génie de l'Environnement–Ecodéveloppement, Lyon, 1995, 75 p.
- [17] U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency), *Preliminary data summary for the hospitals point source category*. Office of water regulations and standards, Office of water, U.S. EPA, Washington, D.C., 1989, 76 p.
- [18] J. Laber, H. Raimund, R. Shrestha, *Wat. Sci. Tech.* 3 (1999) 317
- [19] P. Jehannin, *Caractérisation et gestion des rejets liquides hospitaliers – Etude particulière de la situation du C.H. de Hyères (Var)*. Mémoire de fin d'études, Ecole Nationale de la Santé Publique, Rennes; 1999, 71 p.
- [20] S. Bernet and M. Fines, In : RRH (Réseau Régional d'Hygiène), *Actes de la Quatrième journée du Réseau Régional d'Hygiène de Basse-Normandie*, Caen, France, 2000.
- [21] J. Rodier, *Bulletin de l'Association pharmaceutique française pour l'hydrologie* 4 (1971) 1
- [22] Metcalf and Eddy, *Wastewater Engineering: Treatment, disposal, and reuse*, 3rd ed, McGraw-Hill, New York, 1991, 1334 p.
- [23] F. Mansotte and E. Jestin, *Les rejets liquides des établissements de santé : Caractérisation à la source et impact sur l'environnement marin côtier*. Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales de la Seine Maritime, Agence de l'Eau de la Seine Normandie, Nanterre, 2000, 73 p.
- [24] R. Thomazeau, *Contribution à l'étude de l'écologie bactérienne des boues activées*. Thèse, Université Paris VII, Paris, 1983, 250 p.
- [25] A. Muela, I. Pocino, J. Arana, J. Justo, J. Iriberry, J. Barcina, *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (1994) 4273
- [26] T. Barkay, N. Kroer, L.D. Rasmussen, S. Sorensen, *FEMS Microbiol. Ecology*, 16 (1995) 43
- [27] J. Davison, *Plasmid* 42 (1999) 73
- [28] T. Schwartz, W. Kohnen, B. Jansen, U. Obst, *FEMS Microbiology Ecology*, 1470 (2002) 1
- [29] St. Gartiser, L. Brinkler, T. Erbe, K. Kümmerer, R. Willmund, *Acta hydrochim. Hydrobio.* 2 (1996) 90
- [30] K. Kümmerer, St. Gartiser, T. Erbe, L. Brinkler, *Chemosphere* 36 (1998) 2437
- [31] S. Schulz and H.H. Hahn, *gwf Wasser Abwasser* 138 (1997) 109

- [32] J.L. Laurent, L'assainissement des agglomérations : techniques d'épurations actuelles et évaluations. Etude interagences n° 27. Agences l'Eau, Direction de l'Eau, Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. Paris, 1994, 58 p.
- [33] U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency). Framework for ecological risk assessment. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Agency, 1992, 161 p.
- [34] U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency). Guidelines for ecological risk assessment. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Agency, 1998, 114 p.
- [35] P.L. Harremoes and F.S. Sieker Influence of stormwater storage tanks on pollutant discharge to receiving water. In : IWA, Symposium Sewage and refuse, liquid waste section, Proc. 9 EWPCA-ISWA, München, Germany, 1993, pp. 95-106.
- [36] A.A. Bulich, In: C.L. Markings and R.A. Kimerle (Ed.), Aquatic toxicology, ASTM STP 667, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1979, pp 98-106.
- [37] H. Könemann, Aquatic Toxicol. 19 (1981) 229
- [38] J. Hermens, H. Canton, P. Jansen, R. De Jong, Aquatic Toxicol. 5 (1984) 143
- [39] S.J. Broderius, M.D. Kahl, M.D. Hoglund, Environ. Toxicol. Chem. 9 (1995) 1591
- [40] NTP (National Toxicology Program), NTP TR 392, U.S. Dept. of Health and Human Services, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC, 1992, 466 p.
- [41] D.T. Sponza, Ecotoxicology and Environmental Safety 54(2003) 74
- [42] M. Seiss, A. Gahr, R. Niessner, Wat. Res., 13 (2003) 242
- [43] M. Sprehe, S-U. Geißen, A. Vogelpohl, Water Science and Technology 5 (2001) 317
- [44] B. Clément and C. Cadier, *Ecotoxicology* 5 (1998) 279
- [45] Y. Perrodin, A. Gobet, L. Grelier-Volatie, V. Canivet, J.F. Fruget, J. Gibert, C. Texier, D. Cluzeau, L. Jocteur-Monrozier, F. Poly, Waste Management 2 (2001) 215

CHAPITRE VI ETUDE SPECIFIQUE SUR LE DEVENIR DE DEUX DESINFECTANTS LARGEMENT UTILISES DANS LES HOPITAUX : L'HYPOCHLORITE DE SODIUM ET LE GLUTARALDEHYDE

I. Introduction

Les résultats des bioessais pratiqués sur les effluents hospitaliers, montrent ont l'écotoxicité d élevée de ces effluents sur les organismes aquatiques (GARTISER et *al.*, 1996; LEPRAT, 1998; JEHANNIN, 1999). Par ailleurs, la mise en oeuvre des tests de mutation génique AMES et HAMSTER prouve que les effluents des services cliniques et des laboratoires hospitaliers peuvent présenter un caractère de mutation génique (GARTISER et *al.*, 1996). L'une des hypothèse avancée sur la toxicité des rejets liquides hospitaliers est qu'elle est due aux désinfectants utilisés dans les services (DELOFFRE-BONNAMOUR, 1995; JOLIBOIS et *al.*, 2002).

Parmi les différents désinfectants, les produits à base de glutaraldéhyde et les désinfectants à base de chlore (eau de Javel) sont largement utilisés dans presque tous les hôpitaux du monde. Il a été donc décidé, dans le cadre de cette thèse de réaliser une étude spécifique sur le devenir de l'hypochlorite de sodium et du glutaraldéhyde contenus dans les effluents hospitaliers. L'objectif de ce chapitre est de présenter les résultats de l'étude spécifique.

Ce chapitre est divisé en deux articles de:

- 1- Evens Emmanuel, Yves Perrodin, Gérard Keck, Jean-Marie Blanchard, Paul Vermande. Toxicological Effects of Sodium Hypochlorite disinfections and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. 2003, (*accepted Environment International*)
- 2- Evens Emmanuel, Khalil Hanna, Christine Bazin, Gérard Keck, Yves Perrodin. Single and combined effects of glutaraldehyde with surfactants on aquatic organisms: thermodynamical and toxicological approaches to predict fate of pollutant mixtures on environment.

II. Toxicological effects of sodium hypochlorite disinfections on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater

Evens EMMANUEL^{1,2,*}, Yves PERRODIN¹, Gérard KECK³, Jean-Marie BLANCHARD², Paul VERMANDE²

¹ Laboratoire des Sciences de l'Environnement, École Nationale des Travaux Publics de l'État, Rue Maurice Audin, 69518 Vaulx-en-Velin, France

² Laboratoire d'Analyse Environnementale des Procédés et Systèmes Industriels, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 20 avenue Albert Einstein, 69621 Villeurbanne Cédex, France

³ Unité d'Ecotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, BP 83, 69280 Marcy l'Etoile, France

Keywords : Sodium hypochlorite, AOX, hospital effluents, toxicity, Daphnia.

* Corresponding author. Tel : +(33) 4 72 04 72 89; fax: +(33) 4 72 04 77 43
E-mail address : evemml@yahoo.fr

II.1. Abstract

Sodium hypochlorite (NaOCl) is often used for disinfecting hospital wastewater in order to prevent the spread of pathogenic microorganisms, causal agents of nosocomial infectious diseases. Chlorine disinfectants in wastewater, react with organic matters to give rise to organic chlorine compounds such as AOX (halogenated organic compounds adsorbable on activated carbon), which are toxic for aquatic organisms and persistent environmental contaminants. The aim of this study was to evaluate the toxicity on aquatic organisms of hospital wastewater from services using NaOCl in pre-chlorination. Wastewater samples from the infectious and tropical diseases department of a hospital of a big city of the southeast of France were collected. Three samples per day were done in the connecting well department at 9 A.M, 1 P.M. and 5 P.M. during eight days from 13 March to 22 March 2001, and a mixture was made at 6 P.M. with the three samples in order to obtain a representative sample for the day. For toxicity test, the 24-h EC₅₀ on *Daphnia magna* and a bioluminescence assay using *Vibrio fischeri* photobacteria were used. Fecal coliforms and physicochemical analysis such as: Total Organic Carbon (TOC), chloride, AOX, Total Suspended Solids (TSS) and Chemical Oxygen Demand (COD) were carried out. Wastewater samples highlighted an important acute toxicity on *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri* photobacteria. However, low most probable number (MPN) ranging from <3 to 2400 for 100 mL were detected for fecal coliforms. Statistical analysis, at a confidence interval of 95%, gave a strong linear regression assessed with $r = 0,98$ between AOX concentrations and EC₅₀ (TU) on daphnia. The identification of an ideal concentration of NaOCl in disinfecting hospital wastewater, i.e. its NOEC (Non Observed Effect Concentration) on algae and *Daphnia magna*, seems to be a research issue which could facilitate the control of AOX toxicity effects on aquatic organisms. Therefore, it would be necessary to follow-up at various dosages the biocide properties of NaOCl on fecal coliforms and its toxicity effects on aquatic organisms.

II.2. Introduction

Sodium hypochlorite (NaOCl, CAS no. 7681-52-9 and EC no. 017-011-00-1), a solution containing between 12.5 to 25% active chlorine gas (Cl₂), has a wide range of domestic, industrial, scientific and biomedical applications related to biocide properties (U.S. EPA, 1994a; Brondeau et al., 2000). When NaOCl is added to water and wastewater, the solution reacts readily with biological materials (including proteins and nucleotide bases) to produce a variety of organic chlorinated compounds (U.S. EPA, 1989a), which are mostly lipophilic, persistent, and toxic in aquatic environment (Salkinoja-Salonen and Jokela, 1991).

The medical use of chlorine began in 1826 with chlorine water in delivery wards to prevent puerperal fever, and chloroform was first used for medical anesthesia in 1847 (Carey et al., 1998). Nowadays, the widespread biomedical use of NaOCl is particularly for the local surface and toilet disinfections, based on its very broad spectrum of biocide activity against bacteria, virus and fungi (Deloffre-Bonnamour, 1995).

In hospital, besides sodium hypochlorite, a variety of substances such as pharmaceuticals, radionuclides, solvents, are in use for medical purposes as diagnostics, disinfections and research (Erlandsson and Masson, 1978; Richardson and Bowron, 1985; Kümmerer et al., 1997). After application, many non-metabolized drugs are excreted by the patients and enter into wastewater (Halling-Sørensen et al., 1998). After their use disinfectants also reach the wastewater (Kümmerer, 2001). Due to laboratory and research activities or medicine excretion into wastewater, hospitals may represent an incontestable release source of many toxic substances in the aquatic environment (Jolibois et al., 2002).

Hospital effluents reveal the presence of organochlorine compounds in high concentrations (Leprat, 1998). AOX up to 10 mg/L were proved in the effluents of the hospitalization services of a university hospital center (Gartiser et al., 1996). Presence of AOX (adsorbable organic halogens) in hospital wastewater is usually associated with the presence of iodinated X-ray contrast media release by hospital radiography department. The assessment of AOX shows that those non conventional pollutants have a bad biodegradability and a bad behavior of adsorption (Sprehe et al., 1999).

Throughout the world, the assessment of wastewater discharges or effluents is focused on the precautionary principle, i.e., reduction of specific pollutants or substances in the framework of their emission policies (Kinnersley, 1990). In Directive 98/15/EEC, the European Commission (1998) proposes an emission limit of pollutants in wastewater for all member states. Based on a comparison of the measured values for chemical parameters in effluents and the proposed limited values, the directives on wastewater management in their application most often do not allow to evaluate the toxicity effects of hazardous substances, contained particularly in hospital wastewater, on organization levels of the aquatic food chains (Perrodin, 1988). However, a quick assessment of toxic effects of substances on aquatic organisms is possible by completing chemical characterization with toxicity assay (Perrodin, 1988, Schowanek et al., 2001, Sponza, 2003).

Cladocerans, a group of freshwater zooplankton, are broadly distributed in freshwater bodies, are present throughout a wide range of habitats, and are important links in many food chains (Abe et al., 2001). *Daphnia sp.* are extensively used to investigate the acute and chronic toxicity of industrial and agricultural chemicals in aquatic ecosystems (OECD, 1984; ASTM, 1994; Verschuere, 1996; Hanazato, 1998). Because they have a relatively short life cycle, require little space, are adaptable to laboratory conditions and are sensitive to a broad range of aquatic contaminants (Cooney, 1995). Application of *Daphnia magna* bioassay procedures on hospital wastewater had proved the high toxicity of these wastewater (Jehannin, 1999; Emmanuel et al., 2001). One of the assumptions on this toxicity is the presence of chlorinated disinfectants. The application of chlorine as a general oxidant in sewage treatment industries results in the creation of mixtures, AOX formed during chlorine disinfections of humic-rich raw water (Jokela et al., 1992), that are also emitted in the environment (Carey et al., 1998). The aim of this study was (i) to make a brief review of the chemistry and the

toxicology of chlorinated disinfectants in order (ii) to evaluate the toxicity on aquatic organism of hospital wastewater from services using NaOCl disinfectant.

II.3. The chemistry and toxicology of chlorinated disinfectants in water and wastewater

II.3.1. Chemical behavior of chlorinated disinfectants

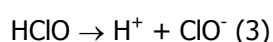
In spite of the concern about the formation of toxic by-products usually associated with its use (Marhaba and Washington, 1998; Lopez et al., 2001), Chlorine (Cl₂) and its derivative NaOCl are still the most widely used disinfectant (Baxter, 1994). When chlorine gas is dissolved in water, it hydrolyses rapidly according to the following equation to yield hypochlorous acid:



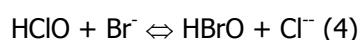
Hypochlorous acid is also formed when sodium hypochlorite (NaOCl) is used as the source of chlorine:



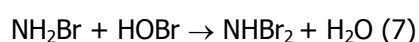
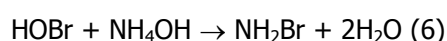
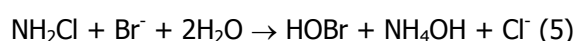
Hypochlorous acid is a weak acid, and will undergo partial dissociation as follows:



The ratio [HClO]/[ClO⁻] is pH dependent (Lopez et al., 2001). In fact, in presence of pH between 6 and 9, both hypochlorous acid and hypochlorite ion will be present in waters; the proportion of each species is depending also on temperature (White, 1986). Hypochlorous acid is significantly more effective as a biocide than the hypochlorite ion. If bromide ions are present, chlorine will also oxidise bromide to form hypobromous acid (Von Gunten and Hoigné, 1995):



Hypobromous acid is an effective biocide, in this context the group [HBrO]/[BrO⁻] are better oxidants than [HClO]/[ClO⁻], conversely, hypochlorous acid and hypochlorite ion are better halogenating substances (Lopez et al., 2001). When ammonia is also present, the competing reactions of chlorine with bromide and ammonia are likely to result in the rapid formation of both monochloramine and hypobromous acid. A number of other reactions can then occur:

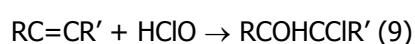


HClO and ClO⁻ can react with organic compounds by addition, substitution and oxidation (Boyce and Hornig, 1983). The reaction of chlorine with organic constituents in aqueous solution can be grouped into several types:

(a) Oxidation, where chlorine is reduced to chloride ion, e.g.



(b) Addition, to unsaturated double bonds, e.g.



(c) Substitution to form N-chlorinated compounds, e.g.



or C-chlorinated compounds, e.g.



Chlorine substitution can lead to the formation of halogenated compounds, such as chloroform (e.g. equation 11). Although such reactions are significant in terms of the resultant halogenated by-product, it has been estimated that only a few percent of the applied chlorine ends up as halogenated organic products (White, 1986).

II.3.2. Environmental fate and toxicological effects of chlorinated disinfectants

In addition to the chlorinated water that is released into the environment from sewage treatment operations and other sources, chlorine is potentially released during its transport (NTP, 1992). Limited monitoring studies have detected chlorine in the ambient atmosphere at concentrations ranging from 1 to 3.7 mg/m³ or 0.344 to 1.27 ppm (U.S. EPA, 1994a). Chlorine may react with soil components to form chlorides; depending on their water solubility, these chlorides are easily washed out from the soil (Seiler et al., 1988). U.S. EPA (1989a) reports that chlorine hydrolyses very rapidly in water (rate constants range from 1.5x10⁻⁴ at 0°C to 4.0x10⁻⁴ at 25°C). However, there is no potential for the bioaccumulation or bioconcentration of chlorine (U.S. EPA, 1994a).

Chlorine gas (Cl₂) or sodium hypochlorite (NaOCl) added to drinking water effectively inactivates bacteria in 20 minutes at concentrations of 0.03 to 0.06 mg/L at pH range of 7.0 to 8.5 and temperature range of 4°C to 22°C (NTP, 1992). Drinking water concentrations of higher than 90 ppm chlorine caused irritation of human membranes of throat and mouth (U.S. EPA, 1989a). In fact, chlorine is a primary irritant to the mucous membranes of the eyes, nose and throat and to the linings of the entire respiratory tract (Stokinger, 1982). Mice and rats exposed to chlorine at the RD50 concentration (9-11 ppm, 6h/day for 1, 3, or 5 days) developed degeneration of olfactory sensory cells in the olfactory mucosa, loss of cilia of the respiratory epithelium, and cellular exfoliation primarily of the naso and maxilloturbinates (U.S. EPA, 1994a).

The major target organs for the subchronic/chronic toxicity of chlorine in humans are the respiratory tract and the blood. In animals, the major target organs are the immune system, the blood, the cardiovascular system and the respiratory tract (U.S. EPA, 1994a). EPA has derived an oral RfD (reference dose) of 0.1 mg/kg/day for chlorine, based on a no-observed-effect level of 14.4 mg/kg/day in a chronic drinking water study in rats (U.S. EPA, 1994b).

No conclusion on the carcinogenicity and on the developmental/reproductive toxicity of chlorine can be made on the limited information available from human and animal studies (NTP, 1992; U.S. EPA 1989 and 1994b). However, chlorine was mutagenic in *Salmonella typhimurium* strains, without metabolic activation, produced chromosome aberrations in human lymphocytes and other mammalian cells; interacted with DNA in *E. coli* polA (as sodium hypochlorite) and was negative for the induction of erythrocyte micronuclei or chromosome aberrations of bone marrow cells mice (up to 8 mg/kg/day of NaOCl) for up to 5 days (U.S. EPA, 1989a).

Chlorine has high acute toxicity to aquatic organisms. Many toxicity values are less than or equal to 1 mg/L. Table 1 shows obtained results on toxicity studies of chlorine on some aquatic species (AQUIRE, 1994). Papillomas of the oral cavity in fish have been associated with exposure to chlorinated water supplies (NTP, 1992). Low level chlorination (0.05 to 0.15 mg/L) results in significant shifts in the species composition of marine phytoplankton communities (U.S. EPA, 1994a).

Chlorine is phytotoxic but is also essential to plant growth; crops need around 5 pounds or more of chlorine per acre (U.S. EPA, 1994a). Acute toxicity to plants is characterized by defoliation with no leaf symptoms and, in higher plants forms, by spotting of the leaves at 1.5 mg/m³, and marginal and interveinal injury at 150-300 mg/m³ (Seiler et al., 1988).

Table 1. Toxicity of chlorine on aquatic organisms (AQUIRE, 1994)

Species	Duration of tests	Range of EC ₅₀ or LC ₅₀
<i>Daphnia magna</i> (cladocerans)	24-hour	0.076 – 0.16 mg/L
<i>Daphnia pulex</i> (cladocerans)	24-hour	0.005 – 0.1 mg/L
<i>Nitrocrora spinipes</i> (snail)	48-hour	5.3 – 12.8 mg/L
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (rainbow trout)	96-hour	0.13 – 0.29 mg/L
<i>Salvelinus fontinalis</i> (brook trout)	96-hour	0.1 – 0.18 mg/L
<i>Lepomis cyanellus</i> (green sunfish)	96-hour	0.71 – 0.82 mg/L

II.4. Materials and methods

II.4.1. Sampling and pH measurements

The wastewater from the infectious and tropical diseases department (ITDD), with a capacity of 144 beds, of a hospital of a big city of the southeast of France have been selected. Wastewater was collected before entering into the entire hospital sewer network, which discharges the total volume of effluents from the various departments into the urban wastewater network without pre-treatment. This choice was justified by the fact that the ITDD collector does not receive effluents containing iodized X-ray contrast media from radiography department, substances which could be contributed to AOX concentrations. Three samples per day were done in the connecting well department at 9 A.M, 1 P.M. and 5 P.M. during eight days from 13 March to 22 March 2001. A mixture has been made with the three samples at 6 P.M. in order to obtain a representative sample for the day. In the objective to avoid or decrease volatility process in samples, laboratory conditions controlling flow and turbulence have been considered during mixture preparations. Water sample was collected by means of a telescopic perch in a 1-L glass flask. pH was measured directly on site after sampling with a pH meter HANNA instrument HI 8417 (accuracy pH ± 0.01pH, mV ± 0.2 mV ± 1, °C ± 0.4°C) digit and standard electrode HI 1131 B (refillable glass combination pH electrode). All the water samples and the mixture were kept at 4°C until analysis.

II.4.2. Chemical analysis

Total suspended solids (TSS) concentrations were determined in conformity with the European standard NF EN 872 (AFNOR, 1997a) after filtration through a 1.2 μm membrane and dewatering at 105 °C.

Chlorides were determined by following the European standard NF EN ISO 10304-1 (AFNOR, 1997b) on diluted and filtered samples at 0.45 μm by using DIONEX DX-100 ion chromatograph with suppressed conductivity detection from 0.0 to 1000 μS . Ionpac AS14 4x250 mm analytical column (P/N 046124) was used for chloride sample analysis. AOX were measured according to European standard EN 1485 (AFNOR, 1997a). COD was measured by potassium dichromate method using HACH spectrophotometer 2010 and test procedure provided by the supplier. Because hospital wastewater may record temporal physicochemical evolutions, measures of COD on the three samples and the mixture COD were determined for wastewater samples of March 20, 2001. This decision has been taken in order to analyze the variations of COD during the day.

Total Organic Carbon (TOC) was carried out on filtered samples at 0.45 μm and pre-treated with orthophosphoric acid (H_3PO_4). French standard T90-102 (AFNOR, 1997a) was followed by using a carbon analyzer SPECTRA France, LABTOC model, with potassium per sulfate reagent ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) and UV oxidation.

II.4.3. Toxicity test procedures

The determination of the inhibition of *Daphnia magna* mobility is a acute toxicity assay. Its objective is to identify the initial concentration of a pollutant in solution or an aqueous mixture which may immobilize in 24 or 48 hours 50% of exposed daphnia into polluted solutions. According to the European standard NF EN ISO 6341 (AFNOR, 1997c), the different assays were carried out on *Daphnia* sp. maintained in parthenogenetic culture in the laboratory (POLDEN of the National Institute of Applied Sciences of Lyon – INSA de Lyon). The sensibility of the laboratory species was controlled by regular tests with potassium dichromate. Young female *Daphnia*, aged less 24 h were only used. The normal medium, without EDTA, was also used. The essays were realized at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ under darkness condition. All the assays were carried out in a limit of time from 6 to 48 h after sampling.

Because hospital wastewater is considered as toxic for aquatic environment, a volume of 250 mL unfiltered samples was taken for each assay. In order to understand the effects of color, turbidity and TSS present in hospital effluent samples on *Daphnia* sp., the toxicity of 250 mL filtered sample (0.45 μm pore size membrane) was studied by comparing the results with the unfiltered volume of the same sample. The three required conditions for the validity of assays were observed: (i) the concentration of dissolved oxygen (DO), in the control group, was ≥ 2 mg/L at the end of each assay; (ii) the

observed percentage of immobilization in the control group vessels was $\leq 10\%$; (iii) EC_{50} in 24h of potassium dichromate was between 0.6 to 1.7 mg/L.

The bioassay on bacteria luminescence MICROTOX was carried out with a LUMISTox system (Dr Lange GmbH, Duesseldorf, Germany) following the standard procedure of the European standard NF EN ISO 11348-3 (AFNOR, 1999). Tests were performed using gram negative marine bioluminescent bacteria of the species *Vibrio fischeri* NRRL-B-11177 of the *Vibrionaceae* family. In order to prevent the interferences of TSS on the bacteria luminescence, samples were filtered using a 0.45 μ m pore size membrane. The samples were treated with NaCl solution of 20 g/L and brought to 50 mS/cm of conductivity before the analysis. Starting from the concentration of the sample, eight consecutive elutions were tested (dilution factor 1:2); the inhibition of bioluminescence was measured at a wavelength of 490 nm, with readings after 5 and 15 minutes of incubation at 15 °C. The EC_{50} values were calculated as reported by Bulich (1979).

II.4.4. Statistical data analysis

The immobilization percentage, of the initial total number of 20 *daphnia* used in the test, were determined for each sample concentration. EC_{50} values for inhibition assays by Litchfield-Wilcoxon statistic method or probit analysis (Finney, 1971). Results of CE_{50} 24h, with their confidence interval, are expressed in percentage of sample dilution in toxic unit TU (1 TU = 100 / CE_{50}).

Multiple regression analysis between y and x variables was performed using the statistical package Xlstat version 5.0 (b8.3) for Windows (Addinsoft, 2001). The multiple regression STEPWISE (Agresti, 1990) was used to determine the correlations between AOX (x) and EC_{50} 24h on *daphnia* (y). The linear regression was assessed with r , r^2 and adjusted coefficient of determination. r , r^2 are respectively the coefficient of correlation and the coefficient of determination. All the statistical analysis were at a confidence interval of 95%.

II.5. Results

In all samples (simple and mixture) pH was always in an alkaline range (7.9 – 8.8) with a variation lower than 1 pH unit. The hospital wastewater composition from the infectious and tropical diseases department refers to the amounts of its physical, chemical constituents. These elements have been determined by measuring COD, TOC, TSS, pH, chlorides, AOX coupled with the bioassays of toxicity. The European Commission Directive 98/15/EC (1998) proposes medium discharge standards for all these parameters. The results of physicochemical characterization of hospital wastewater mixture samples are summarized in Table 2.

II.5.1. Physicochemical characterization of ITDD wastewater

In the effluent samples, COD concentrations ranged from 362 to 1492 mg/L exceeded the discharge standards. This could be attributed to the presence of toxic substances. The COD threshold values for

industrial wastewater which must be reached the sewer network is given by the Directive 98/15/EC and accounts 125 mg/L (European Commission, 1998). COD concentrations for punctual samples were compared with COD concentration of the mixture sample. The mixture sample value was different of mean value of the punctual samples. The variation of COD for this specific sample day is presented in figure 1.

Table 2. Physicochemical characterization of mixture samples of HWW

Parameters	Units	Means	Minima	Maxima	SD	n
pH	U	8.4	7.9	8.8	0.3	8
Chlorides	mg/L	185	63.4	359.2	90.4	8
AOX	mg/L	0.7	0.38	1.24	0.28	8
TSS	mg/L	225	155	298	64	5
COD	mg/L	638	362	1492	435	6
TOC	mg/L	218	160	350	78	6
COD/TOC	-	3.43	2.01	4.26	0.92	6

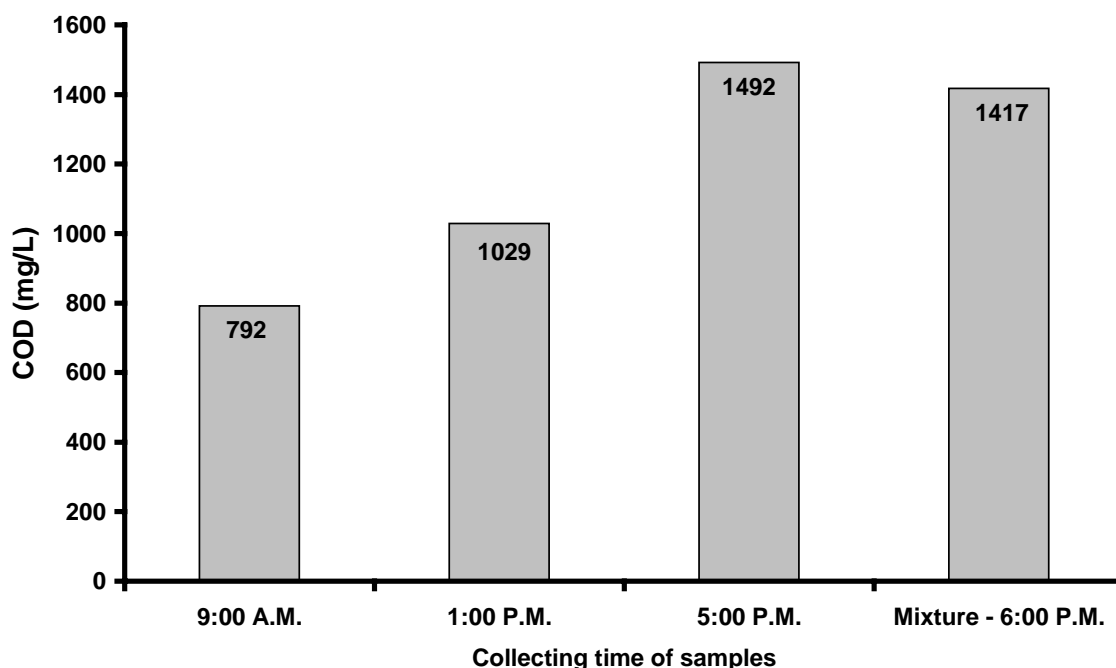


Figure 1: Variations of COD concentrations between the three samples and mixture of 6th day

In conventional urban wastewater, TOC concentrations usually ranged from 80 to 290 mg/L (Metcalf and Eddy, 1991). In the hospital wastewater, TOC concentrations were from 160 to 350. The difference could be due to higher chloride concentrations in hospital wastewater. Seiss et al. (2001) reported that TOC degradation rate depends on the chloride concentration of the wastewater. The

different organochlorine compounds resulting from NaOCl disinfections of hospital wastewater could contribute to high TOC concentrations in these effluents.

TSS concentrations ranged from 155 to 298 mg/L and chloride values from 63.4 to 359.2 were detected. The linear regression analysis between TSS (y dependent variable) and chlorides (x independent variable) in the effluents revealed an acceptable linear correlation ($r = 0.93$, $r^2 = 0.86$, Durbin-Watson statistic $DW = 1.23$, $P = 0.02$). Chlorides and TSS levels were higher in the effluents samples where higher acute toxicity on *Daphnia magna* was observed. The same result was observed for AOX which concentrations ranged from 0.38 to 1.24 mg/L. The AOX permissible level 1 mg/L, given in French wastewater regulations (MATE, 1998), is exceeded in higher AOX concentration in the effluent mixture sample. However, AOX results generated by chlorine disinfections of hospital wastewater were lower than AOX concentration of 10 mg/L determined (Sprehe et al., 1999) in hospital wastewater containing iodized contrast media.

II.5.2. Microbiological and toxicological characterizations of ITDD wastewater

Low concentrations of bacteria flora $2.4 \times 10^3/100\text{mL}$ were deducted for the hospital effluents (Table 3). Previous studies on microbiological characterization of hospital wastewater (Bernet and Fines, 2000) reported these effluents have bacteria concentrations lower than $10^8/100\text{mL}$ generally present in the municipal sewage system (Metcalf and Eddy, 1991).

MICROTOX results in toxic unit (TU) explain the toxicity of hospital wastewater on *V. fischeri*. Significant differences were observed between 5 and 15 min EC_{50} values, showing that 5 min assay can be considered as no toxic because all the results are lower than 2 TU. The results of 15 min ranged from 2.47 to 4.15 TU greater than 2 TU had a toxicity similar to domestic wastewater (Table 3). However, all the results were lower than the means of 6.75 TU reported by the literature for the toxicity of hospital wastewater on *V. fischeri* completed after 30 min of exposure (Jehannin, 1999).

The 24-h EC_{50} values determined for each mixture sample toxicity on *Daphnia magna*, with the correspondent 95% confidence limits. The results are also presented in Table 3. In all the samples, the 24-h EC_{50} values on *Daphnia magna* ranged from 9.8 to 116.8 TU greater than that 2 TU value proposed by French water agencies for industrial wastewater discharge. Potential toxicity is a suitable description of these effluents.

Table 3. Microbiological and toxicological characterizations of the mixture samples

Parameters	Units	Means	Minima	Maxima	SD	n
Fecal coliforms	MPN	-	<3	2 400	-	4
EC ₅₀ <i>Vibrio fischeri</i> (MICROTOX – 5mn)	TU	1.42	1.1	1.54	0.25	4
EC ₅₀ <i>Vibrio fischeri</i> (MICROTOX – 15mn)	TU	3.4	2.47	4.15	0.7	4
EC ₅₀ <i>Daphnia</i>	TU	44	9.8	116.8	34	8

II.6. Discussion

II.6.1. Relationship between COD and TOC

Studies on hospital wastewater reported that these effluents are essentially domestic (i.e. sanitary wastewater from residential and commercial sources) and are characterized by pollutant concentrations of BOD₅, COD, TSS and TOC (EPA, 1989b; Mansotte and Justin, 2000). BOD₅ value was not analyzed in this study. In table 4 the results obtained for the hospital effluents were compared with the approximate ranges for domestic wastewater reported in the literature.

TOC and COD concentrations are greater than the values proposed by Metcalf and Eddy (1991) for domestic wastewater. COD and TOC were reacted to completion (Gray and Becker, 2002), and a good linear correlation was found between them in the results of this study ($r = 0.95$, $r^2 = 0.9$, Durbin-Watson statistic DW = 1.96, P = 0.0039) the graph is presented in figure 2.

Table 4. Comparison between domestic wastewater and hospital effluents

Parameters	Units	Approximate ranges of domestic and hospital wastewater (EPA, 1989b)	Approximate ranges of domestic wastewater (Metcalf & Eddy, 1991b)	Results of the study on hospital wastewater
Chlorides	mg/L	-	30 - 100	63 - 359
TSS	mg/L	60 - 200	100 - 350	155 - 298
COD	mg/L	150 - 800	250 - 1000	362 - 1492
TOC	mg/L	50 - 300	80 - 290	160 - 350
BOD ₅	mg/L	50 - 400	110 - 400	-

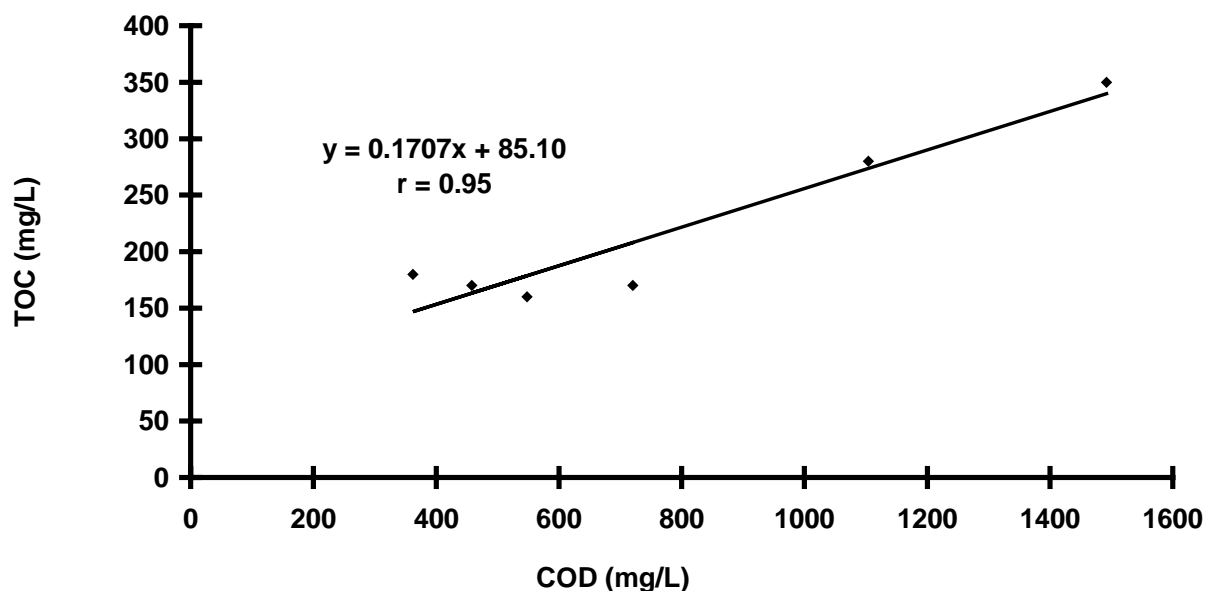


Figure 2 : Linear regression between TOC and COD concentrations

Information reported in the literature assume a COD/TOC of ratio 3 frequently found in many wastewater (Seiss et al., 2001). Gray and Becker (2002) reported a semi-empirical equation to determine the ratio between COD expressed in mg O₂/L and TOC in mg C/L.

$$\text{COD} = 2.67 \text{ TOC} \quad (12)$$

The variations of COD, TOC and the COD/TOC ratio in the samples of ITDD hospital wastewater, for the 6 first days of sampling, are depicted in figure 3. The COD/TOC ratio found in hospital wastewater range from 2.01 to 4.26. The difference could be an effect of the presence of inorganic substances in COD concentrations. The biodegradability of organic substances is a measure of the speed and completeness of its biodegradability by microorganisms (Sponza, 2003), and therefore the BOD₅/COD and COD/TOC ratios could be used to analyze the difficulty or not for organic substances to be degraded. In this study, the precise biochemistry knowledge of hospital wastewater, necessary to analyze the biodegradability by global parameters ratio, is not completed, because BOD₅ was not carried out. However, the data obtained from COD/TOC ratio, when compared with information reported in the literature on this issue, can be ranged in two groups: (i) COD/TOC from 2.01 to 3.00, and (ii) COD/TOC from 3.01 to 4.26. In the first group the organic substances would be degraded by microorganisms with out difficulties, but in the second group the substances would be difficult to degrade. In the future, it will be necessary to verify this analysis by comparing the COD/TOC ratio with the BOD₅/COD ratio.

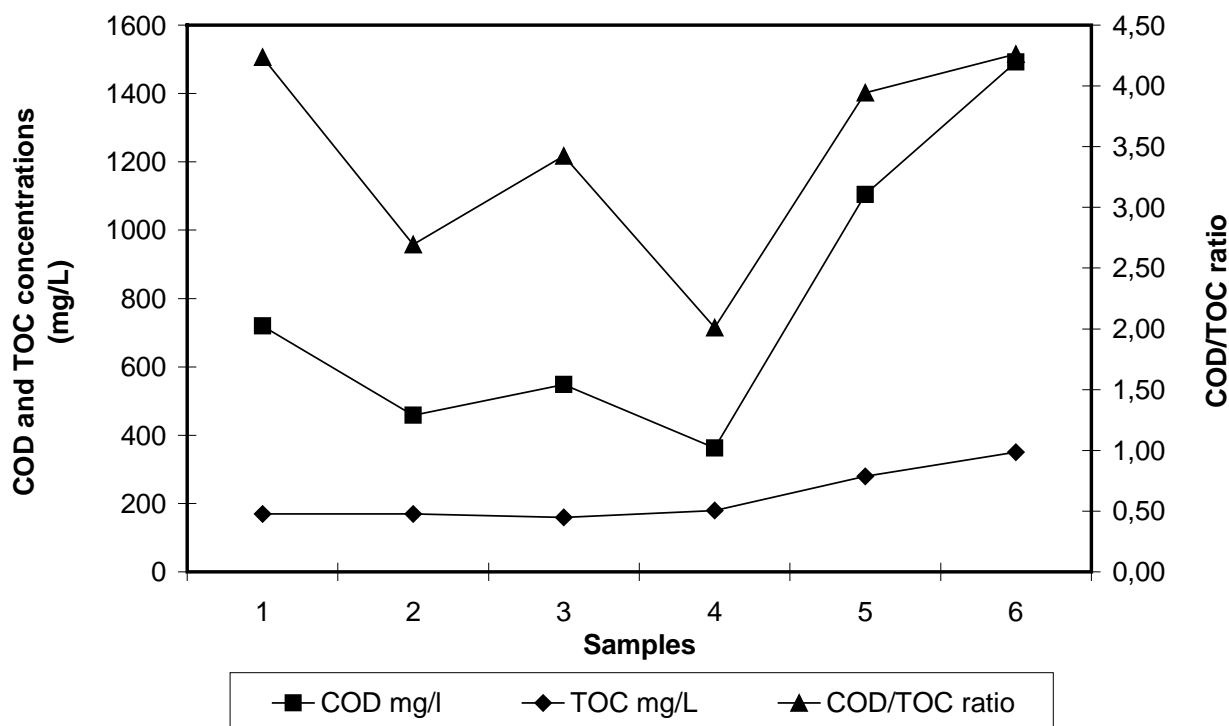


Figure 3: Variations of COD, TOC and COD/TOC ratio in hospital effluents of ITDD

II.6.2. Influence of chloride on AOX formation and toxicity on aquatic organisms

Organic halogen compounds are formed by reaction of chlorine with organic wastewater compounds. The hypothesis that sodium hypochlorite, used as elementary chlorine in disinfections of hospital wastewater of ITDD, is responsible for the disinfecting effect of AOX on aquatic organisms seems to be verified. In fact, the major mass carriers for the AOX in hospital effluents are most likely iodized X-ray contrast media, solvents, disinfectants, cleaners and drugs containing chlorine. In general, the maximum contribution of drugs to the AOX is not above 11% (Kümmerer et al., 1998). Beyond that it is also known that the AOX concentration in the urine of patients not treated with drugs is very low. It is normally between 0.001 to 0.2 mg/L (Schulz and Hahn, 1997). Due to the dilution effect, no substantial contribution from this source is consequently expected (Kümmerer, 2001).

Previous studies on AOX presence in wastewater explained the formation of this "non-conventional" pollutants by the presence of organochlorine compounds (Seiss et al., 2001; López, 2003), and by the oxidation of bromide by hydroxyl radicals (von Gunten and Oliveras, 1998) or by the oxidation of iodized X-ray contrast media (Sprehe et al., 2001). Brominated organic compounds are negligible for the AOX in the hospital effluents (Kümmerer, 2001). The conditions of sampling taken for this study, i.e. choice of a wastewater collector which does not receive iodized X-ray contrast media effluents

form radiography department, lead to the conclusion that the AOX formation, in hospital wastewater from the infectious and tropical diseases department, is mainly due to the influence of sodium hypochlorite (chlorine). The lower chloride concentrations correspond to lower concentration of reduction of AOX formation. The effluent samples showing the higher chloride concentration were the same generating the higher AOX results and the most important acute toxicity on *Daphnia magna*.

II.6.3. Acute toxicity of physicochemical parameters of the ITDD effluents on the aquatic organisms

Fecal coliform populations of ITDD wastewater were affected because chloride values of hospital wastewater are greater than values generally uncounted in domestic wastewater. Although, hospital use and discharge (into sewer network) large amounts of water (U.S. EPA, 1989b; Leprat, 1998; Emmanuel et al., 2002) which allows the dilution of higher pollutant concentrations to lower values, it seems necessary to follow-up the behavior of microbial populations of urban wastewater treatment plants which receive these hospital effluents containing higher chloride and AOX concentrations.

Each of the two species responded differently to hospital wastewater samples. Acute toxicity on marine organism was performed using the MICROTOX test to study the inhibition of the bacteria bioluminescence, and acute toxicity on freshwater zooplankton was studied using *Daphnia magna* bioassay.

The ITDD effluents had an inhibition on the bacteria bioluminescence. It is difficult to attribute this toxicity to one or all the determined physicochemical parameters. The variation of toxicity on *Vibrio fischeri* in all the samples did not have good correlations with chloride and AOX concentrations. Because the assay was realized only under 5 and 15 min of exposure, it seems that the toxic effects, of organochlorine compounds containing in hospital wastewater samples, were not completed. The sodium hypochlorite needs a contact time of 20 minutes to inactivate bacteria. Although in all cases the pH values in the samples were ranged from 7.9 to 8.8, the exposure time lower than 20 minutes is probably the cause of absence of a good correlation among the toxicity and the physicochemical concentration. Beside the pH conditions, it seems that 30 minutes of exposure time is the ideal contact time to evaluate toxicity of organochlorine containing in hospital wastewater using MICROTOX test.

Although the results of AOX concentrations in some cases were lower than the discharge regulation, the results of toxicity test of hospital wastewater on *Daphnia magna* indicated potential toxicity. All the samples demonstrated the presence of an acute toxicity of hospital effluents on aquatic organisms. A good linear regression was found between EC₅₀ results of toxicity on *Daphnia magna* and AOX assessed with $r = 0.98$, $r^2 = 0,95$, DW = 1.13, P = 0,0001 (figure 4). No significant difference was observed between the EC₅₀ *Daphnia* – AOX correlation and the EC₅₀ *Daphnia* – chlorides correlation ($r = 0.98$, $r^2 = 0,95$, DW = 1.75, P = 0,0001). The variations of EC₅₀ (UT)

Daphnia, pH, chlorides and AOX concentrations of ITDD hospital wastewater are highlighted in figure 5.

The weight of TSS on the most toxic sample (EC₅₀ of 116.8 TU) was studied by passing sample through Giving a 0.45 µm pore size membrane and performing the *Daphnia magna* bioassay. The 24-h EC₅₀ of filtered sample was 29.7 TU. It seems that TSS contributed in increasing toxicity of hospital wastewater on *Daphnia magna* approximately at 74.57%. Because, the application of NaOCl as elementary chlorine was made before the sedimentation and filtration processes of effluents, it allowed the formation of organochlorine compounds such as AOX resulting from chemical reaction between the organic matters in wastewater an chlorine.

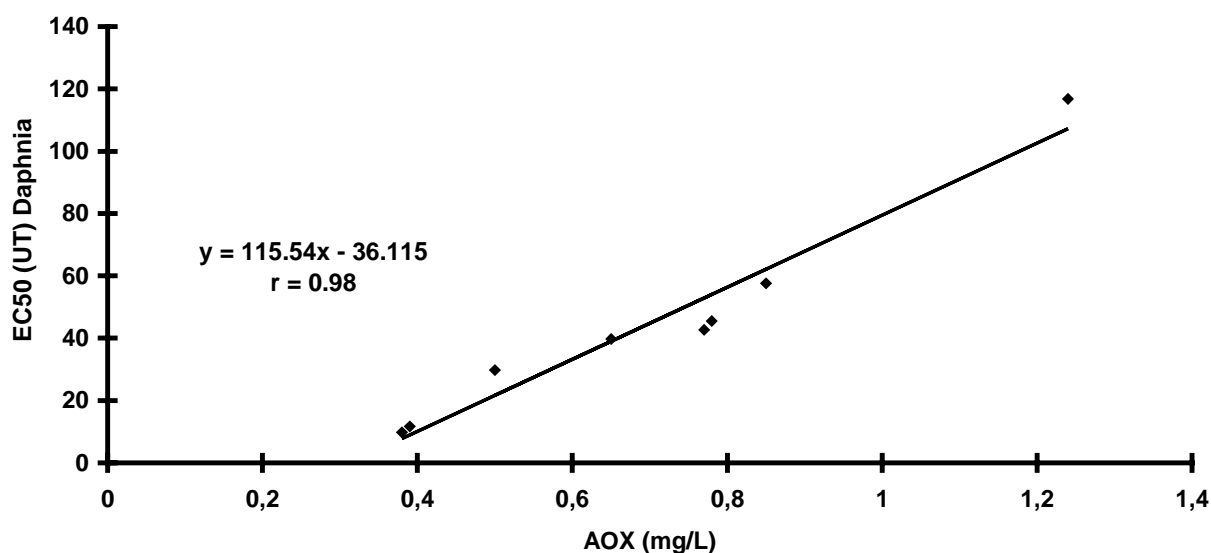


Figure 4: Linear regression between EC₅₀ (UT) *Daphnia* and AOX concentrations

The results of this study on toxicological effects of NaOCl and its contribution to AOX formation in hospital wastewater allows to conclude that chloride could be used as indicator of the toxicity of hospital wastewater on aquatic organisms when NaOCl was used in elementary chlorine of wastewater collector which does not receive effluents from hospital radiography department. It seems necessary to verify in other studies, these first observations on toxicity of hospital effluents.

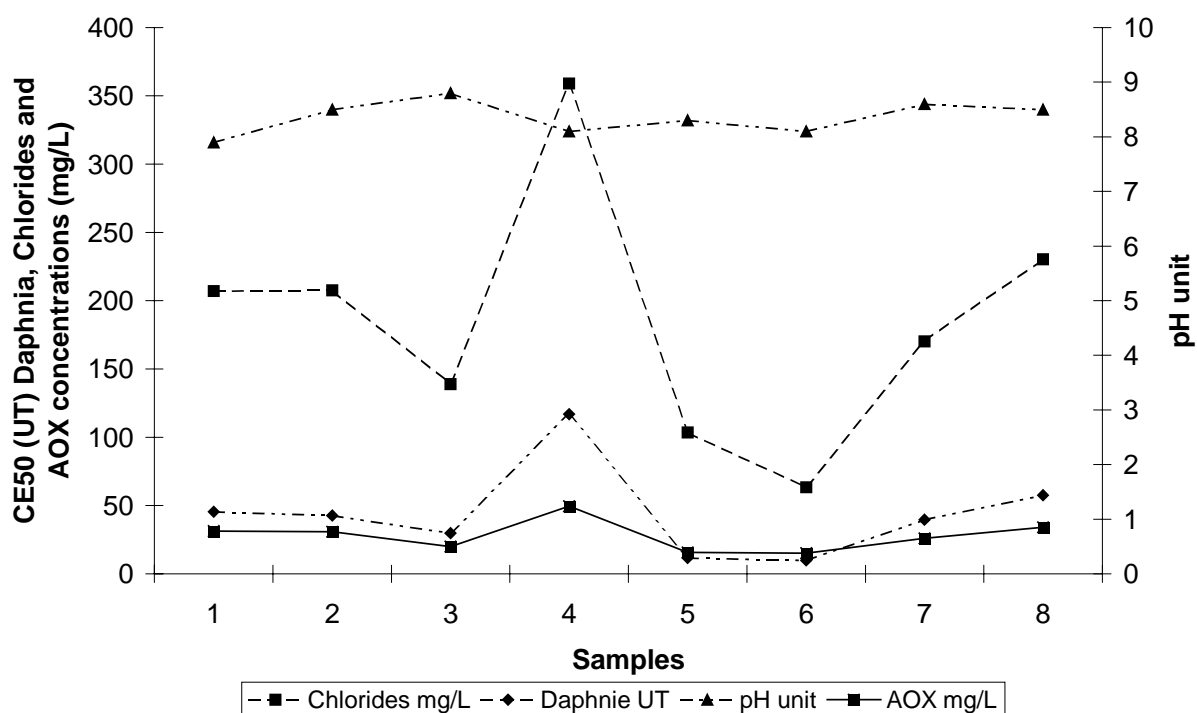


Figure 5: Variations of EC₅₀ (UT) *Daphnia*, pH, chlorides and AOX concentrations of ITDD hospital wastewater

II.7. Conclusion

The results of this study showed that the application of NaOCl in wastewater can reduce bacteria water pollution and give rise to toxicity effects on aquatic organisms. Low MPN ranging from <3 to 2400 for 100 mL were detected for fecal coliforms. Toxicity test using MICROTOX showed the toxicity of hospital wastewater on *Vibrio fischeri*, however bad correlations were observed between this toxicity and the concentrations of chloride and AOX. It seems that 30 minutes of exposure time is the ideal contact time to evaluate toxicity of organochlorine containing in hospital wastewater using MICROTOX test. The results of 24-h EC₅₀ on *Daphnia magna* demonstrated the high toxicity effect of hospital wastewater on these species. Some good correlation were observed between these toxicity results and the concentrations of chloride and AOX.

The identification of an ideal concentration of NaOCl in disinfecting hospital wastewater, i.e. its NOEC (Non Observed Effect Concentration) on algae and *Daphnia magna*, seems to be a research issue which could facilitate the control of AOX toxicity effects on aquatic organisms. Therefore, it would be necessary to follow-up at various dosages the biocide properties of NaOCl on fecal coliforms and its toxicity effects on aquatic organisms.

References

- Abe T., Saito H., Niikura Y., Shigeoka T., Nakano Y. Embryonic development assay with *Daphnia magna*: application to toxicity of aniline derivatives. CHEMOSPHERE, 45:487-495, 2001.
- Addinsoft. Aide XLstatPro, XLStat version 5.0 (b8.3). Copyright 2000-2001, Addinsoft, Paris; 2001.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). Qualité de l'eau, tome 2 : méthodes d'analyse 1, analyse organoleptique, mesures physico-chimiques, paramètres globaux, composés organiques. Recueil de normes françaises 1997, 2^e édition, Paris; 1997a.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). Qualité de l'eau, tome 3 : méthodes d'analyse 2, éléments majeurs, autres éléments et composés minéraux. Recueil de normes françaises 1997, 2^e édition, Paris; 1997b.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). Qualité de l'eau, tome 4 : méthodes d'analyse 3, analyse biochimique et biologique, analyse microbiologique, textes réglementaires. Recueil de normes françaises 1997, 2^e édition, Paris; 1997c.
- AQUIRE (Aquatic Information Retrieval). EPA ERL-Duluth's Aquatic Ecotoxicology Data Systems. U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency), Duluth, MN; 1994.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). Standard guide for conducting renewal life-cycle toxicity tests with *Daphnia magna*. In.: Annual Book of ASTM Standards, E 1193-94. ASTM, Philadelphia, 1994.
- Banerjee S., Howard P.H., Rosenberg A.M., Dombrowski A.E., Sikka H., Tulis D.L. Development of a general kinetic model for biodegradation and its application to chlorophenols and related compounds. Environ Sci Technol, 18:416-422; 1984.
- Baxter G. Chlorine disinfection – the industry standard. In.: International Speciazed Conference: Disinfection of Potable Water. Kruger National Park, South Africa, 1998.
- Bernet S., Fines M. Effluents du CHU de CAEN : Etude qualitative et quantitative de la flore microbienne et recherche de bactéries multirésistantes. *Poster*. Quatrième journée du Réseau Régional d'Hygiène de Basse-Normandie, Caen, 2000.
- Boyce S.D., Hornig J.F. Reaction pathways of trihalomethane formation from the halogenation of dihydroxyaromatic model compounds for humic acid. Environ. Sci. Technol., 17:202-211, 1983.
- Brondeau M.T., Falcly M., Jargot S., Miraval S., Protois J.C., Reynier M., Scheneider O. Eaux et extraits de Javel. Fiche toxicologique N° 157 de l'INRS. Cahiers de notes documentaires – Hygiène et sécurité du travail, 178:11-15, 2000.
- Bulich A.A. Use of luminescent bacteria for determining toxicity. In.: ASTM STP 667 Aquatic Toxicity, Philadelphia, 1979.
- Carey J., Cook P., Giesy J., Hodson P., Muir D., Owens W., Solomon K. Ecotoxicological risk assessment of the chlorinated organic chemical. In.: Carey J., Cook P., Giesy J., Hodson P., Muir D., Owens W., Solomon K., (ed) Workshop on Environmental Risk Assessment for Organochlorine Compounds. SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry), Pensacola-Florida, 1998.

CCLIN (Comité de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales). Élimination des effluents liquides des établissements hospitaliers – Recommandations. Institut Biomédical des Cordeliers, Paris, 1999.

Cooney J.D. Freshwater tests. In.: Rand G.M. (Ed.). Fundamentals of aquatic toxicology: Effects, environmental fates and risks assessment. Second ed., Taylor & Francis, Washington DC, 1995.

Deloffre-Bonnamour N. Les rejets des établissements de santé : des effluents liquides aux déchets solides. Mémoire de Maîtrise, Université Claude Bernard-Lyon1, Institut Universitaire Professionnalisé, Génie de l'Environnement–Ecodéveloppement, Lyon; 1995.

Emmanuel E., Blanchard J.-M., Keck G., Perrodin Y. Caractérisation chimique, biologique et écotoxicologique des effluents hospitaliers. Déchets Sciences et Techniques, revue francophone d'écologie industrielle, 22:31-33; 2001.

Emmanuel E., Perrodin Y., Keck G., Blanchard J.-M., Vermande P. Effects of hospital wastewater on aquatic ecosystem. Proceedings of the XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancun, México, 27-31 de octubre, 2002. CDRom.

Erlandsson B., Matsson S. Medically used radionuclides in sewage sludge. Water, Air, and Soil Pollution, 2:199-206; 1978.

European Commission. Directive 98/15/EEC amending Council Directive 91/271/EEC: Urban wastewater treatment. Brussels; 1998.

Finney D.J. Probit analysis. 3rd ed. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1971.

Gartisser St., Brinkler L., Erbe T., Kümmerer K., Willmund R. Contamination of hospital wastewater with hazardous compounds as defined by § 7a WHG. Acta hydrochim. Hydrobio 24, 2:90-97; 1996.

Gray S.R., Becker N.S.C. Contaminant flows in urban residential water systems. Urban water, 4:331-346; 2002.

Halling-Sorensen B. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A review. CHEMOSPHERE, 36:357-393; 1998.

Hanazato T. Growth analysis of *Daphnia* early juvenile stages as an alternative method to test the chronic effect of chemicals. Chemosphere, 36:1903-1909; 1998.

Jehannin P. Caractérisation et gestion des rejets liquides hospitaliers – Etude particulière de la situation du C.H. de Hyères (Var). Mémoire de fin d'études, Ecole Nationale de la Santé Publique, Rennes; 1999.

Jokela J.K., Eloma E., Salinoja-Salonen M.S. Adsorbable organic halogens (AOX) in drinking water and aquatic environment in Finland. J Water Supply Res. Technol, 41:4-11, 1992.

Jolibois B., Guerber M., Vassal S. Glutaraldehyde in hospital wastewater. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 42:137-144; 2002.

Kinnersley D. Discharge consent and compliance policy: a blueprint for the future. NRA (National Rivers Authority) Water Quality Series, No. 1, Bristol; 1990.

Kümmerer K. Drugs in the environment : emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review, Chemosphere 45:957-969; 2001.

Kümmerer K., Meyer M., Steger-Hartmann T. Biodegradability of the anti-tumour agent Ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage. *Wat. Res.*, 11:2705-2710, 1997.

Kümmerer K., Gartiser St., Erbe T., Brinkler L. AOX-emissions from hospital into municipal wastewater. *Chemosphere*, 36:2437-2445, 1998.

Leprat P. Les rejets liquides hospitaliers, quels agents et quelles solutions techniques ? Troisième journée du Réseau Régional d'Hygiène de Basse-Normandie, Caen, 1998.

Lopez A., Mascolo G. Ciannarella, Tiravanti G. Formation of volatile halogenated by-products during chlorination of isoproturon aqueous solutions. *Chemosphere*, 45:269-274; 2001.

López M.C.C. Determination of potentially bioaccumulating complex mixtures of organochlorine compounds in wastewater: a review. *Environment Int.* 28:751-759; 2003.

Mansotte F., Jestin E. Les rejets liquides des établissements de santé : Caractérisation à la source et impact sur l'environnement marin côtier. Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales de la Seine Maritime, Agence de l'Eau de la Seine Normandie, Nanterre, 2000.

Marhaba T.F., Washington M.B. Drinking water disinfection and by-products: history and current practice. *Adv. Environ. Res.* 2:103-115; 1998.

MATE (Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement). Arrêté du 2 février 1998 relatif aux prélèvements et à la consommation d'eau ainsi qu'aux émissions de toute nature des installations classées pour la protection de l'environnement soumises à autorisation. J.O (Journal Officiel) n° 52 du 3 mars 1998 page 3247, Paris.

Metcalf & Eddy, Inc. Wastewater Engineering: Treatment, disposal, and reuse. 3rd ed. Revised by Tchobanoglous G., Burton F.L. Irwin/McGraw-Hill, New York, 1991.

NTP (National Toxicology Program). Toxicology and carcinogenesis studies of chlorinated water (CAS NOS 7782-50-5 and 7681-52-9) and chloraminated water (CAS No. 10599-90-3) (Deionized and charcoal-filtrered) in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies). U.S. Dept. of Health and Human Services, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC, 1992; NTP TR 392.

OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). *Daphnia* sp. Acute immobilization test and reproduction test. In : OECD Guidelines for testing of chemicals, 211. OECD, Paris; 1984.

Perrodin Y. Proposition méthodologique pour l'évaluation de l'écotoxicité des effluents aqueux : Mise au point d'un Multi-Test Macroinvertébrés (M.T.M.) – Application aux lixiviats de décharges et à leurs composants caractéristiques. Thèse de doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon; 1988.

Richardson M. L., Bowron J. M. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.* 37:1-12; 1985

Salinoja-Salonen M.S., Jokela J.K. Measurement of organic halogen compounds in urine as an indicator of exposure. *Scand J Workplace Environ Health*, 17 :75-78; 1991.

Schowaneck D., Fox K., Holt M., Schroeder F., Koch V. GREAT-ER: a new tool for management and risk assessment of chemicals in river basin. *Water Sci. Technol.* 43:179-185, 2001.

Seiler H.G., Sigel H., Sigel A. Handbook on toxicity of inorganic compounds. Marcel Dekker, Inc., New York, 1988.

Chapitre VI Etude spécifique sur le devenir de deux désinfectants largement utilisés dans les hôpitaux : l'hypochlorite de sodium et le glutaraldehyde

Schulz S., Hahn H.H. Der kanal als reactor-undersuchugen zur AOX-Bildung durch wirkstoffe in reinigungsmitteln. *gwf Wasser Abwasser*, 138:109-120; 1997.

Seiss M., Gahr A., Niessner R. Improved AOX degradation in UV oxidative wastewater treatment by dialysis with nanofiltration membrabe. *Wat. Res.*, 13:3242-3248; 2001.

Sponza D.T. Application of toxicity tests into discharges of the pulp-paper industry in Turkey. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54:74-86; 2003.

Sprehe M., Geißen S.-U., Vogelpohl A. Traitement of AOX-containing wastewater from hospitals – Degradation of iodized X-ray contrast medium. *Korrespondenz Abwasser*, 46, 4:548-558; 1999.

Sprehe M., Geißen S.-U., Vogelpohl A. Photochemical oxidation of iodized X-ray contrast media (XRC) in hospital wastewater. *Water Science and Technology*, 5:317-323; 2001.

Stokinger H.E. The halogens and the nonmetals boron and silicon. In: Clayton G.D., Clayton F.E., Eds. *Patty's industrial hygiene and toxicology*, 3rd ed., Vol 2B., John Wiley & Sons, New York; 1981.

U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) Drinking water criteria document for chlorine, hypochlorous acid and hypochlorite ion. Environmental Criteria and Assessment Office, U.S. EPA, Cincinnati, OH; 1989a.

U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) Chemical summary for chlorine. Office of pollution prevention and toxics, U.S. EPA, Cincinnati, OH; 1994a. EPA 749-F-94-010a.

U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) Reportable quantity document for chlorine, draft. Environmental Criteria and Assessment Office, U.S. EPA, Cincinnati, OH; 1994b.

U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) Preliminary data summary for the hospitals point source category. Office of water regulations and standards, Office of water, U.S. EPA, Washington, D.C., 1989b. EPA 440/1-89/060-n.

Verschueren K. Handbook of environmental data on organic chemicals. Third ed., Van Nostrand Reinhold Company Inc., New York, 1996.

Von Gunten U., Hoigné J. Bromate formation through ozone and hydroxyl radicals. In: Minear R.A., Amy G.L. (Eds.) *Desinfection by-products in water treatment*. Lewis Publisher, Boca Raton, 1995.

Von Gunten U., Oliveras Y. Advanced oxidation of bromide containing waters: bromate formation mechanism. *Environ. Sci. Technol.* 332:63-70, 1998.

White G.C. Handbook of chlorination. 2nd edition, Van Nostrand Reinhold Company Inc., New York; 1986.

III. Fate of Glutaraldehyde in presence of Surfactants in Hospital Wastewater on the Environment

(Cet article est en rédaction)

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une réflexion commune sur la toxicité et l'écotoxicité des effluents hospitaliers entamée conjointement par le LAEPSI de l'INSA de Lyon, le L.S.E. de l'Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat et l'Unité d'Ecotoxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. L'objectif a été l'élaboration d'une méthodologie permettant une meilleure compréhension des effets des polluants hospitaliers sur la santé humaine et sur celle des écosystèmes.

Une étude bibliographique sur les effluents hospitaliers nous a permis de synthétiser les informations sur les caractéristiques biologiques, physico-chimiques et écotoxicologiques des rejets liquides provenant des établissements de santé. Les informations rapportées dans la littérature sur le devenir des polluants hospitaliers dans l'environnement nous a conduit à formuler l'hypothèse de risques pour la santé humaine et pour les écosystèmes aquatiques. Ainsi, il a été décidé de réaliser de manière synthétique une revue bibliographique des méthodes d'évaluation des risques sanitaires et environnementaux.

A l'issue de l'étude bibliographique sur les effluents hospitaliers et sur les méthodes générales d'évaluation des risques sanitaires et écologiques, une démarche globale spécifique a été élaborée pour la mise en œuvre des évaluations de risques sanitaires et écotoxicologiques spécifiques des effluents hospitaliers. Ces méthodologies sont inspirées (pour leur cadre général) du schéma général de l'évaluation des risques sanitaires de l'Académie des Sciences des Etats-Unis (NRC, 1983), et de la méthode générale de l'évaluation des risques écologiques de l'EPA (EPA, 1998).

Un premier scénario décrivant un mode d'élimination des rejets liquides couramment observé dans les pays en développement, a été appliqué sur les effluents d'un hôpital d'urgence, d'une capacité de 63 lits, de la Ville de Port-au-Prince en Haïti. Ce scénario a été élaboré pour évaluer le risque pour la santé humaine généré par le rejet des effluents dans une formation karstique, via une fosse septique et un puits d'infiltration, et où les eaux souterraines sont exploitées pour la consommation humaine.

La démarche générale de l'évaluation du risque sanitaire s'articule en quatre étapes: l'identification du danger, l'étude de la relation dose-réponse, l'estimation de l'exposition, la caractérisation des risques. Dans le cadre de cette thèse, une étape supplémentaire a été ajoutée à ces études de base. Elle est dite « d'évaluation du danger », vise à éviter de poursuivre l'étude si aucun danger n'est avéré suite à l'analyse des traceurs.

Le risque infectieux calculé pour les coliformes fécaux a donné un résultat de 10^{-5} infection par an. Dans un pays tropical, où la température contribue favorablement au développement

et à la croissance des germes pathogènes, 10^{-5} infection par an et par personne indique une très forte contamination des eaux souterraines par des eaux usées et le très haut niveau de risque bactériologique dont est exposé la population cible et de manière plus large la population de la RMPP. La population de la zone d'étude est exposé à un risque chimique, résultant des teneurs en métaux lourds et en solvants chlorés très élevées.

Un deuxième scénario décrivant un mode d'élimination des rejets liquides couramment observé dans les pays industrialisés. Il a été utilisé pour évaluer les écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Ce scénario a été appliqué sur les effluents d'un service de maladies tropicales et infectieuses d'un hôpital se trouvant dans une grande ville du Sud-est de la France.

les effluents hospitaliers étudiés sont traités à la STEP de la ville considérée, laquelle assure une dilution de la concentration des polluants mesurés dans les effluents d'au moins de 600 fois. Ainsi, les effluents étudiés n'auront donc pas d'effet significatif sur l'efficacité globale de la STEP.

Une dilution de 6×10^5 des effluents hospitaliers à leur arrivée dans le cours d'eau a été démontrée. Sur cette base, les résultats des différents bio essais réalisés sur les effluents montrent que les dilutions dans le milieu naturel sont largement suffisantes pour le protéger des effets écotoxiques étudiés.

Au delà des informations retenues sur les effluents hospitaliers et les risques générés tant pour la santé humaine que pour les écosystèmes, ce travail constitue une des premières contributions à l'évaluation du risque global lié à l'exposition simultanée aux différents polluants présents dans les effluents hospitaliers. Cette démarche novatrice devra désormais être poursuivie par des applications sur d'autres hôpitaux, tant sur le plan national qu'international. Toutefois, il va falloir tenir des limitations observées.

Dans les méthodes d'évaluation de risques la phase de caractérisation des risques est toujours associée à une caractérisation des incertitudes. Bien qu'une étude bibliographique ait été faite sur le concept de l'incertitude, mais il n'a pas été traité de manière quantitative dans les applications. Il serait alors judicieux, d'orienter entre autres la réflexion sur une caractérisation des incertitudes liées aux risques calculés dans cette étude.

Dans le contexte du scénario étudié pour les risques sanitaires, il semble important de doser le glutaraldéhyde et les solvants chlorés afin de mieux étudier leurs effets sur la santé humaine par la voie orale. La détermination d'autres indicateurs biologiques de pollution fécale des eaux notamment les *Cryptosporidium* spp., les entérocoques fécaux et les entérovirus, couplés à des études épidémiologiques restent un important objet d'études pour la RMPP.

Les travaux réalisés sur les effluents de l'hôpital de Port-au-Prince, ont été faits dans le cadre d'une coopération scientifique pour le développement. La fin de cette thèse ne serait être la fin de cet esprit de coopération. Il semble alors important, toujours dans le cadre des travaux sur les ressources en eau souterraine, d'étendre la réflexion sur une étude plus importante portant sur la vulnérabilité des aquifères de la Plaine de Cul-de-sac. Cette réflexion pourrait avoir entre autres un volet d'étude spécifique sur chacun des 4 niveaux d'aquifère rapportées dans la littérature.

Cette étude a permis de montrer qu'il est possible d'évaluer sommairement des risques écotoxicologiques liés au rejet des effluents hospitaliers à l'aide de bio essais normalisés, de paramètres physico-chimiques globaux et de l'analyse de quelques polluants ciblés. Le scénario présenté conduit à une évaluation semi quantitative des risques écotoxicologiques pour la STEP et le cours d'eau cible concernés. L'évaluation devra maintenant être améliorée sur certains aspects, et nécessitera en particulier une meilleure connaissance du devenir des polluants dans les réseaux d'assainissement urbains et les STEP. Cette amélioration des connaissances concernera notamment l'étude des interactions chimiques et écotoxicologiques entre les médicaments, les désinfectants, et les surfactants. Il conviendra pour ce faire de caractériser le risque écotoxicologique des effluents hospitaliers par des études expérimentales et fondamentales sur le devenir des désinfectants, des médicaments et des surfactants présents dans les effluents hospitaliers, tout en ayant soin d'inclure, sur le plan écotoxicologique, les transferts trophiques.

Références bibliographiques

- ACADEMIE DES SCIENCES** Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion. Rapport no. 42, Lavoisier Tec&Doc, Paris, **1998**, 440 p.
- AHA** Hospital Statistics. American Hospital Association, Chicago, **1986**, 250 p.
- AHERNE G.W., BRIGGS R.** The relevance of the presence of certain synthetic steroids in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.*, **1989**, 41:735-736.
- AHERNE G.W., ENGLISH J., MARKS V.** The role of immunoassay in the analysis of microcontaminants in river samples. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **1985**, vol 9, 1:79-83.
- ALLOWAY B.J.** Heavy metals in soils. Second edition. Blackie Academic and Professional, London, **1995**, 368 p.
- ANDERSSON S.L., WILD G.C.** Linking genotox responses and reproductive success in ecotoxicology. *Environ. Health Perspect.*, **1994**, 102:9-12.
- ASSELAH T., TOUZE I., BORUCHOWICZ A., COLLET R., MAUNOURY V., COLOMBEL J.F.** Colites aiguës hémorragiques au glutaraldéhyde après coloscopie. *Gastroenterol*, **1996**,20:213-214.
- ASHE** Revised hospital waste management. American Society for Hospital Engineering, Technical documents series number 055864, New York, **1985**, 80 p.
- BABUT M., PERRODIN Y.** Evaluation écotoxicologique de sédiments contaminés ou de matériaux de dragage – (I) Présentation & Justification de la démarche. Cemagref – ENTPE, Lyon, **2001**, 59 p.
- BARBAULT R** Ecologie générale. Structure et fonctionnement de la biosphère. Masson, Paris, **1993**, 273 p.
- BARD D., SICLET F.** Amibe libres et santé publique. Editions ENSP, Rennes, **1995**, ISBN 2 85952 751 6
- BARKAY T., KROER N, RASMUSSEN L.D., SORENSEN S.** Conjugal gene transfer at natural population densities in a microcosmos simulating an estuarine environment. *FEMS Microbiol Ecology*, **1995**, 16:43-54.
- BASCIETTO J., HINCKLEY D., PLAKIN J., SLIMAK M.** Ecotoxicity and ecological risk assessment. Regulatory application at EPA. First part of a four-part series. *Environ. Sci. Technol.*, **1990**, 24:10-15.
- BAUCHANAN R.L., SMITH J.L., LONG W.** Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. *International Journal of food microbiology*, **2000**, 58:159-172.
- BERNET S., FINES M.** Effluents du CHU de CAEN : Etude qualitative et quantitative de la flore microbienne et recherche de bactéries multirésistantes. *Poster*. Quatrième journée du Réseau Régional d'Hygiène de Basse-Normandie, Caen, **2000**, 1 p.
- BERTRAND X., THOUVEREZ M., BRUAND L., BONNIN M., CELLIER-JULIENNE G., CHANTELAT P., CHAPUT C., FEBVRE C., LOUVRIER E., MERMET F., PENIN B., TRONEL H., TALON D.** *Escherichia coli* : sensibilité aux β -lactamines et diversité génomique des souches isolées en Franche-Comté. *Méd Mal Infect*, **2002**, 32:8-14.
- BJÖRKLUND H., BONDESTAM J., BYLUND G.** Residues of Oxytetracycline in wild fish and sediments from fish farms. *Aquaculture*, **1990**, 8:359-367.

Conclusion

- BLANC A.** Analyse de cycle de vie des filières de traitement des sites industriels pollués. *Thèse*. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, **1999**, 209 p.
- BOCQUENE G., GALGANI F., BURGEOT T., LE DEAN L., TRUQUET P.** Acetylcholinesterase levels in marine organisms along french coasts. *Mar Pollut. Bull.*, 26, **1993**, 2:101-106.
- BONNARD R.** Le risque biologique et la méthode d'évaluation du risque. Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, Paris, **2001**, 70 p., **INERIS** DRC-01-25419-ERSA-RBn-383.
- BONVALLOT N., DOR F.** Valeurs toxicologiques de références. Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice Cédex, **2002**, 84 p.
- BOUCHON-MEUNIER B.** La logique floue. Que sais-je ? Presses Universitaires de France, 3^e édition, Paris, **1999**, 128 p.
- BRASSEUR P., EYMA E., LI X., VERDIER R.I., AGNAMEY P., LIAUTAUD B., DEI CAS E., PAPE J.W., RACCURT C.** Circulation des oocystes de *Cryptosporidium* dans les eaux de surface et de distribution par adduction publique à Port au Prince, Haïti. In: **EMMANUEL E.** et **VERMANDE P.** (ed) *Pré-actes du Colloque International Gestion Intégrée de l'Eau en Haïti*. Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement, Université Quisqueya, Port-au-Prince, **2002**, 150 p.
- BUKHART J.G., GARDER H.S.** Non-mammalian and environmental sentinels in human health: "Back to the future?". *Human Ecol. Risk Assess.*, **1997**, 3:309-328.
- BULICH A.A.** Use of luminescent bacteria for determining toxicity. In.: **ASTM STP 667** Aquatic Toxicity, Philadelphia, **1979**, p. 171-180.
- BURGER J., GOCHFELD M.** Temporal scales in ecological risk assessment. *Arch Environ Contam Toxicol*, **1992**, 23:484-488.
- BURMASTER D.E., ANDERSON P.D.** Principles of good practice for use of Monte Carlo techniques in human health and ecological risk assessment. *Risk Analysis*, **1994**, vol. 14, 4:477-481.
- BURTIN P., RUGUET O., PETIT R., BOYER J.** Glutaraldehyde-induced proctitis after endorectal ultrasound examination: a higher risk of incidence than expected? *Gastrointest Endosc*, **1993**, 39:859-860.
- BURTON G.A.J., NELSON M.K., INGERSOLL C.G.** Freshwater benthic toxicity tests. In.: **BURTON G.A.J.** (eds) *Sediment toxicity assessment*, Lewis, Chelsea, MI, **1992**, p. 213-240.
- BURTON G.A.J., MCPHERSON C.** Sediment toxicity testing issues and methods. In.: **HOFFMAN D.J., RATTNER B.A., BURTON G.A., CAIRNS J.J.** (eds) *Handbook of ecotoxicology*, Lewis, Chelsea, MI, **1992**, p. 755.
- CAILLEAUX V., TALON D., THOUVEREZ M., BAILLY P., MULIN B., MICHEL-BRIAND Y.** *Staphylococcus aureus* méticillino-résistant : importance et transmission croisée dans l'Est de la France. *Méd Mal Infect*, **1996**, 26:475-481.
- CAMEP (CENTRALE AUTONOME METROPOLITAINE D'EAU POTABLE).** Rapport annuel 1995-1996. CAMEP, Port-au-Prince, **1996**, 140 p.
- CHAPMAN P.M.** Environmental quality criteria : what type should be developed ? *Environ Sci Technol*, **1991**, 25:1353-1359.

Conclusion

- CALLEJA M.C., PERSOONE G., GELADI P.** The predictive potential of a battery of ecotoxicological tests for human acute toxicity as evaluated with the first 50 MEIC chemicals. *ATLA – Alternatives to Laboratory Animals*, **1993**, 21:330-349.
- CANIVET V., FRUGET J.-F.** Ecocompatibilité des eaux de percolation de déchets stabilisés. Evaluation écotoxique au laboratoire et étude expérimentale en canaux artificiels extérieurs. *Déchets Sciences et Techniques, revue francophone d'écologie industrielle*, **2002**, 28:8-14.
- CASSON L.W., RITTER M.O.D., COSENTINO L.M., GUPTA P.** Survival and recovery of seeded HIV in water and wastewater. *Water Environment Research*, **1997**, Vol. 69, 2:130-142.
- CARRE J.C.** Étude de l'impact des peintures laques et vernis sur l'environnement et la santé. Ministère de l'Environnement, OPS/OMS (Organisation Panaméricaine de la Santé/Organisation Mondiale de la Santé), Port-au-Prince, **1997**, 50 p.
- CAREY J., COOK P., GIESY J., HODSON P., MUIR D., OWENS W., SOLOMON K., (ed)** Ecotoxicological risk assessment of the chlorinated organic chemical. SETAC Pellston Workshop on Environmental Risk Assessment for Organochlorine Compounds; 1994 Jul 24-29; Aliston, Ontario, Canada. Published by the Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Pensacola-Florida, **1998**, 397 p.
- CHABBERT Y.A., BAUDENS J.G.** Souches de staphylocoques résistantes naturellement à la méthyl-3-phényl-4-isoxazolyl pénicilline (P12). *Ann Inst Pasteur (Paris)*, **1962**, 103:222-230
- CHOU C.H.S., HOLLER J., DE ROSA C.T.** Minimal risk level (MRLs) for hazardous substances. *Journal of Clean Technology, Environmental Toxicology and Occupational Medicine*, **1998**, vol. 7, 1:1-24.
- CLIN PARIS-NORD** Élimination des effluents liquides des établissements hospitaliers – Recommandations. Institut Biomédical des Cordeliers, Paris, **1999**, 74 p. Available on : http://web.ccr.jussieu.fr/guide_effluents_liquides.pdf, 20/09/2001.
- COATS J.R., METCALF R.L., LU P.Y., BROWN D.D., WILLIAMS J.F., HANSEN L.G.** Model ecosystem evaluation of the environmental impacts of the veterinary drugs Phenothiazine, Sulfametazine, Clopidol and Diethylstilbestrol. *Envir. Health Perspect.*, **1976**, 18:167-179.
- COMMISSION ON RISK ASSESSMENT AND RISK MANAGEMENT** Framework for environmental health risk management. Final Report. Volume 1. Washington, DC, **1997**.
- COVELLO V.T., MERKHOFFER M.W.** Risk Assessment Methods. Plenum Press, New York, **1993**, 318 p.
- COYNE R., HINEY M., O'CONNOR B., CAZABON D., SMITH P.** Concentration and persistence of oxytetracycline in sediments under a marine salmon farm. *Aquaculture*, **1994**, 123:31-42.
- CSTEE** Opinion on "Draft discussion paper on environmental risk assessment of non-genetically modified organism non-gmp; containing medicinal products for human use". European Commission, Directorate General, Brussels, **2001**.
- CULLINAN P., HAYES J., CANNON J., MADAN I., HEAP I., NEWMAN-TAYLOR A.** Occupational asthma in radiographers. *Lancet*, **1992**, 340:1477.
- CYR P.J., ROMINDER P.S., HELMIG E.D.** A pilot scale evaluation of removal of mercury from pharmaceutical wastewater using granular activated carbon. *Water Research*, **2002**, 36:4725-4734.

- DAUGHTON C.G., POIGER T., MULLER M.D.** Occurrence and environmental behaviour of the pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environ. Sci. Technol.*, **1999**, 33:2529-2535.
- DAVISON J.** Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*, **1999**, 42:73-91.
- DECAPRIO A.P.** Biomarkers: coming of age for environmental health and risk assessment. *Environ. Sci. Technol.*, **1997**, 31:1837-1848.
- DE FLORA S. AND WETTERHAHN K.E.** Mechanisms of chromium metabolism and genotoxicity. *Life Chemistry Reports*, **1989**, 7:169-244.
- DELOFFRE-BONNAMOUR N.** Les rejets des établissements de santé : des effluents liquides aux déchets solides. Mémoire de Maîtrise, Université Claude Bernard-Lyon1, Institut Universitaire Professionnalisé, Génie de l'Environnement-Ecodéveloppement, Lyon, **1995**, 75 p.
- DE ROSA C.T., POHL H.R., HANSEN H., LEONARD R.C., HOLLER J., JONES D.** Reducing uncertainty in the derivation and application of health guidance values in public health practice, dioxin as a case study. *Annals New York Academy of sciences*, New York **1999**.
- DEVAUX A., PESONEN M., MONOD G.** Alkaline Comet assay in rainbow trout hepatocytes. *Toxicol. In vitro.*, **1997**, 11:71-79.
- DREMONT C., HADJALI R.** La gestion des effluents liquides hospitaliers. Projet DESS « TBH », UTC, **1997**, 30 p. Available on : www.utc.fr/~farges/DESS_TBH/96-97/EL/EL.htm, 20/10/2000.
- DIAZ-CRUZ M.S., LOPEZ DE ALDA M.J., BARCELO D.** Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trends in Analytical Chemistry*, 22, **2003**, 6:340-351.
- DILLON T.M., GIBSON A.B.** Review and synthesis of bioassessment methodologies for freshwater contaminated sediments. Final report. Department of the Army, Vicksburg, Mississippi, **1990**, p.
- DUJET C.** Contribution à la logique floue : des fondements aux applications. *Habilitation à Diriger des Recherches*. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, **1998**, 132 p.
- DUPONT H., CHAPPELL C., STERLING C., OKHUYSEN P., ROSE J., JAKUBOWSKI W.** Infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *New England Journal of Medicine*, **1995**, 332(13):855-859.
- DUTKA B.J.** Foreword. In. Wells P.G., Lee K., Blaise C. (ed.), CRC Press, Boca Raton, **1998**.
- EATON A.D., CLESCERI L.S., GREENBERG A.E. (eds)** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA, AWWA, WEF, 19th Edition, **1995**, 1325 p.
- EMMANUEL E., KECK G., BLANCHARD J-M., VERMANDE P., PERRODIN Y.** Toxicological effects of sodium hypochlorite disinfections on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. *Environment International*, **2003**, (accepted).
- EMMANUEL E., PERRODIN Y., KECK G., BLANCHARD J-M., VERMANDE P.** Analyse statistique des données obtenues pour quatre paramètres de suivi des effluents hospitaliers : Utilisation des chlorures comme indicateurs de leur écotoxicité aiguë. In: **EMMANUEL E. et VERMANDE P. (ed)** *Pré-actes du Colloque International sur la Gestion Intégrée de l'Eau en Haïti*. Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement, Université Quisqueya, Port-au-Prince, **2002**, 150 p.

Conclusion

EMMANUEL E., BLANCHARD J-M., KECK G., PERRODIN Y. Caractérisation chimique, biologique et écotoxicologique des effluents hospitaliers. *Déchets Sciences et Techniques, revue francophone d'écologie industrielle*, **2001**, 22:31-33.

EMMANUEL E. , AZAËL A. Les eaux usées et le développement économique en Haïti : crises et réponses. Actes de la Conférence Internationale de l'UNESCO 3-6 juin 1998 « *l'eau : une crise imminente*, UNESCO PHI, ed. Zebidi, Technical Documents in Hydrology no. 18, Paris, **1998**, p. 279-285.

ERLANDSSON B., MATSSON S. Medically used radionuclides in sewage sludge. *Water, Air, and Soil Pollution*, **1978**, Vol. 9, 2:199-206.

EUROPEAN COMMISSION Technical guidance document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) n° 1488/94 on risk assessment for existing substances. Brussels, **1995**.

EUROPEAN COMMISSION Assessment of potential risks to the environment posed by medicinal products for human use (excluding products containing live genetically modified): phase 1 environmental risk assessment, III/5504/94 – Draft 7, for new notified substances and Commission Regulation (EC) n° 1488/94 on risk assessment for existing substances. Brussels, **1995**.

FERRARI B. Contribution à l'étude de l'écocompatibilité de mâchefers d'incinération d'ordures ménagères et de scories de seconde fusion du plomb. *Thèse Université de Metz*, **2000**, 151 p.

FINKEL A.M. Confronting uncertainty in risk management. Resources for the Future, Centre for Risk Management, Washington, DC., **1990**.

FLAMMARION P., DEVAUX A., GARRIC J. Marqueurs biochimiques de pollution dans les écosystèmes continentaux. Exemples d'utilisation et perspectives pour le gestionnaire. *Bull. Fr. Pêche Piscic*, **2000**, 357/358:209-226.

FLAMMARION P., MIGEON B., GARRIC J. Joint effects of copper sulphate and methidathion on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) EROD and AChE activities. *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, **56**, **1996**, 3:440-445.

FOSTIS T. The multicomponent analysis of estrogens in urine by ion exchange chromatography and GS-MS-II. Fractionation and quantification of the main groups of estrogens conjugates. *J. Ster. Biochem.*, **1987**, 28 :215-226.

FOUSSEREAU J. L'eczéma allergique au glutaraldéhyde. *Doc Médecin Travail*, **1985**, 23:13-14.

FORBES V.E., et FORBES T.L. Ecotoxicology in theory and practice. Chapman et Hall, New York, **1994**, 220 p.

FURUMOTO W.A., MICKEY R. A mathematical model for the infectivity-dilution curve of tobacco mosaic virus: Experimental tests. *Virology*, 1967a, 32:224.

FURUMOTO W.A., MICKEY R. A mathematical model for the infectivity-dilution curve of tobacco mosaic virus: Theoretical considerations. *Virology*, 1967b, 32:216.

GADELLE F. Le monde manquera-t-il bientôt d'eau? *Sécheresse*, **1995**, vol. 6, 1:11-15.

GALE P. Development in microbiological risk assessment for BSE in the aquatic environment. *Journal of applied microbiology*, **1998**, 84:467-477.

Conclusion

- GALGANI F., BOCQUENE G.** Biomarqueurs moléculaires d'exposition des organismes marins aux pesticides organophosphoré et carbamates. In. **LAGADIC L., CAQUET T., AMIARD J.C., RAMADE F.** (ed.) *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement*. Tec et Doc Lavoisier, Paris, **1998**, p. 111-134.
- GARRISSON A.W., POPE J. D., ALLEN F. R.** : Analysis of organic compounds in domestic wastewater. In. **KEITH C.H.**, ed., *Identification and analysis of organic pollutants in water*. Ann Arbor Science, Ann Arbor, Maine, **1976**, p. 517-566.
- Gartiser St., Brinkler L., Erbe T., Kümmerer K., Willmund R. Contamination of hospital wastewater with hazardous compounds as defined § 7a WHG. *Acta hydrochim. Hydrobio*, 1996, Vol. 24, 2:90-97.
- GILBERTSON T.J., HORNISH R.E., JAGLAN P.S., KOSHY K.T., NAPIER J.L., STAHL G.L., CAZERS A.R., NAPPLIER J.M., KUBICEK M.F., HOFFMAN G.A., HAMLOW P.J.** Environmental fate of ceftiofur sodium, a cephalosporin antibiotic. Role of animal excreta in its decomposition. *J. Agril. Food Chem*, **1990**, 38:890-894.
- GIULIANA F., KOLLER T., WÜRGLER F.E., WIDMER R.M.** Detection of genotoxic activity in native hospital waste water by the UmuC test. *Mutation Research*, **1996**, 368:49-57.
- GOBBEY A.** Evaluation du comportement des déchets : l'approche globale de l'ADEME. In. : **MÉHU J., KECK G., NAVARRO A.** (eds.) *Waste Stabilisation and Environment 99* (13 – 16 avril, Villeurbanne), Sté Alpine de Publications, Grenoble, **1999**, p 97-103.
- GUARDABASSI L., PETERSEN A., OLSEN J.E., DALSGAARD A.** Antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. Isolated from sewers receiving waste effluent from a hospital and a pharmaceutical plant. *Applied and Environmental Microbiology*, **1998**, 9:3499-3502.
- HAAS C.N.** Effect of effluent disinfection on risk of viral disease transmission via recreational exposure. *Journal of the Pollution Control Federation*, **1983a**, 55:1111-1116.
- HAAS, C.N.** Estimation of risk due to low doses of micro-organisms: A comparison of alternative methodologies. *American Journal of Epidemiology*, **1983b**, vol. 118, 4:573-582.
- HAAS C.N.** How to average microbial densities to characterise risk. *Water Research*, 1996, vol. 30, 4:1036-1038.
- HAAS C.N., ROSE J.B., GERBA C., REGLI S.** Risk assessment of virus in drinking water. *Risk Analysis*, 1993, 5:545-552.
- HAAS C.N., CROCKETT C., ROSE J.B., GERBA, C., FAZIL A.** Infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Journal of the American Water Works Association*, **1996**, 9:131-136.
- HASS C.N.** Acceptable microbial risk. *J. Am. Water Works Ass.*, **1996**, Vol. 88, n° 12.
- HAAS C.N., ROSE J.B., GERBA C.P.** *Quantitative Microbial Risk Assessment*. Wiley, New York, **1999**, 449 p.
- HAAS C., EINSENBERG J.N.S.** Risk assessment. In.: **FEWTRELL L., BARTRAM W., BARTRAM J.** (eds) *Water Quality – Guidelines, standards and health: Assesment of Risk Management for water-related infectious disease*. World Health Organization, Gevena, **2001**. Available on.: www.who.int/water_sanitation_health/Documents/IWA/iwabookchap8.htm, 22/06/2003.

Conclusion

- HALLING-SØRENSEN B., NIELSEN N., LANZKY P.F., INGERSLEV F., HOLTEN-LÜTZHØFT, JØRGENSEN S.E.** Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A review. *CHEMOSPHERE*, **1998**, 36:357-393.
- HANSMAN D., GLASGOW., SURT J., DEVITT H.L., DOUGLAS R.** Increased resistance to penicillin of pneumococci isolated from man. *N Engl J Med*, **1971**, 284:175-177.
- HARREMOES P.L., SIEKER F.S.** Influence of stormwater storage tanks on pollutant discharge to receiving water. In : 9 EWPCA-ISWA Symposium Sewage and refuse, liquid waste section, München, Germany, 11-14 May, **1993**, p. 95-106.
- HARRIES J.E., SHEAHAN D., JOBLING S., MATHIESSEN P., NEALL P., SUMPTER J.P., TYLOR T., ZAMAN N.** Oestrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout. *Environ. Toxicol. Chem.*, **1997**, 16:534-542.
- HARTEMANN P.** Les risques microbiologiques. In : **SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE SANTÉ PUBLIQUE Actes du colloque Science et décision en santé environnementale. Les enjeux de l'évaluation et de la gestion des risques, 9-11 décembre 1996, Metz.** Vandoeuvre-lès-Nancy, **1997**, p 114-121.
- HARTMAN B.J., TOMASZ A.** Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, **1986**, 29:85-92.
- HEBERER T., STAN H. J.** Vorkommen von polaren organischen Kontamination im Berliner Trinkwasser. *Vom Wasser*, **1996**, 86:220-225.
- HEKTOEN H., BERGE J.A., HORMAZABAL V., YNDESTAD M.** Persistence of antibacterial agents in marine sediments. *Aquaculture*, **1995**, 133:175-184.
- HESTER R.E., HARRISON R.M.** Risk assessment & risk management – Issues in environmental Science & Technology. The Royal Society of Chemistry, London, **1998**.
- HIGNITE C., AZARNOFF D. L.** Drugs and drugs metabolites as environmental contaminants : chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sci.*, **1977**, 20:337-342.
- HIRSCH R., TERNES T. A., HABERER K., KRATZ K-L.** Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *The Science of the Total Environment*, **1999**, Vol. 22, 5:109-118.
- HOEVERSTADT T., CARLSTEDT-DUKEU B., LINGAAS E.** Influence of oral intake of seven different antibiotics on faecal short-chain fatty acid excretion in healthy subjects. *Scand. J. Gastroenterol*, **1986**, 21:997-1003.
- IARC (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER)** Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Overall evaluations of carcinogenicity : an updating of IARC monographs. World Health Organization, Volume 1 to 42, supplement 7, Genève, **1987**. ISBN 92-832-14-110.
- INERIS (INSTITUT NATIONAL DE L'ENVIRONNEMENT INDUSTRIEL ET DES RISQUES) ET IVS (INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE)** Evaluation du risque sanitaire résiduel pour les populations fréquentant les plages polluées par le fioul rejeté par l'ERIKA, après dépollution. Paris, **2002**, 61 p.
- INRS (INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE ET DE SECURITE).** Dichlorométhane. INRS, Edition **1987**, Fiche toxicologique, (34).
- INRS (INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE ET DE SECURITE).** Chromates et dichromates de sodium et de potassium. INRS, Edition **1987**, Fiche toxicologique, (180).

- INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE).** Plomb dans l'environnement. Quels risques pour la santé? Collection Expertise Collective, Paris, **1999**.
- IPCS** Integrated risk assessment. WHO/IPCS/IRA/01/12, **2001**. Available on: www.who.int/pcs/emerg_site/integr_ra/ira_report.htm , 13/11/2002.
- IVS (INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE)** Guide pour l'analyse du volet sanitaire des études d'impact. Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice Cédex, **2000**, 49 p., ISBN 2-11-09 14 82-3.
- JACOBSEN P., BERGLIND L.** Persistence of Oxytetracycline in sediments from fish farms. *Aquaculture*, **1988**, 70:365-370.
- JEHANNIN P.** Caractérisation et gestion des rejets liquides hospitaliers – Etude particulière de la situation du Centre Hospitalier de Hyères (Var). Mémoire de fin d'études, Ecole Nationale de la Santé Publique, Rennes, **1999**, 71 p.
- JEHL F., BEDOS J-P., POIRIER R., LEOPHONTE P., SIROT J., CHARDON H., et le GROUPE D'ETUDE PNEUMONIES DES OBSERVATOIRES REGIONAUX DU PNEUMOCOQUE** Enquête nationale sur les pneumonies communautaires à pneumocoque chez des malades adultes hospitalisés. *Méd Mal Infect*, **2002**, 32:267-283.
- JOBLING S., NOLAN M., TYLER C.R., BRIGHTY G., SUMPTER J.P.** Inhibition of testicular growth in rainbow trout exposed to oestrogenic alkylphenol chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.*, **1996**, 15:194-202.
- JOHNSON R.W., BLATCHLEY III E.R., MASON D.R.** HIV in the bloodborne pathogen regulation : implications for the wastewater industry. *Water Environment Research*, **1994**, Vol. 66, 5:684-691.
- JOKELA J.K., ELOMA E., SALINOJA-SALONEN M.S.** Adsorbable organic halogens (AOX) in drinking water and aquatic environment in Finland . *J Water Supply Res. Technol, Aqua*, **1992**, 41:4-11.
- JOLIBOIS B., GUERBER M., VASSAL S.** Glutaraldehyde in hospital wastewater. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **2002**, 42:137-144.
- JONES O.A.H, VOULVOULIS N., LESTER J.N.** Aquatic environmental assessment of the top 25 english prescription pharmaceuticals. *Water Research*, **2002**, 36:5013-5022.
- KECK G., VERNUS E.** Déchets et risques pour la santé . *Techniques de l'Ingénieur, traité Environnement G 2450*, **2000**, 17 p.
- KERRY J., HINEY M., COYNE R., NIGGABHAINN S., GILROY D., CAZABON D., SMITH P.** Fish feed as a source of oxytetracycline-resistant bacteria in the sediment under fish farm. *Aquaculture*, **1995**, 131:101-113.
- KISLAK J.W., RAZAVI L.M.B., DALY A.K., FINLAND M.** Susceptibility of pneumococci to nine antibiotics. *Am J Med Sci*, **1965**, 250:262-268.
- KRAMER K.J.M., BOTTERWEG J.** Aquatic biological early warning systems : an overview. In. **JEFFREY D.W., MADDEN B. (ed.)** *Bioindicators and environmental management*. Academic Press, London, **1991**, p. 95-126.
- KÜMMERER K., MEYER M., STEGER-HARTMANN T.** Biodegradability of the anti-tumour agent Ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage. *Wat. Res.*, **1997**, Vol. 31, 11:2705-2710.

- KÜMMERER K., GARTISER ST., ERBE T., BRINKER L.** AOX-emissions from hospital into municipal wastewater. *Chemosphere*, **1998**, 36:2437-2445.
- KÜMMERER K.** Drugs in the environment : emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review. *Chemosphere*, **2001**, 45:957-969
- LABER J., RAIMUND H., SHRESTHA R.** Two-stage constructed wetland for treating hospital wastewater in Nepal. *Wat. Sci. Tech.*, **1999**, Vol. 40, 3:317-324.
- LASCOMBE C.** Les variables biologiques au service de la gestion des ecosystems aquatiques. In: **CEMAGREF (Eds)** Séminaire national « Les variables biologiques : des indicateurs de l'état de santé des écosystèmes aquatiques » Ministère de l'environnement, 2-3 Novembre 1994, Paris, **1997**, p. 27-37.
- LEDINGHEN V, GOUYON J.M., MANNANT P.R., BARRIOZ T., BONNEAU-HERVE F., BABIN P., BEAUCHAMP M.** Rectite après coloscopie: attention au rinçage du Coloscope. *Gastroenterol Clin Biol*, **1996**, 20:215.
- LHERISSON G.** Les caractéristiques générales de l'agglomération de Port-au-Prince métropolitain. In: **HOLLY G. (ED.)** Les problèmes environnementaux de la région métropolitaine de Port-au-Prince. Commission pour la commémoration du 250e anniversaire de la fondation de la ville de Port-au-Prince, Port-au-Prince, **1999**, pp 17-26.
- LEPELLETIER D., CAROFF N., REYNAUD A., RICHEL H.** *Escherichia coli*: epidemiology and analysis and analysis of risk factors for infections caused by resistant strains. *Clin Infect Dis*, **1999**, 29:548-552.
- LEPRAT P.** Les rejets liquides hospitaliers, quels agents et quelles solutions techniques? Les Assises Nationales QUALIBIO 1998 « Santé et Environnement Hospitalier », Caen, **1998**, p. 10-13.
- LEVEQUE C.** Etat de santé des écosystèmes aquatiques : l'intérêt des variables biologiques. In: **CEMAGREF (Eds)** Séminaire national « Les variables biologiques : des indicateurs de l'état de santé des écosystèmes aquatiques » Ministère de l'environnement, 2-3 Novembre 1994, Paris, **1997**, p. 13-26.
- LEWIS R.** Metals. In: Ladou J. (Ed.) *Occupational and environmental medicine*. McGrawHill, New York, **1997**, pp. 405-439.
- LILIUS H., HÄSTBACKA T., ISOMAA B.** A comparison of the toxicity of 30 reference chemicals to *Daphnia magna* and *Daphnia pulex*. *Envir Toxicol. Chem.*, **1995**, 14:2085-2088.
- LIPTON J., GALBRAITH H., BURGER J., WARTENBERG D.** A paradigm for ecological risk assessment. *Environ Manage*, **1993**, 17:1-5.
- LUBCHENCO J.** Entering the century of the environment: A new social contract for science. *Science*, **1998**, 279:491-495.
- LUE-HING C., ZMUDA J.T., SEDITA S.J., TATA P.** Indigenous levels of HIV in wastewater : an empirical estimate and discussion. In: **WEF : HIV in wastewater, presence, survivability, and risk to wastewater treatment plant workers**. Water Environment Federation, Alexandria, Virginia, **1999**, 80 p.
- LJUNGSTROM J., CASTOR B.** Immune response to *Giardia lamblia* in a waterborne outbreak of giardiasis in Sweden. *J. Med. Microbiol.*, **1992**, vol. 36, 5:347-352.
- MACLER, B.A. AND REGLI, S.** Use of microbial risk assessment in setting United States drinking water standards. *International Journal of Food Microbiology*, **1993**, vol. 18, 4:245-256.

Conclusion

- MANSOTTE F., JESTIN E.** Les rejets liquides des établissements de santé : Caractérisation à la source et impact sur l'environnement marin côtier. Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales de la Seine Maritime, Agence de l'Eau de la Seine Normandie, Nanterre, **2000**, 73 p.
- MASFARAUD J.F., DEVAUX A., PFOHL-LESZKOWICZ A., MALAVEILLE C., MONOD G.** DNA adduct formation and 7-ethoxyresorufin *O*-deethylase induction in primary culture of rainbow trout hepatocytes exposed to benzo(a)pyrene. *Toxicol. in vitro*, **1992**, 6:523-531.
- MAYER F.L., VERSTEEG D.J., MAC KEE M.J., FOLMAR L.C., GRANEY R.L., MAC CUME D.C., RATTNER B.A.** Physiological and nonspecific biomarkers. In: **HUGGETT R.J., KIMERLE R.A., MEHRLE P.M., BERGMAN H.L. (ed.)** *Biomarkers of environmental contamination*. Lewis Publishers, Chelsea, **1992**, p. 5-86.
- MAYEUX V., PERRODIN Y.** Ecocompatibilité des déchets : vers une prise en compte de la notion d'impact pour l'élimination et la valorisation des déchets. *Déchets, Sciences et Techniques*, **1996**, 3:1-3.
- Mc CARTHY J.F.** Concluding remarks: implementation of a biomarker-based monitoring program. In: **Mc CARTHY J.F., SHUGART L.R. (ed.)** *Biomarkers of environmental contamination*. Lewis Publishers, Boca Raton, 1990, p. 429-439.
- McJUNKIN F.E.** Water and human health. U.S. Agency for International Development, Washington D.C., **1982**, 147 p.
- METCALF & EDDY** Wastewater Engineering. 3rd ed., McGraw-Hill, New York, **1991**, 1334 p.
- MINISTERE DE LA SANTE** Le point sur les infections nosocomiales. Paris, **2002**. Available on: <http://www.sante.gov.fr/hm/pointsur/nosoco/nosoco.html>, 15/11/2002.
- MONTAGUE P.** : Drug in the water. Rachel's. Environment & Health Weekly # 614. Environmental Research Foundation, **1998**. Available on: <http://www.monitor.net/rachel/r614.html>, 05/04/2001.
- MORGAN K.Z.** Permissible quarterly intakes of radionuclides. In.: **LIDE D.E. (ed.)** *Handbook of chemistry and physics*. 73rd Edition 1992-1993, CRC Press, Boca Raton, **1992**, p. 16-25-16-31, ISBN 0-8493-0566-7
- MUELA A., POCINO I., ARANA J., JUSTO J., IRIBERRI J., BARCINA J.** Effects of growth phase and parental cell survival in river water on plasmid transfer between Escherichia coli strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, **1994**, 60:4273-4278.
- MUMTAZ M.M.** Risk assessment of chemical mixtures from a public health perspective. *Toxicology Letters*, **1995**, 82/83:527-532.
- NARBONNE J.F.** Historique - fondements biologiques de l'utilisation de biomarqueurs en écotoxicologie. In: **LAGADIC L., CAQUET T., AMIARD J.C., RAMADE F. (ed.)** *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement*. Tec et Doc Lavoisier, Paris, **1998**, p. 1-7.
- NATARO J.P. AND KAPER J.B.** Diarrheagenic Escherichia coli. *Clin. Microbiol. Rev.*, **1998**, 11:142-201.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL** Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. National Academy Press, Washington DC, **1983**, 191 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL** Animals as Sentinels of Environmental Health Hazards. National Academy Press, Washington DC, **1991**, 176 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL Science and Judgement in Risk Assessment. National Academy Press, Washington DC, **1994**, 649 p.

NAVARRO A., BLANCHARD J.-M., BOUSTER C., GOURDON R., MANFE C., MARAVAL S., MATHURIN D., MEHU J., MURAT M., NAQUIN P., PERRODIN Y., REVIN P., ROUSSEAU P., VERON J. Gestion des déchets. *Techniques de l'Ingénieur, traités Généralités et Construction*, **1994**, A8660 à C4260, 32 p .

NEHI (NATIONAL ENVIRONMENTAL POLICY INSTITUTE). Assessing the bioavailability of metals in soil for use in human health risk assessments. Bioavailability Policy Project Phase II: Metals Task Force Report. **NEHI**, Washington, DC., **2000**.

NICNAS (National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme). Priority existing chemical n° 3 : glutaraldehyde, full public report. **NICNAS**, Australian Government Publishing service, Camberra, **1994**.

NORSETH T. The carcinogenicity of chromium. *Environmental Health Perspectives*, **1981**, 40:121-130.

NORTON S.B., RODIER D.J., GENTILE J.H., VAN DER SCHALIE W.H., WOOD W.P., SLIMAK M.W. A framework for ecological risk assessment at the EPA. *Environ Health Perspect*, **1992**, 99:351-368.

NOUGIER J.-P. Méthodes de calcul numérique. Volume 2 : fonctions équations aux dérivées. **HERMES Science Europe Ltd**, Paris, **2001**, p.

O'CONNOR D.R. Report of the Walkerton Inquiry: The events of May 2000 and related issues. Part 1: A summary. Ontario Ministry of the Attorney General. Queen's Printer, Ontario, **2002**.

OMS (ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE) Directives de qualité de l'eau de boisson, 2è ed., Vol. 1 : Recommandations, **OMS**, Genève, **1994**, p. 8-30

OBSERVATOIRE NATIONAL DE L'ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA RESISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES (ONERBA). Les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) vus de l'hôpital en 1997. Rapport technique de synthèse pour l'année 1997, Résultats, **1998**, p. 26-34.

OPS/OMS (ORGANISATION PANAMÉRICAINNE DE LA SANTÉ/ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ) Synthèse des taux de couverture des besoins en approvisionnement en eau potable et assainissement au 31 décembre 2000. Rapport WASAM 2000, OPS/OMS, Port-au-Prince, **2001**, 80 p.

OTABBONG E. Chemistry of Cr in some swedish soils. Native P transformation and changes in pH and cation exchange capacity in two soils incubated with potassium chromate. *Soil Sci. Plant Anal.*, 1990, 9 &10:687-703.

PANLILIO A.L., CULVER D.H., GAYNES R.P., BANERJEE S., HENDERSON T.S., TOLSON J.S., MARTONE W.J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hops. Epidemiol*, **1992**, 13:582-586.

PAPE J.W., LEVINE E., BEAULIEU M.E., MARSHALL F., VERDIER R., JOHNSON W.D. Cryptosporidiosis in Haitian children. *Am J Trop Med Hyg*, **1997**, 36:333-337.

PATRIARCA M., MENDITTO A., ROSSI B., LYON T., FELL G. Environmental exposure to metals of newborns, infants, and young children. *Microchem. J.*, 2000, 67:351-361.

Conclusion

- PAYNE J.F., MATHIEU A., MELVIN W., FANCEY L.L.** Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future ? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Mar Pollut. Bull.*, 32, **1996**, 2:225-231.
- PERRODIN Y.** Proposition méthodologique pour l'évaluation de l'écotoxicité des effluents aqueux : Mise au point d'un Multi-Test Macroinvertébrés (M.T.M.) – Application aux lixiviats de décharges et à leurs composants caractéristiques. *Thèse*. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, **1988**, 135p.
- PERRODIN Y.** Dossier de synthèse d'Yves PERRODIN. *Habilitation à Diriger des Recherches*. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, **2000**, 72 p.
- PERRODIN Y., GOBBEY A., GRELIER-VOLATIER L., CANIVET V., FRUGET J.F., GIBERT J., TEXIER C., CLUZEAU D., GROS R., POLY F., JOCTEUR-MONROZIER L.** Waste ecocompatibility in storage and reuse scenarios: global methodology and detailed presentation of the impact study on the recipient environments. *Waste Management*, **2002**, 22:215-228.
- POULIQUEN H., LE BRIS H., PINAULT L.** Experimental study on the decomposition kinetics of seawater polluted by oxytetracycline contained in effluents released from fish farm located in a salt-march. *Aquaculture*, **1993**, 112:113-123.
- RACCURT C.** La Cryptosporidiose humaine à Port-au-Prince (Haïti) en 2000. *Rev Assoc Méd Haïtienne*, **2002**. Available on www.ht.refer.org, 16/09/2002.
- RALOFF J.** Drugged Waters. *SCIENCE NEWS*, **1998**, Vol. 153, 12:187-189.
- RAMADE F.** Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau – Biochimie et écologie des eaux continentales et littorales. Ediscience international, Paris, **1998**, 800 p.
- RAMADE F.** Dictionnaire encyclopédique des pollutions. Ediscience international, Paris, **2000**, 690 p.
- RAZAFINDRATANDRA Y. et SEVEQUE J.L.** Sites pollués et potentiellement pollués. Identification et contrôle juridique et technique. Collection Environnement. Paris, Victoires Editions, **1998**, 256 p.
- REGLI S., ROSE J.B., HAAS C.N. GERBA C.P.** Modelling risk for pathogens in drinking water. *Journal of the American Water Works Association*, **1991**, vol. 83, 11:76-84.
- REGNIER B.** Contrôle des épidémies de *S. aureus* résistant à la métilicine : analyse critique des stratégies préconisées. *Méd Mal Infect*, **1997**, 27 (spécial) :172-180.
- RETHEB B., MASFARAUD J.K., KEITH G., DEVAUX A., MONOD G.** Biomarqueurs de génotoxicité chez les végétaux et les animaux. In. **LAGADIC L., CAQUET T., AMIARD J.C., RAMADE F. (ed.)**, *Biomarqueurs en Ecotoxicologie – Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, **1997**, p. 287-313.
- RICHARD F. C. AND BOURG A. C. M.** Aqueous geochemistry of chromium : a review. *Water Research*, **1991**, 7:807-816.
- RICHARDSON M. L., BOWRON J. M.** The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.*, **1985**, 37:1-12.
- RICHERT C.** Comparaison de marqueurs biochimiques chez les poissons et d'indicateurs écologiques pour le diagnostic *in situ* de la pollution toxique dans les cours d'eau. *Thèse*. Université Claude Bernard-Lyon 1, **1994**, 190 p.

- RIVIÈRE J-L.** Évaluation des risques écologiques : présentation des différentes approches et des outils fondamentaux. Conférence prononcée le 5 novembre 2002 à l'École Nationale des Travaux Publics de l'Etat, Lyon, **2002**, 27 p.
- RIVIÈRE J-L.** Évaluation du risque écologique des sols pollués. Association RE.C.O.R.D., Lavoisier Tec&Doc, Paris, **1998**, 230 p.
- RIO Y., PINA P., JURIN F., ALLOUCH P., DIDION J., CHARDON H. CHICHE D.** Sensibilité *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques, isolés chez des malades de soins intensifs français en 1998. Phénotypes de résistance aux β -lactamines. Étude ESCRIME. *Pathol Biol*, **2002**, 50:12-17
- ROBSON M.** Methodologies for assessing exposures to metals : human host factors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2003**, 50:104-109.
- RODIER J.** La protection des eaux contre la radioactivité. Bulletin de l'Association pharmaceutique française pour l'hydrologie. Paris, **4 mars 1971.**, 40 p.
- RODIER J.** L'analyse de l'eau. DUNOD, Paris, 8^e édition, **1996**. 1384 p.
- RODRICKS J.V.** Risk assessment, the environment, and public health. *Environ Health Prospect*, **1994**,102:258-264.
- ROGERS I. H., BIRTWELL I. K., KRUYNSKI G. M.** Organic extractables in municipal wastewater Vancouver, British Columbia. *Water Poll. Res. J. Can.*, **1986**, 21:187-204.
- ROSE J.B., HAAS C.N., REGLI S.** Risk assessment and the control of waterborne giardiasis. *American Journal of Public Health*, **1991**, 81:709-713.
- ROSEBERRY A.M., BURMASTER D.E.** Log-normal distributions for water intake by children and adults. *Risk Analysis*, **1992**, vol. 12, 1:99-104.
- ROSS S.R.** Marine mammal as sentinels in ecological risk assessment. Approaches to Integrated Risk Meeting. Charlotte, NC, **1998**.
- ROUSSEAUX P.** Evaluation comparative de l'impact environnemental global (ECIEG) du cycle de vie des produits. *Thèse*. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, **1993**, 277 p.
- RURAINSKI R. D., THEISS H. J., ZIMMERMANN W.** Occurrence of natural and synthetic estrogens in drinking water. *GwfWasser Abwasser*, **1977**, 188:287-291.
- SAMUELSEN O.B., TORSVIK V., ERVIK K.** Long-range changes in oxytetracycline concentration and bacterial resistance towards oxytetracycline in a fish farm sediment after medication. *Sci. Tot. Environ.*, **1992**, 114 :25-36.
- SCANVIC-HAMEG A., MAY-MICHELANGELI L., LE TURDU F.** Apport du kit Servitex Staphylocoque MRSA[®] dans le diagnostic rapide des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline. *Méd Mal Infect*, **2002**, 32:107-114.
- SCHWARTZ T., KOHNEN W., JANSEN B., OBST U.** Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 1470:1-11.

Conclusion

- SHEFFIELD S.R., MATTER J.M. RATTNER B.A., GUINEY P.D.** Fish and wildlife species as sentinels of environmental endocrine disruptors. In: R.J. Kendall (ed.) Principles and processes for evaluating endocrine disruptors in wildlife. SETAC Press, Pensacola, FL, **1998**, pp. 369-430.
- SHORE L.S., SHEMESH M., COHEN R.** The role of oestradiol and oestrone in chicken manure silage in hyperoestrogenism in cattle. Aust Vet. J., **1988**, 65:67.
- SHORE L.S., KAPULNIK Y., BEN-DOV B., FRIDMAN Y., WININGER S., SHEMESH M.** Effects of estrone and 17 β estradiol on vegetative growth of *Medicago sativa*. Physiol. Plant., **1992**, 84:217-222.
- SHORE L.S., GUREVITZ M., SHEMESH M.** Estrogen as an environmental pollutant. Bull. Environ. Contam. Toxicol., **1993**, 51:361-366.
- SIPES I.G. et GANDOFI A.J.** Biotransformation of toxicants. In : **AMDUR M.O., DOULL J., KLAASSEN C.D.** (ed.) Casarrett and Doull's Toxicology : The Basic Science of Toxicants, 4th edition, Pergamon Press, New York, **1991**.
- SKOV T., LYNGE E., MAARUP B., OLSEN J., ROTH M., WITHEREIK H.** Risks for physicians handling antineoplastic drugs. Lancet, **1990**, 336:14-46
- SMITH E.P., SHUGART H.H.** Issue paper on uncertainty in ecological risk assessment. In: **EPA Ecological risk assessment issue papers. Risk Assessment Forum.** Environmental Protection Agency, Washington DC, 1994, pp. 8-1:8-53.EPA/630/R-94/009.
- SOCIETY OF ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND CHEMISTRY (SETAC)** Ecological Risk Assessment Technical Issue Paper. Pensacola, FL, **1997**, 4 p.
- SONG M.D., WACHI M., DOI M. ISHINO F., MATSUHASHI M.** Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. FEBS lett, **1987**, , 31:167-171.
- SOUSSY C.J., CAVALLO J.D., COURCOL R., DRUGEON H., FABRE R., JARLIER V., LASCOLS C., LECLERQ R., N'GUYEN J., ROUSSEL-DELVALLEZ M., SIROT J., DERRIENNIC-COHEN-BACRIE M., PECKING M., DE BELS F.** Sensibilité aux antibiotiques de souches de *Escherichia coli* isolées en 1998 et 1999 : résultats d'une enquête multicentrique française. Méd Mal Infect, **2000**, 30:650-656.
- SPRAGE J.B., RAMSAY B.A.** Lethal levels of mixed copper – zinc solutions for juvenile salmon. J. Fish. Res. Board Can., **1965**, 22:377-393.
- SPREHE M., GEIßEN S-U., VOGELPOHL A.** Treat of AOX-containing wastewater from hospital – Degradation of iodized X-ray contrast medium. Korrespondenz Abwasser, **1999**, 46, 4:548-558.
- STAHL G.W., II** Can mammalian and non-mammalian "sentinel species" data be used to evaluate the human health implications of environmental contaminants? Human Ecol. Risk Assess., **1997**, 3:328-335.
- STEGER-HARTMANN T., LÄNGE R., SCHWEINFURTH H.** Environmental risk assessment for widely used iodinated X-ray contrast agent iopromide (ultravist). Ecotoxicology and Environmental Safety, **1999**, 42:274-281.
- STELZER W., ZIEGERT E., SCHNEIDER E.** The occurrence of antibiotic-resistant Klebsiellae in wastewater. Zentralbl Mikrobiol, **1985**, 140:283-291.

Conclusion

- STUMPF M., TERNES T. A., HABERER K., SEEL P., BAUMANN W.** Determination of natural estrogens in sewage treatment plants and river water. *Vom Wasser*, **1996**, 87:251-261.
- SUTER G.W.** Ecological Risk Assessment. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, **1993**, 538 p.
- SUTER G., VERMEIRE T., MUNNS W., SEKIZAWA J.** Framework for the integration of Health and Ecological Risk Assessment. In: *IPCS Integrated risk assessment*. WHO/IPCS/IRA/01/12, **2001**. Available on: www.whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_IPCS_IRA_01_12.pdf, 13/11/2002.
- TABAK H., BUNCH H. L.** Steroid hormones as water pullutants I. *Dev. Ind. Microbiol.*, **1970**, 11:367-376.
- TABAK H., BLOOMHUFF R. N., BUNCH R. L.** Steroid hormones as water pullutants II . *Dev. Ind. Microbiol.*, **1981**, 22:497-519.
- TALON D, CAILLEAUX V., GAYET S., THOUVEREZ M., ABY M.A., BIENTZ M.** Multicenter study of hospital epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eastern France. *Méd Mal Infect*, **1996**, 26:475-481.
- TERNES T. A.** Occurrence of drugs in german sewage treatment plants and river. *Wat. Res*, **1998**, Vol. 32, 11:3245-3260.
- TESSIER S.** Les maladies de l'enfant liées à l'eau en milieu urbain. *Cahiers Santé*, **1992**,2:77-84.
- THOMAZEAU R.** Contribution à l'étude de l'écologie bactérienne des boues activées. *Thèse*. Université Paris VII, **1983**, p. 97-111.
- TRONEL H., HUC B., BERTRAND X., THOUVEREZ M., MARCHAL A., TALON D.** Aspects épidémiologiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline dans un centre hospitalier de taille moyenne. *Méd Mal Infect*, **2002**, 32:212-222.
- TSAI C.T., LAI J.S., LIN S.T.** Quantification of pathogenic microorganism in the sludge from treated hospital wastewater. *Journal of Appalied Microbiology*, **1998**, vol. 85, 1:171-176.
- TYLER C.R., VAN DER EERDEN B., JOBLING S., PANTER G., SUMPTER J.P.** Measurement of vitellogenin, a biomarker for exposure to oestrogenic chemicals, in a wide variety of cyprinid fish. *J. Comp. Physiol. B.*, **1996**, 166:418-426.
- USEPA** Preliminary data summary for the hospitals point source category. Office of water regulations and standards, Office of water, United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C., **1989a**, EPA 440/1-89/060-n, 76 p.
- USEPA** Risk assessment guidance for superfund. Volume I : Human health evaluation manual (Part A). United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C., **1989b**, 248 p.
- USEPA** Framework for ecological risk assessment. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Agency, **1992a**, 161 p. EPA/630/R-92/001.
- USEPA** Dermal exposure assessment: Principles and application. Interim Report. USEPA, Office of health and environmental assessment, Washington, D.C., **1992b**, EPA/600/8-91/011/B.
- USEPA** Guidelines for ecological risk assessment. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Agency, **1998**, 114p. EPA/630/R-95/002F.
- VAN DER HEIDE E. F., HUECK-VAN DER PLAS E. H.** Geneesmiddelen en milieu. *Pharmaceutish Weekblad*, **1984**, 119:936-1647.

Conclusion

- VAN LEEUWEN C.J., HERMENS J.L.M. (eds)** Risk assessment of chemicals: an introduction. Kluwer Academic Pub. Dordrecht, The Netherlands, **1995**
- VIDAL** Le dictionnaire. Editions du Vidal, Paris, **2000**, p. 420-424.
- VOLMER J., KORDEL W., KLEIN V.** A proposed method for calculating taxonomic-group-specific variances for use in ecological risk assessment. *CHEMOSPHERE*, **1988**, 17:1493-1500.
- VOSE D.** Quantitative risk analysis – A guide to Monte-Carlo simulation modeling. Wiley, New York, **1996**, p.
- VOSS A., MILATOVIC D., WALLRAUCH-SCHWARZ C., ROSDAHL V.T., BRAVENY I.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **1994**, 13:50-55
- VROMEN M., VAN DER VEN A.J., KNOLS A., STOBBERING E.E.** Antimicrobial resistance patterns in urinary isolates from nursing home residents. Fifteen years of data reviewed. *J. Antimicrob Chemother*, **1999**, 44:113-116.
- WAGGOT A.** Trace Organic Substances in the River Lee (Great Britain). *Chem. Water Reuse*, **1981**, Vol. 2:55-99.
- WATTS C. D., CRATHORNE M., FIELDING M., STELL C. P.** Identification of non-volatile organics in water using field desorption mass spectrometry and high performance liquid chromatography. In : **ANGELETTI G. (ed.)** *Analysis of organic micropollutants in water*. Reidel Publ. Corp., Dordrecht, **1983**, p 120-131.
- WILSON E.O.** Essay on science and society: science and the coming century of the environment. *Science*, 1998, 279:2048-2049.
- WORLD COMMISSION ENVIRONMENT AND DEVELOPMENT** Our common future. WCED, Oxford University Press, Oxford, **1987**, 398 p.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANISATION)** Wastes from health-care activities. Fact sheet N°253, Genève, **2000**, 4 p. Available on :<http://www.who.int/inf-fs/en/fact253.html>, 16/11/2002.
- YAEGER R.L., HALLEY B.A.** Sorption/desorption of ¹⁴C[efromycin] with soils. *Journal of agriculture and food chemistry*, **1990**, 38:883-886.
- ZADEH L.A.** Fuzzy Sets. *Information and Control*, **1965**, Vol 8:338-353.
- ZADEH L.A.** Fuzzy sets as a basis for a theory of possibility. *Fuzzy sets and systems*, **1978**, Vol 1, 1:3-28.
- ZAKRZEWSKI S. F.** Principles of environmental toxicology. American Chemical Society, Washington DC, 2nd ed., **1997**, 352 p.
- ZMIROU D., PERRODIN Y.** Approche méthodologique de l'évaluation des risques pour la santé, des déchets stabilisés. Application à un scénario. *Déchets – Sciences et Techniques*, **1999**, 16:10-13.

Glossaire

Anthropique : Relatif à l'homme, résultant des interventions humaines. La distinction entre les origines anthropiques et naturelles des contaminations et des risques est importante (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

AOX (test) : test analytique permettant d'évaluer la teneur totale d'un échantillon en composés organohalogénés. Il consiste à adsorber au préalable les matières organiques contenues dans l'échantillon par passage sur charbon actif, à brûler ce dernier à 950 °C pour minéraliser sous forme de chlorures ou bromures ces composés et les doser ultérieurement par coulométrie (Rodier, 1996).

Bioaccumulation : phénomène par lequel une substance présente dans un biotope pénètre dans un organisme même si elle n'a aucun rôle métabolique, voire si elle est toxique pour ce dernier.

Bioamplification : phénomène par lequel une substance naturelle ou un contaminant présent dans un biotope connaît un accroissement de sa concentration au fur et à mesure qu'il circule vers les maillons supérieurs d'un réseau trophique.

Biocénose : L'ACADEMIE DES SCIENCES (1998). Définit la biocénose comme une association équilibrée d'animaux, de végétaux et de micro-organismes qui vivent dans un même milieu biologique donné ou biotope et qui ont entre eux des échanges directs ou indirects.

Biodégradabilité : propriété des composés chimiques susceptibles de subir une biodégradation ou neutralisation sous l'action des organismes décomposeurs présents dans le biotope (milieux terrestres ou aquatiques) où ils sont rejetés.

Biotope : Milieu défini par un espace ou une aire géographique de dimensions variables, souvent très petites, où l'ensemble des facteurs physiques et chimiques offrent des conditions sensiblement constantes ou cycliques aux espèces constituant la biocénose (ACADEMIE DES SCIENCES, 1998).

Conséquences écologiques : Effet ou impact sur les êtres vivants (y compris l'homme) et (ou) sur le milieu naturel.

Curie : unité initiale de radioactivité. Le curie (Ci) correspond à la quantité de radioactivité produite par la désintégration d'un gramme de radium en une seconde.

Danger : La notion du danger est liée à la possibilité pour une substance, du fait de ses caractéristiques ou propriétés intrinsèques, de provoquer des dommages aux personnes, aux biens, à l'environnement, dans des conditions déterminées d'exposition (RAZAFINDRADTANDRA ET SEVEQUE, 1998)

Ecotoxicologie : La branche de la toxicologie qui étudie les effets toxiques provoqués par les substances naturelles ou les polluants d'origine synthétique sur les constituants des écosystèmes animaux (y compris l'homme), végétaux et micro-organismes, dans un contexte intégré.

Effet : résultat d'une action sur une cible donnée

Effluent : écoulement d'un liquide ou d'un gaz, provenant d'une activité humaine et qui est déversé dans un écosystème (artificiel ou naturel).

Ecosystème : Il désigne l'unité écologique de base en laquelle peuvent se réduire les systèmes écologiques plus complexes. Un écosystème est constitué au plan structural par l'association de deux composantes en constante interaction l'une avec l'autre : un environnement physico-chimique,

abiotique, spécifique, ayant une dimension spatio-temporelle bien définie, dénommé *biotope*, associé à une communauté vivante, caractéristique de ce dernier la *biocœnose*, d'où la relation :
Écosystème = biotope + biocœnose (RAMADE, 1998).

Entérobactérie : genre de bactéries coliformes présentes dans les eaux polluées par les matières fécales et pouvant être pathogènes (*Streptocoques fécaux*, *Enterobacter aerogènes*, etc.).

Etude d'impact sur l'environnement : étude effectuée de façon impérative en préalable à tout aménagement d'une certaine importance. Elle a pour objet de faire le « point zéro » du milieu et d'évaluer les conséquences écologiques ainsi que celles pour l'environnement de l'homme qui résultent des aménagements prévus.

Environnement : Dans la directive 91/414 de l'Union Européenne, concernant l'évaluation du risque des produits phytopharmaceutiques avant leur mise sur le marché, l'environnement est défini comme « l'eau, l'air, la terre, la faune et la flore sauvage, ainsi que toute interrelation entre ces divers éléments et toute relation existant entre eux et tout organisme vivant ». Cette définition est intéressante, parce qu'elle fait mention non seulement des divers constituants d'un écosystème, c'est-à-dire les milieux et les populations animales et végétales, mais aussi des relations entre ces constituants, ce qui veut dire que le but final de l'évaluation est bien l'écosystème – même si ce terme n'est pas employé (RIVIERE, 1998).

Facteur : Cause (externe) susceptible d'influencer un système (terme) (PERRODIN, 2000) Définition inspirée de la norme ISO 3534/3, 1995.

Impact environnemental : conséquences d'une dégradation des conditions écologiques sur le milieu naturel ou l'environnement de l'homme.

Infections nosocomiales : ce sont les infections qui sont acquises dans un établissement de soins. Une infection est considérée comme telle lorsqu'elle était absente à l'admission. L'infection est considérée nosocomiale si elle apparaît après un délai de 48 heures.

Méthode de Monte Carlo : elle consiste à tirer au sort un nombre aléatoire r_i (ou un sous ensemble de nombres aléatoires) à distribution uniforme dans l'intervalle $[0, 1]$, puis à associer à r_i la valeur A_i d'une quantité A . En d'autres termes, à une épreuve r_i on associe A_i .

Modèle : C'est une structure formalisée utilisée pour rendre compte d'un ensemble de phénomènes qui possèdent entre eux certaines relations ; ce qui est donné pour servir de référence. Le modèle peut être un modèle mathématique, dans ce cas il est une représentation mathématique d'un phénomène physique, ..., humain, etc., réalisée afin de pouvoir mieux étudier celui-ci. Le terme de modèle physique peut être utilisé pour désigner une représentation matérielle simplifiée d'un phénomène biologique complexe.

Modèles déterministes : C'est une représentation mathématique des relations entre les différents éléments d'un système, basée sur la description des phénomènes physiques, chimiques et biologiques.

Modèles stochastiques : Ils sont basés sur le caractère aléatoires des événements. Ces modèles, basés sur des années de mesures régulières, sont bien adaptés à des prévisions météorologiques, ou

des prévisions d'accidents d'automobiles. Ils nécessitent une quantité très importante de données pour être utilisés.

Paramètre : Grandeur caractéristique intrinsèque du système (terme) considéré (PERRODIN, 2000). Définition inspirée de la norme AFNOR X 30-407.

Points finaux : Cette notion se réfère à la structure des écosystèmes, à leur mode de fonctionnement et à leur niveau d'organisation.

Points finaux d'évaluation et de mesure : les points finaux d'évaluation sont des expressions explicites des valeurs environnementales à protéger (éléments à risque), tandis que les points finaux de mesure sont des réponses au stresser, mesurables et relatives ... aux points finaux d'évaluation. Les points finaux d'évaluation sont difficilement mesurables directement. Par exemple, si on a choisi de travailler sur la survie des brochets, l'évaluation se fera par l'intermédiaire d'un point final de mesure. Les points finaux de mesure sont la croissance et la reproduction des organismes ou des substituants acceptables (des espèces voisines). Très souvent, les points finaux de mesure à un niveau inférieur d'organisation serviront, faute de mieux, à caractériser un point final d'évaluation à un niveau supérieur d'organisation. Par ailleurs, la définition opérationnelle d'un point final comprend deux éléments, le sujet (par exemple l'espèce, la population à risque ou toute autre valeur) et une caractéristique du sujet (par exemple le taux de réduction des effectifs d'une population) qui sera traduite en valeurs numériques. La démarche correcte sera de définir les points finaux de mesure en fonction des points finaux d'évaluation, par exemple si le point final d'évaluation est la mortalité possible des saumons dans une aquaculture, suite à des rejets d'effluents pollués, le point final de mesure pourra être les CL₅₀-96 h pour la truite (RIVIERE, 1998).

Polluant : Ce terme désigne toute substance naturelle d'origine strictement anthropogénique, que l'homme introduit dans un biotope donné dont elle était absente ou encore dont il modifie ou augmente la teneur (dans l'eau, l'air ou les sols selon le biotope) lorsqu'elle y est spontanément présente (RAMADE, 2000).

Radioprotection : mesures concrètes ayant pour objet de protéger les diverses populations contre les rayonnements ionisants.

Risque : C'est la probabilité d'apparition d'effets toxiques après l'exposition des organismes à un objet dangereux (RIVIERE, 1998). Pour COVELLO et MERKHOFFER (1993), le risque est un concept « au minimum bi-dimensionnel, impliquant (a) la possibilité d'une issue négative et (b) une incertitude sur l'apparition, la chronologie et la gravité de cet effet négatif. Si l'une de ces caractéristiques n'existe pas, il n'y a pas de risque... Plus formellement, le risque est la caractéristique d'une situation ou d'une action où il y a deux issues possibles, on ne sait pas laquelle doit se produire, et l'une d'elles représente un événement indésirable ».

Xénobiotiques : Ce sont les substances étrangères à l'organisme ou qui ne semblent pas – dans l'état actuel de nos connaissances – indispensables au fonctionnement normal de l'organisme (SIPES et GANDOFI, 1991). Ce terme est moins restrictif que celui de polluant ou de toxique, il ne présuppose pas la possibilité d'effet négatif et englobe non seulement les polluants d'origine anthropique, mais aussi nombre de substances naturelles présentes dans les plantes et qui se retrouvent dans l'alimentation

de l'homme et des animaux, telles que flavones, terpènes, etc., dont on commence seulement à soupçonner les effets biologiques (RIVIERE, 1998).

Scénario : Situation définie par une liste de facteurs d'influence prédominants, incluant éventuellement l'horizon de temps (PERRODIN, 2000). Définition inspirée de la norme AFNOR X 30-407.

Sous-ensemble flou : un sous-ensemble flou A de X est défini par une fonction d'appartenance qui associe à chaque élément x de X , le degré $f_A(x)$, compris entre 0 et 1, avec lequel x appartient à A : $f_A : X \rightarrow [0, 1]$.

T-concorne : une conorme triangulaire (t-conorme) est une fonction $\perp : [0, 1] \times [0, 1] \rightarrow [0, 1]$ qui vérifie pour tous x, y, z de $[0, 1]$:

- a) $\perp(x, y) = \perp(y, x)$ (commutativité)
- b) $\perp(x, \perp(y, z)) = \perp(\perp(x, y), z)$ (associativité)
- c) $\perp(x, y) \leq \perp(z, t)$ si $x \leq z$ et $y \leq t$ (monotonie)
- d) $\perp(x, 0) = x$ (élément neutre 0)

Théorie des possibilités : c'est une méthode qui permet de formaliser des incertitudes de nature non probabiliste sur des événements, c'est-à-dire un moyen de dire dans quelle mesure la réalisation d'un événement est possible et dans quelle mesure on est incertain, sans toutefois avoir à sa disposition l'évolution de la probabilité de cette réalisation par exemple parce qu'on ne connaît pas d'événement analogue auquel se référer.

T-norme : une conorme triangulaire (t-conorme) est une fonction $T : [0, 1] \times [0, 1] \rightarrow [0, 1]$ qui vérifie pour tous x, y, z de $[0, 1]$:

- e) $T(x, y) = T(y, x)$ (commutativité)
- f) $T(x, T(y, z)) = T(T(x, y), z)$ (associativité)
- g) $T(x, y) \leq T(z, t)$ si $x \leq z$ et $y \leq t$ (monotonie)
- h) $T(x, 1) = x$ (élément neutre 1)