

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Microbiologie

Appliquée et Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Influence de l'apport des antalgiques sur la croissance et la survie des bactéries isolées du sol

Membres de jury :

Présidente : M^{me} BENHAMADA Wahiba.

Examinatrice : Dr. BEKKA Fahima.

Encadreur : Prof. OULED HADDAR Houria.

Présenté par :

M^{elle} : BOUACHIR Amina

M^{elle} : BOUKHEDENNA Sara

Année universitaire 2018-2019

Numéro d'ordre (bibliothèque) :.....

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier « Allah » qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.

Sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.

Nous aimerons exprimer toute notre reconnaissance, notre respect et nos sincères remerciements à notre encadreur « M^{me} OULED HADDAR Houria » pour Sa gentillesse et sa sympathie, ses précieux conseils, ses encouragements et son parfait sens de responsabilité, son aide et assistance durant toute la période du travail.

Nous remercions « M^{me} BENHAMADA Wahiba » de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire. On la remercie pour sa compréhension.

Nous remercions également « M^{me} BEKKA Fahima » d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail. On la remercie pour sa compréhension.

Un spécial remerciement est adressé à notre enseignant « M^r KHENNOUF Tarek » pour son aide précieuse et pour le temps qu'il nous a consacré.

Nous exprimons aussi nos meilleurs sentiments de gratitude à « M^r HARROUCHE Kamel », docteur au département de chimie, pour sa disponibilité, pour sa gentillesse et surtout pour son aide précieuse dans l'interprétation des résultats d'HPLC.

Un infini remerciement à tous les membres du laboratoire qui ont participé à la réalisation de ce travail.

Enfin on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce modeste travail.

Encore une fois de plus, merci.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mon Père et ma très chère Mère que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices,

A ma grande famille,

A mes amies,

A toutes mes copines de la promotion,

A toute personne intéressée par ce modeste travail.

Amina 

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, Puisse Allah, le Très Haut, vous accorder la santé, le bonheur et une longue vie,

A ma mignonne petite sœur Soundous,

A mes chers grands parents pour leur appui et leur encouragement,

A toute ma famille paternelle et maternelle pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

A mes adorables amies,

A tous ceux qui m'aime.



Liste des abréviations**Liste des figures****Liste des tableaux**

Introduction	[1]
---------------------------	-----

Partie I. Synthèse bibliographique

I.1. Persistance des antalgiques	[2]
I.2. Transfert et devenir des antalgiques dans l'environnement	[3]
I.3. Processus de transfert des antalgiques dans l'environnement	[4]
I.4. Devenir des antalgiques dans l'environnement	[4]
I.5. Impacts et risques des antalgiques.....	[5]
I.5.1. Impact toxicologique	[5]
I.5.2. Impact écotoxicologique	[5]
I.6. Gestion des problèmes liés aux antalgiques.....	[6]
I.7. Dégradation des antalgiques	[6]
I.7.1. Dégradation abiotique	[7]
I.7.1.1. Les procédés d'oxydation avancée (POA)	[7]
I.7.2. Dégradation biotique.....	[9]

Partie II. Matériels et méthodes

II.1. Matériel	[12]
II.1.1. Echantillons de composts.....	[12]
II.1.2. Milieux de culture.....	[12]
II.1.3. Produits chimiques	[13]
II.1.4. Appareillage	[13]
II.2. Méthodes	[14]
II.2.1. Adaptation.....	[14]
II.2.2. Préparation de la solution mère du PA	[14]
II.2.3. Préparation du milieu minéral minimum solide additionné du PA	[14]
II.2.4. Isolement et purification des souches telluriques capables de croître en présence du PA comme source unique de carbone	[14]
II.2.5. Conservation des souches.....	[15]
II.2.6. Identification des souches bactériennes isolées.....	[15]

II.2.7. Screening des souches telluriques capables de croître en présence de PA comme source unique de carbone et d'énergie.....	[18]
II.2.8. Effet de la variation de la concentration du PA sur la croissance de la souche S4	[19]
II.2.9. Effet du pH initial sur la croissance de la souche S4 en présence du PA.....	[19]
II.2.10. Analyse du PA par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	[19]
II.2.11. Calcul du taux de croissance cellulaire.....	[20]
II.2.12. Calcul du taux de réduction des médicaments.....	[20]

Partie III. Résultats et discussion

III.1. Identification des isolats.....	[21]
III.2. Identification morphologique.....	[21]
III.3. Identification physiologique et biochimique des isolats	[22]
III.4. Identification par la galerie API 20 ^E	[22]
III.5. Screening des isolats telluriques capables de croître en présence du PA comme source unique de carbone et d'énergie.....	[23]
III.6. Effet de la variation de la concentration du PA sur la croissance de <i>P. aeruginosa</i> S4	[25]
III.7. Effet de la variation du pH sur la croissance de la souche S4 en présence du PA	[27]
III.8. Analyse du PA par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	[28]
Conclusion	[31]
Références bibliographiques	[32]

Annexes

Résumé

BN	Bouillon nutritif
DO	Densité optique
GN	Gélose nutritive
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
mg	Milligramme
MMM	Milieu Minéral Minimum
MNU	Médicaments non utilisés
ng	Nanogramme
PA	Paracétamol
POA	Procédés d'oxydation avancée
POAEs	Procédés d'oxydation avancée électrochimiques
RM	Résidus des médicaments
rpm	Révolution par minute
STEP	Stations d'épuration des eaux usées
API 20^E	Appareillage et Procédé d'identification
pK_a	Constant de dissociation
μ	Taux de croissance
μl	Microlitre

Figure 1. Voies d'entrées des RM dans l'environnement	[3]
Figure 2. Différents procédés d'oxydation avancée	[8]
Figure 3. La galerie API 20 ^E pour l'identification des entérobactéries.....	[18]
Figure 4. Croissance des isolats S1, S2 et S3 en présence du PA comme source de carbone et d'énergie.....	[23]
Figure 5. Croissance des isolats S4, S5 et S6 en présence du PA comme source de carbone et d'énergie.....	[24]
Figure 6. Croissance des isolats S7, S8, S9 et 10 en présence du PA comme source de carbone et d'énergie	[24]
Figure 7. Effet de la variation de la concentration du PA sur la croissance de <i>P. aeruginosa</i> S4 à 37°C.....	[26]
Figure 8. Effet de la variation du pH sur la croissance de <i>P. aeruginosa</i> S4 en présence du PA à 37°C.....	[27]
Figure 9. Taux d'élimination du PA par la souche <i>P. aeruginosa</i> S4 et <i>E. hormaechei</i> D15..	[29]
Figure 10. Evolution de la concentration du PA après 48 h d'incubation.....	[29]

Tableau 1. Origines des isolats bactériens utilisés	[12]
Tableau 2. Nombre et origine des isolats choisis	[21]
Tableau 3. Caractérisation des isolats du sol, basée sur les critères morphologiques	[21]
Tableau 4. Identification physiologique et biochimique des isolats du sol.....	[22]
Tableau 5. Résultats de l'identification des souches S1 et S4 par la galerie API 20 ^E	[23]
Tableau 6. Taux de croissance de dix isolats en présence du PA comme seule source de carbone et d'énergie	[25]
Tableau 7. Taux de croissance de <i>P. aeruginosa</i> S4 à différentes concentrations du PA	[26]
Tableau 8. Taux de croissance de <i>P. aeruginosa</i> S4 à différentes valeurs du pH	[27]

Introduction

De nombreuses classes de produits pharmaceutiques y compris les agents anti-inflammatoires et les analgésiques (diclofénac, ibuprofène, naproxène, paracétamol, aspirine, etc.) ont été détectées dans différents compartiments de l'écosystème au cours des dernières décennies (Sebestyén et al., 2018). Ils sont considérés comme des polluants « pseudo-persistants » en raison de leur rejet continu dans les compartiments environnementaux par différentes voies, y compris les eaux usées (Aguilar et al., 2011 ; Desbiolles et al., 2018 ; Tahir et al., 2019). Les résidus des médicaments (RM) et/ ou leurs métabolites sont généralement détectés dans l'environnement à l'état de traces, mais même à de faibles concentrations ; du nanogramme au microgramme par litre (ng/L- μ g/L), ils peuvent avoir des effets néfastes à long terme sur l'équilibre biologique et la santé humaine tels qu'une toxicité aquatique, le développement de la résistance des bactéries pathogènes, des dommages aigus et chroniques, des perturbations hormonales et endocriniennes... (Hernando et al., 2006 ; Zhang et al., 2013 ; Tahir et al., 2019). Cette situation ne fait que s'aggraver quand ces produits pharmaceutiques persistants ne peuvent pas être éliminés en utilisant des techniques conventionnelles de traitement des eaux usées en raison des caractéristiques typiques des produits pharmaceutiques (Lee et al., 2017). De nos jours, l'utilisation des techniques abiotiques notamment les procédés d'oxydation avancés (POA) se sont avérées capables d'oxyder efficacement la plupart des polluants organiques jusqu'à minéralisation en carbone inorganique (CO_2) (Feng et al., 2013 ; Lin et al., 2015). Mais les techniques biologiques basées sur les microorganismes pourraient être plus robustes et efficaces pour éliminer les polluants pharmaceutiques que les méthodes physico-chimiques actuellement utilisées, où les microorganismes s'impliquent dans les processus d'auto-épuration des écosystèmes, du fait qu'ils peuvent dégrader les contaminants par des voies métaboliques et / ou co-métaboliques (Marco-Urrea et al., 2010 ; Caracciolo et al., 2015; Palyzová et al., 2018).

Beaucoup de travaux ont été publiés ces dernières années sur l'influence des antalgiques sur la survie des bactéries. Dans ce cadre, cette étude a pour objectif d'évaluer le potentiel de biodégradation de paracétamol, étant très largement employé, par une variété de bactéries qui seront isolées du sol, puis identifiées après une phase d'adaptation. L'étude comportera également une estimation de l'effet du pH et de la concentration de paracétamol sur la survie des bactéries en présence de ce dernier. Avec le suivi de sa biodégradation par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

***I. Synthèse
bibliographique***

I.1. Persistance des antalgiques

Malgré les traitements opérés au niveau des stations d'épuration (STEP), l'eau rejetée dans l'environnement contient des résidus de produits pharmaceutiques y compris les résidus d'antalgiques. La principale cause de ce problème est que ces stations n'ont pas été conçues pour l'épuration spécifique des composés présents à l'état de traces, du fait qu'elles ne réussissent pas toujours à les réduire ou les éliminer, ce qui permet leur dissémination dans les différents compartiments environnementaux (**Alighardashi et al., 2008 ; Hassine et Hamza, 2009 ; Steichen et Antri-Bouzar, 2014 ; Tongur et al., 2017 ; Desbiolles et al., 2018**).

Par exemple, même si le paracétamol (PA) y est dégradé à plus de 90 %, il reste des traces dans les eaux usées remises en circulation, puis dans les eaux de surface (**Kolpin et al., 2002**). D'ailleurs, Il est l'un des produits pharmaceutiques les plus fréquemment détectés dans les eaux naturelles (**Feng et al., 2013**).

En réalité, la persistance des antalgiques dans l'environnement est sous l'influence d'un grand nombre de facteurs, y compris leurs propriétés intrinsèques (propriétés physiques et chimiques), ainsi que les caractères écosystémiques de l'environnement (nature, concentration des populations microbiennes, des matières dissoutes et en suspension, température, degré d'ensoleillement, etc.) (**Kolpin et al., 2002**).

Les sources principales des antalgiques et leurs résidus trouvés dans l'environnement sont multiples et variés (**Idder, 2012**). Elles proviennent des industries pharmaceutiques ; notamment les rejets des établissements pharmaceutiques qui produisent les principes actifs entrant dans la composition des antalgiques. La consommation des médicaments ; dont elle est difficile à évaluer. En effet, après leur ingestion, les antalgiques subissent des modifications chimiques et les métabolites issus de ces réactions peuvent être plus ou moins toxiques que le médicament initial et auraient également des propriétés différentes, voire antagonistes. Certains antalgiques sont par contre excrétés dans l'environnement sans biotransformations (**Hassine et Hamza, 2009**).

Les stations d'épuration urbaines et l'élimination des boues sur les terres sont la principale voie d'introduction des résidus d'antalgiques dans le milieu naturel (**Biel-Maeso et al., 2019**). L'assainissement non collectif ; d'où les eaux sont évacuées par infiltration dans le sol en est également responsable (**Idder, 2012**). Les médicaments non utilisés (MNU) ; une partie des médicaments dispensés aux patients reste inutilisée, c'est-à-dire non consommés. Etant donné le danger que peut faire courir le fait de jeter des médicaments dans les poubelles et de les retrouver ainsi en décharge, avec le risque associé de pollution des eaux, il était indispensable d'organiser, pour les MNU, un dispositif de collecte et d'élimination sécurisée (**Académie Nationale de**

Pharmacie, 2008). Ainsi, les rejets d'hôpitaux et de laboratoires d'analyses médicales représentent également une source de résidus pharmaceutiques (**Leung et al., 2012**).

Les différentes sources et voies d'introduction des résidus médicamenteux (RM) dans le milieu environnemental sont résumées dans la figure ci-dessous :

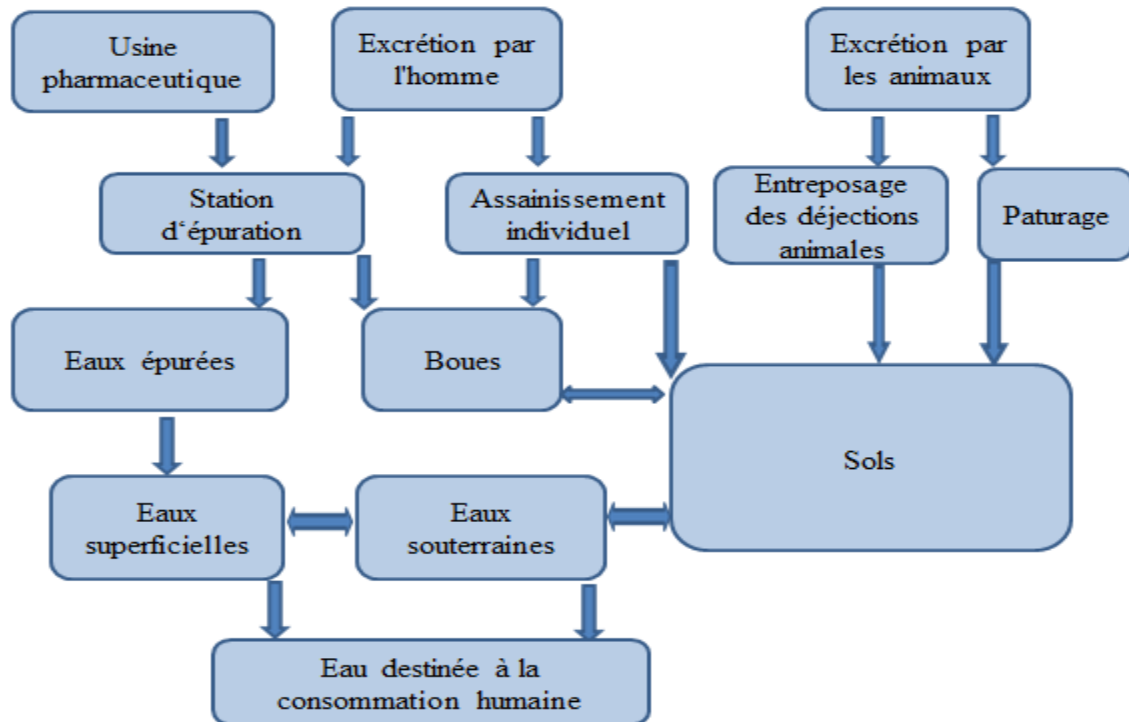


Figure 1. Voies d'entrées des RM dans l'environnement (**Bouvier et al., 2010**).

I.2. Transfert et devenir des antalgiques dans l'environnement

Les résidus des antalgiques et leurs métabolites non éliminés (qui ont déjà subi un traitement dans les STEP ou qui n'ont pas été utilisés) sont transférés dans l'environnement (**Brieudes, 2014**), dont une large gamme est détectée dans l'eau et le sol (**Tongur et al., 2017**).

Ils sont transférés dans l'environnement par diverses manières, le ruissellement et le lessivage sont parmi ces processus (**Kolpin et al., 2002 ; Alighardashi et al., 2008 ; Glassmeyer et al., 2008**). Suite à des phénomènes de volatilisation, une diffusion sur de grandes distances de tels composés peut être observée. En effet, après leur émission dans l'atmosphère, les composés volatils transportés par les eaux de pluie peuvent contaminer les autres compartiments (**Kolpin et al., 2002**). Le transfert par infiltration entre les eaux de surface fortement contaminées, les eaux souterraines et les lixiviats des décharges municipales permet le passage des antalgiques dans de nouveaux endroits environnementaux (**Alighardashi et al., 2008 ; Glassmeyer et al., 2008**).

I.3. Processus de transfert des antalgiques dans l'environnement

✓ Dans l'atmosphère

Le milieu aérien est peu concerné par ce problème. Quant à l'incinération des MNU, quand elle est réalisée, elle peut se faire en toute sécurité sans possibilité de retrouver des antalgiques et/ ou intermédiaires susceptibles de modifier la composition des fumées dégagées (**Kermiche-Achaichia, 2016**).

✓ Dans le sol

La contamination des sols peut se faire par le biais des décharges, l'épandage de fumier, les purins ou les biosolides des STEP sur les champs, ce qui peut conduire à des concentrations locales parfois très fortes (**Alighardashi et al., 2008**).

✓ Dans l'eau

La persistance des RM dans l'eau dépend en particulier, de la demi-vie des molécules, liée à leur stabilité et à leurs propriétés physico-chimiques. Mais, le rejet en continu de médicaments et de leurs métabolites dans les milieux aquatiques, confère à ces molécules un caractère de « pseudo-persistance » (**Kermiche-Achaichia, 2016**).

Les concentrations mesurées dans les eaux potables sont variables d'un composé à un autre, mais aussi très dépendante de l'origine de l'eau et des filières de traitement utilisées dans la potabilisation de l'eau (**Idder, 2012 ; Schaff, 2012 ; Tongur et al., 2017**).

Les eaux de surfaces, y intégrant les mers et les océans sont contaminées par les antalgiques et leurs produits de dégradation (le diclofénac, l'ibuprofène, ainsi que le carboxy-ibuprofène et l'hydroxy-ibuprofène) (**Schaff, 2012**). Cette contamination se fait soit par des rejets directs, soit par des rejets indirects, via les effluents des STEP. Leur concentration est abaissée via un phénomène de dilution et l'action de la photodégradation (**Alighardashi et al, 2008 ; Schaff, 2012**). Les antalgiques retrouvés dans les eaux souterraines sont issus d'une source de pollution secondaire, de type décharge ou autres sources ponctuelles. Donc la pollution reste très limitée sur le plan géographique (**Schaff, 2012**).

I.4. Devenir des antalgiques dans l'environnement

Comme les antalgiques sont pseudo-persistants en raison de leur apport continu, les effluents déversés de manière permanente contiennent des molécules non dégradées (**Briedes, 2014**), des métabolites excrétés (molécules issues de la transformation de la molécule-mère au sein de l'organisme par oxydation ou conjugaison) (**Bouvier et al., 2010**), ainsi que des produits de transformation ; c'est-à-dire des métabolites environnementaux résultant de la transformation dans l'environnement par l'hydrolyse, la biotransformation, la photolyse ou la sorption...etc

(Bouvier et al., 2010 ; Briuedes, 2014). Grace à ces processus qui conduisent à une élimination partielle des résidus, il se trouve que leur concentration dans l'environnement naturel est plutôt inférieure à celle des effluents des STEP (Tongur et al., 2017).

I.5. Impacts et risques des antalgiques

Du fait de leur concentration croissante dans l'environnement, les produits pharmaceutiques ; en particulier les antalgiques et leurs dérivés ; sont récemment considérés comme un nouveau groupe de polluants, connus sous le nom de « nouveaux polluants émergents » (Lee et al., 2017). L'exposition chronique aux traces pharmaceutiques peut être une menace possible pour le milieu aquatique (tel que la toxicité provoquant éventuellement un déséquilibre biologique), l'air, le sol, la faune, sans négliger les risques marqués sur la santé humaine (Lee et al., 2017 ; Sebestyén et al., 2018). Ces résidus rejetés dans les eaux de surface, peuvent donc présenter un risque environnemental non négligeable, de même que leurs métabolites ou sous-produits de dégradation, parfois plus dangereux que le produit d'origine (Henschel et al., 1997).

I.5.1. Impact toxicologique

La principale voie d'exposition chez l'Homme semble être l'ingestion via l'eau potable. En fait, les teneurs de résidus des antalgiques mesurées dans les eaux potables sont au plus de l'ordre de quelques ng/L (Kümmerer, 2001 ; Snyder et al., 2003 ; Alighardashi et al., 2008 ; Tahir et al., 2019). Donc, les risques sur l'Homme ; notamment pour les populations les plus sensibles comme les enfants ou les femmes enceintes ; sont liées à l'absorption éventuelle et continue de faibles doses de ces résidus (Schaff, 2012 ; Kermiche-Achaichia, 2016).

Les valeurs des unités toxiques indiquent que les antalgiques et surtout les anti-inflammatoires constituent le groupe thérapeutique responsable de l'effet toxique le plus élevé comme des perturbateurs endocriniens (González-Alonso et al., 2017).

En effet, le PA peut causer une nécrose hépatique, néphrotoxicité, lésions extra-hépatiques, et même la mort chez l'Homme et les animaux en cas de surdose (Desale et al., 2013).

I.5.2. Impact écotoxicologique

Les effets écotoxicologiques des produits pharmaceutiques et de soins personnels (PPSP) tels que les antidépresseurs (l'amitriptyline, le fluoxétine...etc.) et les antalgiques (le paracétamol, l'aspirine...etc.) sont beaucoup plus remarquables sur les organismes aquatiques (les poissons, les algues et les moules) et terrestres (González-Alonso et al., 2017 ; Lee et al., 2017 ; Madikizela et al., 2018 ; Tahir et al., 2019).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINSs) comme l'ibuprofène, le diclofénac, le naproxène et l'aspirine exercent une inhibition sur certaines fonctions (dont la croissance) chez les vertébrés (non mammifères) et les invertébrés (**Velichkova, 2014**). En effet, certaines espèces ont la capacité de concentrer les polluants dans leurs tissus, particulièrement, les molécules lipophiles. Le naproxène peut persister dans l'environnement pendant plus d'une année, augmentant ainsi son bioaccumulation et son action biologique (**Kermiche-Achaichia, 2016**). Il peut affecter l'expression de l'ARNm et a une influence négative sur le tractus gastro-intestinal et les reins du poisson zèbre (**Górny et al., 2019**).

De plus, le diclofénac possède un fort potentiel de bioaccumulation qui est très toxique pour les vautours et le bétail (**Kermiche-Achaichia, 2016 ; Górny et al., 2019**).

Les tests de toxicité sur les contaminants de l'eau sont généralement effectués pour tester les effets d'un seul polluant sur divers organismes (bactéries, algues, daphnies et poisson) (**Tongur et al, 2017**).

Il existe différents tests standards pour mesurer l'écotoxicité, l'un de ces tests est le facteur PEC/PNEC, c'est-à-dire le rapport entre la concentration de la substance dans l'environnement (PEC = Predicted Environmental Concentration) et la concentration prédite sans effet (PNEC = Predicted No Effect Concentration). Les médicaments analgésiques (ex : le paracétamol), anti-inflammatoires (ex : l'acide acétylsalicylique) sont considérés comme dangereux sur l'environnement quand le rapport PEC/PNEC dépasse 1 (**Alighardashi et al., 2008**).

I.6. Gestion des problèmes liés aux antalgiques

Les apports des antalgiques et leurs impacts sur l'environnement peuvent être réduits par une utilisation moindre, en utilisant des antalgiques non ou peu polluants. De plus, il faut éviter les rejets des médicaments aléatoirement ; notamment par le retrait de ceux qui sont non utilisés, réduction des rejets industriels et hospitaliers ; ainsi que l'optimisation de l'épuration des eaux résiduaires et la réduction des flux rejetés par les STEP urbaines (**Bouvier et al., 2010**).

I.7. Dégradation des antalgiques

La dégradation des antalgiques dans le milieu et leur partition dans les différents compartiments environnementaux (solide, liquide et biologique) est accomplie par des phénomènes biotiques et/ou abiotiques. Une dégradation partielle ou presque totale de ces substances ait lieu ; soit par des techniques abiotiques ou biotiques (**Idder, 2012 ; Kermiche-Achaichia, 2016**).

Les procédés classiques de traitement des eaux et des eaux usées ne pouvant constituer une barrière fiable contre certains médicaments récalcitrants, il est donc nécessaire d'introduire des technologies de traitement avancées supplémentaires dans les zones où le problème de pollution est persistant ou anticipé. Diverses technologies avancées de traitements peuvent avoir lieu, y compris des mécanismes d'oxydation avancés ainsi que l'utilisation des procédés biologiques comme la biodégradation microbienne pour la dégradation des antalgiques persistants (**Ikehata et al., 2006**).

I.7.1. Dégradation abiotique

Les antalgiques sont généralement résistants à la photolyse et à l'hydrolyse (**Soufan, 2011 ; Biel-Maeso et al., 2019**). En effet, les nouvelles techniques d'analyse, telles que la chromatographie en phase liquide couplées à la spectrométrie de masse (LC – MS) et la spectrométrie de masse en tandem (MS²), permet la détection des traces d'antalgiques de l'ordre de ng/L au µg/L dans l'eau traitée par des méthodes de post-traitement conventionnelles comme la chloration, l'ozonation et l'osmose inverse et l'adsorption sur charbon actif (**Velichkova, 2014 ; Ayyash et al., 2015 ; Baena-Nogueras et al., 2017 ; Paucar et al., 2019**), d'où la nécessité de nouveaux systèmes de traitement d'eaux s'est imposée, et une attention particulière s'est portée sur les procédés d'oxydation avancée (POA). Ils représentent un complément ou une alternative utile aux techniques existantes (**Velichkova, 2014**).

I.7.1.1. Les procédés d'oxydation avancée (POA)

Ces technologies mettent pour la plupart en combinaison deux ou trois réactifs (oxydants) afin de produire des radicaux hydroxyles. Elles sont capables d'oxyder efficacement la plupart des polluants organiques jusqu'à minéralisation en carbone inorganique (CO₂). Selon la figure 2, Il existe plusieurs types de POA, dont les plus connus sont les procédés d'oxydation avancée électrochimiques (POAEs), et en particulier « l'oxydation anodique » et « l'électro-Fenton ». Les POA peuvent être subdivisés en quatre groupes : les procédés d'oxydation chimique en phase homogène (H₂O₂/Fe²⁺ et H₂O₂/O₃), les procédés photocatalytiques en phase homogène et/ou hétérogène (H₂O₂/UV, O₃/UV et Fe²⁺/H₂O₂/UV ; TiO₂/UV), les procédés d'oxydation sonochimique et les procédés d'oxydation électrochimique. Les procédés d'oxydation électrochimiques, photocatalytiques et sonochimiques sont des technologies qui nécessitent en général moins de réactif et sont faciles d'automatisation par comparaison aux autres POA (**Zaviska et al., 2009 ; Feng et al., 2013**).

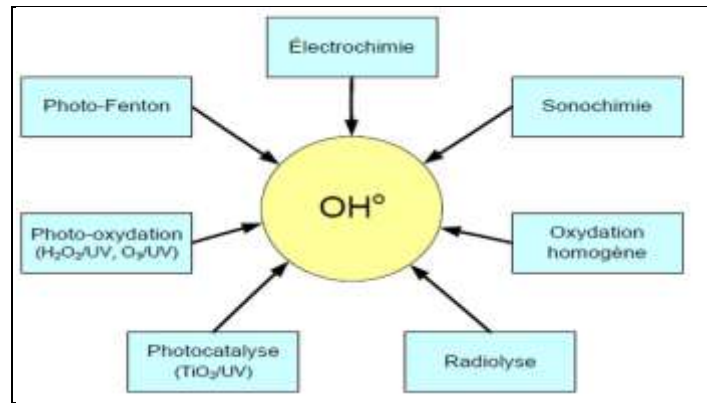


Figure 2. Différents procédés d'oxydation avancée

(Zaviska et al., 2009).

Les POA impliquent la formation « in situ » de radicaux hautement réactifs (radical hydroxyle OH^\bullet en particulier) ; qui sont des espèces oxygénées très actives capables de réagir rapidement et de manière non spécifique sur de nombreuses molécules organiques, même difficilement oxydables en quantité suffisante pour assurer la purification de l'eau).

L'oxydation des polluants médicamenteux les transforme de façon ultime en dioxyde de carbone, eau et composés minéraux, ou au moins conduit à des produits intermédiaires le plus souvent inoffensifs (acides carboxyliques) (Ikehata et al., 2006 ; Feng et al., 2013 ; Velichkova, 2014 ; Cédât, 2016 ; Ambalavanar et Habekost, 2018 ; Audino et al., 2019).

Les POA les plus utilisés et les plus étudiés se basent sur l'UV ou l'ozone (O_3) et combinent par exemple le peroxyde d'hydrogène et l'UV ($\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$), l'ozone et l'UV (O_3/UV), mais également la réaction Fenton en combinaison avec l'UV ($\text{UV}/\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$). Plus récemment, la combinaison du persulfate et de l'UV ($\text{UV}/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) ou encore l'utilisation des photocatalyseurs comme l'oxyde de titane (UV/TiO_2) ont particulièrement attiré l'attention (Cédât, 2016).

➤ Procédés d'oxydation anodique (OA)

L'oxydation anodique est un POAE capable d'atteindre l'oxydation des polluants de l'eau ou des eaux usées, par oxydation directe ou indirecte provenant de la surface de l'anode d'une cellule électrochimique. Cela signifie que ces processus oxydatifs ne doivent pas nécessairement être réalisés sur l'anode mais juste initiée sur sa surface. Ce procédé est efficacement utilisé pour la dégradation par oxydation de paracétamol et du diclofénac (Feng et al., 2013).

➤ Les procédés Fenton et photo-Fenton

L'oxydation de Fenton est reconnue comme le prétraitement le plus efficace pour les eaux usées pharmaceutiques en raison de sa capacité pour une amélioration poussée de la détoxification et de la biodégradabilité. Ils sont basés sur la réaction d'oxydoréduction entre Fe^{2+} et H_2O_2 avec et sans irradiation avec la lumière UV. Fe^{2+} jouant le rôle d'un catalyseur homogène, Les solvants ne servent pas seulement à générer des radicaux $\text{OH} \cdot$. Un autre avantage du procédé Fenton est la formation des complexes ferrico-hydroxylés favorisant la coagulation des matières en suspension après réactions d'oxydation. A titre d'exemple, la dégradation du diclofénac peut atteindre une minéralisation complète lors d'une diminution considérable du pH (**Ambalavanar et Habekost, 2018**).

➤ Ozonation

L'ozonation à pH élevé (> 8) est également considérée comme un POA en raison de la génération accrue des radicaux d'hydroxyle dans de telles conditions. Les avantages de ces procédés incluent la minéralisation complète des contaminants organiques, la production de moins de sous-produits nocifs et plus biodégradables, et la capacité à gérer des débits et des compositions fluctuants. La dégradation du diclofénac par exemple est fortement renforcée par l'ajout de peroxyde d'hydrogène (170 mg/L ; H_2O_2 / UV AOP) à plus de 90% de conversion. Tandis que l'ibuprofène et l'acide salicylique ont une réactivité modérée (**Ikehata et al., 2006 ; Paucar et al., 2019**).

Les principaux avantages des POA résident dans leur vitesse d'oxydation élevée des polluants organiques, leur flexibilité vis-à-vis des fluctuations de concentration et la dimension réduite des équipements associés par rapport à ceux utilisés pour le traitement biologique. Leurs principaux inconvénients résident dans les coûts opérationnels élevés associés à ces méthodes de traitement et les mesures de sécurité à adopter, dues à l'utilisation de produits chimiques hautement réactifs (ozone, peroxyde d'hydrogène) ou de sources d'énergie intenses, la formation de produits toxiques (en particulier l'apparition d'intermédiaires pouvant être encore plus dangereux que la molécule mère) et les conditions difficiles des réactions (**Feng et al., 2013 ; Zhang et al., 2013 ; Velichkova, 2014 ; Caracciolo et al., 2015 ; Palyzová et al., 2018 ; Žur et al., 2018**).

I.7.2. Dégradation biotique

Puisque les méthodes physico-chimiques actuellement utilisées se sont avérées plus difficiles à appliquer, les techniques biologiques basées sur les microorganismes sont envisagées en tant qu'option écologique et peu coûteuse ayant un potentiel considérable pour éliminer les produits pharmaceutiques en les dégradant en produits finis inoffensifs tels que le CO_2 et l' H_2O (**Marco-**

Urrea et al., 2010 ; Zhang et al., 2013 ; Caracciolo et al., 2015 ; Ismail et al., 2017 ; Palyzová et al., 2018 ; Žur et al., 2018).

Un grand nombre de microorganismes appartenant aux phylums des eubactéries, des levures et des champignons ainsi que certaines algues sont capables d'utiliser le paracétamol comme source de carbone et d'énergie (Wu et al., 2012).

Les genres *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter* et *Sphingomonas* sont connus pour l'élimination du PA. Par exemple *Pseudomonas moorei* KB4 possède un potentiel élevé de dégradation de ce médicament. Ainsi, plusieurs cultures pures des bactéries comprenant : *Delfinatsuruhatensis*, *Pseudomonas aeruginosa* HJ1012, *Burkholderia sp.* AK-4, *Rhodococcus ruber* IEGM77, *Stenotrophomonas sp.* f1et *Cupriavidus necator* F1 sont capables de le dégrader également (De Gusseme et al., 2011 ; Hu et al., 2013 ; Žur et al., 2018). De plus, l'espèce fongique de *Penicillium* possède la capacité d'utiliser le PA comme seule source de carbone pour la croissance (Hu et al., 2013).

Pour l'aspirine, il peut être dégradé par l'espèce *Sclerotinia sclerotiorum*, la co-culture de *Paracoccus thiocyanatus* et *Pseudomonas putida* ou par *Fusarium graminearum* qui peut l'utiliser comme source principale de carbone (Combarros et al., 2016 ; Rocheleau et al., 2019).

Le naproxène à son tour peut être dégradé par plusieurs microorganismes. Sa biotransformation s'effectue par les espèces de *Cunninghamella* grâce au système cytochrome P-450 monooxygénase : *C. blakesleeana* et *C. echinulata* le transforment en deux métabolites après 96 h, et qui sont le 6-O-desméthylenaproxène et le desméthylenaproxène-6-O-sulfate (Domaradzka et al., 2015). La souche *Bacillus thuringiensis* B1 est capable de le dégrader dans des conditions cométaboliques (Górny et al., 2019). En plus, *Trametes versicolor* est une autre espèce fongique connue pour son pouvoir de dégradation du PA (Marco-Urrea et al., 2010).

D'un autre côté, l'élimination bactérienne du diclofénac est effectuée au cours de l'oxydation du manganèse par *P. putida* MnB6 où la dégradation est accélérée par la présence de la biomasse bactérienne oxydant le manganèse. Il est également dégradé par *Raoultella sp.* (élimination de 92%) (Palyzová et al., 2018). Les souches *Phanerochaete chrysosporium* et *Phanerochaete sordida*YK-624 sont capables de dégrader le diclofénac jusqu'à 93% et la souche *Klebsiella sp.* KSC jusqu'au stade de minéralisation après 72h (Domaradzka et al., 2015 ; Stylianou et al., 2018). Selon Moreira et al., (2018), la souche *Labrys portucalensis* F11 possède la capacité de biotransformer 70% du diclofénac (10 mg/L) en 30 jours.

Diverses souches sont connues pour leur potentiel important de dégrader la codéine. La souche bactérienne KDF8 identifiée sous le nom de *Raoultella* sp. obtenue après mutagenèse chimique est capable d'éliminer partiellement la codéine (dégradation d'environ 30%) ainsi que l'ibuprofène et le kétoprofène qui sont également supprimés, bien que les taux d'élimination sont plus faibles (Marco-Urrea et al., 2010 ; Palyzová et al., 2018 ; Górný et al., 2019). La souche *P. putida* M10 est capable d'utiliser la morphine et la codéine comme seule source de carbone et d'énergie. Ainsi que *Arthrobacter* sp., *Pseudomonas testosteroni*, *Mycobacterium neoaurum* MTP650, *Streptomyces griseus* NRRL B8090 et *Rhizobium radiobacter* R89 qui sont habituellement utilisées dans la biotransformation de la codéine (Palyzová et al., 2018).

Les micro-algues interviennent également dans la biodégradation, comme le cas de *Chlorella* sp. qui est la plus résistante au kétoprofène. Elle est même capable de l'utiliser comme seule source de carbone à la fois dans l'obscurité ou en présence de la lumière continue (Ismail et al., 2016).

II. Matériels et méthodes

L'intégralité de notre travail a été réalisée au laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université de Jijel, durant la période Février-Juillet de l'année universitaire 2018/2019, l'objectif est d'étudier la biodégradation de quelques substances analgésiques par des cultures bactériennes isolées du sol.

II.1. Matériel

II.1.1. Echantillons de composts

Les composts utilisés dans notre travail pour l'isolement des souches bactériennes sont issus de différentes régions de la wilaya de Jijel en Algérie, récoltés à partir des régions regroupées dans le tableau 1 :

Tableau 1. Origines des isolats bactériens utilisés.

Compost	Origine	Région
1	Compost des terres agricoles	Djimar
2	Compost des terres agricoles	Taher
3	Compost ménager	Taher
4	Compost des terres agricoles	Bouachir-Taher

En plus de nos isolats issus de différentes origines, on a utilisé une souche de référence *Enterobacter hormaechei* D15 (Numéro d'accession : KJ863539), isolée des boues activées de la station d'épuration des eaux usées de Rabta-wilaya de Jijel en Algérie et identifiée génétiquement avec l'ARNr 16S par Dr. AISSAOUI Salima en 2010 (Aissaoui et al., 2017b).

II.1.2. Milieux de culture

Les différents milieux de culture utilisés sont :

-Le milieu minéral minimum (MMM) préparé au laboratoire, dont la composition est la suivante: FeSO₄.7H₂O (0.013 g/L), CaCl₂.2H₂O (0.013 g/L), MgSO₄.7H₂O (0.25 g/L), Na₂HPO₄(7.5 g/L), KH₂PO₄ (5.0 g/L), NH₄NO₃(5.0 g/L), extrait de levure (0.25 g/L), Agar-Agar (15 g/L) et 1000 ml de l'eau distillée. Avant autoclavage (20 min à 120°C), le pH est ajusté à 7.0± 0.2 (Aissaoui et al., 2017a).

-Gélose nutritive (GN) déshydratée ou prête à l'emploi (Institut Pasteur, BioKar[®])

-Bouillon nutritif (BN) déshydraté ou prêt à l'emploi (FAPROLAB[®], BioKar[®])

-Milieu mannitol mobilité (FAPROLAB[®])

-Milieu bouillon nitraté (FAPROLAB[®])

II.1.3. Produits chimiques

Durant notre étude, les tests de biodégradation ont été basés sur le principe actif du PA avec une pureté de 99%. Ce dernier a été fourni par le groupe industriel SAIDAL, sous forme d'une poudre blanche. Les autres produits chimiques utilisés sont :

- Eau physiologique stérile (NaCl 9‰)
- Eau distillée stérile
- Réactif de Kovac's
- Huile de vaseline
- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Réactifs de Vogues Proskauer 1 et 2 (VP1 et VP2)
- Tryptophane désaminase (TDA)
- Réactifs de nitrate réductase I et II (NR I et NRII)
- Poudre de zinc
- Méthanol (SIGMA-ALDRICH)
- Eau oxygénée (H₂O₂)
- Violet de gentiane
- Fushine
- Lugol
- Huile à immersion

II.1.4. Appareillage

- Autoclave (Slli AVX electronic)
- Bain-marie (Gerhardt Bonn)
- Balance (KERN)
- Balance analytique (KERN ALS220-4N)
- Bec Bunsen
- Centrifugeuse (Hettich ZENTRIFUGEN)
- Etuve (Memmert)
- Microscope optique (Motic)
- Microscope à camera (PARALUX)
- Microscope à loupe (PARALUX)
- Etuve agitatrice (INFORS HT Ecotron)
- Four Pasteur (Memmert)

- Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (SHIMADZU)
- Galerie API20^E (BioMérieux)
- Microfiltres (Sartorius RC 0.22µm)
- pH mètre (Hanna Instruments)
- Plaque chauffante agitatrice (Heidolph)
- Réfrigérateur
- Spectrophotomètre (SHIMADZU)
- Vortex (VWR VV3)

II.2. Méthodes

II.2.1. Adaptation

L'isolement de la flore tellurique a été effectué dans le laboratoire de recherche à l'université de Jijel pendant la période Février-Avril, le but étant d'adapter la flore tellurique aux médicaments testés, réduisant ainsi les souches non tolérantes. Dans quatre erlenmeyers de 250 ml (un erlenmeyer pour chaque échantillon), les composts (environ 2 cm d'épaisseur) ont été imbibés par l'eau et additionnés de deux sachets d'aspirine (ASPÉGIC[®] 100 mg) et deux comprimés de paracétamol (Expandol[®] 300 mg) comme facteurs de sélection. L'incubation était faite en aérobiose à température ambiante avec addition d'eau chaque semaine (Žur et al., 2018).

Remarque : L'étude a été poursuivie avec le paracétamol seulement, vu que le principe actif de l'aspirine est indisponible durant la période du travail.

II.2.2. Préparation de la solution mère du PA

La solution mère du PA a été préparée dans l'eau distillée pour donner une concentration finale de 10 mg/ml et stérilisée par des microfiltres (Sartorius RC 0.22 µm). La solution, par la suite, était bien conservée dans l'obscurité à 5°C (Palma et al., 2018).

II.2.3. Préparation du Milieu Minéral Minimum solide additionné du PA

La gélose MM a été préparée comme indiqué dans l'annexe I, après stérilisation et refroidissement (en surfusion), un volume de 0,2 ml (10 mg/ml) de la solution mère du PA a été ajouté à 200 ml du milieu MM afin d'aboutir à une concentration finale de 10 mg/L.

II.2.4. Isolement et purification des souches telluriques capables de croître en présence du PA comme source unique de carbone et d'énergie

La solution mère a été préparée en ajoutant 1 g du sol dans 9 ml d'eau physiologique. Puis, des dilutions décimales ont été réalisées jusqu'à 10⁻³. L'ensemencement a été effectué par étalement

sur le milieu gélosé MM additionné du principe actif du PA (10 mg/ml), puis incubé à 37°C pendant 48 h.

La purification des isolats a été procédée par repiquage successif sur GN (voir la composition dans l'annexe I) par stries serrés. Le repiquage a été poursuivit jusqu'à l'obtention d'une culture homogène où toutes les colonies sont identiques entre elles (Hu et al., 2013).

II.2.5. Conservation des souches

Les souches bactériennes isolées et purifiées ont étéensemencées sur GN inclinée et incubées à 37°C pendant 24 h, puis conservées dans le réfrigérateur à 4°C (Botton et al., 1990).

II.2.6. Identification des souches bactériennes isolées

Après obtention des cultures bactériennes pures, l'identification des isolats a été faite en se basant sur les caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques), physiologiques et biochimiques des colonies (Hu et al., 2013).

II.2.6.1. Aspect macroscopique

Après incubation, le premier critère d'identification sur lequel l'étude se base est l'aspect macroscopique des colonies vues à l'œil nue, que ça soit taille, forme du relief (bombée, semi bombée, plate), couleur, aspect (collant, filamenteux...), transparence (opaque, translucide), allure des contours (réguliers, dentelés) et aspect de la surface (lisse ou rugueuse) (Kämpfer et al., 1991 ; Grant et al., 2002).

II.2.6.2. Aspect microscopique

- **Coloration de Gram**

Après la préparation du frottis, il a été recouvert de violet de gentiane et laissé pendant une minute. L'eau a été ajoutée pour éliminer l'excès du colorant en veillant à ne pas détacher le frottis. Après, ce dernier a été recouvert de quelques gouttes de lugol pendant 30 s, puis rincé à l'eau. L'alcool a été ensuite ajouté au frottis goutte à goutte jusqu'à ce que le violet de gentiane disparaisse. Enfin, la fuschine a été ajoutée puis laissée pendant 1 min. La lame a été ensuite rincée à l'eau et séchée à l'air. Après avoir recouvert le frottis par l'huile à immersion, la lame a été montée sur la platine, puis l'objectif X100 a été choisi pour effectuer les observations. L'observation a consisté à noter la forme des cellules (forme longue ou forme sphérique) et à noter la coloration des cellules. Les cellules colorées en roses ou rouges sont considérées comme des bactéries à Gram négatif, tandis que les bactéries colorées en violettes ou bleues sont des bactéries à Gram positif (Delarras, 2007).

II.2.6.3. Caractéristiques biochimiques

➤ Recherche de la catalase

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée, sa présence est mise en évidence en déposant, à l'aide d'une pipette Pasteur, quelques gouttes d'eau oxygénée à 10% sur une colonie isolée (**Delarras, 2007**). La décomposition de l'eau oxygénée se traduit par un dégagement de bulles de gaz (catalase positif) selon la réaction suivante : $\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{O}_2$

➤ Recherche de la lécithinase

Le jaune d'œuf, substrat complexe est composé de lécithine, de triglycérides et d'une lipoprotéine. Il permet de chercher les trois enzymes : la lécithinase, la lipase et les lipoprotéases (**Delarras, 2007**). Dans notre cas on s'intéresse à chercher uniquement la lécithinase.

Avant de lancer ce test, une émulsion de jaune d'œuf a été préparée en mettant stérilement à quantités égales, le jaune d'œuf et l'eau physiologique. Pour préparer la gélose à l'œuf, un volume de 1.5 ml de la suspension a été déposé au fond de la boîte de Pétri, et la gélose en surfusion (refroidie à 45°C) a été coulée sur le jaune d'œuf en faisant un mouvement rotatoire pour bien homogénéiser le mélange. Après séchage, les boîtes ont étéensemencées par stries et incubées à 37°C pendant 24 h (**Joffin et Leyral, 2006**).

➤ Recherche de la mobilité/ fermentation du mannitol

Le milieu Mannitol Mobilité Nitrate est une gélose molle (annexe I) conditionnée en tubes qui permet d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries.

L'ensemencement a été réalisé par piqûre centrale dans la gélose jusqu'au fond des tubes à l'aide d'une pipette Pasteur. La fermentation du mannitol se traduit par un virage du milieu au jaune.

Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement (**Gerhardt et al., 1994**).

➤ Recherche de la nitrate réductase

En absence d'oxygène, certaines bactéries peuvent obtenir leur énergie par respiration anaérobie. Cette dernière est liée à l'activité d'enzymes localisées dans la membrane plasmique bactérienne. Le bouillon nitraté (annexe I) a étéensemencé et incubé à 37°C pendant 24 h. Quelques gouttes de réactif NRI et NRII ont été ajoutées après incubation.

-Le milieu devient rouge, il y a donc présence de nitrites. La bactérie possède donc un nitrate réductase. **Résultat NR⁺**.

-Si le milieu reste inchangé la poudre de zinc est ajoutée pour jouer le même rôle que le nitrate réductase vis-à-vis des nitrates :

- Coloration rouge : il y a transformation des nitrates en nitrites par le zinc. La bactérie ne possède pas cette enzyme. **Résultat NR⁻**.
- Pas de coloration : les nitrates sont transformés par la bactérie au-delà des nitrites. La bactérie possède cette enzyme. **Résultat NR⁺** (Ängeby et al., 2002).

II.2.6.4. La galerie API 20^E BioMérieux

Les autres tests biochimiques : recherche de la β -galactosidase (ONPG), de l'ornithine décarboxylase (ODC), de la lysine décarboxylase (LDC) et de l'arginine dihydrolase (ADH), production d'H₂S, utilisation du citrate, production d'indole et réaction de Vogues-Proskauer, liquéfaction de la gélatine et la dégradation des sucres ont été réalisés en utilisant la plaque API 20^EBiomérieux.

Les galeries API 20^E (figure 3) ont permis de réaliser ces différents tests selon la recommandation du fabricant (Biomérieux, France). La galerie se compose de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés pour réaliser les 20 tests biochimiques miniaturisés. Les microtubes sont inoculés avec la suspension bactérienne à identifier. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau d'identification qui est obtenu à partir du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (Grisez et al., 1991 ; Biomérieux, 2006).

Selon les instructions du fabricant (Biomérieux, France), le principe consiste à introduire la suspension bactérienne dans chaque cupule à l'aide d'une seringue stérile, appuyée à l'intérieur et sur le côté afin d'éviter la formation de bulles. Les tests d'urée et d'O.N.P. G sont des tests à réactions spontanées alors que les tests d'indole et d'acétoïne nécessitent l'addition de réactifs après incubation.

Au-delà des notions de classification, l'identification repose sur le profil biochimique de la bactérie.

Au niveau du laboratoire les étapes suivantes ont été suivies :

- **Préparation de la galerie**

Le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation sont réunis, ensuite l'eau est répartie dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, la galerie est déposée stérilement dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure jeune de 18 h, une suspension bactérienne a été préparée dans 5ml d'eau distillée stérile. Ensuite, elle a été bien homogénéisée à l'aide d'un vortex, cette suspension doit être utilisée extemporanément.

- **Inoculation de la galerie**

Un volume de 150 µl de la suspension bactérienne a été déposé soigneusement dans chaque cupule de la galerie, puis 150 µl de la suspension bactérienne a été ajouté de nouveau aux cupules (citrate), VP (pyruvate de sodium) et GEL (gélatine) afin d'obtenir au volume final de 300 µl par puits, après l'inoculum, les cupules ADH (arginine déshydrolase), LDC (lysine déshydrolase), ODC (ornithine décarboxylase), H₂S (sulfure d'hydrogène) et URE (uréase) ont été recouvert par l'huile de vaseline afin de créer une anaérobiose, la galerie a été incubée à 37°C pendant 24 h. Après la durée d'incubation, la lecture de la galerie a été faite pour l'ensemble des micro-tubes sauf pour les micro-tubes VP, TDA et IND (indole) dont la lecture n'a été faite qu'après l'addition des réactifs nécessaires de la façon suivante :

- TDA : une goutte de réactif de TDA a été additionnée. La lecture de la réaction se fait immédiatement.
- IND : la lecture de la réaction se fait aussi immédiatement après l'ajout d'une goutte du réactif de Kovac's.
- Test acétoïne ou réaction de Vogues-Proskauer (VP) : Si après ajout de VP1 et VP2, il y a apparition de coloration rose ou rouge au bout de 15 min, la souche testée produit de l'acétoïne.
- ❖ La lecture des autres tests de la galerie est mentionnée dans l'Annexe II.



Figure 3. La galerie API 20^E pour l'identification des entérobactéries.

II.2.7. Screening des souches telluriques capables de croître en présence du PA comme source unique de carbone et d'énergie

II.2.7.1. Préparation de l'inoculum

Une colonie de chaque souche a étéensemencée dans un flacon de 200 ml contenant 5 ml de BN (annexe I). L'incubation a été effectuée dans l'étuve à agitation (37°C/150 rpm) pendant 18 h. La culture a été centrifugée dans des tubes à hémolyse stériles à 30000 rpm pendant 20 min. Le lavage du culot a été effectué par une solution de NaCl 9‰. Une deuxième centrifugation a été faite à 30000 rpm pendant 10 min. Le culot cellulaire était ensuite suspendu dans 1ml d'eau physiologique et agité par le vortex (Žur et al., 2018).

II.2.7.2. Inoculation du milieu de culture et suivi de la croissance des dix isolats telluriques choisis

Dans des flacons stériles de 200 ml contenant 19 ml du milieu liquide MM et additionné de 40 µl du PA (10 mg/L) comme seule source de carbone et d'énergie, un volume de 1 ml d'inoculum a été ajouté. L'incubation était faite dans l'étuve à agitation à 150 rpm pendant 72 h avec mesure de l'absorbance à 600 nm (comme indicateur de la croissance) chaque 24 h (Žur et al., 2018).

II.2.8. Effet de la variation de la concentration du PA sur la croissance de la souche S4

Différentes concentrations du PA 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 40 mg/L et 50 mg/L ont été préparées dans 9 ml du milieu MM et inoculées par un 1ml d'une culture jeune de 18 h, puis incubée à 37°C pendant 72 h sous agitation (150 rpm). La DO a été lue à 600 nm chaque 24 h (Žur et al., 2018).

II.2.9. Effet du pH initial sur la croissance de la souche S4 en présence du PA

Dans 5 flacons contenant 9ml du milieu MM, le pH a été ajusté à 6, 6.5, 7, 7.5, 8, puis additionné de 10 µl du PA (10 mg/L). Par la suite, les flacons ont été inoculés par 1 ml de culture jeune de 18 h et incubé à 37°C pendant 72 h sous agitation (150 rpm). La DO a été mesurée à 600 nm chaque 24 h (Hu et al., 2013).

II.2.10. Analyse du PA par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Des cultures jeunes de deux souches bactériennes S4 et D15 ont été centrifugées à 30000 rpm pendant 20 min. Le lavage des culots a été effectué par une solution de NaCl 9‰. Une deuxième centrifugation a été faite à 30000 rpm pendant 10 min. Les culots cellulaires étaient ensuite suspendus dans 1 ml d'eau physiologique et agité par le vortex.

Le test de biodégradation du PA par les isolats S4 et D15 a été effectué dans deux flacons de 200 ml contenant 19 ml du milieu MMensemencé par 5% de la culture bactérienne de S4 et D15 en présence de 40 µL du PA (10 mg/L).

Les cultures bactériennes ont été incubées à 37°C sous agitation (150 rpm). Les flacons ont été couverts par le papier aluminium pour éviter l'effet de la photodégradation. Au cours de l'incubation, la croissance bactérienne a été estimée par mesure de la DO à 600 nm pendant trois temps différents (t_0 , t_{24} , t_{48}).

Parallèlement, et à partir de chaque flacon des échantillons de 2 ml ont été prélevés, centrifugés à une vitesse de 30000 rpm pendant 15 min. Les surnageants sont filtrés à l'aide des micro-filtres de 0.22 μm , ensuite conservés au congélateur pour le dosage ultérieur du PA par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Pour l'étalonnage, différentes concentrations du PA ont été préparées (5, 10, 15, 20 et 25) mg/L.

Les concentrations du PA ont été mesurées par chromatographie en phase liquide à haute performance. Cette dernière est équipée d'un détecteur UV-visible à 254 nm (SPD- 20AV), un dégazeur (DGU -20A₃), une pompe (LC-20 AT) et un enregistreur (C-R8A). La phase mobile était un mélange de méthanol et d'eau avec le rapport de 15 :85 (volume : volume). Le débit de la phase mobile était de 0,8 ml/min et la colonne la température était de 30°C (**Huet al., 2012**).

II.2.11. Calcul du taux de croissance cellulaire

Pour calculer le taux de croissance nous avons utilisé l'équation suivante (**Wei et al., 2009**) :

$$\text{Taux de croissance } (\mu) = \frac{1}{\text{DO}_0} \times \frac{(\text{DO}_t - \text{DO}_0)}{(\text{T}_t - \text{T}_0)}$$

μ : taux de croissance.

DO_t : densité optique dans une valeur du temps.

DO_0 : densité optique du temps initial.

T_t : le temps après l'incubation.

T_0 : le temps initial.

II.2.12. Calcul du taux de réduction des médicaments

Le taux de réduction des médicaments après analyse par HPLC a été calculé comme indiqué dans la formule suivante (**Aissaoui et al., 2017c**) :

$$\text{Taux d'élimination } (\%) = \frac{C_0 - C_i}{C_0} (100)$$

C_0 : la surface du pic de médicamentant en T_0

C_i : la surface du pic de médicament en T

III. Résultats et discussion

III.1. Identification des isolats

L'analyse des échantillons du sol a permis d'obtenir 10 isolats bactériens qui possèdent une bonne croissance sur les milieux MM gélosé et GN à 37°C. Les résultats sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Nombre et origine des isolats choisis.

Echantillon	Compost 1	Compost 2	Compost 3	Compost 4
Isolat	Isolat 1	Isolat 4	Isolat 6	Isolat 9
	Isolat 2	Isolat 5	Isolat 7	Isolat 10
	Isolat 3		Isolat 8	

L'identification des 10 isolats a porté sur l'étude des caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques.

III.1.1. Identification morphologique

Les caractères cultureux et la morphologie des colonies des isolats sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3. Caractérisation des isolats du sol, basée sur les critères morphologiques.

Isolat	Taille	Forme	Élévation	Consistance	Couleur
S1	Petite	Irrégulier	Demi-aplatie	Crémeuse	Blanche
S2	Petite	Irrégulier	Aplatie	Sèche	Jaune clair
S3	Petite	Irrégulier	Aplatie	Sèche	Blanche
S4	Grande	Irrégulier	Demi-aplatie	Crémeuse	Blanche
S5	Moyenne	Irrégulier	Aplatie	Sèche	Blanche
S6	Petite	Circulaire	Aplatie	Sèche	Jaune clair
S7	Petite	Circulaire	Aplatie	Sèche	Blanche
S8	Moyenne	Rhizoïde	Aplatie	Sèche	Blanche
S9	Petite	Circulaire	Aplatie	Crémeuse	Blanche
S10	Moyenne	Circulaire	Aplatie	Sèche	Blanche

La caractérisation morphologique des colonies apparues sur les milieux MM et GN sont variables selon les isolats. Le type de colonies dominant est caractérisé par des aspects aplatis, irréguliers, secs, de taille petite à grande, de forme circulaire, irrégulière ou rhizoïdale avec une consistance crémeuse ou sèche et une couleur jaune à blanchâtre.

III.1.2. Identification physiologique et biochimique des isolats

D'après le tableau 4, les isolats se répartissent en bacilles ou cocci, Gram positif ou négatif, aérobie à aéro-anaérobie facultatifs. Par ailleurs, la totalité des isolats possèdent une nitrate réductase et une catalase, sauf la souche S2 qui en est dépourvue. Pour le test de lécithinase, les isolats S1 et S9 sont lécithinase positive, alors que les autres isolats sont lécithinase négative.

Ces caractères d'identification ne sont pas suffisants pour une orientation précise vers le genre ou l'espèce des isolats, du fait qu'il existe d'autres tests clés dans l'identification qui n'ont pas été réalisés. Pour les isolats Gram négatif, nous avons utilisés la galerie API 20^E destinée pour les entérobactéries.

Tableau 4. Identification physiologique et biochimique des isolats du sol.

Isolat	Gram	Morphologie cellulaire	Mannitol mobilité	Lécithinase	Nitrate réductase	Catalase
S1	-	Bacille	Mobile/ mannitol ⁺	+	+	+
S2	+	Bacille	Mobile/ mannitol ⁻	-	+	-
S3	+	Bacille	Immobilé/ mannitol ⁻	-	+	+
S4	-	Bacille	Mobile/ mannitol ⁺	-	+	+
S5	+	Cocobacille	Immobilé/ mannitol ⁻	-	+	+
S6	+	Bacille	Immobilé/ mannitol ⁻	-	+	+
S7	+	Bacille	Immobilé/ mannitol ⁻	-	+	+
S8	+	Bacille	Immobilé/ mannitol ⁻	-	+	+
S9	+	Cocci	Immobilé/ mannitol ⁻	+	+	+
S10	+	Cocci	Immobilé/ mannitol ⁻	-	+	+

III.1.3. Identification par la galerie API 20^E

Les résultats de l'identification par la galerie API 20^E sont obtenus par l'utilisation du logiciel "Apident" destiné pour l'identification des entérobactéries et présentés dans le tableau 5. L'isolat S1 possède les caractéristiques suivantes : ONPG⁻, ADH⁻, LDC⁻, ODC⁻, CIT⁻, H₂S⁻, URE⁻, TDA⁺, IND⁻, VP⁻, GEL⁺, GLU⁻, MAN⁻, INO⁻, SOR⁻, RHA⁻, SAC⁻, MEL⁻, AMY⁻ et ARA⁻, ainsi que l'isolat S4 qui est caractérisé par : ONPG⁻, ADH⁺, LDC⁻, ODC⁻, CIT⁺, H₂S⁻, URE⁻, TDA⁺, IND⁻, VP⁻, GEL⁺, GLU⁻, MAN⁻, INO⁻, SOR⁻, RHA⁻, SAC⁻, MEL⁻, AMY⁻ et ARA⁻ (Annexe III).

Tableau 5. Résultats de l'identification des souches S1 et S4 par la galerie API 20^E.

Souche	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
S1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S4	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Selon les caractéristiques morphologiques, phénotypiques, biochimiques et la galerie API 20^E, il est démontré que l'isolat S1 appartient à l'espèce *Aeromonas salmonicida* (60.5%). Tandis que l'isolat S4 appartient à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* (67%), toutefois d'autres tests sont nécessaires pour confirmer ce résultat.

P. aeruginosa est une souche connue pour son potentiel important de biodégradation des polluants médicamenteux comme les antalgiques (en particulier le paracétamol) (Zhang et al., 2013).

III.3. Screening des isolats telluriques capables de croître en présence du PA comme source unique de carbone

Ce test a été conçu afin d'évaluer la capacité de chaque isolat pur à croître en présence de 10 mg/L du PA. Nous pouvons constater d'après les résultats illustrés dans les figures 4, 5 et 6, que la croissance des souches débute dès les premières heures d'incubation avec des valeurs de DO allant de 0.105 à 0.387 (Annexe IV).

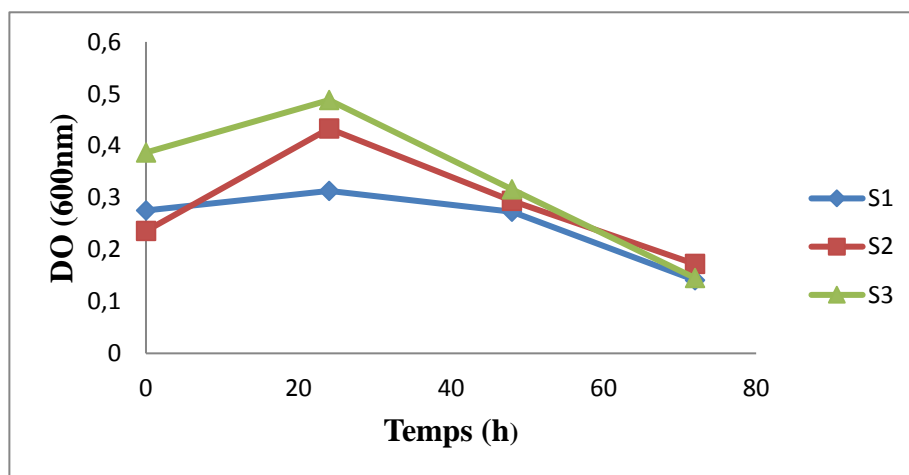


Figure 4. Croissance des isolats S1, S2 et S3 en présence du PA comme Source de carbone et d'énergie.

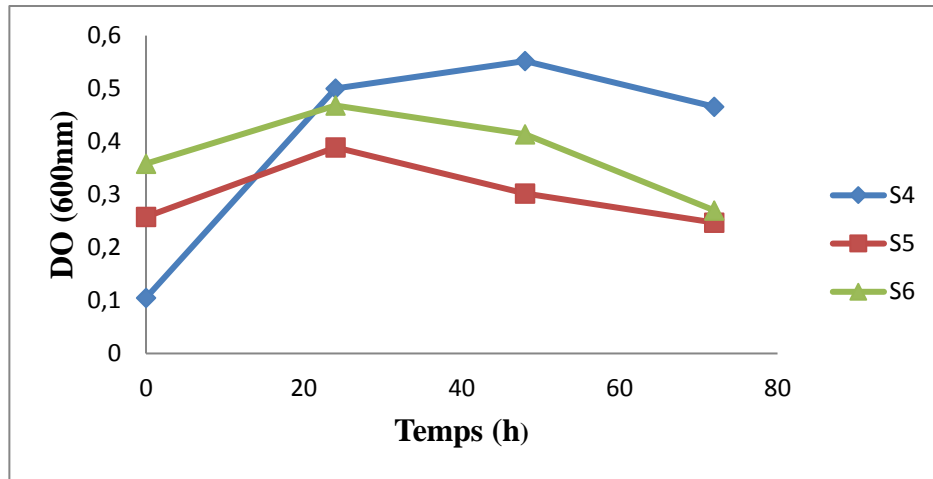


Figure 5. Croissance des isolats S4, S5 et S6 en présence du PA comme source de carbone et d'énergie.

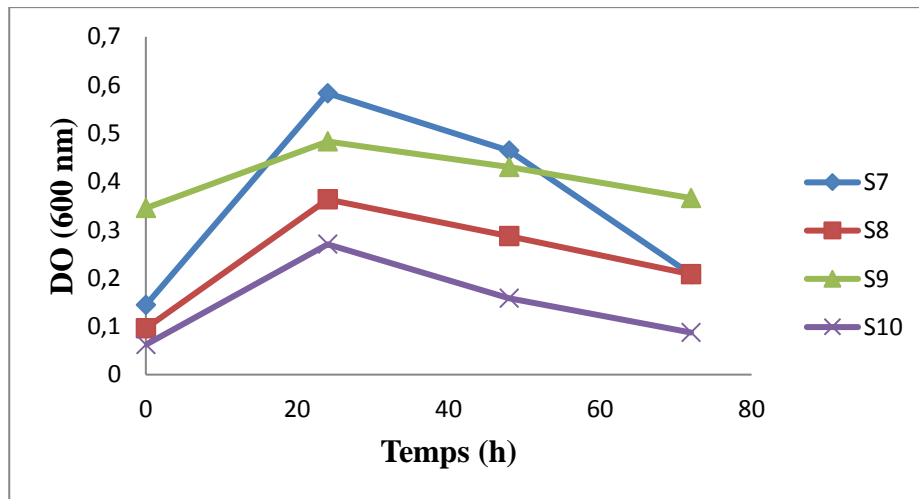


Figure 6. Croissance des isolats S7, S8, S9 et 10 en présence du PA comme source de carbone et d'énergie.

Une absence de la phase de latence a été remarquée pour tous les isolats, ce qui est due probablement à une adaptation des isolats avec l'antalgique pendant la période d'enrichissement. Mais, une augmentation faible de la croissance a été observée à 24 h d'incubation pour les souches S1, S3, S6, S9, S5 et S2 : 0.313 (TC= 0.003h⁻¹), 0.488 (TC= 0.01h⁻¹), 0.468 (TC= 0.012h⁻¹), 0.483 (TC= 0.016h⁻¹), 0.389 (TC= 0.02 h⁻¹) et 0.433 (TC= 0.034 h⁻¹), respectivement, et moyenne pour les souches S8, S7, S10 et S4 : 0.363 (TC= 0.115 h⁻¹), 0.583 (TC= 0.126 h⁻¹), 0.270 (TC= 0.139 h⁻¹) et 0.500 (TC= 0.156 h⁻¹), respectivement (Tableau 6). Après 24 h, une diminution importante de la croissance a été observée pour la

totalité des isolats, sauf pour l'isolat S4 qui a continué à croître légèrement jusqu'à 0.552 à 48 h puis elle a atteint la phase de déclin.

Tableau 6. Taux de croissance des dix isolats en présence du PA comme seule source de carbone et d'énergie.

Isolat	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
μ (h ⁻¹)	0.003	0.034	0.01	0.156	0.02	0.012	0.126	0.115	0.016	0.139

L'évaluation de la croissance par mesure de la DO à 600 nm nous permet de montrer la capacité de nos isolats à croître dans le milieu MM liquide en présence du PA comme seule source de carbone et d'énergie, grâce à une machinerie enzymatique ayant été probablement induite pendant l'étape d'adaptation. Les isolats S1, S2, S3, S5, S6 et S9 ont une capacité faible à croître en présence de l'antalgique alors que pour les isolats S4, S7, S8 et S10, la croissance est relativement moyenne.

Du fait que **Urase et Kikuta, (2005)** ont montré la capacité de ce médicament de s'adsorber sur les surfaces solides. Dans ce contexte, la quantité du PA additionné a été probablement adsorbée sur la surface cellulaire de nos isolats.

D'après nos résultats, nous pouvons dire que la souche *P. aeruginosa* S4 a montré le taux de croissance le plus élevé par rapport aux autres isolats. Ceci nous laisse supposer que cette souche isolée du sol ; comme les autres d'ailleurs ; présente probablement l'aptitude à biodégrader le médicament testé, à le biotransformer ou à le minéraliser. Nos données peuvent être confirmés par ceux obtenus par **Hu et ses collaborateurs (2013)** qui ont démontré la capacité de *P. auroginosa* d'utiliser le PA en tant que source unique de carbone et d'énergie et le dégrader jusqu'au stade de minéralisation en libérant le CO₂ et le H₂O.

Dans ce cas, la souche de *P. aeruginosa* S4 a été sélectionnée pour tester son éventuel potentiel de biodégradation du PA dans différentes conditions.

III.3. Effet de la variation de la concentration du PA sur la croissance de *P. aeruginosa* S4

Ce test a été réalisé afin d'évaluer la croissance de la souche *P. aeruginosa* S4 en présence de différentes concentrations du PA.

La figure 7 montre les résultats de la croissance de la souche S4 obtenus par mesure de la DO à 600 nm, en présence de différentes concentrations du PA (10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 40 mg/L et 50 mg/L).

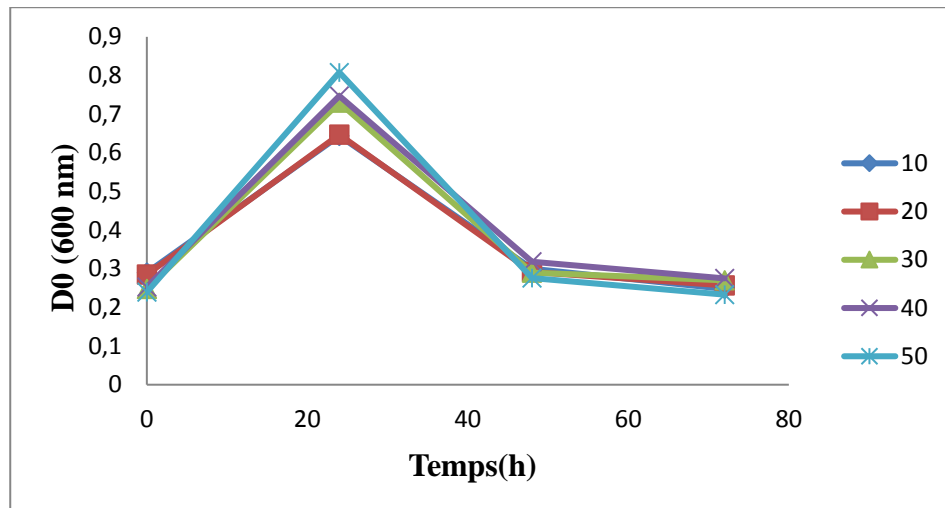


Figure 7. Effet de la variation de la concentration du PA sur la croissance de *P. aeruginosa* S4 à 37°C.

La croissance de *P. aeruginosa* S4 débute dès les premières heures d'incubation avec des valeurs de DO allant de 0.239 à 0.290. Toutefois, une augmentation importante de la croissance est atteinte après 24 heures d'incubation : 0.644 (TC= 0.05 h⁻¹), 0.647 (TC= 0.052 h⁻¹), 0.730 (TC= 0.08 h⁻¹), 0.747 (TC= 0,081 h⁻¹), 0.808 (TC= 0.099 h⁻¹) pour les concentrations 10 mg/L, 20 mg/L, 30mg/L, 40 mg/L, 50 mg/L, respectivement (Tableau 7 et Annexe V).

Tableau 7. Taux de croissance de *P. aeruginosa* S4 à différentes concentrations du PA.

Concentration (mg/L)	10	20	30	40	50
μ (h ⁻¹)	0.050	0.052	0.080	0.081	0.099

Selon les résultats ci-dessus, on remarque que le taux de croissance spécifique augmente avec l'augmentation de la concentration de paracétamol avec une meilleure croissance dans la concentration la plus élevée du médicament (50 mg/L).

Cependant, après 24 h d'incubation, la croissance de la souche a été diminuée. Cela signifie qu'un changement dans les conditions du milieu a eu lieu notamment un épuisement de la source de carbone avec accumulation de métabolites toxiques.

Tant que la souche S4 est capable de croître en présence de 50 mg/L du PA, il est donc possible d'avoir un potentiel de biodégradation plus important dans des concentrations au-delà de 50 mg/L. Selon des études récentes, les souches de *Pseudomonas* peuvent tolérer des seuils du PA à 2200 mg/L et même à 2500 mg/L (Hu et al., 2013 ; Zhang et al., 2013).

III.4. Effet de la variation du pH sur la croissance de la souche S4 en présence du PA

Une gamme de pH variant entre 6 et 8 a été utilisée pour tester la capacité de la souche *P. aeruginosa* S4 à croître en présence du PA. Les effets du pH sur la croissance ont été examinés pendant 72 h.

D'après les résultats obtenus (figure 8), le rendement de la biomasse dans les différentes valeurs de pH (6, 6.5, 7, 7.5 et 8) était important. La souche a la capacité de croître dans l'intervalle [6-8] avec un meilleur potentiel de croissance à pH 7 qui est considéré comme le pH optimal de la souche (Hu et al., 2013).

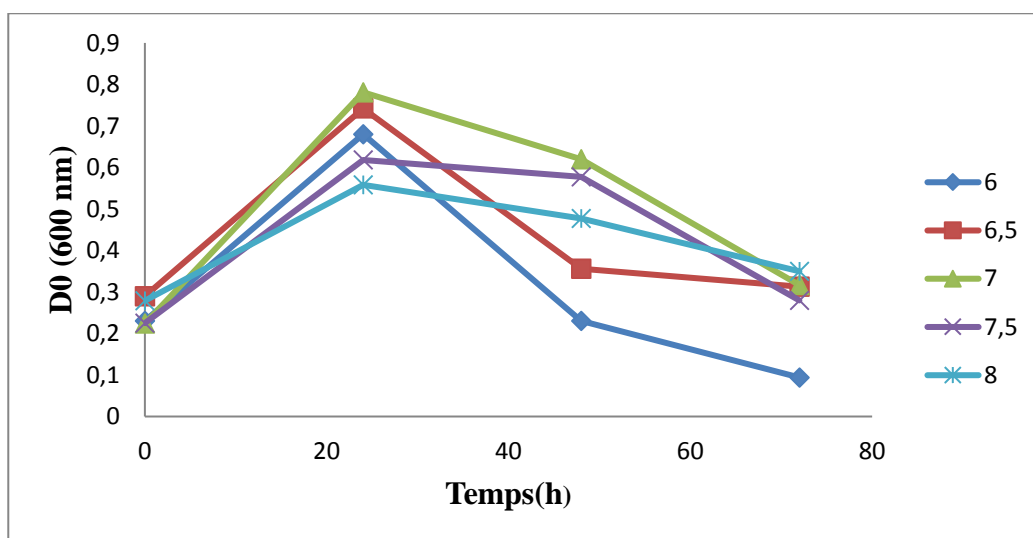


Figure 8. Effet de la variation du pH sur la croissance de *P. aeruginosa* S4 en présence du PA à 37°C.

Nos résultats montrent que la croissance de *P. aeruginosa* S4 débute dès les premières heures d'incubation avec des valeurs de DO allant de 0.224 à 0.290. Toutefois, une augmentation importante de la croissance est atteinte après 24 heures d'incubation : 0.680 (TC= 0.08 h⁻¹), 0.742 (TC= 0.06 h⁻¹), 0.781 (TC= 0.10 h⁻¹), 0.618 (TC= 0,07 h⁻¹), 0.558 (TC= 0.04 h⁻¹) pour les pH 6, 6.5, 7, 7.5, 8, respectivement (Tableau 8 et Annexe VI).

Tableau 8. Taux de croissance de *P. aeruginosa* S4 à différentes valeurs du pH.

pH	6	6.5	7	7.5	8
μ (h ⁻¹)	0.08	0.06	0.10	0.07	0.04

Le pH peut influencer la dégradation du PA par deux mécanismes différents. Premièrement, la valeur du pH peut modifier à la fois la structure des enzymes et l'affinité aux substrats ainsi que la vitesse de biodégradation. De plus, à différentes valeurs du pH, la charge de surface de la cellule bactérienne peut être modifiée, ce qui affecte la sorption. A des valeurs du pH plus élevées, la surface des cellules bactériennes devient négative, conduisant à des modifications des interactions électrostatiques entre le médicament et la surface de la biomasse tant qu'une corrélation entre les processus de biosorption et de biodégradation a été largement observée.

Deuxièmement, la forme du paracétamol peut être modifiée par différentes valeurs du pH. A un pH faible, le paracétamol se présente sous forme protonée avec formation du phénolate (RO^-) dans un environnement alcalin. Puisque le pK_a du PA est de 9.5 à un environnement légèrement alcalin, ce composé est présent dans la forme non ionique (Žur et al., 2018).

III.5. Analyse du PA par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Parallèlement à la croissance bactérienne (Annexe VII), ce test nous a permis d'évaluer la biodégradation métabolique du PA par les souches S4 et D15.

A partir des échantillons prélevés après différents intervalles du temps (t_0 , t_{48}), la concentration du PA a été mesurée en utilisant l'HPLC (Annexe VIII). Nous pouvons observer une réduction importante de la concentration du PA jusqu'à 4.7 mg/L pour la souche *P. aeruginosa* S4 et 2.06 mg/L pour la souche D15 après 48 h d'incubation (Figure 9), dont la capacité de deux souches bactériennes à éliminer le PA était remarquable, de l'ordre de 58.24% par la souche *P. aeruginosa* S4 et 67.57% par la souche et *E. hormaechei* D15 (figure 10).

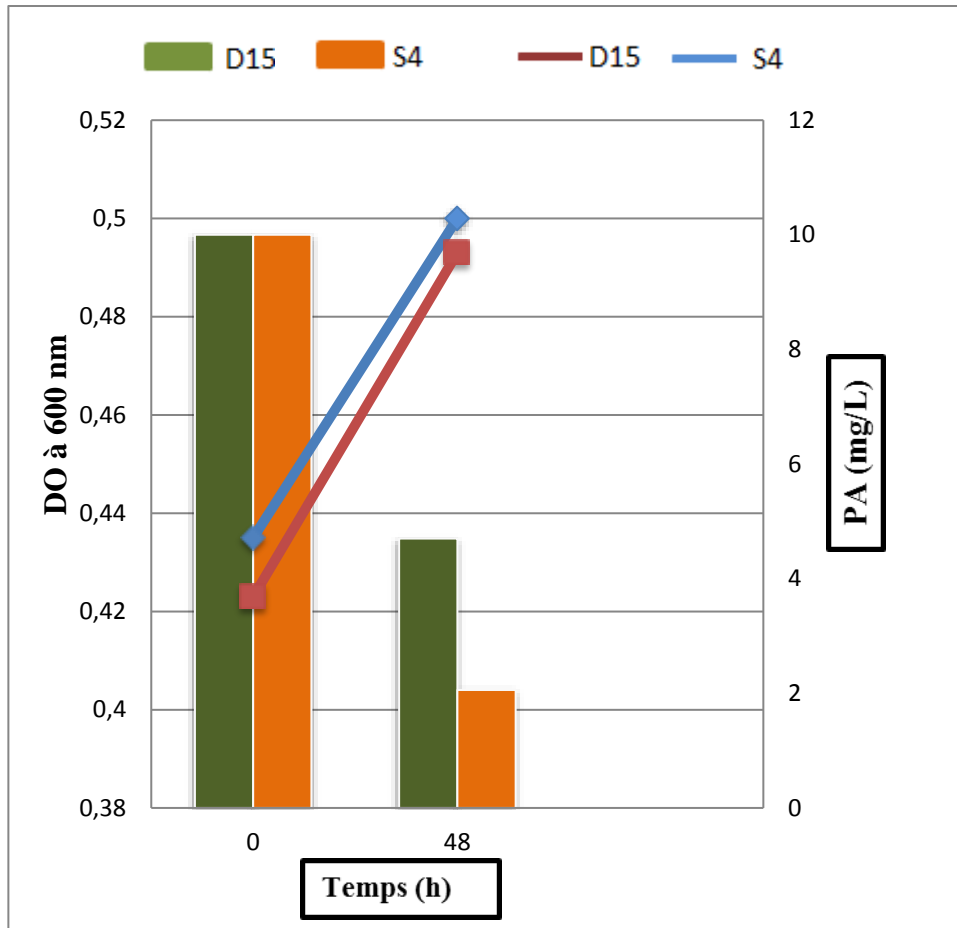


Figure 9. Evolution de la concentration du PA après 48 h d'incubation.

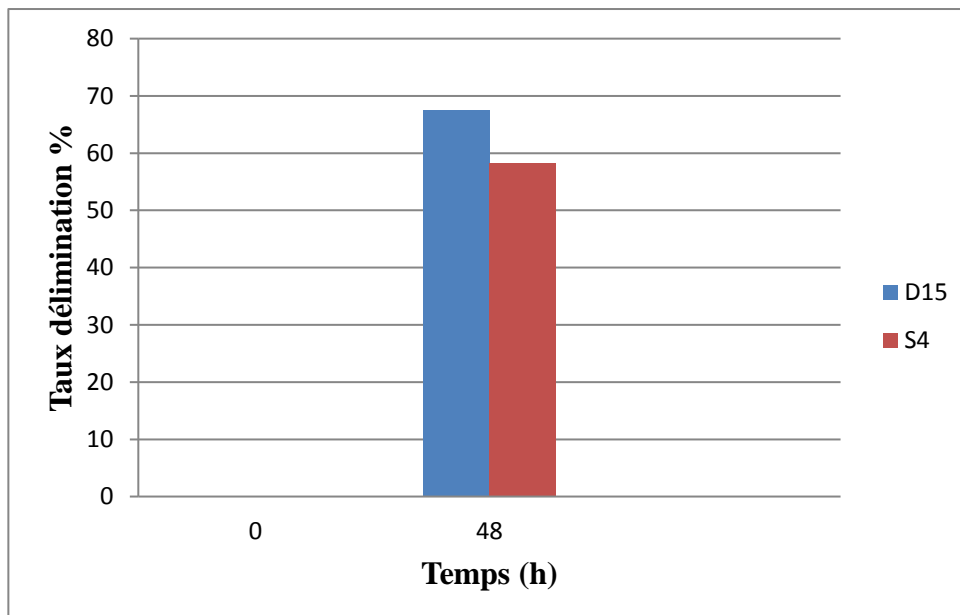


Figure 10. Taux d'élimination du PA par la souche *P. aeruginosa* S4 et *E. hormaechei* D15.

En se basant sur ces résultats, nous pouvons dire que, les souches *P. aeruginosa* S4 et *E. hormaechei* D15 sont capables de dégrader le PA en culture pure avec un potentiel de biodégradation modéré pour la souche S4 et important pour la souche D15.

Ces données peuvent être confirmées par celle obtenues par **Hu et al., (2013)**. Ces auteurs ayant évalué le taux d'élimination du PA par la souche *P. aeruginosa* HJ1012 qui atteint 99%. Ainsi que la souche *P. aeruginosa* f2 isolée par **Zhang et ses collaborateurs, (2013)** qui est capable de dégrader complètement le PA au bout de 60 h à une concentration initiale de 2 000 mg /L ou à environ 70 h à une concentration initiale de 2 500 mg/L. Mais, à 3 000 mg/L, la dégradation était complètement inhibée.

De même, La souche *P. aeruginosa* fg-2 pourrait dégrader jusqu'à 2 000 mg/L du PA complètement en moins de 45 h.

En plus, des études menées par **De Gusseme et ses collaborateurs, (2011)** ont démontrées la capacité de *P. aeruginosa* à dégrader le PA dans 48 h à partir de $10,325 \pm 0.027$ mg/L à 6.152 $0,083$ mg/L (40% d'élimination).

Selon **Aissaoui et al., (2017 a)**, la souche *E. hormaechei* D15 a pu utiliser le diclofénac comme seule source de carbone et d'énergie. La concentration de ce médicament a été diminuée dans une période de 48 h à environ 52.8%. Dans notre cas, on a confirmé que cette bactérie est capable aussi de croître en présence du PA avec un taux d'élimination élevé à voisinant 67.57%.

Contrairement à nos résultats, **Jones et ces collaborateurs, (2006)** ont montré l'adsorption rapide du PA au sein des boues activées, ce qui suggère que les produits pharmaceutiques dissous peuvent devenir rapidement adsorbés par le contact avec les solides en suspension.

D'après les pics apparus dans les chromatogrammes, on peut déduire qu'il existe des impuretés dans nos échantillons, dus probablement à des produits intermédiaires de dégradation du PA ou à des métabolites bactériens.

Conclusion

Notre travail a été mené afin d'étudier la biodégradation des antalgiques par des cultures bactériennes pures isolées de différentes régions de la wilaya de Jijel (composts ménagers et composts des terres agricoles).

Les dix isolats sont des bacilles ou des cocci, à Gram positif ou négatif. Parmi eux, deux souches à Gram négatif ont été identifiées par la galerie API 20^E, *Aeromonas salmonicida* S1 et *Pseudomonas aeruginosa* S4.

A l'issue de ce qui a été réalisé, les isolats bactériens purs sont capables de croître dans le milieu minéral minimum en présence de paracétamol comme seule source de carbone et d'énergie.

La souche sélectionnée *P. aeruginosa* S4 peut tolérer jusqu'à 50 mg/L de paracétamol, avec une croissance optimale à pH 7.

L'analyse du surnageant bactérien par HPLC a montré que le taux d'élimination de paracétamol (10 mg/L) par la souche *P. aeruginosa* S4 et la souche de référence *Enterobacter hormaechei* D15 est de l'ordre de 58.24% et 67.57%, respectivement.

Au terme de cette étude qui ouvre plusieurs perspectives de recherche, il serait intéressant d'approfondir les investigations sur les souches les plus performantes après leur identification afin de :

- ❖ Déterminer les voies métaboliques impliquées dans la biodégradation de paracétamol.
- ❖ Identifier les métabolites intermédiaires pour évaluer leur toxicité éventuelle et la possibilité de les dégrader par culture mixte.
- ❖ Augmenter la performance des souches par optimisation des conditions de culture (pH, température, aération, etc.) ou par des modifications génétiques (clonage, mutagènes, etc.).
- ❖ Applications *in situ* dans les stations d'épuration des eaux usées.

*Références
bibliographiques*

-A-

Académie nationale de Pharmacie. (2008). Médicaments et environnement. Rapport de l'Académie Nationale de Pharmacie. Acetyl salicylic Acid. [Archive], sur Hazardous Substances Data Bank (consulté le 05 Mars 2019).

Aguilar, C. A., Montalvo, C., Ceron, J. G., & Moctezuma, E. (2011). Photocatalytic degradation of acetaminophen. *International Journal of Environmental Research*, 5(4), 1071-1078.

Aissaoui, S., Ouled-Haddar, H., Sifour M., Harrouche, K., & Sghaier H. (2017). Metabolic and co-metabolic transformation of diclofenac by *Enterobacter hormaechei* D15 isolated from activated sludge. *Current Microbiology*, 74(3), 381-388.a

Aissaoui, S., Ouled-Haddar, H., Sifour, M., Beggah, C., & Benhamada, F. (2017). Biological removal of the mixed pharmaceuticals: diclofenac, ibuprofen, and sulfamethoxazole using a bacterial consortium. *Iranian journal of biotechnology*, 15(2), 135.b

Aissaoui, S., Sifour, M., Ouled-Haddar, H., Benguedouar, L., & Lahouel, M. (2017). Toxicity assessment of Diclofenac and its biodegradation metabolites toward mice. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 9(5), 284-290.c

Alighardashi, A., Pons, M. N., & Potier, O. (2008). Présence et devenir des médicaments dans les eaux usées urbaines, une analyse bibliographique. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 21(4), 413-426.

Ambalavanar, V., & Habekost, A. (2018). The Analgesic Metamizol (Dipyrone). Part 2 : Adsorption, Oxidative and Reductive Degradation. *World*, 6(5), 204-211.

Ängeby, K. K., Klintz, L., & Hoffner, S. E. (2002). Rapid and inexpensive drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* with a nitrate reductase assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(2), 553-555.

Audino, F., Conte, L. O., Schenone, A. V., Pérez-Moya, M., Graells, M., & Alfano, O. M. (2019). A kinetic study for the Fenton and photo-Fenton paracetamol degradation in an annular photoreactor. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(5), 4312-4323.

Ayyash, F., Khamis, M., Khalaf, S., Thawabteh, A., & Karaman, R. (2015). Removal of aspirin, salicylic acid, paracetamol, and p-aminophenol by advanced membrane technology activated charcoal and clay micelles complex. *International Case Studies Journal*, 4, 74-111.

-B-

Baena-Nogueras, R. M., González-Mazo, E., & Lara-Martín, P. A. (2017). Degradation kinetics of pharmaceuticals and personal care products in surface waters: photolysis vs biodegradation. *Science of the Total Environment*, 590, 643-654.

Bertolini, A., Ferrari, A., Ottani, A., Guerzoni, S., Tacchi, R., & Leone, S. (2006). Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS drug reviews*, 12(3-4), 250-275.

Biel-Maeso, M., González-González, C., Lara-Martín, P. A., & Corada-Fernández, C. (2019). Sorption and degradation of contaminants of emerging concern in soils under aerobic and anaerobic conditions. *Science of The Total Environment*, 666, 662-671.

Biomérieux S. (2006). Système d'identification des *Enterobacteriaceae*.

Bouvier, M., Durand, F., & Guillet R. (2010). Médicament et environnement : La régulation du médicament vis-à-vis du risque environnemental (Rapport n° : 007058-01). Ministère de l'Ecologie, du Développement durable, des Transports et du Logement (France).

Botton, B., Bretton, A., Fever, M., Gautier, S., Guy, Ph., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J-J., Vayssier, Y., & Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, Masson, Paris.

Brieudes, V. (2014). Caractérisation de la contamination des systèmes aquatiques par les psychotropes : développement d'une méthode de référence incluant une démarche multifactorielle de hiérarchisation. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux.

-C-

Caracciolo, A. B., Topp, E., & Grenni, P. (2015). Pharmaceuticals in the environment : biodegradation and effects on natural microbial communities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 106, 25-36.

Cédat, B. (2016). Evaluation du procédé UV/H₂O₂ pour la désinfection et l'élimination des micropolluants en vue d'une réutilisation des eaux usées traitées en petites stations d'épuration. Thèse de doctorat. Université de Lyon.

Combarros, R. G., Collado, S., Laca, A., & Díaz, M. (2016). Understanding the simultaneous biodegradation of thiocyanate and salicylic acid by *Paracoccus thiocyanatus* and *Pseudomonas putida*. International Journal of Environmental Science and Technology, 13(2), 649-662.

-D-

De Gusseme, B., Vanhaecke, L., Verstraete, W., & Boon, N. (2011). Degradation of acetaminophen by *Delftia tsuruhatensis* and *Pseudomonas aeruginosa* in a membrane bioreactor. Water Research, 45(4), 1829-1837.

Delarras, C. (2007). Microbiologie Pratique Pour Le Laboratoire D'analyses Ou De Contrôle Sanitaire, 1^{ère} édition, Paris : Edition tec et doc, 476 p.

Desale, A., Kamble, S. P., & Deosarkar, M. P. (2013). Photocatalytic degradation of paracetamol using degussa TiO₂ photocatalyst. IJCPS, 2, 140-148.

Desbiolles, F., Malleret, L., Tiliacos, C., Wong-Wah-Chung, P., & Laffont-Schwob, I. (2018). Occurrence and ecotoxicological assessment of pharmaceuticals: Is there a risk for the Mediterranean aquatic environment? Science of the Total Environment, 639, 1334-1348.

Domaradzka, D., Guzik, U., & Wojcieszynska, D. (2015). Biodegradation and biotransformation of polycyclic non-steroidal anti-inflammatory drugs. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 14(2), 229-239.

-F-

Feng, L., Van Hullebusch, E. D., Rodrigo, M. A., Esposito, G., & Oturan, M. A. (2013). Removal of residual anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals from aqueous systems by electrochemical advanced oxidation processes. Chemical Engineering Journal, 228, 944-964.

-G-

Glassmeyer, S., D.W. Kolpin, E.T. Furlong, & M.T. Focazio, (2008). Environmental presence and persistence of pharmaceuticals-An overview. Dans: Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems, CRC Press, Taylor and Francis Books, p. 3-51.

González-Alonso, S., Merino, L. M., Esteban, S., de Alda, M. L., Barceló, D., Durán, J. J., ...& Silva, A. (2017). Occurrence of pharmaceutical, recreational and psychotropic drug residues in surface water on the northern Antarctic Peninsula region. *Environmental Pollution*, 229, 241-254.

Górny, D., Guzik, U., Hupert-Kocurek, K., & Wojcieszńska, D. (2019). Naproxen ecotoxicity and biodegradation by *Bacillus thuringiensis* B1 (2015b) strain. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 167, 505-512.

Grant, R. J., Daniell, T. J., & Betts, W. B. (2002). Isolation and identification of synthetic pyrethroid-degrading bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 92(3), 534-540.

Grisez, L., Ceusters, R., & Ollevier, F. (1991). The use of API 20^E for the identification of *Vibrio anguillarum* and *V. ordalii*. *Journal of Fish Diseases*, 14(3), 359-365.

-H-

Hassine, K., & Hamza, R. (2009). Les risques liés aux éléments biologiques et minéraux des eaux usées urbaines. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(3), 475-480.

Henschel, K. P., Wenzel, A., Diedrich, M., & Fliedner, A. (1997). Environmental hazard assessment of pharmaceuticals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 25, 220-225.

Hernando, M. D., Mezcua, M., Fernández-Alba, A. R., & Barceló, D. (2006). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, 69(2), 334-342.

Hu, J., Zhou, L., Zhou, Q. W., Wei, F., Zhang, L. L., & Chen, J. M. (2012). Biodegradation of paracetamol by aerobic granules in a sequencing batch reactor (SBR). In *Advanced Materials Research* (Vol. 441, pp. 531-535). Trans Tech Publications.

Hu, J., Zhang, L. L., Chen, J. M., & Liu, Y. (2013). Degradation of paracetamol by *Pseudomonas aeruginosa* strain HJ1012. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 48(7), 791-799.

-I-

Idder, S. (2012). État de la contamination des eaux du département de la Dordogne par les résidus de médicaments. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux 1.

Ikehata, K., Jodeiri Naghashkar, N., & Gamal El-Din, M. (2006). Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes : Ozone : Science and Engineering, 28(6), 353-414.

Ismail, M. M., Essam, T. M., Ragab, Y. M., & Mourad, F. E. (2016). Biodegradation of ketoprofen using a microalgal–bacterial consortium. Biotechnology letters, 38(9), 1493-1502.

Ismail, M. M., Essam, T. M., Ragab, Y. M., El-Sayed, A. E. K. B., & Mourad, F. E. (2017). Remediation of a mixture of analgesics in a stirred-tank photobioreactor using microalgal-bacterial consortium coupled with attempt to valorise the harvested biomass. Bioresource Technology, 232, 364-371.

-J-

Joffin, J.N. & Leyral, G. (2006). Microbiologie technique-T1- Dictionnaire des techniques, 4^{ème} édition, Bordeaux : CRDP d'Aquitaine, 368 p.

Jones, O. A. H., Voulvoulis, N., & Lester, J. N. (2006). Partitioning behavior of five pharmaceutical compounds to activated sludge and river sediment. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 50(3), 297-305.

-K-

Kämpfer, P., Steiof, M., & Dott, W. (1991). Microbiological characterization of a fuel-oil contaminated site including numerical identification of heterotrophic water and soil bacteria. Microbial Ecology, 21(1), 227-251.

Kermiche-Achaichia, F. (2016). Mise en évidence d'une pollution par les résidus pharmaceutiques sur un micro-organisme (*Paramecium sp.*). Essais de bioremédiation. Thèse de doctorat en sciences. Université Badji Mokhtar-Annaba.

Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M., Thurman, E.M., Zaugg S.D., Barber, L.B., & Buxton, H.A.T. (2002). Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants

in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environmental Science & Technology*, 36, 1202-1211.

Kümmerer, K. (2001). Introduction: pharmaceuticals in the environment. In *Pharmaceuticals in the Environment* (pp. 1-8). Springer, Berlin, Heidelberg.

-L-

Lee, C. M., Palaniandy, P., & Dahlan, I. (2017). Pharmaceutical residues in aquatic environment and water remediation by TiO₂ heterogeneous photocatalysis. *Environmental Earth Sciences*, 76(17), 61.

Leung, H. W., Minh, T. B., Murphy, M. B., Lam, J. C., So, M. K., Martin, M., ... & Richardson, B. J. (2012). Distribution, fate and risk assessment of antibiotics in sewage treatment plants in Hong Kong, South China. *Environment International*, 42, 1-9.

Lin, B., Lyu, J., Lyu, X. J., Yu, H. Q., Hu, Z., Lam, J. C., & Lam, P. K. (2015). Characterization of cefalexin degradation capabilities of two *Pseudomonas* strains isolated from activated sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 282, 158-164.

-M-

Madikizela, L. M., Tavengwa, N. T., & Chimuka, L. (2018). Applications of molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs and analgesics from environmental waters and biological samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 147, 624-633.

Marco-Urrea, E., Pérez-Trujillo, M., Blázquez, P., Vicent, T., & Caminal, G. (2010). Biodegradation of the analgesic naproxen by *Trametes versicolor* and identification of intermediates using HPLC-DAD-MS and NMR. *Bioresource Technology*, 101(7), 2159-2166.

Moreira, I. S., Bessa, V. S., Murgolo, S., Piccirillo, C., Mascolo, G., & Castro, P. M. (2018). Biodegradation of Diclofenac by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 152, 104-113.

-P-

Palma, T. L., Donaldben, M. N., Costa, M. C., & Carlier, J. D. (2018). Putative Role of *Flavobacterium*, *Dokdonella* and *Methylophilus* Strains in Paracetamol Biodegradation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229(6), 200.

Palyzová, A., Zahradník, J., Marešová, H., Sokolová, L., Kyslíková, E., Grulich, M., ...& Kyslík, P. (2018). Potential of the strain *Raoultella* sp. KDF8 for removal of analgesics. *Folia Microbiologica*, 63(3), 273-282.

Paucar, N. E., Kim, I., Tanaka, H., & Sato, C. (2019). Ozone treatment process for the removal of pharmaceuticals and personal care products in wastewater. *Ozone: Science & Engineering*, 41(1), 3-16.

-R-

Rocheleau, H., Al-harhi, R., & Ouellet, T. (2019). Degradation of salicylic acid by *Fusarium graminearum*. *Fungal Biology*, 123(1), 77-86.

-S-

Schaff, S. (2012). Résidus médicamenteux : Prise en compte dans la prescription du devenir environnemental des résidus médicamenteux. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.

Sebestyén, I., Monostory, K., & Hirka, G. (2018). Environmental risk assessment of human and veterinary medicinal products-Challenges and ways of improvement. *Microchemical Journal*, 136, 67-70.

Snyder, A.S., Westerhoff, P., Yoon, Y. et al. (2003). Pharmaceuticals; personal care products, and endocrine disruptors in water: Implication for the water industry. *Environmental Engineering Science*, 20, p. 449-469.

Soufan, M. (2011). Oxydation par le chlore de composés pharmaceutiques. Thèse de doctorat-Poitiers (France).

Steichen, P., & Antri-Bouzar, C. (2014). La gestion des résidus médicamenteux en France. Questionnements juridiques autour de la pollution émergente hospitalière. La gouvernance hospitalière axée sur la performance et les acteurs. Rabat, Maroc.

Stylianou, K., Hapeshi, E., Vasquez, M. I., Fatta-Kassinos, D., & Vyrides, I. (2018). Diclofenac biodegradation by newly isolated *Klebsiella sp.* KSC: Microbial intermediates and ecotoxicological assessment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 3242-3248.

-T-

Tahir, M. B., Sagir, M., & Shahzad, K. (2019). Removal of acetylsalicylate and methyltheobromine from aqueous environment using nano-photocatalyst WO₃-TiO₂@ g-C₃N₄ composite. *Journal of Hazardous Materials*, 363, 205-213.

Tongur, S., Yildiz, S., Ünal, A., Atalay, K., & Yeniköşker, M. (2017). Toxicity assessment of analgesics by *Lepidium sativum* toxicity test method. Selcuk University, Turkey.

-U-

Urase, T., & Kikuta, T. (2005). Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process. *Water research*, 39(7), 1289-1300

-V-

Velichkova, F. A. (2014). Vers un procédé Fenton hétérogène pour le traitement en continu d'eau polluée par des polluants pharmaceutiques. Thèse de Doctorat. Ecole Doctorale Mécanique, Énergétique, Génie civil et Procédés -Toulouse.

-W-

Wei, G., Fan, L., Zhu, W., Fu, Y., Yu, J., & Tang, M. (2009). Isolation and characterization of the heavy metal resistant bacteria CCNWR33-2 isolated from root nodule of *Lespedeza cuneata* in gold mine tailings in China. *Journal of Hazardous Materials*, 162(1), 50-56.

Wu, S., Zhang, L., & Chen, J. (2012). Paracetamol in the environment and its degradation by microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(4), 875-884.

-Z-

Zaviska, F., Drogui, P., Mercier, G., & Blais, J. F. (2009). Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels : Application à la dégradation des polluants réfractaires. *Journal of Water Science*, 22(4), 535-564.

Zhang, L., Hu, J., Zhu, R., Zhou, Q., & Chen, J. (2013). Degradation of paracetamol by pure bacterial cultures and their microbial consortium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(8), 3687-3698.

Żur, J., Wojcieszynska, D., Hupert-Kocurek, K., Marchlewicz, A., & Guzik, U. (2018). Paracetamol–toxicity and microbial utilization. *Pseudomonas moorei* KB4 as a case study for exploring degradation pathway. *Chemosphere*, 206, 192-202.

Annexes

Annexe

Annexe I

Composition du milieu MM :

Constituants	g/L
FeSO₄.7H₂O	0.013
CaCl₂.2H₂O	0.013
MgSO₄.7H₂O	0.25
Na₂HPO₄	7.5
KH₂PO₄	5.0
NH₄NO₃	5.0
extrait de levure	0.25
Agar-Agar	15

pH 7.0± 0.2

Composition de la gélose nutritive :

Constituants	g/L
Peptone	5,00
Extrait de viande de boeuf	3,00
Chlorure de sodium	5,00
Agar-agar	15,00

pH 7,3 ±0,2à 25°C

Composition du bouillon nutritif :

Constituants	g/L
Tryptone	10,0
Extrait de viande	5,0
Chlorure de sodium	5,0

pH 7,2 ± 0,2à 25°C

Composition de la gélose mannitol mobilité :

Constituants	g/L
Peptone tryptique de viande	20,0
Mannitol	2,00
KNO ₃	1,00
Rouge de phénol	0,04
Agar	4,00

pH 7,6

Composition du bouillon nitrate :

Constituants	g/L
Peptone de viande	10,0
Extrait de viande	5,00
Chlorure de sodium	5,00
Nitrate de potassium	1,00

pH final: 7,2

Annexe II

Lecture de la galerie API 20^E :

Tests	Composants Actifs	Réaction/ Enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactosidase	β -galactosidase (Ortho-Nitrophényl- β D-galactopyranosidase)	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine Dihydrolase	Jaune	Rouge-orangé
LDC	lysine	Lysine-Dicarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
ODC	Ornithine	Ornithine DéCarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de CITrate	Vert pâle-jaune	Bleu-Vert-bleu
H₂S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore-grisâtre	Dépôt noir-fin liseré
URE	Urée	UREase	Jaune	Rouge-orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane Désaminase	TDA-immédiat	
			Jaune	Marron-rougeâtre
IND	Tryptophane	Production d'indole	Kovac 's-immédiate	

			Incolore Vert pâle-jaune	Rose
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1+VP2 /10min	
			Incolore Rose pâle	Rose- rouge
GEL	Gélatine de Kohen	Gélatinase (GELatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation- oxydation (GLUcose)	Bleu- bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation- oxydation (MANnitol)	Bleu- bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation- oxydation (INOsitol)	Bleu- bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation- oxydation (SOR- bitol)	Bleu- bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation- oxydation (RHAmnose)	Bleu- bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation- oxydation (SACcharose)	Vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation- oxydation (MELibiose)	Bleu- bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation- oxydation (AMYgdaline)	Bleu- bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation- oxydation (ARAbinose)	Bleu- bleu-vert	Jaune

Annexe III



Identification de la souche S1 par la galerie API 20E



Identification de la souche S4 par la galerie API 20E

Annexe IV

Cinétique de croissance des isolats purs sur milieu minimum en présence du PA :

Isolat Temps	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
t₀	0.275	0.236	0.387	0.105	0.258	0.358	0.144	0.096	0.345	0.062
t₁	0.313	0.433	0.488	0.500	0.389	0.468	0.583	0.363	0.483	0.270
t₂	0.273	0.294	0.316	0.552	0.302	0.414	0.464	0.287	0.430	0.158
t₃	0.141	0.172	0.145	0.466	0.247	0.270	0.208	0.208	0.366	0.087
μ (h⁻¹)	0.003	0.034	0.01	0.156	0.02	0.012	0.126	0.115	0.016	0.139

Annexe V

Effet de différentes concentrations du PA sur la croissance de la souche S4 :

T \ []	10 mg/L	20 mg/L	30 mg/L	40 mg/L	50 mg/L
t₀	0.290	0.285	0.248	0.253	0.239
t₂₄	0.644	0.647	0.730	0.747	0.808
t₄₈	0.300	0.292	0.290	0.318	0.276
t₇₂	0.248	0.257	0.270	0.275	0.233
μ (h⁻¹)	0.050	0.052	0.080	0.081	0.099

Annexe VI

Effet de la variation du pH du PA sur la croissance de la souche S4 :

T \ pH	6	6,5	7	7,5	8
t₀	0.230	0.290	0.224	0.225	0.279
t₂₄	0.680	0.742	0.781	0.618	0.558
t₄₈	0.230	0.356	0.620	0.577	0.477
t₇₂	0.094	0.313	0.317	0.280	0.350
μ (h⁻¹)	0.08	0.06	0.10	0.07	0.04

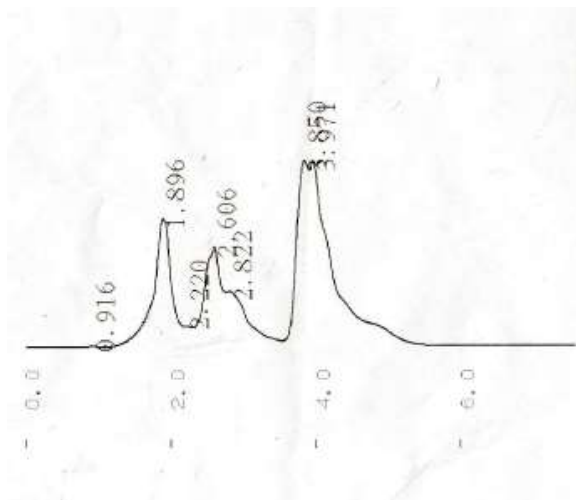
Annexe VII

Croissance des souches S4 et D15 en présence du PA comme source de carbone et d'énergie :

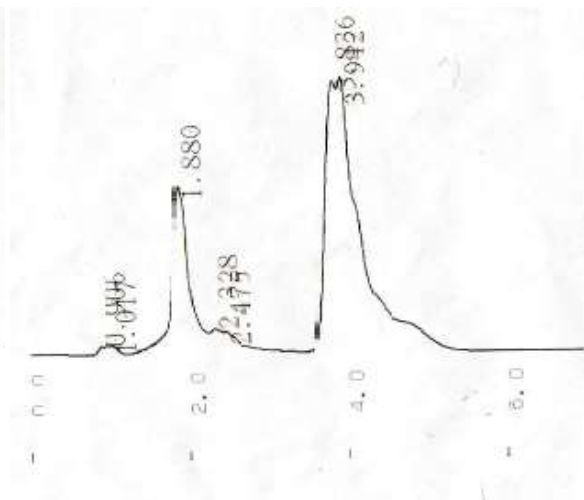
T \ Souches	S4	D15
t₀	0.435	0.423
t₄₈	0.500	0.493

Annexe VIII

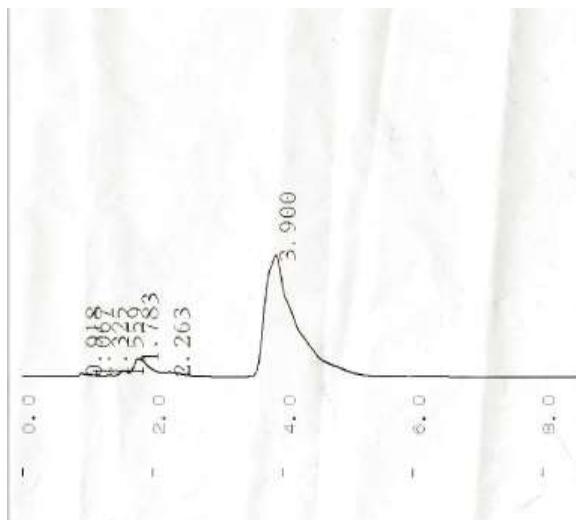
Chromatogrammes d'HPLC obtenus avec le test de biodégradation du PA :



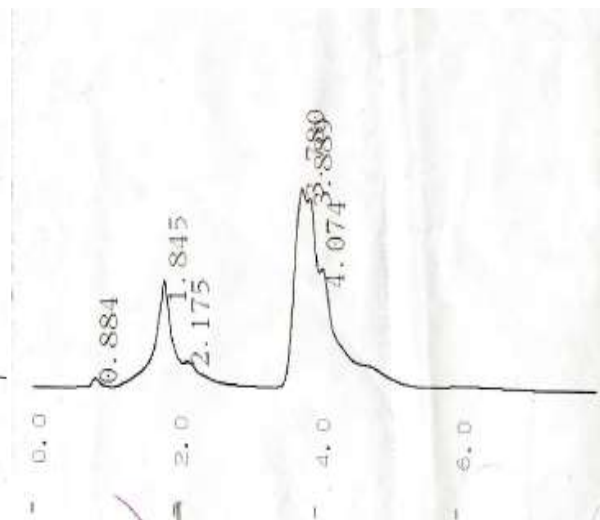
Biodégradation du PA par la souche S4 en t0.



Biodégradation du PA par la souche S4 en t48.



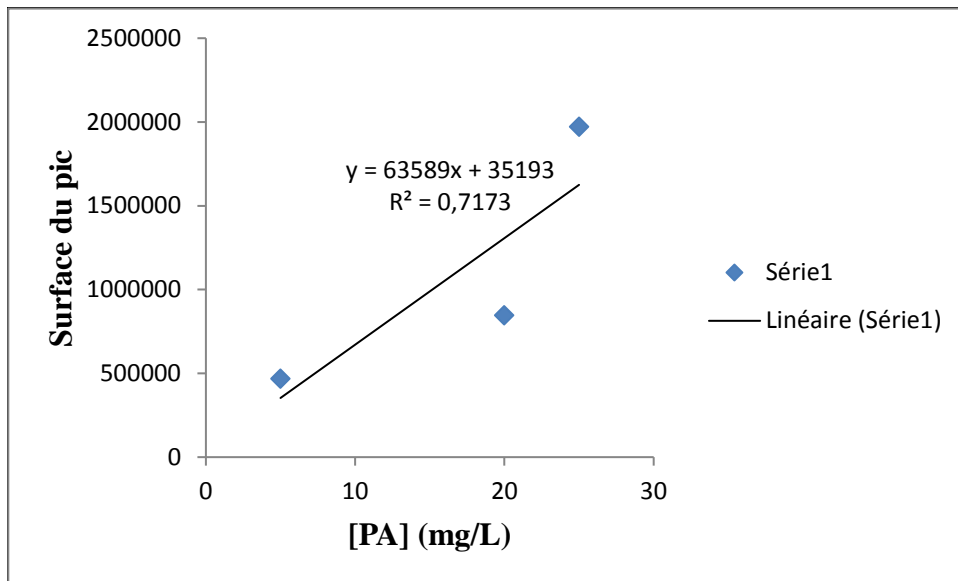
Biodégradation du PA par la souche D15 en t0.



Biodégradation du PA par la souche D15 en t48.

Annexe IX

Courbe d'étalonnage après l'analyse du PA par HPLC.



Annexe X

Surface des pics (unité arbitrale)

Temps	Surface	S4	D15
t ₀		536446	513019
t ₄₈		338992	166367

Réalisé par:

BOUACHIR Amina
BOUKHEDENNA SARA

Présidente : M^{me} BEN HAMADA Wahiba**Encadreur :** Prof. OULED HADDAR Houria**Examinatrice :** Dr. BEKKA Fahima**Thème****Influence de l'apport des antalgiques sur la croissance et la survie des bactéries isolées du sol.****Résumé**

Aujourd'hui, la contamination par les résidus médicamenteux devient un problème environnemental sérieux. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'isoler, identifier et étudier les bactéries telluriques capables de biodégrader le paracétamol. Les dix isolats choisis et purifiés sont des bacilles ou des cocci à Gram positif ou négatif. L'identification des souches à Gram négatif a été réalisée par le système API 20^E. Les bactéries isolées ont une capacité de croître dans le milieu minéral minimum en présence de paracétamol comme source de carbone et d'énergie, avec une meilleure croissance pour la souche *P. aeruginosa* S4. Cette dernière peut dégrader jusqu'à 50 mg/L de paracétamol avec une croissance optimale à pH 7. Selon les chromatogrammes d'HPLC, le taux d'élimination de paracétamol après 48 h par la souche de référence *Enterobacter hormaechei* D15 est 67.57% et 58.24% par notre souche S4.

Mots clés : isolement, paracétamol, biodégradation, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter hormaechei*.**Abstract**

Today, contamination with drug residues is becoming a serious environmental problem. In this context, the objective of this study is to isolate, identify and study soil bacteria capable of biodegrading paracetamol. The ten selected and purified isolates were either bacilli or cocci, Gram positive or negative. The identification of Gram-negative isolates was carried out by the API 20^E system. The isolated bacteria have the capacity to grow on minimum mineral medium in presence of paracetamol as a source of carbon and energy, with a better growth for *P. aeruginosa* S4 strain. This latter can degrade up to 50 mg/L of paracetamol at an optimum pH of 7. According to the chromatograms of HPLC, the rate of elimination of paracetamol after 48 h by the reference strain *Enterobacter hormaechei* D15 is 67.57% and 58.24% by the strain S4.

Key words: isolation, paracetamol, biodegradation, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter hormaechei*.**المخلص**

أصبح التلوث بمخلفات الأدوية يشكل خطرا حقيقيا اليوم. في هذا السياق، تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتحديد ودراسة البكتيريا الترابية القادرة على التحليل الحيوي لمسكنات الألم. تم الحصول على عشر عزلات بكتيرية وبعد تنقيتها تبين أنها عصيات أو كريات موجبة أو سالبة الجرام. تم تشخيص السلالات السالبة الجرام بواسطة نظام الـ API 20^E. للبكتيريا المعزولة القدرة على النمو في الوسط المعدني الأدنى في وجود الباراسيتامول كمصدر للطاقة والكربون، مع نمو أفضل للسلالة *P. aeruginosa* S4. يمكن لهذه الأخيرة أن تحلل الباراسيتامول بتركيز يصل إلى غاية 50 ملغ / لتر عند درجة حموضة مثلى تعادل 7. اعتمادا على كروماتوغرافيا طور السائل فائقة الأداء HPLC، فإن نسبة إزالة الباراسيتامول من الوسط السائل بعد 48 ساعة بواسطة السلالة المرجعية *Enterobacter hormaechei* D15 يعادل 67.57% بينما يعادل 58.24% بواسطة السلالة S4.

الكلمات المفتاحية:*Enterobacter hormaechei* و *Pseudomonas aeruginosa*، التحليل الحيوي، العزل، الباراسيتامول،