

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 : Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم: البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Thème

Evaluation de la biodégradation de l'ibuprofène et
triméthoprimine par des microorganismes isolés de
différentes origines en utilisant l' HPLC

Membres de Jury :

Président : Mme. Benseghier Salima
Examineur : Dr. Medjahed Zineb
Encadreur : Dr. Aissaoui Salima

Présenté par :

Azizi Sara
Hamidache Nassima

Année Universitaire : 2018-2019

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

*Toute notre gratitude va tout d'abord au **Allah**, qui nous a guidé et éclaire notre chemin et donné la force pour la réalisation et l'élaboration de notre projet*

*Nous tenons également à exprimer notre gratitude et notre profond respect et nos remerciements les plus sincères à notre encadreur **Dr. Aissaoui Salima**, pour son encadrement apprécié, sa disponibilité, ses orientations, ses précieux conseils et ses encouragements qui nous ont promis de mener à bien ce travail.*

Un remerciement spécial s'adresse également aux membres de jury :

***Mme Benseghier Salima** pour avoir accepté de présider ce jury, et*

***Dr. Medjahed Zineb** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nos remerciements vont également à tous les ingénieurs de laboratoire et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Introduction	1
I. Histoire des produits pharmaceutiques dans l'environnement	2
II. Différentes sources d'entrer des produits pharmaceutiques dans l'environnement	2
III. Classes des produits pharmaceutiques retrouvés dans l'environnement	5
IV. Ecotoxicité des produits pharmaceutiques dans l'environnement	9
V. Elimination des produits pharmaceutiques dans l'environnement	11
V.1. Elimination abiotique	11
V.1.1. Photo-dégradation	11
V.1.2. Hydrolyse	12
V.1.3. Sorption	12
V.2. Elimination biotique	13
Biodégradation	14
VI. Microorganismes utilisés dans la biodégradation (Ibuprofène, triméthoprime)	15
Matériel et Méthodes	18
I. Matériel	18
I.1. Matériel biologique	18
I.2. Milieu Minimum	18
I.3. Appareillage	19
II. Méthodes	19
II.1. Purification des souches	19
II.2. Screening des souches bactériennes capables de dégrader l'ibuprofène et le triméthoprime	19
II.3. Test de biodégradation du l'ibuprofène et de triméthoprime	20
II.4. Analyse du l'IBU et TMP par l' HPLC	20
II.4.1. HPLC pour l'analyse de l'IBU	20
II.4.2. HPLC pour l'analyse de TRM	21
II.5. Estimation du pourcentage de dégradation d'IBU et de TRM	21
II.6. Effets des différentes concentrations d'IBU et de TMP sur la croissance bactérienne	21
Résultats et discussions	22
I. Screening des souches bactériennes capables de dégrader l'ibuprofène et triméthoprime ..	22
II. Test de biodégradation d'IBU et de TMP	23
III. Effet des différentes concentrations d'IBU et de TMP sur la croissance bactérienne	28
Conclusion	30

Références bibliographiques 31

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I: Différentes classes des produits pharmaceutique trouvé dans l'environnement6

Tableau II: Propriétés physico-chimiques d'ibuprofen8

Tableau III: Propriétés physico-chimiques de triméthoprimé.....9

Tableau IV: Origines des souches bactériennes utilisées.....18

Liste des figures

Figure 1: Sources et devenir des produits pharmaceutiques dans l'environnement.3

Figure 2: Structure chimique d'IBU7

Figure 3: Structure chimique de TMP9

Figure 4: Photolyse directe et la photolyse indirecte dans le système aquatique.12

Figure 5: Transformation microbienne d'IBU.....15

Figure 6 : Cinétique de croissance des six souches isolées en fonction du temps dans le milieu minimum en présence de l'IBU à 10mg/l à 37°C.....22

Figure 7: Cinétique de croissance des six souches isolées en fonction du temps dans le milieu minimum en présence de TMP à 6mg/l à 37°C.22

Figure 8: Chromatogramme d'HPLC obtenue avec le test de biodégradation de TMP par la souche *Arthrobacter Nicotianae* (S2) : A: à T0, B: Après 48h d'incubation.24

Figure 9: Chromatogramme d'HPLC obtenue avec le test de biodégradation de l'IBU par la souche *Arthrobacter nicotianae* (S2) : A: àT0, B: Après 48h d'incubation.24

Figure 10: Biodégradatiopn de l'IBU par *Arthrobacter nicotianae* (S2) pendent 48h d'incubation. 25

Figure 11: Le taux de croissance de l'IBU par *Arthrobacter nicotianae* (S2) pendant 48h d'incubation.25

Figure 12:Biodégradation de TMP par *Arthrobacter nicotianae* (S2) pendant 48h d'incubation. ...26

Figure 13: Le taux de croissance de TMP par *Arthrobacter nicotianae* (S2) pendant 48h d'incubation.27

Figure 14: Effet de différente concentration d'IBU après 24h sur la croissance de la souche testée (S2).28

Figure 15: Effet de différente concentration de TMP après 24h sur la croissance de la souche testée (S2).28

Liste des abréviations

AINS	Anti inflammatoire non stéroïdiens
DCF	Diclofinac
DO	Densité optique
DOM	Dissolved organic matter.
HPLC	High-performance liquid chromatography
IBU	Ibuprofène
Koc	Coefficient de octanol / carbone organique.
Kow	Octanol - water partition coefficient
MMM	Milieu minimum minéral
PhAC	Pharmaceutical active compound.
Pka	Previously known as
PPSP	Pharmaceuticals products and self-products
Rpm	Révolution par minute
STEP	Station d'épurations
TMP	Triméthoprime
UV	Ultra-violet

Introduction

La présence des composés pharmaceutiques actifs (PhAC) dans l'écosystème aqueux est connue depuis le 20^{ème} siècle. Malheureusement, en raison de leur utilisation et de leur élimination inappropriée, ces résidus actifs et leurs métabolites ont été trouvés dans différents compartiments de l'environnement depuis 1970. Mais de nos jours, ils sont constitués une menace sérieuse pour les organismes aquatiques et terrestres. Même à des concentrations très faibles de l'ordre de quelques ng-µg/l, ces produits entraînent une multitude d'effets indésirables potentiels, notamment la toxicité, la perturbation du système endocrinien, la reproduction, l'activité antimicrobienne, la sélection de la résistance aux antibiotiques et la mutagenèse (**Bradley et al., 2016; Kar et al., 2018 ; Emara et al., 2019 ; Majumder et al., 2019**).

Les sources de PhAC dans l'environnement ont été bien identifiées: elles ne sont pas seulement directes via l'excrétion des patients, les activités industrielles et les activités d'élevage, mais également indirectes via des rejets inappropriés dans les eaux usées et à travers les stations d'épuration des eaux qui sont incapable d'éliminer ce genre de micropolluant. Pour cette raison, plusieurs méthodes d'élimination de ces produits ont été développés et qui sont basées sur le phénomène de la photodégradation, adsorption et la biodégradation (**Muthanna, 2017 ; Courtier et al., 2018**).

Parmi toutes les techniques de traitement possibles, la biodégradation reste le processus le plus adéquat pour l'élimination de la majorité des xénobiotiques, y compris les produits pharmaceutiques parce que elle est économique, efficace, et respecte l'environnement. Elle est basé sur l'élimination du polluant par l'activité métabolique des microorganismes présents naturellement dans les eaux et le sol (**Caracciolo et al., 2015 ; Grenni et al., 2018 ; Costa et al., 2019**).

L'objectif de ce travail est d'étudier la capacité de quelque souches bactériennes isolées de différentes origines à biodégrader ou biotransformer l'Ibuprofène et le triméthoprim en utilisant l'HPLC comme technique d'analyse.

I. Histoire des produits pharmaceutiques dans l'environnement

Le terme «produits pharmaceutiques» ou «substances pharmaceutiques» couvre une classe complexe des composés largement utilisés. Il est défini comme des substances principalement utilisées à des fins thérapeutiques, pour la prévention et le diagnostic des maladies ainsi que pour restaurer, corriger ou modifier des fonctions organiques (**Beek et al., 2016 ; Ebele et al., 2017**).

La première mise en évidence de la présence des produits pharmaceutiques dans l'eau remonte en 1976, Par Hignite et Azarnoff qui ont détecté des traces d'acide clofibrrique (précurseur de l'aspirine) à une concentration de 0,8 à 2 mg/l dans les eaux usées traitées dans les États-Unis (**Ying et al., 2013 ; Deblonde., 2013**). De nombreuses recherches ont confirmé la présence de ces substances dans les eaux de surface et dans les eaux souterraines, et dans les tissus de poissons (**Fent et al., 2006; Beek et al., 2016 ; Desbiolles et al., 2018 ; Quesada et al., 2019**).

Les molécules retrouvées appartiennent à des classes thérapeutiques différentes parmi les quelles les antibiotiques, les anti-inflammatoires, les hormones naturelles et synthétiques, les bêta-bloquants, les antidépresseurs,...etc (**Zhang et al., 2019 ; Joseph et al., 2019**) ; qui sont efficaces à de très faibles concentrations, et ils sont continuellement rejetés dans les écosystèmes naturels par différentes voies (**Mezzelani et al., 2018**). Il est maintenant reconnu que ces composés atteignent presque tous les compartiments environnementaux et peuvent être considérés comme des contaminants environnementaux émergents (**Li et al., 2014 ; Sui et al., 2015**).

II. Différentes sources d'entrer les produits pharmaceutiques dans l'environnement

La présence de substances pharmaceutiques dans l'environnement est considérée comme un sujet émergent en raison des incertitudes liées au risque qu'elles représentent pour les écosystèmes terrestres et aquatiques (**Götz et al., 2019**). Les substances pharmaceutiques sont utilisées en quantités énormes pour traiter les humains et les animaux ; ils sont libérés, au moins une partie dans l'environnement, principalement dans les milieux aquatiques (**Roig et D'Acco., 2017**). Ils pénètrent dans l'environnement par le biais de diverses sources, comme il est résumé dans la **figure 1**.

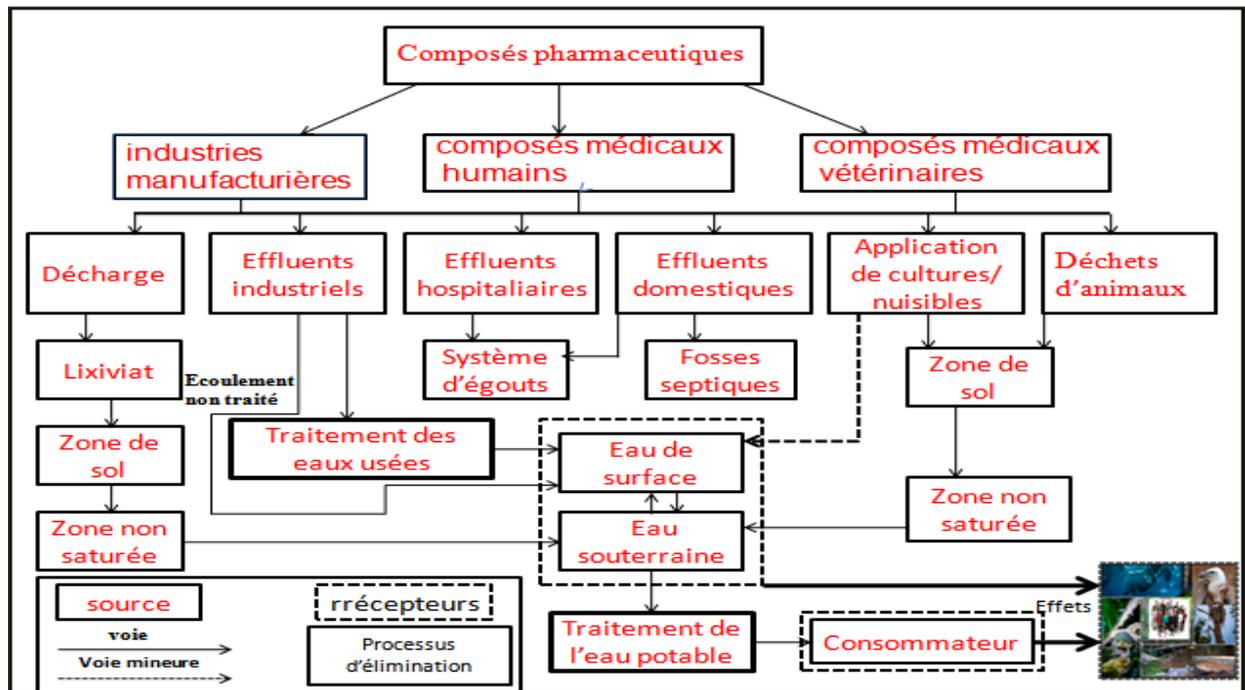


Figure 1: Sources et devenir des produits pharmaceutiques dans l'environnement (Patel et al., 2019).

Après l'administration, les produits pharmaceutiques peuvent subir des transformations métaboliques soit par des microbes intestinaux, soit par des enzymes de l'hôte avant l'excrétion. Les composés parents métabolisés et non métabolisés sont excrétés directement dans l'environnement via les urines ou avec la matière fécale (Valcárcel et al., 2011, Veras et al., 2019). Les produits pharmaceutiques inutilisés et périmés pénètrent dans l'environnement en déversant dans des bassins, des drains, des toilettes ou en les éliminant avec les déchets ménagers (Behera et al., 2011). Des grandes quantités de produits pharmaceutiques non polaires et moins polaires sont adsorbées sur les sédiments et les solides des stations d'épurations (STEP), puis éliminées avec les boues. Les boues épandues sur les champs agricoles en tant qu'engrais peuvent libérer des contaminants dans les systèmes d'eau de surface et souterraine (Yu et al., 2016). Leur présence dans les eaux souterraines situées en aval des décharges confirme ce transport. Dans une étude on a montré que la présence de certains produits pharmaceutiques et produits de soi (PPSP) à proximité des décharges municipales en Chine, les concentrations de naproxène et de sulfaméthoxazole dans les eaux souterraines allaient de 67 à 87 ng/l et de 29 à 125 ng/l, respectivement, ainsi que de fortes contaminations avec l'acide salicylique (maximum de 2000 ng/l) a été observée (Peng et al., 2015).

Des antibiotiques et des hormones sont trouvés dans les lagunes de collecte des déchets des animaux ou dans les endroits où ces déchets sont appliqués dans les champs agricoles (**Bartelt-Hunt et al., 2011**). L'élimination des médicaments non utilisés et l'application des matières contenant des produits pharmaceutiques directement dans les champs agricoles ou l'aquaculture, avec écoulement ultérieur. Un pourcentage élevé de produits pharmaceutiques non métabolisés est observé dans les eaux usées (**Nikolaou et al., 2007 ; Mor et al., 2019**).

Les effluents domestiques urbains constituent une des principales voies de contamination environnementale par des produits pharmaceutiques (**Beek et al., 2016**). Les effluents hospitaliers contenant des mélanges à haute concentration de nombreux produits pharmaceutiques constituent la deuxième source d'émission (**Ooi et al., 2018**). L'excrétion animale de produits pharmaceutiques et de leurs métabolites fait de l'élevage la troisième plus grande source d'émissions. La fabrication de produits pharmaceutiques, l'aquaculture et l'irrigation des eaux usées en agriculture contribuent également de manière importante cette contamination. La fabrication de produits pharmaceutiques est une source ponctuelle de contamination, localisée spécifiquement là où la production a lieu, mais les unités de fabrication sont particulièrement préoccupantes en raison des concentrations extrêmement élevées dans les effluent. Ceci est plus grave dans les pays en développement dépourvus du traitement approprié des effluents industriels (**Rehman et al., 2015**). Par exemple, une concentration maximale de 28 mg/l de triméthoprimine dans les eaux usées a été signalée en Croatie (**Dolar et al., 2012**), une concentration d'ibuprofène de 1,67 mg/l a été rapportée à Lahore, Pakistan (**Ashfaq et al., 2017**). De fortes concentrations de ciprofloxacine (3,0-5,25 mg/l), de doxycycline (1,58-6,75 mg/l) et l'oxytétracycline (0-9,40 mg/l) ont été enregistrés dans les eaux usées des unités de fabrication pharmaceutique à proximité de Lahore (**Hussain et al., 2016**). Des concentrations pharmaceutiques élevées ont également été signalées au Canada et aux États-Unis. Des concentrations de métaxalone (3 800 µg/l) et d'oxycodone (1 700 µg/l) ont été signalées dans les stations d'épuration des eaux usées de New York (États-Unis) (**Phillips et al., 2010**).

461 000 ng/l; codéine 49 200 ng/l; ibuprofène 344 000 ng/l, naproxène 253 000 ng/l et oxycodone 21 000 ng/l); antibiotiques (pénicilline 14 300 ng/l); antidépresseurs (paroxétine 3380 ng/l et sertraline 5100 ng/l); ont été mesurés dans des plans d'eau recevant les rejets de cinq installations de fabrication en Ontario, Canada (**Kleywegt et al., 2019**).

En général, les effluents de fabrication contiennent des concentrations de produits pharmaceutiques 10 à 1 000 fois supérieures à celles des autres eaux usées (**Kessler et al., 2010**). Des échantillons d'eau ont été prélevés et analysés dans une station de traitement des effluents en Inde, qui reçoit l'eau d'environ 90 fabricants de médicaments en vrac. Des échantillons d'eau de surface provenant de l'effluent destinataire ont été analysés, ainsi que des échantillons d'eau provenant de six villages voisins et de deux lacs qui sont indépendantes et non polluées par l'installation de traitement. Le Cétirizine, ciprofloxacine, citalopram, énoxacine et terbinafine ont été détectés à des concentrations > 1 µg/l dans plusieurs puits. Les concentrations de ciprofloxacine (14 mg/l) et de cétirizine (2,1 mg/l) étaient extrêmement élevées dans les effluents de cette station d'épuration. Des concentrations élevées de citalopram, d'enrofloxacin, de loméfloxacin, de métoprolol, d'ofloxacin et de triméthoprime étaient également présentes (**Fick et al., 2009**).

Le Diclofénac (836 µg/l, 4968 µg /kg et 6632 µg / kg), l'ibuprofène (1673 µg /l, 6046 µg / kg et 1229 µg / kg) et le naproxène (464 µg/l, 7273 µg/kg et 4819 µg/kg) ont été détecté dans les eaux usées industrielles et dans les matrices environnemental réceptrices (boues, déchets solides et sols situés à proximité de ces sites de formulation de médicaments) dans Lahore, Pakistan (**Ashfaq et al., 2017**).

Les applications de médicaments vétérinaires d'élevage constituent une des principales voies d'entrée des produits pharmaceutiques dans l'environnement terrestre. Les applications aquacoles fournissent une entrée directe dans les milieux aquatiques (**Bartikova et al., 2016**). La réglementation sur l'utilisation des antibiotiques en aquaculture est stricte dans certains pays développés et seuls quelques antibiotiques sont autorisés à être utiliser. En aquaculture, les produits pharmaceutiques sont appliqués en les mélangeant à la nourriture des poissons. Des grandes quantités d'antibiotiques sont utilisées pour obtenir des effets positifs. Cela conduit à une accumulation de produits pharmaceutiques dans le sol et les sédiments. L'élevage et l'aquaculture sont des industries importantes en Chine où d'énormes quantités de produits pharmaceutiques ont été appliquées et rejetées dans l'environnement (**Zhang et al., 2016 ; Mo et al., 2017**).

III. Classes des produits pharmaceutiques retrouvés dans l'environnement

Actuellement plus de deux cent produits pharmaceutiques de différentes classes pharmaceutiques ont été détectés dans l'environnement (**Mazzelani et al., 2018**). Parmi ces classes les antibiotiques et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) représentent la majorité des médicaments existant dans l'environnement, car sont des médicaments en vente libre couramment utilisés et sont considérés comme des médicaments les plus consommés à l'échelle mondiale (**Inouss et al., 2015 ; Lai-Cheung-Kit et al., 2019 ; Zoubek et al., 2019**).

Les différentes classes des produits pharmaceutiques couramment retrouvés dans l'environnement sont résumées dans le **tableau I**.

Tableau I: Différentes classes des produits pharmaceutiques trouvés dans l'environnement (Madikizela *et al.*, 2018).

Classe thérapeutique	Produits pharmaceutiques
AINS	Ibuprofen, Naproxen, Diclofenac, Ketoprofen
Antibiotiques	Sulfamethazine, Sulfamethoxazole, Sulphadiméthoxine, Sulfadiazine, Penicillin G, Triméthoprim, Oxytétracycline, Tétracycline
Antibactérien	Carbadox
β-Bloquants	Propanolol, Atenolol
Bloqueur des canaux calciques	Verapamil
Antiépileptiques	Carbamazépine, Dilantin, Primidone
Hormones stéroïdes	17α-Ethinylestradiol
Antidépresseur	Fluoxétine
Antidiabétique	Metformin, Gliclazide, Glyburide
Antihistamine	Diphényhydramine
Agent antinéoplasique	Cyclophosphamide
Anti-démangeaisons	Crotamiton
Agent de contraste pour rayons X	Iopromide
Agents hypolipémiants	Atorvastatin, Gemfibrozil
Tranquillisants	Méprobamate

-L'ibuprofène (IBU) : est l'un des produits pharmaceutiques polaires les plus détectés dans les eaux fluviales. De plus, il a également été trouvé dans les eaux souterraines à des concentrations allant jusqu'à 12 µg/l, dans les eaux de surface et de rivière (de 4 à 2383ng/ l) et dans les eaux de mer (0,07-121 ng/l) (**Trombini et al., 2019**). L'ibuprofène est un médicament (AINS) de la dénomination commune internationale de l'acide alpha-méthyl-[4-(2-méthylpropyl) phényl] propénoïque (figure.2), appartient au groupe des propioniques, dérivé de l'acide arylcarboxylique (**Bagheri et al., 2019 ; De Logu et al., 2019**). Est un AINS doté d'effets analgésiques et antipyrétiques puissants, il réduit la production de prostaglandines associées à l'inflammation et à la douleur en inhibant les enzymes cyclooxygénase 1 et 2 (**Weiser et al., 2019**). Il est utilisé en médecine humaine pour soulager l'inflammation et plusieurs types de douleur, notamment les maux de tête, les douleurs musculaires, les maux de dents, les maux de dos et dysménorrhée, la fièvre et l'arthrite avec des effets indésirables gastro-intestinaux. Il est commercialisé sous divers noms commerciaux, par exemple Brufen, Advil, Nurofen, Upfen, Motri (**Lindqvist et al., 2005 ; De Logu et al., 2019**).

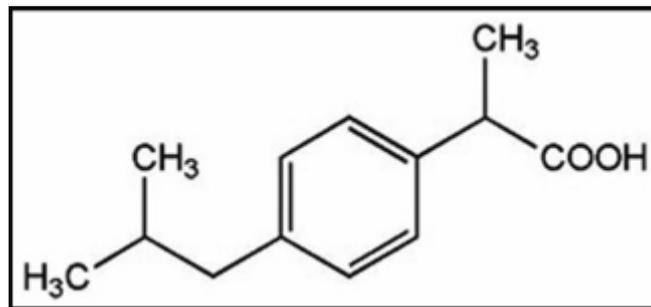


Figure 2: Structure chimique d'IBU (**Kamal et al., 2019**).

L'ibuprofène est métabolisé à 90 % par le foie en conjugué inactif par hydroxylation ou oxydation de la chaîne isobutyle (le cytochrome P450 [CYP] 2C9 étant le principal cytochrome impliqué). Moins de 10 % de la dose est éliminée sous forme inchangée (**Olive et al., 2006**). Il est rapidement absorbé et les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes 1 à 2 heures après l'ingestion. L'ibuprofène a une demi-vie d'élimination relativement courte d'environ 1,5 à 2 heures. À des doses allant jusqu'à 1200 mg par voie orale, l'IBU présente une cinétique approximativement linéaire. La biotransformation dans le foie implique un métabolisme en dérivés phénoliques et carboxyliques bien caractérisés via les activités du cytochrome P450 (CYP) 2C8, du CYP2C9 et éventuellement du CYP2C19, ainsi qu'en conjugués avec l'acide glucuronique.

L'ibuprofène et ses métabolites sont éliminés par les reins, principalement sous forme de conjugués. Il est fortement lié aux protéines plasmatiques (De Logu et al., 2019 ; Weiser et al., 2019). La biodisponibilité de ce médicament est relativement faible après l'administration par voie orale, car il est peu soluble dans l'eau, et considéré comme un médicament hydrophobe (Yong et al., 2004). Les propriétés physico-chimiques d'ibuprofène sont résumées dans le tableau 2.

Tableau II: Propriétés physico-chimiques d'ibuprofènes (Madikizela et al, 2018 ; Bagheri et al, 2019).

Formule chimique	Masse moléculaire (g/mol)	Solubilité dans l'eau (mg/l)	Log Kow	Log Koc (L/kg)	Pka
C ₃ H ₁₈ O ₂	206	58	3.97	2.60	5.20

Kow : Coefficient de partition octanol-eau (Octanol - water partition coefficient) ;

Pka : constante de dissociation (Previously known as) ;

Koc : Coefficient de octanol / carbone organique (Coefficient de octanol / carbone organique).

-Le Triméthoprime : est l'un des 14 produits pharmaceutiques classés «risque élevé». Il a été trouvé dans les usines de traitement des eaux usées à des concentrations de 2 mg/l et dans les eaux de surface à des concentrations allant jusqu'à 0,48 mg/l (Wang et al., 2019). Le triméthoprime est un antibiotique de la famille des diamino-pyrimidines. Sa structure chimique est la 2,4- diamino-5-[(3',4',5'-triméthoxyphenyl) pyrimidine (Figure 3) (Chaussade et al., 2013). Ce médicament est un analogue du folate qui inhibe la réduction du dihydrofolate en tétrahydrofolate (THF) en se liant de manière compétitive au site actif de l'enzyme dihydrofolate réductase (DHFR). Le triméthoprime est commercialisé en tant que médicament associé au sulfaméthoxazole dans des spécialités telles que le Bactrim[®] et l'Eusaprim[®]. Il est utilisé individuellement dans le traitement des infections des voies respiratoires, des infections des voies urinaires, des infections intestinales et d'autres maladies (Sangurdekar et al., 2011 ; Ryan et al., 2011 ; Kito et al., 2019 ; Wang et al., 2019).

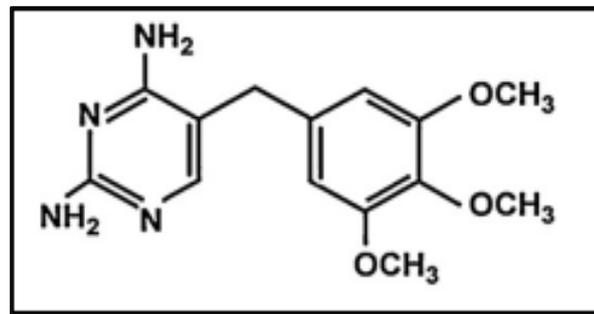


Figure 3: Structure chimique de TMP (Guaraldo *et al.*, 2018).

Après administration orale, la concentration de TMP atteint leur maximum environ 1 à 4 heures après l'administration. Il se répartit bien dans les tissus et le pourcentage de liaison aux protéines est de 45%. Les volumes de distribution (Vd) par voie orale chez l'adulte est de 1,4 litres/kg. La principale voie d'élimination de la TMP est la voie rénale, 75 à 85% de la molécule mère étant éliminée sous forme inchangée dans l'urine. Les 15 à 25% restants sont métabolisés par le foie en métabolites inactifs (Autmizguine *et al.*, 2018 ; Nakada *et al.*, 2018). Les propriétés physico-chimiques de Triméthoprim sont classées dans le tableau 3.

Tableau III: Propriétés physico-chimiques de triméthoprim (Madikizela *et al.*, 2018 ; González *et al.*, 2019).

Formule brute	Masse	Solubilité dans		
	moléculaire (g/mol)	l'eau (mg/l)	Log Kow	pKa
C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	290	400	0.91	7.12

IV. Ecotoxicité des produits pharmaceutiques dans l'environnement

L'utilisation accrue des produits pharmaceutique à travers le monde pour le traitement et la prévention est conduite à la contamination de l'environnement par ces molécules. Ces produits sont considérés comme des «contaminants émergents» depuis plus de 20 ans (Miller *et al.*, 2018). Ils affectent négativement la santé humaine, la faune et la flore (Naidu *et al.*, 2016). En particulier, sont détectés de manière omniprésente dans les eaux de surface et les sols, où ils affectent les systèmes vivants (Kar *et al.*, 2018).

La recherche sur les effets possibles de ces micropolluants sur des organismes non ciblés par la thérapie est maintenant considérée comme un enjeu important et un futur défi pour les chimistes et les sciences de l'environnement (**Hester et Harrison., 2015 ; Courtier et al., 2018**).

La plupart des recherches éco-toxicologiques est menées sur des organismes aquatiques comme les poissons, les algues et les crustacés. Cependant, peu d'information est disponible sur le risque de ces polluants sur les vertébrés supérieurs comme les mammifères, les oiseaux ...etc (**Li et al., 2014**). Il existe beaucoup d'exemples d'effet négatif des produits pharmaceutique sur les organismes non concernés par la thérapie ; les majeurs exemples sont :

La présence des hormones dans l'environnement comme le 17 α -ethynylestradiol (EE2) qui provoque la féminisation des poissons mal via la production de la vitellogenin (une protéine normalement synthétisée par les femelles) (**Forrez et al., 2011 ; Li et al., 2014**).

Un deuxième exemple c'est l'effet toxique de l'anti-inflammatoire non stéroïdien le Diclofenac, il provoque la réduction du nombre de 3 espèces de vautour dans l'Asie (*Gyps Bengalensis ; Gyps Indicus ; Gyps Tenuirostris*). Ils ont observé que ces oiseaux sont exposés au DCF via la consommation des carcasses de bétail domestiqué et traité au DCF avant la mort (**Stultan et al., 2008 ; Kosjek et al., 2009 ; Hester et Harrison., 2015**).

L'utilisation intensive d'antibiotiques entraînant aussi une propagation rapide de la résistance aux antibiotiques et sa peut poser des graves risques pour la santé humaine principalement :

Le risque potentiel d'ingestion de résidus d'antibiotiques dans l'environnement, modifiant le microbiome humain et favorisant l'émergence et la sélection de résistances bactériennes dans le corps humain (**Zuccato et al., 2006**). Le transfère horizontale est considéré comme le mécanisme majeur de transfère des gènes entre les microorganismes et il ya le risque du transfère de ces gènes aux animaux et aux humains. Dans ce contexte, **Gao et al., (2012)** est reportée la présence des bactéries résistantes au sulfamethoxazole et trimethoprim dans certaines rivières en US. **Pomati et al., (2008)** ont été étudié l'effet d'une mixture des médicaments (Atenolol, bezafibrate, carbamazepine, cyclophosphamide, ciprofloxacine, furosemide, ibuprofène, sulfamethoxazole, salbutamol, ofloxacin, lincomycine) sur les cellules de la foie du poisson zèbre (ZFL) et les cellules embryonnaires humaines (HEK293). Ils ont observé que l'exposition à cette mixture de médicaments à des concentrations environnementales provoque la réduction (30% après 72h) de la prolifération des deux types cellulaires utilisés (ZFL, HEK293) en comparaison avec le contrôle.

Ils ont observé aussi l'activation de la protéine kinase de signalisation de réponse au stress (ERK1/2), et une sur expression du gène qui code pour la glutathione -S- transférase P1. **Zhou et al., (2018)** ont été observé aussi que la combinaison de l'ibuprofène avec d'autres médicaments environnementaux pourrait bloquer la prolifération des cellules embryonnaires humaines.

V. Elimination des produits pharmaceutiques dans l'environnement

Pour l'évaluation et la gestion des risques, il est nécessaire de connaître les différentes sources d'émission des produits pharmaceutiques dans l'environnement. De nombreux produits pharmaceutiques subissent un changement structurel dans le corps de l'homme et des animaux, et le devenir d'autres substances appelées « métabolites ». Une fois excrétés, les médicaments sont déversés dans l'environnement, principalement dans le milieu aquatique à travers les eaux usées. Dans l'environnement, au cours de la dernière décennie, diverses stratégies ont été utilisées pour s'attaquer le problème des eaux usées contenant des différents produits pharmaceutiques. Y compris les processus d'élimination Biotique, tels que la biodégradation par les bactéries et champignons, et les processus non biotiques, tels que la sorption, l'hydrolyse et la photo-dégradation après son introduction dans l'environnement qui donnent lieu à des substances appelées « produits de transformation » (**Kummerer, 2009 ; Li et Shi, 2016**).

V .1. L'élimination abiotique

L'élimination abiotique comprend la dégradation de produits chimiques organiques par des réactions chimiques ou physiques (par exemple : l'hydrolyse, la photolyse et la sorption) (**Omil et al., 2010**).

V.1.1. La photo-dégradation

Si une substance est sensible à la lumière, la photolyse peut avoir une importance majeure dans le processus d'élimination (**Kummerer., 2009**). Et une solution prometteuse actuellement étudiée pour améliorer leur élimination (**Mathon et al., 2016**).

L'exposition au soleil conduit souvent à la photo-dégradation des PhAC présents dans les eaux de surface par des processus directs et indirects. La photo-dégradation directe se produit lorsque le spectre d'absorption UV du PhAC (à des niveaux de pH pertinents pour l'environnement) chevauche le spectre solaire (>290 nm). La photo-dégradation indirecte peut se produire dans les eaux naturelles lorsque la matière organique dissoute (DOM) absorbe la lumière solaire, produisant des espèces réactives de l'oxygène (y compris l'oxygène singlet, l'ion superoxyde et les radicaux

hydroxyles) et / ou est excitée à l'état de triplet, ^3DOM , qui peut ensuite transférer l'énergie au PhAC par transfert d'énergie triplet-triplet (TTET). En même temps, les DOM peuvent inhiber la photo-exposition via une filtration à la lumière du soleil et en atténuant les réactions photochimiques (Vulava et al., 2016).

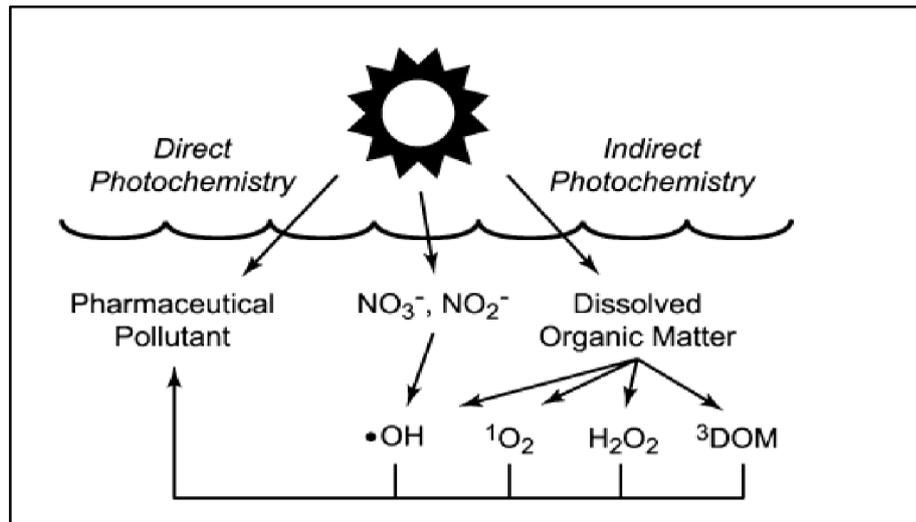


Figure 4: Photolyse directe et la photolyse indirecte dans le système aquatique (Arnold et McNeill., 2007).

Permis les produits pharmaceutiques qui éliminé par la photo-dégradation on àtrouvé Les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui représentent l'un des groupes les plus significatifs de polluants environnementaux (Ahmed., 2017), et aussi les antibiotiques qu'est représenté une menace mondiale majeure des pollutions (Kumar et al., 2019). L'efficacité de la photo-dégradation dépend autre propriétés de la substance, de l'intensité du rayonnement solaire, et donc de la latitude et de la saison, ainsi que des composants présents dans l'eau susceptibles de servir de photo-sensibilisants, générant des radicaux hydroxyles et de l'oxygène singlet (nitrates, acides humiques) (Fent et al., 2006).

V.1.2. Hydrolyse

L'hydrolyse est l'une des réactions les plus courantes contrôlant la dégradation abiotique et l'une des principales voies de dégradation des substances dans l'environnement. Mais tous les produits pharmaceutiques ne peuvent pas être hydrolysés. Par exemple, les stéroïdes et les médicaments acides ne peuvent pas être hydrolysés (Bialk-Bielinska et al., 2012 ; Ying et al., 2013).

Pour les antibiotiques, l'hydrolyse est un processus important pour leur devenir dans l'environnement aquatique. Pour les sulfamides, une solution de pH acide est la plus favorable hydrolyse, suivie de solutions neutres et alcalines. Par rapport au Triméthoprime et la lincomycine ne peuvent pas être dégradées par hydrolyse non plus (Ying et al., 2013).

V.1.3. Sorption

La sorption est un mécanisme d'élimination important lorsque la tendance des micropolluants organiques à se répartir sur les boues primaires et secondaires est élevée (Omil et al., 2010).

Le terme sorption comprend deux mécanismes: l'absorption(les micropolluants passent de la phase aqueuse et pénètrent dans la membrane cellulaire lipophile de la biomasse ou dans la fraction lipidique de la boue en raison de leur hydrophobicité) et leur adsorption (les micropolluants sont retenus sur la surface des solides en raison des interactions électrostatiques entre composés chargés positivement et la surface des microorganismes chargée négativement) (Alvarino et al., 2018). Une étude menée par Chen et ses collaborateurs, (2019) sur la sorption d'ibuprofène (IBU) dans les sédiments a été réalisée sous plusieurs conditions environnementales telles que le changement de pH, les matières organiques dissoutes, la salinité et la sorption compétitive pour comprendre le sort de l'ibuprofène dans le système eau-sédiment ; a montré que le L'ibuprofène n'était pas absorbé dans les sédiments à un pH de 7 alors adsorbée favorablement à pH 4. Par conséquent, si les sédiments sont acidifiés, l'ibuprofène change sa forme d'anionique à neutre qui peut être facilement absorbé par le sédiment. La salinité a également amélioré la sorption de l'ibuprofène.

Ainsi que une étude menée par Yu et al., (2011), sur la sorption des antibiotiques montre que le triméthoprime est caractérisé par une sorption moyenne de 47%.

V. 2 Elimination biotique

Depuis plusieurs décennies, l'accumulation de produits chimiques toxiques dans l'environnement ne cesse d'augmenter. Elle touche toutes les sociétés industrialisées et se propage également, notamment par voie atmosphérique, vers les zones reculées de la biosphère. Les nuisances et les risques pérennes pour les individus ainsi que pour les écosystèmes sont donc extrêmement préoccupants. Heureusement, les microorganismes, et plus particulièrement les procaryotes, grâce à leurs nombreuses machineries enzymatiques et à leurs fortes capacités d'adaptation, sont capables de catalyser efficacement la dégradation d'un très grand nombre de composés organiques (Guerrero et Berlanga., 2006).

Ainsi, certaines souches bactériennes ont su évoluer et adapter leurs voies métaboliques pour utiliser de nouveaux substrats tels que les polluants (**Janssen et al., 2005**). Elles peuvent alors les utiliser comme sources de carbone, comme donneurs ou accepteurs d'électrons dans des processus respiratoires mais également de manière fortuite grâce à l'activité non-spécifique de certaines de leurs enzymes (Co-métabolisme) (**Mattes et al., 2010; Pant et Pant., 2010**). Les processus d'éliminations biologiques sont très importants dans la transformation des polluants organiques, y compris les produits pharmaceutiques.

- **Biodégradation**

On considère généralement que les méthodes biologiques entraînées par les micro-organismes (biodégradation) représentent le meilleur mécanisme pour éliminer les polluants dans l'environnement. Cette approche est caractérisée par le coût relativement bas, l'absence de produits chimiques et la forte acceptation du public (**Simpa et al., 2010; Mahiuddin et al., 2012**). La biodégradation implique l'utilisation d'organismes microbiens capables d'assimiler le polluant en tant que source de carbone et d'énergie (substrat de croissance), ce qui entraîne son élimination. Au cours de ce processus, le polluant peut se transformer en composés moins complexes ou en métabolites (c'est une étape primaire de la biodégradation) ou une minéralisation en composés inorganiques sous forme de H₂O, CO₂ (c'est la biodégradation ultime).

La biotransformation, en revanche, ne nécessite qu'un nombre limité de réactions métaboliques et le noyau de base de la molécule reste essentiellement intact. Cependant, il est important de noter que les xénobiotiques ne sont pas toujours entièrement dégradés en CO₂ car les microorganismes doivent en orienter une partie de ces enzymes dans la biosynthèse de molécules essentielles (anabolisme) pour permettre la croissance et la division cellulaire. En outre, de nombreux organismes ne dégradent pas les xénobiotiques qu'en présence d'une molécule appropriée, facilement biodégradable, qui fournit le carbone cellulaire et l'énergie nécessaire à la croissance. Ce phénomène est appelée le co-métabolisme (**Neilson-welch et al., 2008**). Le cométabolisme est une transformation fortuite d'une molécule par une enzyme synthétisée pour un autre but (**Hatzinger et Kelsey, 2005**). Bien que le cométabolisme puisse entraîner l'accumulation d'intermédiaires persistants, dans de nombreux cas, la réaction d'oxydation initiale produit des composés facilement dégradables qui sont ensuite minéralisés. Les champignons et les bactéries sont les principaux micro-organismes impliqués dans la biodégradation des polluants organiques dans l'environnement. Les champignons jouent donc un rôle important dans le sol et en milieu aquatique.

Dans les stations d'épuration, les bactéries jouent un rôle essentiel dans la plupart des processus de biodégradation. La biodégradation de différents composés pharmaceutiques a été étudiée à profondément au cours de ces dernières décennies. **Rodart-Morales et ses collaborateurs., (2011)** ont signalé que les trois champignons *ligninolytiques*: *Bjerkandra Adusta*, *Phanerochaete Chrysosporium* et *Bjerkandrea sp.* sont capable d'éliminer l'IBU et d'autre produits pharmaceutiques avec des taux d'élimination différents. Ils ont signalé aussi l'élimination totale de l'IBU après 14 jours, que tandis, d'autre produits pharmaceutiques ont obtenu un pourcentage d'élimination plus faible (23 à 57%). Ainsi que une étude menée par **Almeida et al., (2013)** montre que le *Patulibactersp* est le premier isolat Gram positif avec une capacité démontrée à dégrader l'ibuprofène. **Liu et al., (2018)** ont montré que la souche *bacillus subtilis* est capable de dégradé le TMP avec un taux d'élimination de 90%. **De Araujo et al., (2017)** ont été aussi observé que les *basidiomycètes* tels que *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* et *Trametes sp.* sont capables d'éliminer 18 mg/l de TMP au bout de 15 jours avec un taux d'élimination d'environ 40%, sans accumulation des métabolites toxiques. Le même résultat est obtenu par **Alharbi et al., (2019)**, Ils ont montré que le champignon (*Trametesversicolor*) est capable dégrader le TMP, le Diclofenac et le sulfamethoxazole avec des taux d'élimination de 95%, 100% et 56%, respectivement.

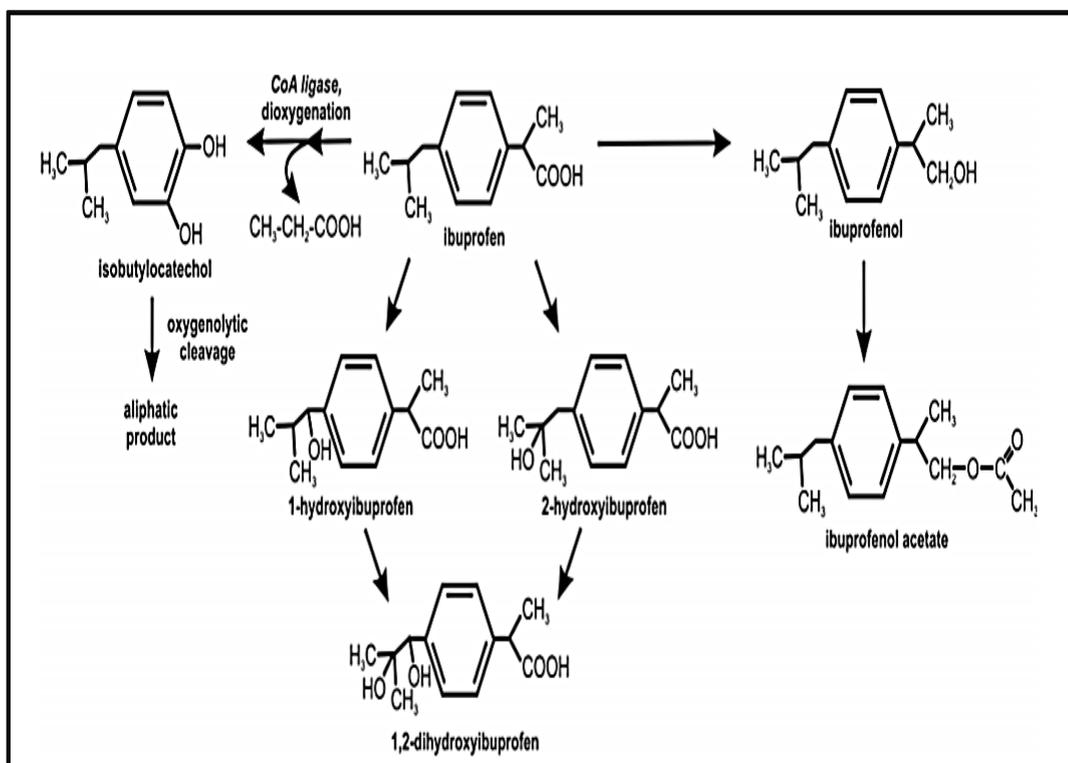


Figure 5: Transformation microbienne d'IBU (Marchlewicz et al., 2016).

VI. Microorganismes utilisés dans la biodégradation (Ibuprofène, triméthoprime)

Les micro-organismes de l'environnement jouent un rôle clé dans les processus écologiques fondamentaux tels que la dégradation des contaminants organiques. Ils constituent un vaste réservoir inexploré de diversité génétique et de capacité métabolique fournissant plusieurs services écosystémiques, notamment le maintien de la qualité des sols et de l'eau. La présence de médicaments dans l'environnement peut compromettre la structure et les activités de la communauté microbienne de différentes manières (Logeshwaran et al., 2018).

La présence d'une communauté microbienne naturelle est une condition préalable nécessaire à une réponse efficace aux divers produits chimiques susceptibles de contaminer un écosystème (Caracciolo et al., 2015). Il existe peu d'informations sur les souches microbiennes pures capables d'éliminer les produits pharmaceutiques. Reis et al., (2014) ont été signalés que la plupart des études disponibles sur la biodégradation d'antibiotiques sont réalisés par des boues activées et que seules quelques études ont rapporté l'isolement de microorganismes pharmaceutiques dégradants.

Bouju et al., (2012) ont également indiqué que les informations sur l'élimination microbienne des anti-inflammatoires comme l'IBU sont très rares en raison de la sensibilité des microorganismes à ces composés. La plupart des travaux disponibles ont étudié la biodégradation de produits pharmaceutiques par des champignons, principalement des champignons responsables de la pourriture blanche.

Dans ce contexte, Marco-Urrea et al., (2009) ont été montrés que les quatre champignons de la pourriture blanche (*Trametes versicolor*, *Irpex lacteus*, *Ganoderma lucidum* et *Phanerochaete chrysosporium*) sont capables d'éliminer l'IBU à une concentration de 10 mg/l après 7 j d'incubation. De Araujo et al., (2017) ont été observés que les basidiomycètes connus, tels que *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* et *Trametes sp.*, sont capables d'éliminer des antibiotiques tels que le triméthoprime. Par exemple *P. ostreatus* est capable d'éliminer environ 18 mg/l de TMP au bout de 15 jours, sans accumuler de métabolites toxiques. En comparant ces résultats avec les champignons de la pourriture blanche, ces derniers sont assez tolérants à la présence de fortes concentrations de ces médicaments, ce qui indique que ces microorganismes ont un grand potentiel pour la bioremédiation de ces micropolluants.

Les informations sur la biodégradation / biotransformation des produits pharmaceutiques par des souches bactériennes sont rares dans la littérature (Domaradzka et al., 2015). Marchlewicz et al., (2016) ont rapporté que *Bacillus thuringiensis* B1 (2015b) est capable de dégrader l'ibuprofène

comme seule source de carbone. Cependant, en présence de glucose *Bacillusthuringiensis* B1 (2015b) dégrade l'ibuprofène avec une plus grande efficacité (20 mg/l au bout de 6 jours).

Selon la littérature, les principales souches bactériennes étudiées capables d'éliminer les produits pharmaceutiques appartenaient aux genres *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Patulibacter*, *Nocardia*, *Rhodococcus* et *Stenotrophomonas* (Wojcieszynska et al., 2014)

Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé au Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de JIJEL. Dans une période de 2 mois.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

Les souches microbiennes utilisées dans cette étude ont été isolées et identifiées préalablement par **Dr. Aissaoui Salima (Tableau IV)**.

Tableau IV: Origines des souches bactériennes utilisées.

La souche	S2	S4	I4	I11	D15	D16
Origine	Compost ménager	Boue activée	compost ménager	Compost Ménager	Boue Activée	Compost ménager
Identification	<i>Arthrobacter nicotianae</i> (99, 38%) En utilisant le gène 16s	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> En utilisant MALDI TOF MS	<i>Enterobacter cloacae</i> En utilisant MALDI TOF MS	<i>Enterobacter cloacae</i> En utilisant MALDI TOF MS	<i>Enterobacter hormaechei</i> (99%) En utilisant le gène 16s	<i>Enterobacter cloacae</i> En utilisant MALDI TOF MS

I.2. Milieu Minimum

Le milieu de culture minéral minimum (MMM) a été utilisé dans cette étude. Il a été préparé au niveau du laboratoire et contient les éléments minéraux suivants :

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 g/l), NH₄NO₃ (5 g/l), et d'extrait de levure (0.6 g/l). Le pH est ajusté à 7 avec une solution de NaOH à 5N, avant autoclavage (**Aissaoui et al., 2017**).

Le TMP et l'IBU (polypharma) sont obtenus à partir du laboratoire national du contrôle des médicaments (Algérie). La solution mère des deux médicaments a été préparée dans l'eau distillée stérile et méthanol (80:20% V/V).

-Pour l'analyse d'HPLC en utilisant le solvant d' Acétonitril (SIGMA-ALDRICH)

I.3. Appareillage

PH mètre (Hanna)

Bain marie (Gerhardt Bonn)

Etuve (Memmert)

Centrifugeuse (Hettich)

Balance (Scout Pro)

Spectrophotomètre (Analytikjena)

HPLC (SHIMADZU) doté d'un détecteur UV visible.

Autoclave (Slli AVX electronic)

Microfiltres (Sartorius RC 0.20µm)

II. Méthodes

II.1. Purification des souches

En se basant sur l'aspect macroscopique, diverses colonies ont été prélevées et repiquées sur la gélose nutritive préalablement coulée et séchée. L'ensemencement des boîtes se fait par des stries séparées, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h. Le repiquage est refait jusqu'à l'obtention des souches pures. On peut dire que la souche est pure si on obtient des colonies homogènes de même forme, même taille et même couleur.

II.2. Screening des souches bactériennes capables de dégrader l'ibuprofène et le triméthoprime

C'est un test préliminaire qui nous a permis de choisir les souches bactériennes les plus performantes (capables de croître dans le milieu minimum minéral (MMM) où l'IBU et le TRM sont la seule source de carbone) pour le test de la biodégradation. 10 ml du MMM contient 10mg/l d'IBU ou 6 mg/l de TRM comme seule source de carbone a été inoculée avec 1ml de chaque souche purifié (chaque souche dans un tube séparé). Les échantillons ont été incubés sous agitation à 37°C/

150 rpm pendant 5 jours. La cinétique de la croissance bactérienne est suivie par la mesure de la densité optique (DO) à 600 nm chaque 24 h.

II.3. Test de biodégradation de l'ibuprofène et de triméthoprim

Dans des Erlenmeyers de 250 ml, un volume de 95 ml de milieu minimum minéral (MMM) contenant 10 mg/l d'IBU ou 6 mg/l TRM, est inoculée par 5ml d'une culture jeune de la souche choisie (S2) (correspondant à environ 426.108UFC/ml), l'inoculation se fait dans des conditions d'asepsie totale. Pour évaluer la dégradation abiotique et l'adsorption, un contrôle dépourvu de culture bactérienne et contient 5 ml de culture bactérienne S2 autoclavée, respectivement ont été utilisés.

Les Erlenmeyers sont couverts par du papier aluminium pour éliminer l'effet de la photodégradation (Larche et Yargeau, 2011). Les échantillons ont été incubés sous agitation à 37°C / 150 rpm pendant 48 h. A partir de ces échantillons, 2 ml ont été prélevés chaque 24h (T₀, 24h, 48h), dont le but est de suivre la croissance bactérienne à 600nm et pour la mesure de la concentration de l'IBU et TRM dans le milieu en utilisant l'HPLC.

Pour l'analyse de la concentration des médicaments utilisés, les échantillons prélevés ont été centrifugés pendant 20 min à 6000 rpm afin d'obtenir un surnageant exempt de cellules microbiennes. Les surnageants sont récupérés et filtrés en utilisant des micro-filtres (0,20 µm) (Gauthier et al., 2010). Cette opération est faite pendant trois temps différents (le temps 0, 24 et 48h). Les filtrats sont conservés dans des micro-tubes au congélateur.

II.4. Analyse de l'IBU et de TMP par l'HPLC

II.4.1. HPLC pour l'analyse de l'IBU

Pour l'analyse des échantillons, la méthode de l'HPLC est requise. Cette dernière comporte une colonne C-18 apolaire inversée, une pompe (LC-20 AT), un dégazeur (DGU -20A3), un détecteur UV-visible (SPD- 20AV) et un enregistreur (CR 8A). La phase mobile utilisée est constituée d'un mélange d'acétonitrile et l'eau (85: 15% V: V) avec un débit de 1 ml/min. La longueur d'onde utilisée pour détecter l'IBU est 270 nm. Les filtrats sont injectés à l'aide d'une seringue spécifique de 20 µl (Dhaneshwar et Bhusari, 2011).

II.2. HPLC pour l'analyse de TRM

Pour l'analyse des échantillons, la méthode de Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est requise. Cette dernière comporte une colonne C-18 apolaire inversée, une pompe (LC-20 AT), un dégazeur (DGU -20A3), un détecteur UV-visible (SPD- 20AV) et un enregistreur (CR 8A). La phase mobile utilisée est constitué d'une mélange d'acetonitrile (25%), d'eau distillé (65%) et de 25 Mm d'acide formique (10%) avec un débit de 0,5 ml/ min. 270 nm est la longueur d'onde utilisée pour détecter le TRM. Les filtrats sont injectés à l'aide d'une seringue spécifique de 20 µl (Trovó et *al.*, 2009).

II.5. Estimation du pourcentage de dégradation d'IBU et de TRM

La surface du pic chromatographique a été utilisée pour estimer le pourcentage de dégradation en utilisant l'équation (1) (Zwiener et Frimmel, 2003).

$$EI (\%) = (C_i - C_0) / C_0 (100) \text{ Eq. (1)}$$

EI (%) : correspond au taux d'élimination d'IBU ou de TMP (%).

C₀ : c'est la concentration de médicament au début de l'expérience.

C_i : C'est la surface de pic de l'IBU ou le TMP à la fin de l'expérience.

II.6. Effets des différentes concentrations d'IBU et de TMP sur la croissance bactérienne

Ce test a pour but d'évaluer l'effet de différentes concentrations du médicament sur la croissance bactérienne pour estimer la concentration maximale tolérée par le microorganisme. Dans cet essai l'effet de l'IBU et de TMP a été évalué en utilisant la souche bactérienne (S2) ont été cultivée dans 50ml du bouillon nutritif pendant 24h. 1ml de cette culture est ajouté à une série de tube contenant préalablement 9 ml du milieu minimum et différentes concentration du médicament. Les concentrations de l'IBU et de TMP utilisés varient de 5 à 300mg/l (0mg/l, 5mg/l, 10mg/l, 25mg/l, 50mg/l, 75mg/l, 100 mg/l, 125mg/l, 150mg/l, 200 mg/l, 250 mg/l, 300 mg/l). Les échantillons sont incubés sous l'agitation à 37°C et 150 rpm pendant 24h, la croissance bactérienne a été estimée par la mesure de la densité optique à 600nm.

Résultats et discussion

I. Screening des souches bactériennes capables de dégrader l'ibuprofène et le triméthoprime

Ce test est réalisé dans le but de choisir quelques souches capables de résister et de croître en présence d'IBU ou de TMP pour les réserver au test de la biodégradation des deux médicaments. Les densités optiques sont mesurées pour les six souches pures isolées.

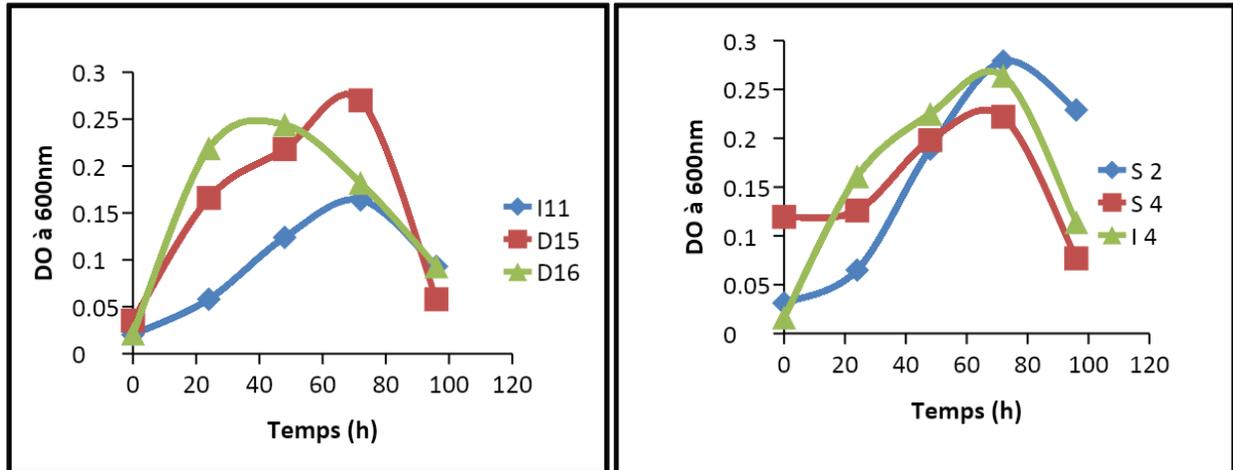


Figure 6 : Cinétique de croissance des six souches isolées en fonction du temps dans le milieu minimum en présence de l'IBU à 10mg/l à 37°C.

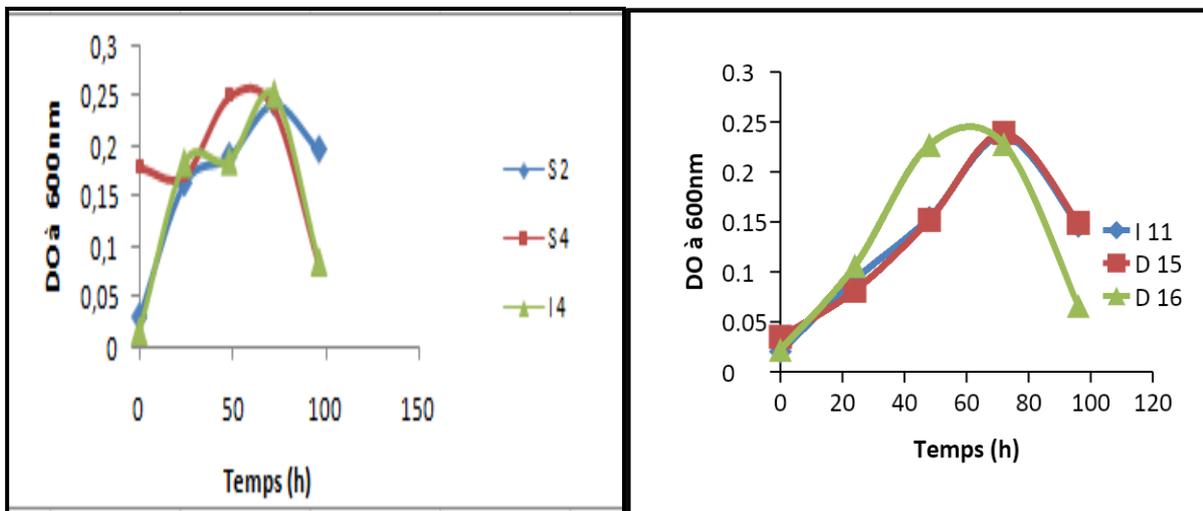


Figure 7: Cinétique de croissance des six souches isolées en fonction du temps dans le milieu minimum en présence de TMP à 6mg/l à 37°C.

S2, S4, I4, I11, D15 et D16 (Tableau IV).

La totalité des six souches sont capables de croître dans le milieu minimum en présence de l'ibuprofène et/ou le triméthoprime à une concentration finale de (10mg/l, 6 mg/l, respectivement), comme seule source de carbone et d'énergie.

Selon la **figure 6 et 7** la densité optique des 6 souches au temps 0 est presque stable elle est entre 0,01 et 0,03. Dès les premières heures d'incubation une multiplication croissante est observée pour les six souches avec une croissance maximale obtenue après 72 h d'incubation pour toutes les souches. Dans l'heure suivante, (96 h) une diminution considérable de la croissance bactérienne est observée.

La capacité des six souches à se développer dans le milieu minimum en présence de l'IBU et/ou de TMP comme seules sources de carbone et d'énergie, indiquent que ces bactéries sont capables de résister et de l'utiliser comme un nutriment, ils sont alors probablement aptes à le dégrader.

D'après les résultats obtenus, nous avons observé que la multiplication des six souches débute dès les premières heures d'incubation. Ces résultats peuvent être expliqués par l'adaptation des bactéries au l'IBU et le TMP (avant l'isolement les échantillons ont été préalablement enrichis par l'IBU et le TRM), les souches pourraient avoir les enzymes nécessaires pour la dégradation de ce micropolluant qui sont préalablement induites.

Le ralentissement ou la diminution de la croissance bactérienne après 72 h, peuvent être expliqués probablement par l'effet toxique des dérivés de dégradation produits au fur et à mesure de la métabolisation du substrat. Une déplétion de substrats dans le milieu peut être à l'origine de cette diminution, mais cette hypothèse reste à confirmer. D'après ces résultats, la souche S2 identifiée comme *Arthrobacter nicotianae* a été choisie pour le test de biodégradation car elle a présenté une bonne croissance et une forte stabilité dans le milieu minimum en présence de l'IBU et de TMP.

II. Test de biodégradation d'IBU et de TMP

Le taux de biodégradation de l'IBU et de TMP a été étudié dans des erlenmeyers de 250 ml pendant 48h et le pourcentage d'élimination a été calculé après mesure de la concentration des deux médicaments par l'HPLC. Selon les chromatogrammes d'HPLC obtenu nous avons remarqué la présence des pics correspondants à l'IBU et le TMP ayant un temps de rétention de 3,34 min, et 3.2 min, respectivement (**Figure 8 et 9**).

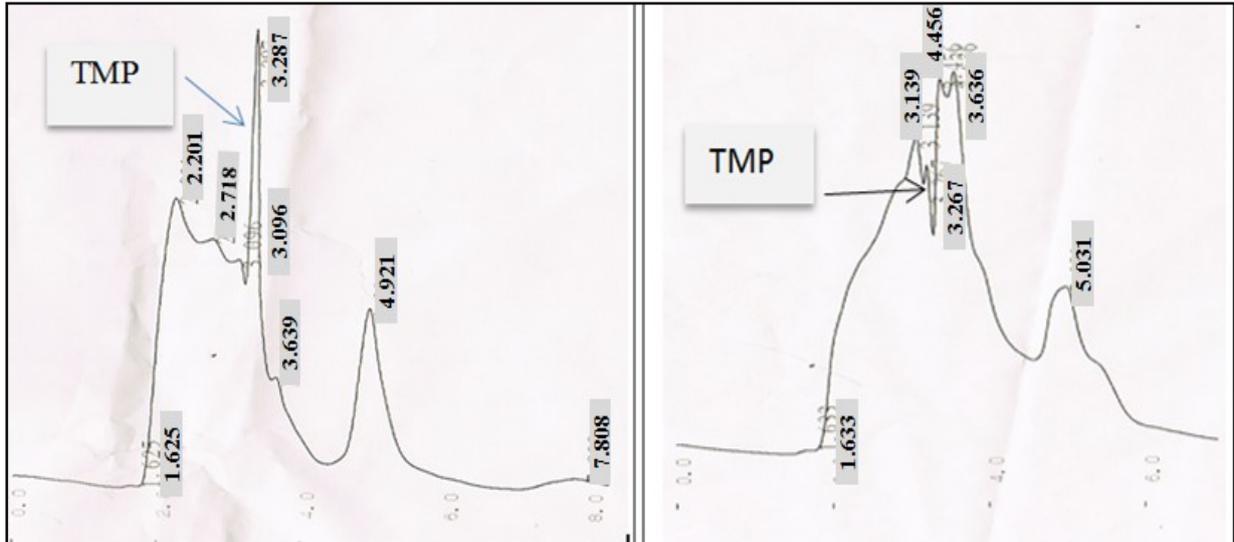


Figure 8: Chromatogramme d'HPLC obtenue avec le test de biodégradation de TMP par la souche *Arthrobacter nicotianae* (S2) : A : à T0, B : Après 48h d'incubation.

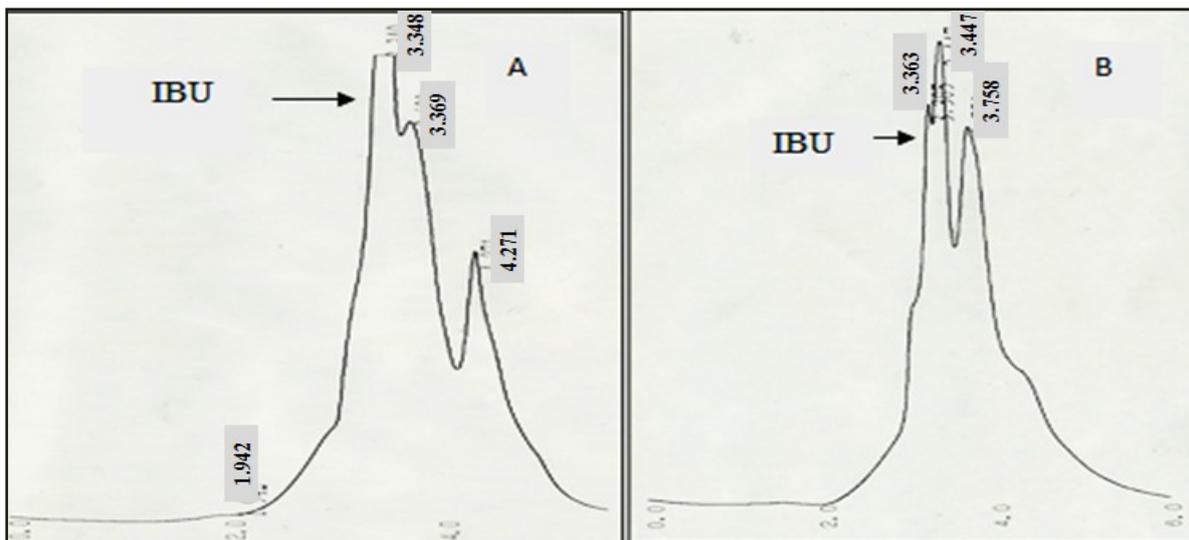


Figure 9: Chromatogramme d'HPLC obtenue avec le test de biodégradation de l'IBU par la souche *Arthrobacter nicotianae* (S2) : A : à T0, B : Après 48h d'incubation.

Les résultats obtenus montrent la présence d'une faible élimination de l'IBU dans les deux erlenmeyers abiotique et adsorption (6.06% et 4,71%, respectivement). Au cours de la même période, le taux d'élimination de l'IBU dans les échantillons microbiologiquement actifs (en présence de la souche S2) après 48h d'incubation est égal à 63.48%. Les résultats sont présentés dans la **figure 10**. La croissance des cellules semblent être en accord avec le processus de dégradation (DO= 0.358 après 24h, 0.150 après 48h).

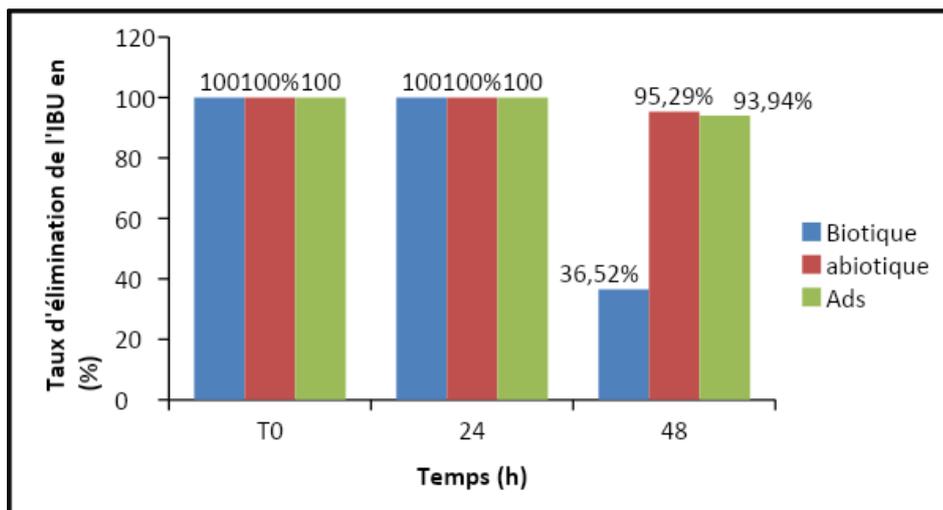


Figure 10: Biodégradation de l'IBU par *Arthrobacter nicotianae* (S2) pendant 48h d'incubation.

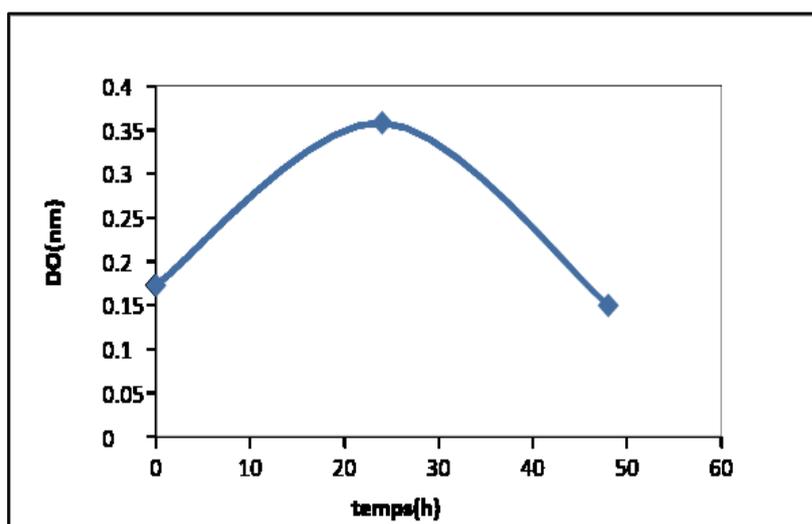


Figure 11: Le taux de la croissance de l'IBU par *Arthrobacter nicotianae* (S2) pendant 48h d'incubation.

Les données bibliographiques sur le devenir du DCF dans l'environnement ont montré que, en plus de processus de biodégradation, la dégradation abiotique (photolyse, volatilisation, hydrolyse) et la sorption peuvent également être impliqués dans l'élimination du DCF dans l'environnement (Grenni et al., 2012). Le processus d'élimination abiotique et l'adsorption sur la surface bactérienne est très faible dans notre expérience. Nos résultats ont fortement corrélés avec ceux obtenus par Nikolaou et ses collaborateurs, (2007) qui ont constaté que les PhAC acides comme l'IBU ayant un pK_a de 4.1 à 4.9, se comportent comme ions à pH neutre et donc, ne sont pas aisément adsorbés sur les biomolécules et les sédiments, ils restent dans la phase aqueuse.

En plus **Mehinto., (2009)** a constaté que la sorption peut ne pas être un procédé approprié pour l'élimination de ce genre de molécules car ce dernier est incapable de s'adsorber sur les solides. La faible dégradation de l'IBU dans les échantillons abiotiques et d'adsorption, a confirmé que la réduction de la concentration de l'IBU dans les échantillons microbiologiquement actifs est due principalement à l'activité microbienne (biodégradation). Selon **Sharma, (2019)** la bactérie *Micrococcu syunnanensis* est capable de dégrader l'IBU à un taux de dégradation d'environ 41,57%. Ainsi que **Lu et al., (2019)** montré que *Pseudoxanthomonas* sp. est capable de dégrader l'IBU avec un taux d'élimination atteignant 41% après 14 jours d'incubation. **Marchlewicz et al., (2016)** ont également décrit une bactérie identifié comme *Bacillus thuringiensis* est capable de dégrader 20 mg/l de l'ibuprofène au bout de 6 jours et 6mg/l de naproxène au bout de 5 semaines. **Aissaoui et al., (2017)** ont montré qu'une mixture de bactéries *Enterobacter hormaechei* D15, *Citrobacter youngae* D16, *Arthrobacter nicotianae* S2 et *Pseudomonas* sp. S4 est capable de métaboliser 23,08% de l'IBU à une concentration de 3 mg/l. **Salgado et al., (2018)** ont constaté que *P.Medicamentivorans* est capable de dégrader l'IBU avec production de deux métabolites (l'isobutylbenzène et 3-isobutylphénol).

On ce qui concerne le triméthopime (**figure 12**), une élimination presque totale de TMP a été observé après 48h d'incubation on présence de la souche S2 elle est de l'ordre de 98.8% aucune réduction de la concentration de ce dernier a été remarqué dans le contrôle abiotique et adsorption ce qui confirme que l'élimination observé dans les échantillons microbiologiquement actif est due exclusivement à l'action de la souche S2. La croissance des cellules semblent être en accord avec le processus de dégradation (**Figure 13**).

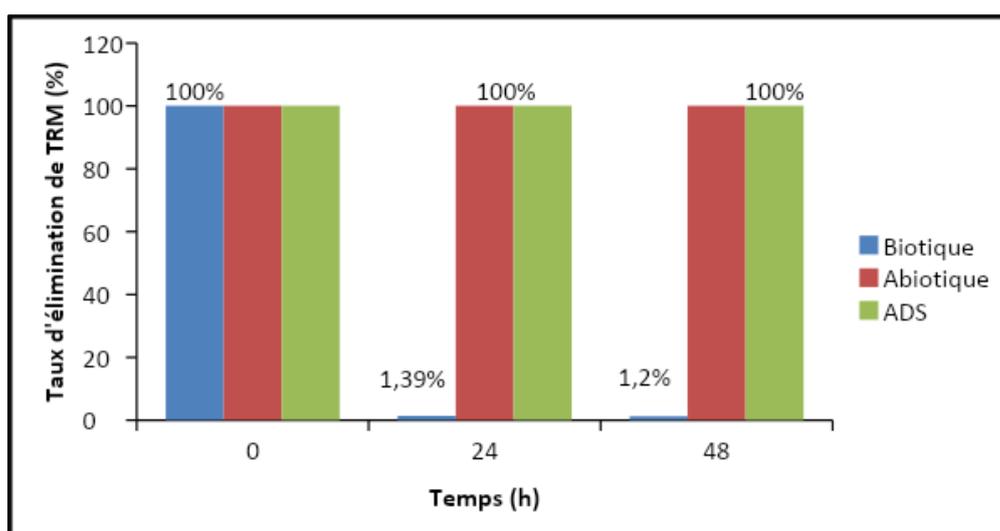


Figure 12: Biodégradation du TMP par *Arthrobacter nicotianae* (S2) pendant 48h d'incubation.

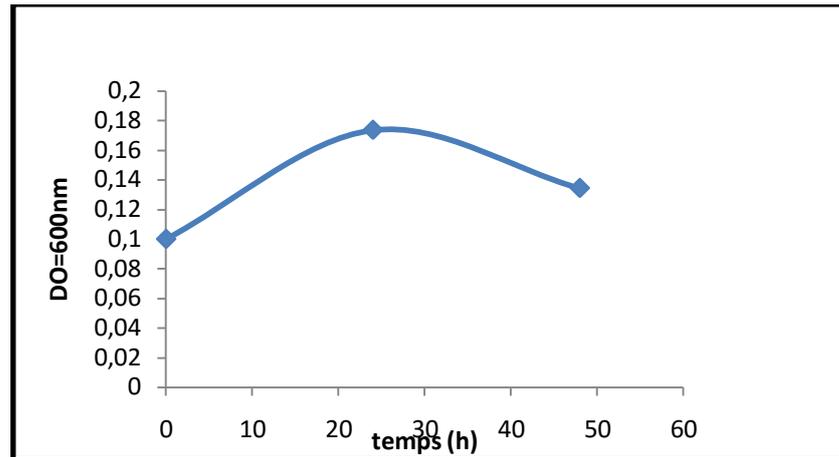


Figure 13: Le taux de la croissance de TMP par *Arthrobacter nicotianae* (S2) pendant 48h d'incubation.

Notre résultat est fortement corrélé avec le résultat de **Liu et al., (2018)** qui ont montré que la souche *Bacillus subtilis* est capable de dégrader le TMP avec un taux d'élimination de 90%. **De Araujo et al., (2017)** ont observé que les *basidiomycètes* tels que *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* et *Trametes sp.* sont capables d'éliminer 18 mg/l de TMP au bout de 15 jours avec un taux d'élimination d'environ 40%, sans accumulation des métabolites toxiques. ce qui concerne la dégradation par un eucaryote, **Alharbi et al., (2019)**, est montré que le champignon (*Trametes versicolor*) est capable de dégrader le TMP, le Diclofenac et le sulfaméthoxazole avec des taux d'élimination de 95%, 100% et 56%, respectivement. Le processus d'élimination abiotique a été exclu dans notre expérience, car aucune réduction de la concentration de TMP n'a été enregistrée. L'adsorption du TMP sur la biomasse est absente, ce résultat prouve que ce composé est incapable de s'adsorber sur la surface bactérienne. Nos résultats indiquent que la bactérie *Arthrobacter nicotianae* (S2) pourrait jouer un rôle important dans la bioremediation des produits pharmaceutique, mais des études supplémentaires sont nécessaires pour élucider le processus de dégradation par ce microorganisme.

III. Effet des différentes concentrations de l'IBU et de TMP sur la croissance bactérienne

Le but de cette expérience est de déterminer la concentration maximale de l'IBU et TMP pouvant être tolérée par *Arthrobacter nicotianae* (S2). Nous avons utilisé différentes concentrations de façon croissante jusqu'à 300mg/l.

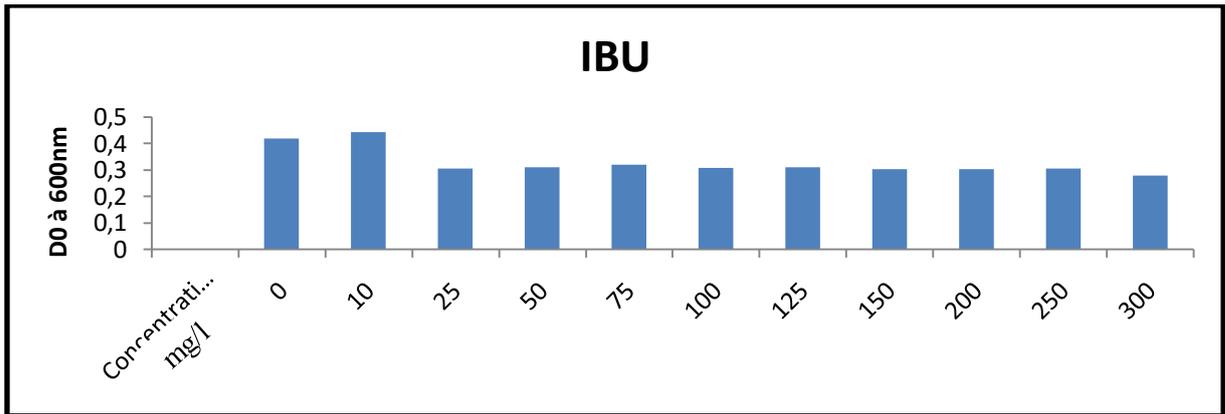


Figure 14: Effet de différentes concentrations d'IBU après 24h sur la croissance de la souche testée (S2).

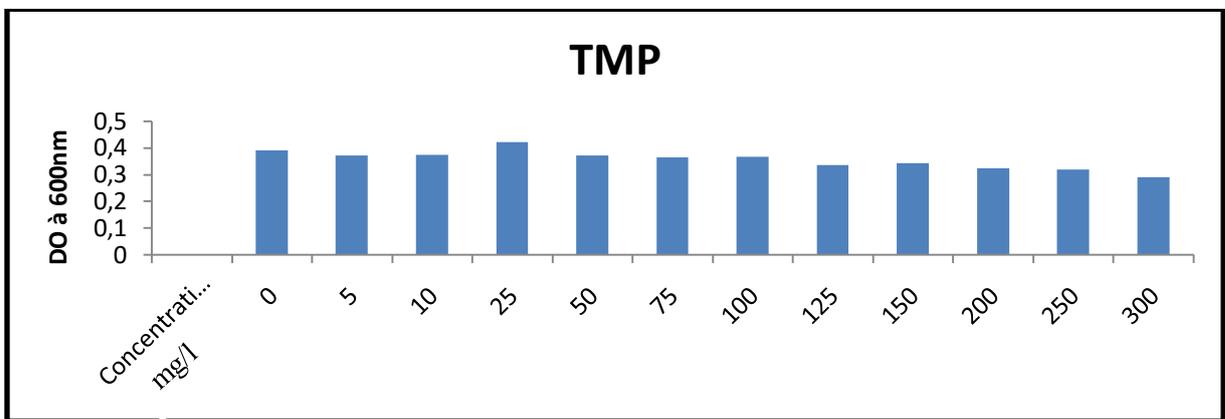


Figure 15: Effet de différentes concentrations de TMP après 24h sur la croissance de la souche testée (S2).

Selon la **figure 14** et la **figure 15**, une augmentation croissante de la croissance de la souche S2 est observée. Elle atteint son niveau maximal à une concentration de 10 mg /l et 25 mg /l en présence de l'IBU et le TMP. Ces résultats indiquent que les deux médicaments favorisent la croissance d'*Arthrobacter nicotianae* (S2), ce qui confirme nos résultats précédents, donc cette faible concentration aucun effet négatif sur cette souche.

Une lente diminution de la croissance bactérienne a été observée à des concentrations allant de 25mg/l à 300mg/l pour l'IBU et de 50mg/l à 300mg/l pour le TMP. D'après ces résultats, nous pouvons conclure que *Arthrobacter nicotianae* (S2) présente une tolérance acceptable vis-a-vis l'IBU et le TMP.

Les informations sur l'effet des médicaments sur la croissance microbienne sont très rares dans la littérature. **Oliveira et al., (2019)**, ont constatés que l'IBU à des concentrations allant de 100 à 500 mg/l inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Une autre étude conduite par **Peng et al., (2015)** montr qu'une concentration de 2mg/l de TMP inhibe complètement la croissance de l'*Escherichia coli*. Des résultats similaires sont obtenus par **Neyestani et al., (2017)**, ont montré que *Staphylococcus* sp. et *Streptococcusean* sp. sont très sensibles au TMP à une concentration de 4µg/ml. **Caracciolo et al., (2015)** ont indiqué qu'à des concentrations élevées (50 à 100 mg/l), le DCF inhibe la croissance des bactéries à Gram positif et à Gram négatif via l'inhibition de la synthèse de l'ADN et ont signalé que des biofilms lotiques composés de bactéries et de populations d'algues, ont perdu environ 70% de leur biomasse initiale globale après 4 semaines d'exposition à 100 mg/l de DCF. Cependant, certaines bactéries ont survécu et ont été capables de dégrader jusqu'à 97% du composé d'origine après 5 jours de son addition. Ces résultats ont confirmé la capacité de certains microorganismes à s'adapter aux composés pharmaceutiques et à les dégrader ; c'est pourquoi la souche *Arthrobacter nicotianae* (S2) peut tolérer des concentrations élevées d'IBU et de TMP.

La tolérance de cette souche à fortes concentrations de ces deux médicaments la permet d'être un puissant candidat pour le traitement des stocks de médicaments, ce qui offre une technologie verte alternative à l'incinération et à d'autres traitements physico-chimiques.

Conclusion

Notre étude expérimentale était menée sur la biodégradation de l'ibuprofène et de triméthoprime par des souches bactériennes, les souches ont été préalablement isolées à partir de différentes origines, et on a utilisé l'HPLC comme technique d'analyse.

Les résultats obtenus ont permis de noter les conclusions suivantes :

- Toutes les six souches testées sont capables de croître dans le milieu minimum en présence d'IBU et TMP à une concentration finale de 10 et 6 mg/l, respectivement comme seule source de carbone et d'énergie.
- La souche S2 identifiée comme *Arthrobacter nicotianae* (S2), a été choisie pour le test de la biodégradation à cause de sa capacité particulière à résister à l'IBU et le TMP.
- L'IBU et le TMP sont biodégradables, avec des taux d'élimination de 63.48% et 98.8%, respectivement en présence de *Arthrobacter nicotianae* (S2).
- Cette souche bactérienne est capable de résister jusqu'à 300 mg/l de l'IBU et de TMP

D'après ces résultats, on peut conclure que *A. Nicotianae* (S2) pourrait être utilisé comme catalyseur puissant pour le traitement des stocks de ces médicaments éliminés et comme stratégie respectueuse de l'environnement alternative aux traitements physico-chimiques. Cependant, ceci ne pourrait être atteint que si des études de cinétique, d'optimisation et des études grandes échelle sont réalisées.

Références bibliographiques

1. **Ahmed, M.J. (2017).** Adsorption of non-steroidal anti-inflammatory drugs from aqueous solution using activated carbons. *Journal of environmental management.* 190 : 274-282.
2. **Aissaoui, S.; Ouled-Haddar, H.; Sifour, M.; Beggah, C et Benhamada, F. (2017).** Biological removal of the mixed pharmaceuticals: diclofenac, ibuprofen, and sulfamethoxazole using a bacterial consortium. *Iranian journal of biotechnology.* 15(2) : 135.
3. **Aissaoui, S.; Sifour, M.; Ouled-Haddar, H.; Sghaier, H et Jamoussi, B. (2017).** Microbial Removal of Sulfamethoxazole by Pure Bacterial Cultures Isolated from the Environment. 8(6) : 2147-2153.
4. **Alharbi, S.K.; Nghiem, L.D.; Merwe, V.D.P.; Leusch, F.D.; Asif, M.B.; Hai, F.I et Price, W.E. (2019).** Degradation of diclofenac, trimethoprim, carbamazepine, and sulfamethoxazole by laccase from *Trametes versicolor*: Transformation products and toxicity of treated effluent. *Biocatalysis and Biotransformation.* 1-10.
5. **Almeida, B.; Oehmen, M.R.; Brito, D.; Carvalho, G et Barreto, C.(2013a).** Modelling the biodegradation of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) by activated sludge and a pure culture. *Bioresource Technology.* 133: 31-37.
6. **Alvarino, T.; Suarez, S.; Lema, J et Omil, F. (2018).** Understanding the sorption and biotransformation of organic micropollutants in innovative biological wastewater treatment technologies. *Science of The Total Environment.* 615 : 297-306.
7. **Arnold, W.A et McNeill, K. (2007).** Chapter 3.2 Transformation of pharmaceuticals in the environment: Photolysis and other abiotic processes. 50: 361-385.
8. **Ashfaq, M.; Khan, K.N.; Rehman, M.S.U.; Mustafa, G.; Nazar, M.F.; Sun, Q.; Iqbal, J.; Mulla, S.I et Yu, C.P. (2017).** Ecological Risk Assessment of Pharmaceuticals in the Receiving Environment of Pharmaceutical Wastewater in Pakistan. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 136: 31–39.
9. **Autmizguine, J.; Melloni, C.; Hornik, C. P.; Dallefeld, S.; Harper, B.; Yogev, R et Poindexter, B. (2018).** Population pharmacokinetics of trimethoprim-sulfamethoxazole in infants and children. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 62(1) : 1813-17.
10. **Bagheri, H.; Ghader, S et Hatami, N. (2019).** Solubility of Ibuprofen in Conventional Solvents and Supercritical CO₂: Evaluation of Ideal and Non-Ideal Models. *Chemistry.* 13(1) : 1-10.

11. **Bai, X et Acharya, K. (2016).** Removal of trimethoprim, sulfamethoxazole, and triclosan by the green alga *Nannochloris* sp. *Journal of hazardous materials*. 315 : 70-75.
12. **Bartelt-Hunt, S.; Snow, D.D.; Damon-Powell, T et Miesbach, D. (2011).** Occurrence of Steroid Hormones and Antibiotics in Shallow Groundwater Impacted by Livestock Waste Control Facilities. *Journal of Contaminant Hydrology*. 123 : 94–103.
13. **Bártíková, H.; Podlipná, R et Skálová, L. (2016).** Veterinary Drugs in the Environment and Their Toxicity to Plants. *Chemosphere*. 144 : 2290–2301.
14. **Beek, T.A.D.; Weber, F.A.; Bergmann, A.; Hickmann, S.; Ebert, I.; Hein, A et Küster, A. (2016).** Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives. *Environmental toxicology and chemistry*. 35(4) : 823-835.
15. **Behera, S.K.; Kim, H.W et Oh, J.E. (2011).** Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. *Science of the Total Environment*. 409(20) : 4351-4360.
16. **Białk-Bielińska, A.; Stolte, S.; Matzke, M.; Fabiańska, A.; Maszkowska, J.; Kołodziejka, M.; Liberek, B.; Stepnowski, P et Kumirska, J. (2012).** Hydrolysis of sulphonamides in aqueous solutions. *Journal of hazardous materials*. 221: 264-274.
17. **Bouju, H.; Ricken, B.; Beffa, T.; Corvini, P.F.X et Kolvenbach, B.A. (2012).** Isolation of bacterial strains capable of sulfamethoxazole mineralization from an acclimated membrane bioreactor. *Applied and Environmental Microbiology*. 78(1) : 277-279.
18. **Bradley, P.M.; Journey, C.A.; Button, D.T.; Carlisle, D.M.; Clark, J.M.; Mahler, B.J.; Nakagaki, N.; Qi, S.L.; Waite, I.R et VanMetre, P.C. (2016).** Metformin and other pharmaceuticals widespread in wadeable streams of the southeastern United States. *Environmental Science & Technology Letters*. 3 (6) : 243-249.
19. **Caracciolo, A.B.; Topp, E et Grenni, P. (2015).** Pharmaceuticals in the environment: biodegradation and effects on natural microbial communities. A review. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 106 : 25-36.
20. **Chaussade, H.; Sunder, S.; Bernard, L.; Coloby, P.; Guy, L.; Karsenty, G et Bruyère, F. (2013).** Les médicaments antibiotiques en urologie. *Progrès en urologie*. 23(15) : 1327-1341.
21. **Chen, Z.; Xiao, X.; Xing, B et Chen, B. (2019).** PH-dependent sorption of sulfonamide antibiotics onto biochars: Sorption mechanisms and modeling. *Environmental pollution*. 248 : 48-56.

22. **Costa, F.; Lago, A.; Rocha, V.; Barros, O.; Costa, L.; Vipotnik, Z et Tavares, T. (2019).** A Review on Biological Processes for Pharmaceuticals Wastes Abatement-A Growing Threat to Modern Society. *Environmental Science & Technology*.
23. **Courtier, A.; Cadiere, A et Roig, B. (2018).** Human Pharmaceuticals: Why and how to reduce their presence in the environment. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*.
24. **De Araujo, C.A.V.; Maciel, G.M.; Rodrigues, E.A.; Silva, L.L.; Oliveira, R.F.; Brugnari, T.; Peralta, MR.; De Souza, M.C.G et de Souza, C.G.M. (2017).** Simultaneous removal of the antimicrobial activity and toxicity of sulfamethoxazole and trimethoprim by white rot fungi. *Water, Air, & Soil Pollution*. 228(9): 341.
25. **De Logu, F.; Puma, S.L.; Landini, L.; Tuccinardi, T.; Poli, G.; Preti, D et Nassini, R. (2019).** The acyl-glucuronide metabolite of ibuprofen has analgesic and anti-inflammatory effects via the TRPA1 channel. *Pharmacological research*. 142 : 127-139.
26. **Deblonde, T. (2013).** évaluation des risques sanitaires de la consommation d'eaux potentiellement chargées en résidus de médicaments anticancéreux. Université de Lorraine. France.
27. **Desbiolles, F.; Malleret, L.; Tiliacos, C.; Wong-Wah-Chung, P et 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.
28. **Dhaneshwar, S.R et Bhusari, V.K. (2011).** Validated HPLC method for simultaneous estimation of diclofenac sodium and misoprostol in bulk drug and formulation. *Asian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*. 1(1) :15–21.
29. **Dolar, D.; Vuković, A.; Ašperger, D et Košutić, K. (2012).** Efficiency of RO/NF Membranes at the Removal of Veterinary Antibiotics. *Water Science & Technology*. 65, 317–323.
30. **Domaradzka, D.; Guzik, U.; Hupert-Kocurek, K et Wojcieszynska, D. (2015).** Co-metabolic degradation of naproxen by *Planococcus* sp. Strain S5. *Water Air Soil Pollut*. 226: 297. DOI : 10.1007/s11270-015-2564-6.
31. **Du, J.; Mei, C. F.; Ying, G. G et Xu, M.Y. (2016).** Toxicity thresholds for diclofenac, acetaminophen and ibuprofen in the water flea *Daphnia magna*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 97(1): 84-90.

32. **Ebele, A.J.; Abdallah, M.A.E et Harrad, S. (2017).** Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*. 3(1) : 1-16.
33. **Emara, Y.; Lehmann, A.; Siegert, M.W et Finkbeiner, M. (2019).** Modeling pharmaceutical emissions and their toxicity-related effects in life cycle assessment (LCA): A review. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 15(1) : 6-18.
34. **Fent, K.; Weston, A.A.; et Caminada, D. (2006).** Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic toxicology*. 76(2) : 122-159.
35. **Fick, J.; Lindberg, R. H.; Tysklind, M et Larsson, D.J. (2010).** Predicted Critical Environmental Concentrations for 500 Pharmaceuticals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 58: 516-523.
36. **Forrez, I .; Carballa, M .; Fink, G .; Wick, A .; Hennebel, T .; Vanhaecke, L .; Ternes, T .; Boon N et Verstraete, W. (2011).** Biogenic metals for the oxidative and reductive removal of pharmaceuticals, biocides and iodinated contrast media in a polishing membrane bioreactor. *Water Research*. 45:1763-1773.
37. **Gauthier, H.; Yargeau, V et Cooper, D.G. (2010).** Biodegradation of pharmaceuticals by *Rhodococcus rhodochrous* and *Aspergillus niger* by co-metabolism. *Science of the Total Environment*. 408(7) : 1701-1706.
38. **Geiger, E.; Hornek-Gausterer, R et Saçan, M.T. (2016).** Single and mixture toxicity of pharmaceuticals and chlorophenols to freshwater algae *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicology and environmental safety*. 129:189-198.
39. **González, B.; Trujillano, R.; Vicente, M.A.; Rives, V.; Korili, S.A et Gil, A. (2019).** Photocatalytic degradation of trimethoprim on doped Ti-pillared montmorillonite. *Applied Clay Science*. 167 : 43-49.
40. **Götz, K.; Courtier, A.; Stein, M.; Strelau, L.; Sunderer, G.; Vidaurre, R et Roig, B. (2019).** Risk perception of pharmaceutical residues in the aquatic environment and precautionary measures. In *Management of Emerging Public Health Issues and Risks*. Academic Press. 189-224.
41. **Grenni, P.; Ancona, V et Caracciolo, A.B. (2018).** Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: a review. *Microchemical Journal*. 136 : 25-39.
42. **Grenni, P.; Patrolecco, L.; Ademollo, N.; Tolomei, A et Caracciolo, A.B. (2012).** Degradation of gemfibrozil and naproxen in a river water ecosystem. *Microchemical Journal*. 107: 158 -165.

43. **Guaraldo, T.T.; Goulart, L.A.; Moraes, F.C et Lanza, M.R. (2019).** Carbon black nanospheres modified with Cu (II)-phthalocyanine for electrochemical determination of Trimethoprim antibiotic. *Applied Surface Science*. 470 :555-564.
44. **Guerrero, R et Berlanga, M. (2006).** Life's unity and flexibility: the ecological link. *International Microbiology*. 9: 225-235.
45. **Hatzinger, P.B et Kelsey, J.W. (2005).** POLLUTANTS| Biodegradation. 250-258.
46. **Hester, R.E et Harrison, R.M. (2015).** Pharmaceuticals in the environment. *Royal Society of Chem*. 41: 92-119. doi:10.1039/9781782622345
47. **Hussain, S.; Naeem, M et Chaudhry, M.N. (2016).** Estimation of Residual Antibiotics in Pharmaceutical Effluents and Their Fate in Affected Areas. *Polish Journal of Environmental Studies*. 25 : 607–614.
48. **Inouss, H.; Ahid, S.; Belaiche, A et Cherrah, Y. (2015).** Évolution de la consommation des antibiotiques au Maroc (2003–2012). *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*. 63 : 78.
49. **Janssen, D.B.; Dinkla, I.J.; Poelarends, G.J et Terpstra, P. (2005).** Bacterial degradation of xenobiotic compound: evolution and distribution of novel enzyme activities. *Environmental Microbiology*. 7: 1868-1882.
50. **Joseph, L.; Jun, B.M.; Jang, M.; Park, C.M.; Muñoz-Senmache, J.C.; Hernández-Maldonado, A.J.; Heyden, A.; Yu, M et Yoon, Y. (2019).** Removal of contaminants of emerging concern by metal-organic framework nanoadsorbents: A review. *Chemical Engineering Journal*. 369: 928-946.
51. **Kamal, S.S.; Kaur, D.; Kaur, P.; Sharma, A.; Garg, A.K.; Kaur, C.; Singh, G et Kumar, R. (2019).** Milk-based oral formulations of ibuprofen: An investigation on the role of milk in improving dissolution rate of drug. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*. 8(1) : 47.
52. **Kar, S.; Roy, K et Leszczynski, J. (2018).** Impact of Pharmaceuticals on the Environment: Risk Assessment Using QSAR Modeling Approach. In *Computational Toxicology*. pp.395-443. Humana Press, New York, NY.
53. **Kessler, R. (2010).** Industry Issues: Pharmaceutical Factories as a Source of Drugs in Water. *Environmental Health Perspective*. 118 : 383.
54. **Kito, T.; Ito, S.; Mizuno, T.; Maeda, K et Kusuhara, H. (2019).** Investigation of non-linear MATE1-mediated efflux of trimethoprim in the mouse kidney as the mechanism underlying drug-drug interactions between trimethoprim and organic cations in the kidney. *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 34(1) : 87-94.

55. **Klewegt, S.; Payne, M.; Ng, F et Fletcher, T. (2019).**Environmental loadings of Active pharmaceutical ingredients from manufacturing facilities in Canada. *Science of the Total Environment*. 646 : 257-264.
56. **Kosjek, T.; Heath, E.; Perez, S.; Petrovic, M et Barcelo, M. (2009).** Metabolism studies of diclofenac and clofibrac acid in activated sludge bioreactors using liquid chromatography with quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Hydrology*. 372: 109-117
57. **Kumar, M.; Jaiswal, S.; Sodhi, K.K.; Shree, P.; Singh, D.K.; Agrawal, P.K et Shukla, P. (2019).** Antibiotics bioremediation: Perspectives on its ecotoxicity and resistance. *Environment international*. 124 : 448-461.
58. **Kümmerer, K. (2009).** The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use—present knowledge and future challenges. *Journal of environmental management*. 90(8): 2354-2366.
59. **Lai-Cheung-Kit, I.; Lemarchand, B.; Bouscaren, N et Gaüzère, B.A. (2019).** Consommation des anti-inflammatoires non stéroïdiens lors de la préparation au Grand Raid 2016 à La Réunion. *Science & Sports*.
60. **Larche, S et Yargeau, V. (2011).** Biodegradation of sulfamethoxazole by individual and mixed bacteria. *Applied Microbiology Biotechnology*. 91: 211- 218.
61. **Li, D et Shi, W. (2016).** Recent developments in visible-light photocatalytic degradation of antibiotics. *Chinese Journal of Catalysis*. 37(6) : 792-799.
62. **Li, W.C. (2014).** Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental Pollution*. 187:193-201.
63. **Lindqvist, N.;Tuhkanen, T et Kronberg, L. (2005).** Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. *Water research*. 39(11): 2219-2228.
64. **Liu, Q.; Li, M.; Liu, X.; Zhang, Q.; Liu, R.; Wang, Z.; Shi, X .; Quin, J .; Shen, X et Zhang, F. (2018).** Removal of sulfamethoxazole and trimethoprim from reclaimed water and the biodegradation mechanism. *Frontiers of environmental science & engineering*. 12(6) : 6.
65. **Logeshwaran, P.; Megharaj, M.; Chadalavada, S.; Bowman, M et Naidu, R. (2018).** Petroleum hydrocarbons (PH) in groundwater aquifers: An overview of environmental fate, toxicity, microbial degradation and risk-based remediation approaches. *Environmental technology & innovation*. 10 : 175-193.
66. **Lu, Z.; Sun, W.; Li, C.; Ao, X.; Yang, C et Li, S. (2019).** Bioremoval of non-steroidal anti-inflammatory drugs by *Pseudoxanthomonas* sp. DIN-3 isolated from biological activated carbon process. *Water research*.

67. **Madikizela, L.M.; Tavengwa, N.T et 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.
68. **Mahiuddin, M et Fakhruddin, A. (2012).** Degradation of phenol via meta cleavage pathway by *Pseudomonas fluorescens* PU1. *ISRN Microbiology.*
69. **Majumder, A.; Gupta, B et Gupta, A.K. (2019).** Pharmaceutically active compounds in aqueous environment: A status, toxicity and insights of remediation. *Environmental Research.* 10: 85-42.
70. **Marchlewicz, A.; Domaradzka, D.; Guzik, U et Wojcieszynska, D. (2016).** *Bacillus thuringiensis* B1 (2015b) is a gram-positive bacteria able to degrade naproxen and ibuprofen. *Water, Air, & Soil Pollution.* 227(6) : 197.
71. **Marco-Urrea, E.; Pérez-Trujillo, M.; Vicent, T et Caminal, G. (2009).** Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*. *Chemosphere.* 74(6) : 765-772.
72. **Mathon, B.; Choubert, J.M.; Miege, C et Coquery, M. (2016).** A review of the photodegradability and transformation products of 13 pharmaceuticals and pesticides relevant to sewage polishing treatment. *Science of the Total Environment.* 551: 712-724.
73. **Mattes, T.E.; Alexander, A.K et Coleman, N.V. (2010).** Aerobic biodegradation of the chloroethenes: pathways, enzymes, ecology, and evolution. *FEMS Microbiology Reviews.* 34(4): 445- 475.
74. **Mehinto, A.C. (2009).** Impacts of the human pharmaceutical diclofenac in the aquatic environment. PhD thesis, University of Exeter, UK.
75. **Mezzelani, M.; Gorbi, S et Regoli, F. (2018).** Pharmaceuticals in the aquatic environments: Evidence of emerged threat and future challenges for marine organisms. *Marine environmental research.* 140 : 41-60.
76. **Miller, T.H.; Bury, N.R.; Owen, S.F.; MacRae, J.I et Barron, L.P. (2018).** A review of the pharmaceutical exposome in aquatic fauna. *Environmental pollution.* 239 : 129-146.
77. **Mlunguza, N.Y.; Ncube, S.; Mahlambi, P.N.; Chimuka, L et Madikizela, L.M. (2019).** Adsorbents and removal strategies of non-steroidal anti-inflammatory drugs from contaminated water bodies. *Journal of Environmental Chemical Engineering.* 103 :142.
78. **Mo, W.Y.; Chen, Z.; Leung, H.M et Leung, A.O.W. (2017).** Application of Veterinary Antibiotics in China's Aquaculture Industry and Their Potential Human Health Risks. *Environ. Environmental Science and Pollution Research.* 24(10) : 8978–8989.

79. **Mor, J.R.; Dolédec, S.; Acuña, V.; Sabater, S et Muñoz, I. (2019).** Invertebrate community responses to urban wastewater effluent pollution under different hydro-morphological conditions. *Environmental Pollution*. 252 : 483-492.
80. **Muthanna, J.A. (2017).** Adsorption of non-steroidal anti-inflammatory drugs from aqueous solutions using activated carbons: Review. *Journal of Environmental management*. 190 : 274-282.
81. **Naidu, R.; Espana, V.A.A.; Liu, Y et Jit, J. (2016).** Emerging contaminants in the environment: risk-based analysis for better management. *Chemosphere*. 154 :350-357.
82. **Nakada, T.; Kudo, T.; Kume, T.; Kusuhara, H et Ito, K. (2018).** Quantitative analysis of elevation of serum creatinine via renal transporter inhibition by trimethoprim in healthy subjects using physiologically based pharmacokinetic model. *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 33(1):103-110.
83. **Neilson-Welch, L.A.; Allard, R.; Geller, D et Allen, D.M. (2008, December).** A Basin-Averaged Water Balance Approach to Estimate Catchment-Scale Groundwater Flow in a Semi-arid Mountainous Catchment. In AGU Fall Meeting Abstracts.
84. **Neyestani, M.; Dickenson, E.; McLain, J.; Robleto, E.; Rock, C et Gerrity, D. (2017).** Impacts of solids retention time on trace organic compound attenuation and bacterial resistance to trimethoprim and sulfamethoxazole. *Chemosphere*. 182 : 149-158.
85. **Nikolaou, A.; Meric, S et Fatta, D. (2007).** Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 387(4) : 1225-1234.
86. **Olive, G. (2006).** Traitement analgésique/antipyrétique: ibuprofène ou paracétamol? Mise au point. *Thérapie*. 61(2) :151-160.
87. **Oliveira, I.M.; Borges, A.; Borges, F et Simoes, M. (2019).** Repurposing ibuprofen to control *Staphylococcus aureus* biofilms. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 166 : 197-205.
88. **Omil F.; Suárez S.; Carballa M.; Reif R. et Lema J.M. (2010).** Criteria for Designing Sewage Treatment Plants for Enhanced Removal of Organic Micropollutants. *Environmental Pollution*. 16 : 978-90-481-3509-7.
89. **Ooi, G.T.; Tang, K.; Chhetri, R.K.; Kaarsholm, K.M.; Sundmark, K.; Kragelund, C et Christensson, M. (2018).** Biological removal of pharmaceuticals from hospital wastewater in a pilot-scale staged moving bed biofilm reactor (MBBR) utilising nitrifying and denitrifying processes. *Bioresource technology*. 267 : 677-687.

90. **Pant, P et Pant, S. (2010).** A review: advances in microbial remediation of trichloroethylene (TCE). *Journal of Environmental Sciences*. 22(1): 116-126.
91. **Patel, M.; Kumar, R.; Kishor, K.; Mlsna, T.; Pittman J.C.U et Mohan, D. (2019).** Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: chemistry, occurrence, effects, and removal methods. *Chemical reviews*. 119(6) : 3510-3673.
92. **Peng, F.J.; Ying, G.G.; Liu, Y.S.; Su, H.C et He, L.Y. (2015).** Joint antibacterial activity of soil-adsorbed antibiotics trimethoprim and sulfamethazine. *Science of the Total Environment*. 506 : 58-65.
93. **Phillips, P.J.; Smith, S.G.; Kolpin, D.; Zaugg, S. D.; Buxton, H.T.; Furlong, E.T.; Esposito, K et Stinson, B. (2010).** Pharmaceutical Formulation Facilities as Sources of Opioids and Other Pharmaceuticals to Wastewater Treatment Plant Effluents. *Environmental Science & Technology*. 44 : 4910–4916.
94. **Pomati, F.; Orlandi, C.; Clerici, M.; Luciani, F et Zuccato, E. (2008).** Effects and interactions in an environmentally relevant mixture of pharmaceuticals. *Toxicological Science*.102(1): 129-137. DOI:10.1093/toxsci/kfm291.
95. **Quesada, H.B.; Baptista, A.T.A.; Cusioli, L.F., Seibert, D.; de Oliveira Bezerra, C et Bergamasco, R. (2019).**Surface water pollution by pharmaceuticals and an alternative of removal by low-cost adsorbents: A review. *Chemosphere*.
96. **Rehman, M.S.U.; Rashid, N.; Ashfaq, M.; Saif, A.; Ahmad, N et Han, J.I. (2015).** Global Risk of Pharmaceutical Contamination from Highly Populated Developing Countries. *Chemosphere*. 138: 1045-1055.
97. **Reis, P.J.; Reis, A.C.; Ricken, B.; Kolvenbach, B.A.; Manaia, C.M.; Corvini, P.F et Nunes, O.C. (2014).** Biodegradation of sulfamethoxazole and other sulfonamides by *Achromobacter denitrificans* PR1. *Journal of hazardous materials*. 280 : 741-749.
98. **Rodarte-Morales, A.I.; Feijoo, G.; Moreira, M.T et Lema, J.M. (2011).** Degradation of selected pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by white-rot fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* . 27:1839-1846.
99. **Roig, B et D’Acco, V. (2017).** Distribution of environmental residues in the environment in R.E. Hester and R.M. Harrison editors. *Pharmaceuticals in the environment (issues in environmental science and technology)*. Royal of Society Chemistry. 34: 69.
100. **Ryan, C.C.; Tan, D.T et Arnold, W.A. (2011).** Direct and indirect photolysis of sulfamethoxazole and trimethoprim in wastewater treatment plant effluent. *Water research*. 45(3) : 1280-1286.

101. **Salgado, R.; Brito, D.; Noronha, J.R.; Alúeida, B.; Bronze, M.R.; Oehmen, A.; Garvalho, G et BarretoCrespo, M.T. (2018).** Metabolite identification of ibuprofen biodegradation by patulibacter medicamentivorans. *Environmental Technology*. 1-16.
102. **Sangurdekar, D.P.; Zhang, Z et Khodursky, A.B. (2011).** The association of DNA damage response and nucleotide level modulation with the antibacterial mechanism of the anti-folate drug trimethoprim. *BMC genomics*. 12(1) : 583.
103. **Sharma, K.; Kaushik, G.; Thotakura, N.; Raza, K.; Sharma, N et Nimesh, S. (2019).** Fate of ibuprofen under optimized batch biodegradation experiments using *Micrococcus yunnanensis* isolated from pharmaceutical sludge. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 1-14.
104. **Sipma, J.; Osuna, B.; Collado, N.; Monclús, H.; Ferrero, G.; Comas, J et Rodríguez-Roda, I. (2010).** Comparison of removal of pharmaceuticals in MBR and activated sludge systems. *Desalination*. 250(2) : 653-659.
105. **Stülten, D.; Zühlke, S.; Lamshöft, M et Spitteller, M. (2008).** Occurrence of diclofenac and selected metabolites in sewage effluents. *Science of the Total Environment*. 405:310-316.
106. **Sui, Q.; Cao, X.; Lu, S.; Zhao W.; Qiu, Z et Yu, G. (2015).** Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: a review. *Emerging Contaminants*. 1(1) : 14-24.
107. **Trombini, C.; Hampel, M.; et Blasco, J. (2019).** Assessing the effect of human pharmaceuticals (carbamazepine, diclofenac and ibuprofen) on the marine clam *Ruditapes philippinarum*: An integrative and multibiomarker approach. *Aquatic toxicology*. 208 : 146-156.
108. **Trovó, A.G.; Nogueira, R.F.P.; Agüera, A.; Sirtori, C et Fernández-Alba, A.R. (2009).** Photodegradation of sulfamethoxazole in various aqueous media: Persistence, toxicity and photoproducts assessment. *Chemosphere*. 77: 1292-1298.
109. **Valcárcel, Y.; Alonso, S. G.; Rodríguez-Gil, J. L.; Gil, A et Catalá, M. (2011).** Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. *Chemosphere*. 84(10) : 1336-1348.
110. **Veras, T.B.; de Paiva, A.L.R.; Duarte, M.M.M.B.; Napoleão, D. C et Cabral, J.J.D. S.P. (2019).** Analysis of the presence of anti-inflammatories drugs in surface water: A case study in Beberibe river-PE, Brazil. *Chemosphere*. 222 : 961-969.

111. **Vulava, V.M.; Cory, W. C.; Murphey, V.L et Ulmer, C.Z. (2016).** Sorption, photodegradation, and chemical transformation of naproxen and ibuprofen in soils and water. *Science of the Total Environment*. 565 : 1063-1070.
112. **Wang, Q.; Pang, W.; Mao, Y.; Sun, Q.; Zhang, P.; Ke, Q et Yu, H. (2019).** Study of the degradation of trimethoprim using photo-Fenton oxidation technology. *Water*. 11(2) : 207.
113. **Weiser, T.; Schepers, C.; Mück, T et Lange, R. (2019).** Pharmacokinetic Properties of Ibuprofen (IBU) From the Fixed-Dose Combination IBU/Caffeine (400/100 mg; FDC) in Comparison With 400 mg IBU as Acid or Lysinate Under Fasted and Fed Conditions—Data From 2 Single-Center, Single-Dose, Randomized Crossover Studies in Healthy Volunteers. *Clinical pharmacology in drug development*.
114. **Wojcieszynska, D.; Domaradzka, D.; Hupert-Kocurek, K et Guzik, U. (2014).** Bacterial degradation of naproxen-Undisclosed pollutant in the Environment. *Journal of Environmental management*. 145:157-161.
115. **Ying, G.G.; Zhao, J.L.; Zhou, L.J et Liu, S. (2013).** Fate and occurrence of pharmaceuticals in the aquatic environment (surface water and sediment). In *Comprehensive analytical chemistry*. 62 : 453-557.
116. **Yong, C.S.; Oh, Y.K.; Jung, S.H.; Rhee, J.D.; Kim, H.D.; Kim, C.K et Choi, H.G. (2004).** Preparation of ibuprofen-loaded liquid suppository using eutectic mixture system with menthol. *European journal of pharmaceutical sciences*. 23(4-5) : 347-353.
117. **Yu, G.; Bu, Q.; Cao, Z.; Du, X.; Xia, J.; Wu, M et Huang, J. (2016).** Brominated flameretardants (BFRs): areview on environmental contamination in China. *Chemosphere*. 150 : 479-490.
118. **Yu, T.H.; Lin, A.Y.C.; Panchangam, S.C.; Hong, P.K.A.; Yang, P.Y et Lin, C.F. (2011).** Biodegradation and bio-sorption of antibiotics and non-steroidal anti-inflammatory drugs using immobilized cell process. *Chemosphere*. 84(9) : 1216-1222.
119. **Zhang, Y.;Lyu, T.; Zhang, L.; Button, M.; Arias, C.A.; Weber,K.P.; Shi, J.; Chen, Z.; Brix, H et Carvalho, P.N. (2019).** Microbial community metabolic profiles in saturated constructed wetlands treating iohexol and ibuprofen. *Science of the Total Environment*. 651 : 1926-1934.
120. **Zhang, Z.; Wang, B.; Yuan, H.; Ma, R.; Huang, J.; Deng, S.; Wang, Y et Yu, G. (2016).** Discharge Inventory of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Beijing, China. *Emerging Contaminants*. 2 : 148–156.
121. **Zhou , Y.; Wu, S.; Zhou, H.; Huang, H.; Zhao, J.; Deng, Y.; Wang, H.; Yang, Y.; Yang, J et Luo, L. (2018).** Chiral pharmaceuticals: Environment sources, potential human

- health impacts, remediation technologies and future perspective. *Environment International*. 12 : 523–537.
122. **Zoubek, M.E.; Woitok, M. M.; Sydor, S.; Nelson, L.J.; Bechmann, L.P.; Lucena, M.I et Cubero, F.J. (2019).** Protective role of c-Jun N-terminal kinase-2 (JNK2) in ibuprofen-induced acute liver injury. *The Journal of pathology*. 247(1): 110-122.
123. **Zuccato, E .; Castiglioni, S.; Fanelli, R .; Reitano, G .; Bagnati, R .; Chiabrando, C.; Pomati, F.; Rossetti, C et Calamari, D.(2006).** Pharmaceuticals in the environment in Italy: causes, occurrence, effects and control. *Environmental Science and Pollution Research*. 13:15-21.
124. **Zwiener, C et Frimmel, T. (2003).** Short-term tests with a pilot sewage plant and biofilm reactors for the biological degradation of the pharmaceutical compounds clofibrac acid, ibuprofen, and diclofenac. *Science of the Total Environment*. 309: 201-211.

Annexe 1: Croissance des souches bactériennes isolées dans le milieu minimum en présence de l'IBU à 10mg/l.

Les souches	DO à 600nm					
	DO=600nm	T=0h	T=24h	T=48h	T=72h	T=96h
S2	DO1	0,0301	0,0388	0,203	0,3157	0,230
	DO2	0,0324	0,092	0,1740	0,2418	0,229
	Moyenne	0,0313 ±0,001	0,065± 0,03	0,189±0,02	0,279±0,05	0,229±0,0007
S4	DO1	0,119	0,1754	0,207	0,2313	0,092
	DO2	0,0005	0,0747	0,1885	0,2122	0,062
	Moyenne	0,119±0,16	0,126±0,07	0,198±0,01	0,222±0,01	0,077±0,02
I4	DO1	0,0105	0,1026	0,2277	0,2619	0,104
	DO2	0,0223	0,2195	0,2225	0,2667	0,123
	Moyenne	0,0164±0,008	0,161±0,08	0,225±0,003	0,264±0,003	0,114±0,01
I11	DO1	0,0258	0,0758	0,0629	0,1143	0,09
	DO2	0,0147	0,0395	0,1847	0,2132	0,095
	Moyenne	0,0203±0,007	0,058±0,02	0,124±0,08	0,164±0,06	0,093±0,003
D15	DO1	0,0304	0,2055	0,2526	0,2731	0,053
	DO2	0,0399	0,1265	0,1839	0,2660	0,062
	Moyenne	0,0352±0,006	0,166±0,05	0,218±0,04	0,27±0,005	0,058±0,006
D16	DO1	0,0192	0,2429	0,1266	0,2471	0,097
	DO2	0,0236	0,1964	0,2379	0,065	0,088
	Moyenne	0,0214±0,003	0,219±0,03	0,244±0,07	0,182±0,005	0,093±0,006

Annexe 2: Croissance des souches bactériennes isolées dans le milieu minimum en présence de TMP à 6mg/l.

Les souches	DO à 600nm					
	Do=600 Nm	T=0h	T=24h	T=48h	T=72h	T=96h
S2	DO1	0,0456	0,1679	0,135	0,1548	0,153
	DO2	0,0492	0,1586	0,218	0,2499	0,241
	Moyenne	0,0313±0,002	0,164±0,006	0,177±0,05	0,243±0,06	0,197±0,06
S4	DO1	0,0494	0,2414	0,1221	0,2385	0,08
	DO2	0,0352	0,2579	0,2189	0,2390	0,084
	Moyenne	0,179±0,01	0,1705±0,01	0,25±0,06	0,239±0,0003	0,082±0,002
I4	DO1	0,0418	0,1669	0,1303	0,2442	0,084
	DO2	0,0280	0,1981	0,2316	0,2582	0,085
	Moyenne	0,0164±0,009	0,183±0,02	0,185±0,07	0,251±0,009	0,085±0,0007
I11	DO1	0,0292	0,1513	0,0838	0,2369	0,107
	DO2	0,024	0,1575	0,1004	0,2344	0,184
	Moyenne	0,0203±0,003	0,092±0,004	0,154±0,01	0,236±0,001	0,146±0,05
D15	DO1	0,0469	0,1712	0,0720	0,2444	0,087
	DO2	0,0513	0,1315	0,0904	0,2340	0,211
	Moyenne	0,035±0,003	0,0812±0,02	0,152±0,01	0,239±0,007	0,149±0,08
D16	DO1	0,0308	0,2430	0,0924	0,2372	0,097
	DO2	0,0360	0,2109	0,1187	0,2193	0,035
	Moyenne	0,022±0,003	0,106±0,02	0,227±0,01	0,228±0,01	0,066±0,04

Annexe 3: Cinétique de la croissance de la souche (S2) pendant différents tests avec l'IBU.

IBU	T=0	T=24	T=48	moyenne
Biotique	0,1728	0,3582	0,1500	0,227±0,1
Abiotique	0,1546	0,2575	0,1978	0,203±0,05
Adsorption	0,1925	0,2554	0,2792	0,242±0,04

Annexe 4: Cinétique de la croissance de la souche (S2) pendant différents tests avec TMP.

TMP	T=0	T=24	T=48	Moyenne
Biotique	0,100	0,1736	0,1344	0,160±0,01
Abiotique	0,1527	0,2336	0,2334	0,207±0,04
Adsorption	0,1718	0,2537	0,2062	0,211±0,04

Annexe 5: Effet de différentes concentrations d'IBU sur la croissance de la souche (S2) pendant 24h.

Temps Concentration (mg/l)	T=0	T=24
0	0,2703	0,4176
10	0,2656	0,442
25	0,2679	0,304
50	0,2689	0,309
75	0,249	0,319
100	0,249	0,307
125	0,249	0,3097
150	0,2497	0,3028
200	0,2406	0,3022
250	0,2409	0,3034
300	0,243	0,2777

Annexe 6: Effet de différente concentration de TMP sur la croissance de la souche (S2) pendant 24h.

Temps Concentration (mg/l)	T=0	T=24
0	0,2669	0,391
5	0,2679	0,372
10	0,2681	0,374
25	0,2644	0,422
50	0,2661	0,372
75	0,2666	0,364
100	0,2643	0,367
125	0,2673	0,335
150	0,2765	0,3419
200	0,2543	0,3234
250	0,2568	0,318
300	0,251	0,29

Réalisé par : <ul style="list-style-type: none"> • Azizi Sara • Hamidach Nassima 	Président : Mme. Benseghier Salima Examineur : Dr. Medjahed Zineb Encadreur : Dr. Aissaoui Salima
Thème Evaluation de la biodégradation de l'ibuprofène et triméthoprime par des microorganismes isolés de différentes origines on utilisant l' HPLC	
<p style="text-align: center;">Résumé</p> <p>La présence du produit pharmaceutique dans l'environnement est une préoccupation émergente en raison de leur menace potentielle pour les écosystèmes aquatiques et les organismes vivants. La biodégradation de ces composés par des bactéries isolées à partir de la différente origine a été étudiée. Six souches bactériennes ont été testées pour leur capacité à se développer dans un milieu minimum minéral(MMM) en présence de 10 et/ou 6 mg/l de l'IBU et TMP, respectivement en tant que source unique de carbone et d'énergie. La souche <i>Arthrobacter nicotianae</i> (S2) a été choisie pour sa capacité particulière à résister ces micropolluants, les résultats de biodégradation ont été montrés que cette souche est capable de biodégrader l'IBU et le TMP avec des taux d'élimination atteint 63,48% et 98,8% respectivement. Le résultat a été confirmé par HPLC.</p> <p>MOTS CLÉS : Biodégradation, Ibuprofène, Triméthoprime, <i>Arthrobacter nicotianae</i>.</p>	
<p style="text-align: center;">Abstract</p> <p>The presence of the pharmaceuticals products in the environment is an emerging concern because of its potential threat to aquatic ecosystems and living organisms. The biodegradation of these compound by bacteria isolated from different origins was studied. Six bacterial strains were tested for their ability to grow in a minimal mineral salt medium (MMM) in the presence of 10 and/ or 6 mg/l IBU and TMP, respectively as the sole source of carbon and energy. The strain <i>Arthrobacter nicotianae</i> (S2) was chosen for its particular ability to resist these micropollutants, biodegradation results showed, this strain is capable to biodegrade IBU and TMP with removal rates reaching to 63.48% and 98.8%, respectively. The results were confirmed using HPLC.</p> <p>KEY WORDS: Biodegradation, Ibuprofen, Trimethoprim, <i>Arthrobacternicotianae</i>.</p>	
<p style="text-align: center;">الملخص</p> <p>تعتبر المركبات الصيدلانية في البيئة مصدر قلق بسبب تهديدها المحتمل للأنظمة الإيكولوجية المائية والكائنات الحية. تمت دراسة التحلل الحيوي لهذه المركبات بواسطة البكتيريا المعزولة من مصادر مختلفة. تم اختبار ست سلالات بكتيرية من أجل قدرتها على النمو في وسط معدني (MMM) في وجود 10 و/أو 6 ملغ / لتر من IBU و TMP, على التوالي كمصدر وحيد للكربون والطاقة. تم اختيار سلالة <i>Arthrobacter nicotianae</i> (S2) لقدرتها الخاصة على مقاومة هذه المواد الدقيقة، وقد أظهرت نتائج التحلل الحيوي أن هذه السلالة قادرة على تحليل IBU و TMP بمعدلات إزالة تصل إلى 63,48 % و 98,8 % على التوالي. تم تأكيد النتيجة بواسطة HPLC .</p> <p style="text-align: center;">الكلمات المفتاحية: التحلل البيولوجي <i>Arthrobacternicotianae</i>, Ibuprofène, Triméthoprime,</p>	