

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



Département de Génie de l'Environnement

Mémoire de projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'

Ingénieur d'Etat en Génie de l'Environnement

Intitulé

**Isolement de souches microbiennes capables de dégrader un pyréthriinoïde
(Deltaméthrine)**

Hamidou Abdelhak CHOUIT

Présenté et soutenu publiquement le (10/07/2019)

Composition du Jury :

Mr. N. MAMERI	Professeur (ENP)	Président
Mr H.GRIB	Professeur (ENP)	Examineur
Mme N.ABDI	Professeur (ENP)	Promotrice
Mr. D.TAZDAÏT	Maître de Conférences A (UMMTO)	Co-Promoteur

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



Département de Génie de l'Environnement

Mémoire de projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'

Ingénieur d'Etat en Génie de l'Environnement

Intitulé

**Isolement de souches microbiennes capables de dégrader un pyréthriinoïde
(Deltaméthrine)**

Hamidou Abdelhak CHOUIT

Présenté et soutenu publiquement le (10/07/2019)

Composition du Jury :

Mr. N. MAMERI	Professeur (ENP)	Président
Mr H.GRIB	Professeur (ENP)	Examineur
Mme N.ABDI	Professeur (ENP)	Promotrice
Mr. D.TAZDAÏT	Maître de Conférences A (UMMTO)	Co-Promoteur

DEDICACE

À la mémoire de mon père, qu'ALLAH bénisse son âme, le pardonne et l'acquiert dans son paradis.

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celle qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore, qu'ALLAH te garde pour nous.

À mes sœurs, Asma, Hiba, Youssera. Je leurs souhaite tout le bonheur et la réussite dans leur vie.

À ma grande mère, mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines.

À toute la famille CHOUIT et la famille MAHFOUD.

À mes amis, Mehdi, Mohammed et Fouad.

À tous les étudiants de la promotion 2019 Option Environnement.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et frères de cœur.

H.A.Chouit

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui ma a donné la force, la volonté et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Un remerciement à Mr. D.TAZDAIT maître de Conférences A à l'UMMTO et Mme N.ABDI Professeur à l'Ecole nationale Polytechnique, pour leurs conseils durant ma préparation de ce mémoire.

Mes remerciements s'adressent également à Mr. N. MAMERI, Professeur à l'Ecole nationale Polytechnique pour avoir accepté de présider cet honorable juré, ainsi que Mr. H.GRIB, Professeur à l'Ecole nationale Polytechnique pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier ma famille et mes amis qui par leurs prières et encouragements, j'ai pu surmonter tous les obstacles.

Un remerciement particulier à ma grande sœur « Asma » pour ses efforts et ses soutient.

Je souhaiterai également remercier l'ensemble du personnel de Département de Génie de l'environnement, en particulier la secrétaire et le responsable de matériels et produits de laboratoire, et aussi l'ensemble du personnel de la Bibliothèque de l'ENP.

Pour finir, je remercie toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci infiniment

الغرض من هذا العمل هو عزل وتحديد أصول السلالات الميكروبية التي تم استخراجها من الحمأة المنشطة في محطة معالجة مياه الصرف الصحي لمدينة براق، والتي لها قابلية لتحليل وتأبيض الأورغانوبرومين و الذي يتمثل في الدلتاميثرين. ولهذا الغرض، تم إعداد وسطين زراعيين ساتلين يسمحان باختيار السلالات الميكروبية القابلة لاستخدام هذا المبيد كمصدر وحيد للكربون أو للأزوت. وقد تم حضن الاختبار في درجة حرارة محيطية (22 درجة مئوية ± 2 درجة مئوية) تحت اثناء لمدة 38 هـ ما النتائج التي تم الحصول عليها سمحت باختبار و تحديد ثلاث سلالات بكتيرية، *Aeromonas salmonicida ssp salmonicida* استعملت الدلتاميثرين كمصدر وحيد للأزوت، أما *Burkholderia cepacia* و *Myroids/Chryseobacterium indologenes* فاستعملناه كمصدر وحيد للكربون. بالإضافة إلى سلالة *Non-fermenter spp* التي قامت باستخدام الدلتاميثرين كمصدر وحيد للأزوت و لكن التحديد لم يكن ممكنا مع أسلوب تحديد الهوية المستخدم.

كلمات مفتاحية: التحلل الأحيائي، عزل، بكتيريا، أحوال نشطة، الدلتاميثرين *Aeromonas salmonicida ssp salmonicida*، *Burkholderia cepacia*، *Myroids/Chryseobacterium indologenes*.

Abstract

The aim of this work is to isolate and identify microbial strains resulting from an extraction of activated sludge from the Baraki Sewage Treatment Plant, which could degrade and metabolize an organobromed which is the deltamethrin. For this purpose, two liquid culture media have been prepared for the selection of microbial strains that could use the pesticide as the only source of carbon or as the sole source of nitrogen. Handling was performed at ambient temperature ($22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) and stirring for 38 days. The results obtained from the selection and identification of three bacterial strains (*Myroids / Chryseobacterium indologenes* and *Burkholderia cepacia*) using deltamethrin as sole source of carbon and (*Aeromonas salmonicida ssp salmonicida*) as the only nitrogen source. In addition, the results highlight a *non-fermenting* strain that uses deltamethrin as sole source of nitrogen but whose identification was not possible with the identification method used.

Key words: biodegradation, Isolation, bacteria, activated sludge, deltamethrin, *Myroids / Chryseobacterium indologenes*, *Burkholderia cepacia*, *Aeromonas salmonicida ssp salmonicida*.

Résumé

Le but de ce travail, est d'isoler et identifier des souches microbiennes issus d'un prélèvement des boues activées de la station d'épuration de Baraki, susceptibles de dégrader et métaboliser un organobromine qui est la deltaméthrine. Pour cela, deux milieux de culture liquides ont été préparés permettant de la sélection des souches microbiennes susceptibles d'utiliser le pesticide comme unique source de carbone ou bien comme unique source d'azote. La manipulation a été faite à une température ambiante ($22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) et sous agitation pendant 38 jours. Les résultats obtenus par la sélection et l'identification sont trois souches bactériennes (*Myroides/Chryseobacterium indologenes* et *Burkholderia cepacia*) utilisant la deltaméthrine comme unique source de carbone et (*Aeromonas salmonicida ssp salmonicida*) comme unique source d'azote. De plus, les résultats mettent en évidence d'une souche *Non-fermenter spp* qui utilise la deltaméthrine comme unique source d'azote mais dont l'identification n'a pas été possible avec la méthode d'identification utilisée.

Mots clés : biodégradation, Isolement, bactéries, boues activées, deltaméthrine, *Myroides/Chryseobacterium indologenes*, *Burkholderia cepacia*, *Aeromonas salmonicida ssp salmonicida*.

SOMMAIR

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION..... 12

PARTIE THÉORIQUE..... 13

Chapitre 1 LES PESTICIDES..... 14

1. Les pesticides..... 15

1.1. Définition..... 15

1.2. Historiques 15

1.3. Utilité des pesticides 16

1.4. Classe des pesticides 16

1.4.1 Classification selon la nature de l'organisme ciblé..... 17

1.4.2 Classification selon la structure chimique de la substance active 17

1.5. Le commerce des pesticides 20

1.5.1 Mondialement 20

1.5.2 En l'Algérie 20

1.1. Devenir des pesticides dans l'environnement 21

1.6.1 La rétention des pesticides 21

1.6.2 La dégradation des pesticides..... 22

1.6.3 La dissipation des pesticides 22

1.2. La biodégradation 23

Chapitre 2 LES PYRÉTHRINOÏDES 27

2. Les pytrénoïde : 28

2.1 Introduction 28

2.2 Les pyréthrines et les pyréthrinoïdes..... 28

2.3 Historique..... 29

2.4 Structure et activité insecticide 29

2.5 Mécanisme de toxicité 30

2.5.1 Effets sur la santé 31

2.5.2 Le destin dans le corps 31

2.5.3 Interaction avec d'autres produits chimiques..... 32

Chapitre 3 LA DELTAMÉTRINE 34

3. La deltaméthrine 35

3.1. Introduction 35

3.2. Définition..... 35

3.3. Description 36

3.4. Spectre d'utilisation de la deltaméthrine 36

3.5.	Risque d'incendie et d'explosion de la deltaméthrine	37
3.6.	Mode d'action	38
3.6.1	Organisme ciblés.....	38
3.6.2	Organisme non ciblés	38
3.7.	La toxicocinétique.....	38
3.7.1	Absorption.....	38
3.7.2	Distribution	38
3.7.3	Métabolisme	39
3.7.4	Élimination et Excrétion	39
3.8.	Effets toxiques de la deltaméthrine.....	40
3.8.1	Toxicité sur l'être humain.....	40
PARTIE EXPÉRIMENTALE		41
4.	Matériel et méthodes	43
4.1	Matériel biologique.....	43
4.1.1	Boues activées : origine et réparation.....	43
4.1.2	Entretien des boues activées	43
4.2	Matériel non biologique	44
4.3	L'adaptation des boues activées au pesticide.....	45
4.4	Sélection des souches microbiennes susceptible d'utiliser le pesticide -élément xénobiotique- comme élément nutritif.....	46
4.5	Isolement et identification des microorganismes.....	47
4.5.1	Isolement des microorganismes.....	47
4.5.2.	Lecture du dénombrement	49
4.5.3	Identification des microorganismes	49
5.	Résultats et discussion.....	54
5.1	Résultats de l'ensemencement sur les deux milieux sélectifs	54
5.2	Dénombrement des colonies obtenues	54
5.3	Isolement et identification des souches bactériennes mises en évidence dans les deux milieux sélectifs	55
5.4	Discussion derésultats obtenus	59
CONCLUSION ET PERSPECRIVE		62
Bibliographie.....		64

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Historique de l'évolution des trois plus grandes classes des Pesticides de 1900 à 2000....	16
Tableau 2 : Classification des pesticides selon le cible visée	17
Tableau 3 : Classification de certaines pesticides en fonction de leur composition chimique.....	17
Tableau 4 : Quelques exemples de microorganismes impliqués dans la dégradation des pesticides....	24
Tableau 5 : Propriétés physico-chimiques de la deltaméthrine	36
Tableau 6 : Les formes des produits commerciaux de deltaméthrine en Algérie.....	37
Tableau 7 : Procédure de variation de la composition du milieu de culture durant la phase de sélection.	47
Tableau 8 : Etapes de la procédure d'isolement	48
Tableau 9 : Résultats de l'ensemencement sur les deux milieux sélectifs.....	54
Tableau 10 : Les caractères biochimiques des différentes souches obtenus avec la galerie API20E....	57
Tableau 11 : Résultats de l'identification biochimique des souches isolées.....	59

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Utilisation des pesticides dans le monde	20
Figure 2 : Cout des pesticides importés en Algérie de 2007 à 2009	20
Figure 3 : Devenir des pesticides dans l'environnement.....	21
Figure 4 : Schéma simplifié du métabolisme et du co-métabolisme d'un produit phytosanitaire par les microorganismes	25
Figure 5 : Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par les estérases.....	26
Figure 6 : Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par la glutathion S-transférase (GST).....	26
Figure 7 : Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par les cytochromes P450	26
Figure 8 : - Structures de certains pyrèthrinoides synthétiques appartenant aux types I et II	30
Figure 9 : structure chimique de la deltaméthrine.	35
Figure 10 : Voies de métabolisation de la deltaméthrine chez les mammifères.....	39
Figure 11 : Bassins d'aération de la station d'épuration de Baraki.	43
Figure 12 : Décantation des boues activées.....	44
Figure 13 : Photo montrant la culture microbienne utilisée pour la phase d'adaptation.	45
Figure 14 : Photo montrant deux cultures microbiennes sur les deux milieux sélectifs (SC et SN).	46
Figure 15 : Les étapes de la coloration de Gram.	50
Figure 16 : Mode opératoire du test a la catalase.	51
Figure 17 : Les photos des colonies obtenues dans le GN	55
Figure 18 : Forme des bactéries observées par microscope.	56
Figure 19 : Résultats du test de l'oxydase.....	56
Figure 20 : Les photos des galeries biochimiques obtenues après l'addition des additives aux souches C, L, G, H et I.....	58
Figure 21 : Les photos des galeries biochimiques obtenues avant l'addition des additives aux souches B et F.	58
Figure 22 : Les photos des galeries biochimiques obtenues Après l'addition des additives aux souches B et F.	58

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique

ALPHYT : Algérienne des Phytosanitaires

BA : Boues Activées

CAG : Charbon Actif en Grain

CAP: Charbon Actif en Poudre

DDT : DichloroDiphénylTrichloroéthan.

DL50 : la dose létale Dose ou concentration létale pour 50% des organismes exposés, par rapport au témoin

EPE : entreprise publique économique

GN : gélose nutritive.

IUPAC : The International Union of Pure and Applied Chemistry (en français : L'Union internationale de chimie pure et appliquée)

jr : jour

min : minute

mL : millilitre

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

pH :Potentiel hydrogène.

SC : le pesticide est la source de carbone

SEAAL : Société des Eaux et de l'Assainissement d'Alger

SN : le pesticide est la source d'azote

SP : synthetic pyrethroids

STEP : Station d'Épuration des eaux usées

UFC : Unité FormantColonie

USD : dollar Américain

UV : Ultraviolet

Na⁺ : ion de sodium

WHO : World Health Organization (en français : OMS : Organisation mondiale de la santé)

INTRODUCTION

Au fil des ans, le monde a été témoin d'un immense développement industriel et technologique où plusieurs domaines ont bénéficié des services de la science, le domaine agricole prend sa part de développement.

Plusieurs activités humaines ont mené à l'apparition de plusieurs produits chimiques dans le champ industriel et productif, citant comme titre d'exemples : les détergents, les hydrocarbures, les pesticides, les cosmétiques, les médicaments, les plastifiants, les engrais, les colorants, les intermédiaires de synthèse, les produits phytosanitaires, les farines animales, les OGM, etc.

Effectivement, en agriculture, depuis plusieurs décennies et jusqu'aujourd'hui, des pesticides sont utilisés afin d'augmenter la production agricole et lutter contre des organismes considérés comme nuisibles. Néanmoins, diverses activités industrielles et agricoles augmentent la pollution environnementale, menaçant la santé humaine et endommageant plusieurs systèmes biologiques, notamment dans les sols et les milieux aquatiques par ses effets toxiques.

Les insecticides pyréthrinoïdes synthétiques (SP) sont l'un des pesticides les plus couramment utilisés dans le monde. Ils sont largement utilisés dans la lutte contre les ravageurs des cultures, de la santé animale et des jardins et des maisons [1]. Cependant, avec l'utilisation croissante des pyréthrinoïdes au cours des dernières décennies, les résidus de ces pesticides sont actuellement parmi les plus dominants dans les produits agricoles [2].

Les pesticides sont également l'un des principaux problèmes environnementaux associés aux activités industrielles et agricoles en raison de leur effet de contamination des eaux. Ce qui rend leur élimination des médias environnementaux une nécessité urgente [3].

Pour cela, il existe de nombreuses techniques pour traiter les eaux chargées en pesticides. Il s'agit généralement de traitements chimiques (procédés d'oxydation variés) ou physiques (la photolyse par les rayons ultraviolets, la nanofiltration et adsorption sur charbon actif) [4, 5, 6]. Ces techniques sont relativement coûteuses, très peu mises en œuvre et des alternatives moins onéreuses ont été imaginées. Les traitements biologiques, particulièrement, répondent à cette contrainte ; ils sont souvent simples à manipuler, moins chers et bon marché. Ce type de traitement entraîne la consommation par biodégradation ou minéralisation des substances polluantes tout en utilisant une biomasse capable de dégrader et utiliser le pesticide comme source nutritive. La biodégradation des pesticides en aérobiose a été

largement étudiée. Cette biodégradation est basée sur l'utilisation de ces composés essentiellement comme source de carbone et d'énergie, et ce, aussi bien par des cultures microbiennes mixtes que pures.

Dans ce contexte, nous avons entrepris un isolement et une identification des souches microbiennes issus d'un prélèvement des boues activées de la station d'épuration de Baraki, impliquées dans la biodégradation d'organobromés très largement utilisés en Algérie : la deltaméthrine.

PARTIE THÉORIQUE

Chapitre 1

LES PESTICIDES

1. Les pesticides

1.1. Définition

L'origine de terme pesticide est anglais, telle que le mot « pest » désigne toute espèce nuisible d'origine animal ou végétal aux activités humaines « Ravageurs », et la terminaison « cide » indique qu'il a pour fonction de tuer les êtres vivant [7].

Les pesticides aussi appelés produit phytosanitaire, produit phytopharmaceutique ou produit de traitement. Ils sont définis comme toute substance destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs et les espèces indésirables de plantes, d'animaux, des champignons ou encore des bactéries causant des dommages pendant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires [8, 9].

En général, un produit phytosanitaire est une préparation constituée d'une ou plusieurs matières actives responsables de l'action pesticide, auxquelles sont ajoutées d'autres substances telles que des solvants, des tensioactifs, des antimoussants. Ces adjuvants n'ont pas d'activité biologique et servent à améliorer l'efficacité des pesticides et à faciliter leur emploi [10].

1.2. Historiques

Les pesticides sont une très ancienne invention. En fait, l'utilisation des pesticides existe depuis mille ans lorsque les Sumériens, les Grecs et les Romains ont essayé de lutter contre les ravageurs en utilisant divers composés tels que le soufre (utilisé en Grèce antique 10000 ans avant J.C), le mercure, l'arsenic, le cuivre ou les extraits de plantes [11,12].

La protection des plantes est devenue importante au cours de XIXe siècle, voir la croissance démographique continue et la nécessité de nourrir cette population, ainsi l'apparition des graves épidémies: le mildiou de la pomme de terre, l'oïdium de la vigne et le blackrot,...etc [13].

Une apparition de pesticides synthétiques a commencé principalement après la Seconde Guerre mondiale avec l'introduction du DDT (Dichlorodiphényltrichloroéthane), BHC (hexachlorure de benzène), aldrine, dieldrine, endrine et 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique). Ces nouveaux produits chimiques devenue très populaire de fait qu'ils étaient peu coûteux, efficaces et faciles à utiliser, mais ils sont aujourd'hui interdites à cause de leurs impacts sur l'environnement et les êtres vivants [13, 11].

Le tableau 1 résume l'évolution de l'utilisation des fongicides herbicides et insecticides depuis le début du siècle dernier.

Tableau 1 : Historique de l'évolution des trois plus grandes classes des Pesticides de 1900 à 2000 [14].

	HERBICIDES	FONGICIDES	INSECTICIDES
Avant 1900	Sulfate de cuivre ● Sulfate de fer	Soufre ● Sels de cuivre	Nicotine ●
1900 - 1920	Acide sulfurique ●		Sels d'arsenic ●
1920 - 1940	Colorants nitrés ● ▼		
1940 - 1950	Phytohormones... ●		Organochlorés ● Organophosphorés ▼
1950 - 1960	Triazines, urées substituées ● carbamates	Dithiocarbamates ● phtalimides	carbamates ● ▼
1960 - 1970	Dipyridyles, toluidines... ▼	benzimidazoles ●	
1970 - 1980	Amino-phosphonates ● Propionates...	Triazoles ● Dicarboximides ● Amides, phosphites ● morholines	Pyréthrinoïdes ● Benzoyl-urées (régulateurs de croissance) ●
1980 - 1990	Sulfonyl urées... ●		
1990 - 2000	▼▼▼▼▼	Phenylpyrroles ● strobilurines ▼▼▼▼▼	▼▼▼

1.3. Utilité des pesticides

L'avantage le plus considérable de l'utilisation des pesticides est le gain très important sur les rendements des cultures. Pour les agriculteurs, l'utilisation de ces produits est un gain de temps et d'argent non négligeable, et aussi économique, par exemple : l'utilisation d'un herbicide permet de désherber en quelque heure d'application, ce que l'homme mettrait plusieurs jours à faire mécaniquement [15].

Les pesticides ont également des avantages esthétiques, les consommateurs privilégiant les fruits et légumes sans défauts. Au niveau de la santé humaine, les insecticides sont des outils très importants de la lutte contre certains vecteurs de maladies comme le paludisme [11].

De plus ils sont utilisés pour protéger les réserves alimentaires contre les parasites et limiter les irrégularités de production agricole [16].

1.4. Classe des pesticides

Les substances actives sont classées selon la nature de la cible visée. et selon la nature chimique de la principale substance active [13].

1.4.1 Classification selon la nature de l'organisme ciblé

Plusieurs catégories de pesticides selon les organismes vivants visés, dont les principales sont consignées dans le tableau suivant (**tableau 2**)

Tableau 2 : classification des pesticides selon le cible visée [17]

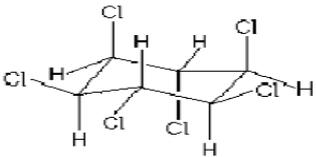
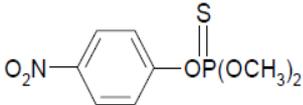
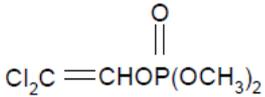
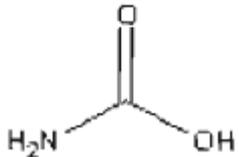
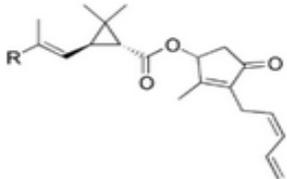
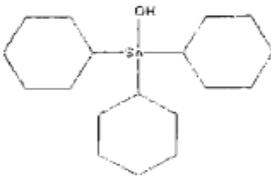
pesticide	utilisation	exemple
Les insecticides	utilisés contre les insectes nuisibles	Dichlorodiphényltrichloroéthane ., déltaméthrine.
Les fongicides	utilisés contre les champignons phytopathogènes ou vecteurs de mycoses animales ou humaines.	Moncozèbe, hexaconazol, chlorothalonil
Les herbicides	qui détruisent les plantes adventices des cultures et, de façon plus générale, toute végétation jugée indésirable.	2-4D, glyphosate
Les acaricides	qui détruisent les acariens.	Abamectine, nicotine
Les nématocides	employés contre les nématodes phytoparasites.	Bromomethane, chloropicrine
Les molluscicides	ou hélicides qui détruisent les gastéropodes.	Methiocarbe, mercaptodiméthur
Les rodenticides	qui tuent les rongeurs comme les rats	Warfarine, phosphure de zinc
Les avicides	destinés à éliminer les oiseaux ravageurs.	strychnine

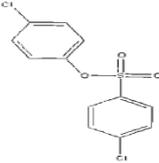
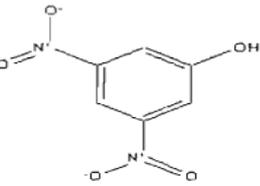
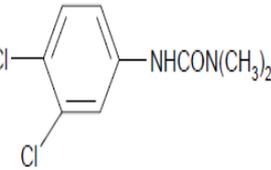
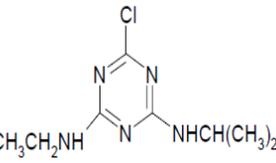
1.4.2 Classification selon la structure chimique de la substance active

Les pesticides peuvent également être classés en fonction de la famille chimique à laquelle appartiennent les substances actives.

C'est l'un des classification les plus utilisée, ce qui permet de regrouper les pesticides de façon uniforme et scientifique et établir une corrélation entre structure, activité, toxicité et mécanismes de dégradation entre autres. **Le tableau 3** montre les pesticides les plus importants selon leur composition chimique

Tableau 3 : Classification de certaines pesticides en fonction de leur composition chimique [18].

Groupe	composition principale	Exemple
Organochlorés	Les atomes de carbone, le chlore, l'hydrogène et parfois l'oxygène. Ils sont apolaires et lipophile	 <p>LINDANE (γ-HCH)</p>
Organophosphate	Possède un atome de phosphore central dans la molécule. En ce qui concerne les organochlorés, ces Composés sont plus stables et moins toxiques dans l'environnement. L'organophosphate peut être aliphatiques, cycliques et hétérocycliques.	 <p>METHYL PARATHION</p>  <p>DICHLORVOS</p>
Carbamates	Structure chimique basée sur une plante alcaloïde <i>Physostigma venenosum</i> .	 <p>ACIDE CARBAMIQUE</p>
Pyréthriinoïdes	Des composés similaires aux pyréthrines synthétiques (alcaloïdes obtenus à partir de pétales de <i>Chysanthemun cinerariefolium</i>).	 <p>PYRETHRINES</p>
Organotine	Présence d'organoétain de l'étain en tant qu'atome central de la molécule.	 <p>PLICTRAN</p>

Organosulfure	Ils ont un atome de soufre dans la molécule, très toxique pour les acariens ou les insectes	 <p>OVEX</p>
Dinitrophénols	Ils sont reconnus par la présence de deux groupes nitro (NO ₂) liés à un noyau phénolique	 <p>L'ACIDE 2,4-DINITROPHENOL</p>
Dérivés de l'urée	Les composés dérivés d'urée qui comprennent l'urée liés à des composés aromatiques.	 <p>DIURON</p>
Composition diverse	Des dérivés de triazines, de talimides, de carboxyamides, de trichloroacétiques et d'acides trichloropicoliniques, guanidines et naphthoquinones.	 <p>ATRAZINE</p>

- **Les pesticides inorganiques :**

Ce sont des éléments chimiques qui ne se dégradent pas. Leur utilisation entraîne souvent de graves effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans le sol (Le plomb, l'arsenic et le mercure sont fort toxiques)[19].

- **Les Biopesticides :**

Ce sont des substances dérivées de plantes et d'animaux. Elles peuvent être constituées d'organismes tels que les moisissures, les bactéries, les virus, les nématodes, composés chimiques dérivés de plantes et phéromones d'insectes [19].

1.5. Le commerce des pesticides

1.5.1 Mondialement

L'utilisation des pesticides dans le monde par région et par catégorie est montrée dans la **figure1**

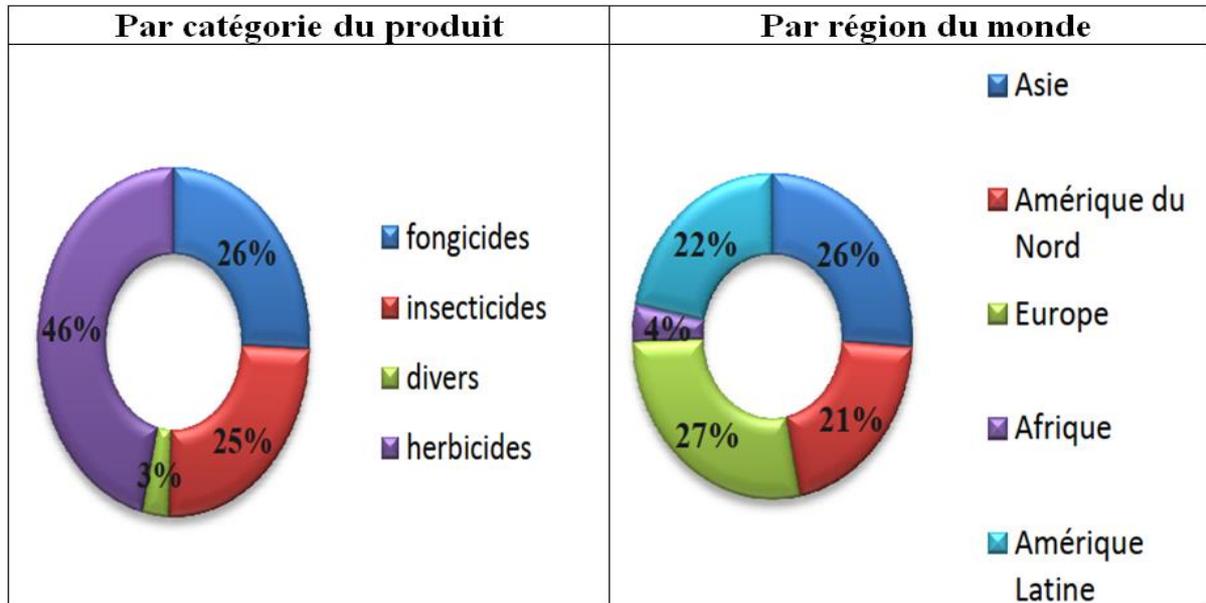


Figure 1 : Utilisation des pesticides dans le monde [20]

1.5.2 En l'Algérie

Le marché Algérien en pesticides ne cesse pas d'augmenter ; mais au cours des années 2007, 2008 et 2009 il a su une augmentation au terme de quantité importé. En 2009 l'Algérie a importé 67millions USD de pesticides et en 2008, 77 millions USD contre 49,4 millions USD en 2007 [21], ce que la **figure 2** récapitule.

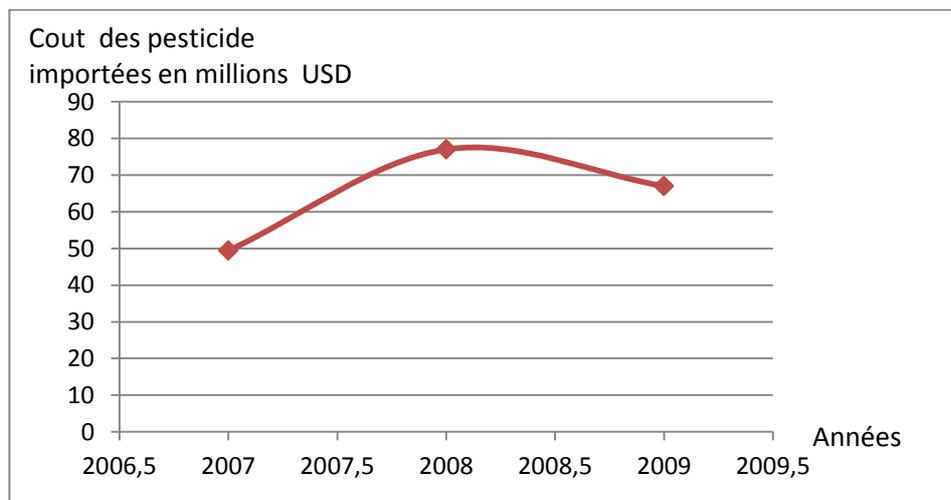


Figure 2 : Cout des pesticides importés en Algérie de 2007 à 2009

1.1. Devenir des pesticides dans l'environnement

La connaissance du devenir des pesticides dans l'environnement est nécessaire à toutes estimations de leurs risques sur l'environnement et les êtres vivants. D'ailleurs, que 0,3% des pesticides épanchés atteignent le ravageur visé, tandis que 99,7% se dispersent dans l'environnement. Le devenir de ces toxiques, une fois introduits dans le milieu, est pratiquement incontrôlable.

Leur comportement va conditionner leur persistance et leur dispersion vers d'autres compartiments de l'environnement (Figure 3). Plusieurs mécanismes gouvernent ce devenir, ils peuvent se classer en trois types : la rétention dans le sol, la dégradation (abiotique et biotique) et la dissipation [22, 23, 24].

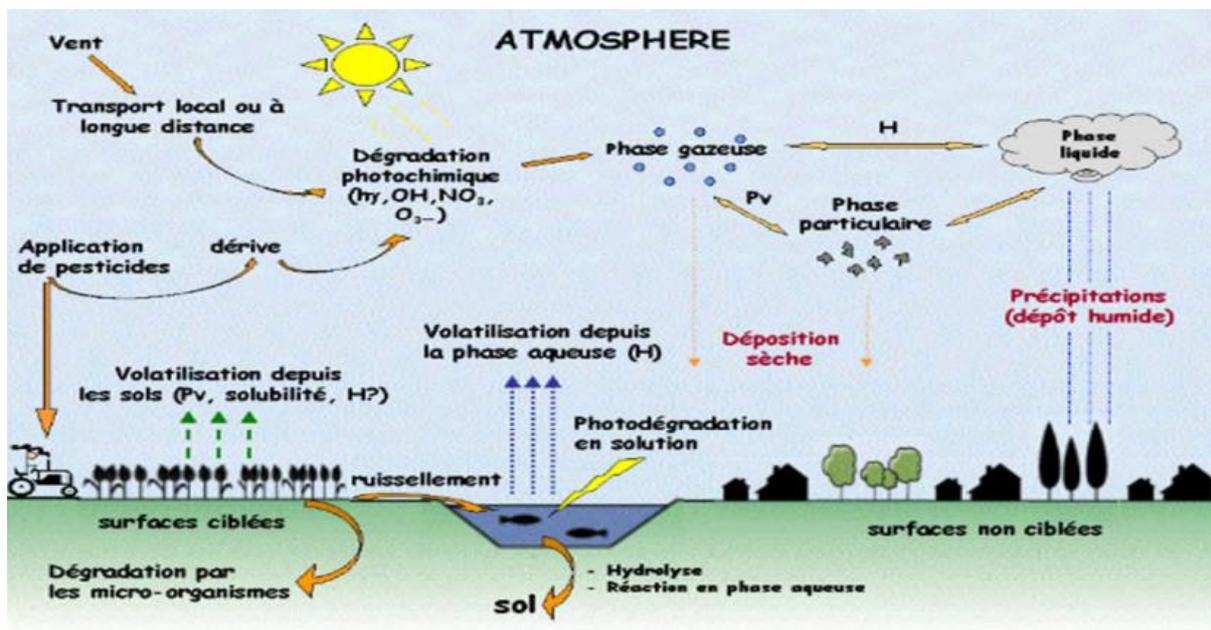


Figure 3 : Devenir des pesticides dans l'environnement [25]

1.6.1 La rétention des pesticides

L'adsorption est la raison principale de la rétention de pesticides dans les sols, qui est le passage d'un soluté contenant dans une phase aqueuse à la surface d'un adsorbant solide [26]. Les adsorbants solides sont les divers constituants du sol. Les propriétés des pesticides et des adsorbants vont envisageables plusieurs mécanismes d'adsorption: les liaisons d'hydrogène, les interactions avec des cations métalliques les échanges ioniques, les interactions polaires et le transfert de charge [27]. Comme les constituants du sol contiennent des groupes polaires et ionisables, l'adsorption des pesticides possédant des groupes polaires et non polaires peut impliquer plusieurs de ces mécanismes [28].

1.6.2 La dégradation des pesticides

La dégradation des pesticides est un processus de transformation de pesticide en une substance bénigne qui est compatible avec l'environnement à l'emplacement auquel il a été appliqué [29]. Elle résulte de l'action du milieu naturel sur la matière active de la formulation chimique [30]. La réactivité des pesticides dans l'environnement vis-à-vis des processus abiotique ou biotique est la condition sa persistance [31].

Dégradation abiotique

La dégradation abiotique concerne les réactions qui se déroulent dans la solution du sol ou sur la surface des colloïdes. Elle s'effectue dans l'eau par des réactions d'hydrolyse ou sur le sol sous l'effet des rayons solaires (réactions photochimique) . La dégradation abiotique contribue à la perte du pouvoir biocide spécifique de la matière active et à l'introduction dans le milieu de nouvelles structures chimiques [31, 32].

Parmi les méthodes utilisées pour le traitement abiotique des pesticides, citant : l'adsorption sur charbon actif en grain (CAG), l'adsorption sur charbon actif en poudre (CAP), l'ozonation, la nanofiltration et la photodégradation.

Dégradation biotique (La biodégradation)

La dégradation biotique est une opération où des micro-organismes interviennent afin de décomposer les matières organiques tels que les bactéries et les algues. Elle est liée à l'activité enzymatique des micro-organismes dans le sol. Une teneur en matière organique élevée, une bonne aération du sol ainsi que l'humidité favorise le développement des microorganismes et donc accélèrent ce processus [33].

Parmi les altérations biotiques, deux situations se différencient : la minéralisation, c'est le cas où le pesticide est dégradé en produits inorganiques (CO₂, H₂O, Cl⁻, etc.), et la biotransformation, qui est une dégradation partielle des pesticides en molécules organiques [34].

1.6.3 La dissipation des pesticides

La dissipation permet de déterminer la durée de résidence des pesticides (dont dépendent en grande partie leurs effets biologiques) ainsi que le potentiel de pollution de l'air et des eaux. Il y a trois types principaux de dissipation : dissipation par dispersion, dissipation par formation de résidus non extractibles, et dissipation et prélèvement par les plantes [35].

-Dissipation par dispersion

Les pesticides sont susceptibles d'être soumis au processus de volatilisation, de lessivage et du ruissèlement. La volatilisation est le processus par lequel un composé s'évapore vers l'atmosphère, et le lessivage est le processus de transfert des solutés en profondeur jusqu'aux nappes d'eaux souterraines tandis que le ruissèlement concerne le transfert vers les eaux de surface [36].

-Dissipation par formation de résidus non extractibles:

Ce type de dissipation correspond aux résidus liés aux constituants du sol par des liaisons stables et qui sont devenus des résidus liés ou résidus non extractibles [37].

-Dissipation et prélèvement par les plantes

La disponibilité des résidus, l'accessibilité, la solubilité dans l'eau et les constituants lipidiques racinaires et encore les paramètres définissant l'activité biologique de la plante (capacité d'absorption, température et humidité), sont des conditions à vérifier pour que le prélèvement par la plante soit possible [37].

1.2. La biodégradation

Définition

L'IUPAC (Union internationale de chimie pure et appliquée) a défini la biodégradation par la décomposition d'une substance catalysée par des enzymes *in vitro* ou *in vivo* "[38].

La dégradation biologique des composés chimiques dans l'environnement est une voie importante pour leur élimination. La biodégradation des pesticides, est souvent complexe et implique une série de réactions biochimiques.

Les microorganismes impliqués dans la biodégradation des pesticides

Les systèmes biologiques, comme les micro-organismes, ont été utilisés pour biotransformer des pesticides (**Tableau 4**). Le sol peut développer rapidement la capacité de dégrader certains pesticides, quand ils sont continuellement appliqués au sol. Ces produits chimiques constituent la source de carbone et d'électrons donneurs appropriés pour certains micro-organismes du sol, établissant un moyen pour le traitement de sites contaminés par des pesticides [39, 40].

Les micro-organismes isolés qui sont capables de dégrader les pesticides, peuvent être utilisés pour la bioremédiation d'autres composés chimiques [41]. Toutefois, la transformation

de ces composés dépend non seulement de la présence de microorganismes appropriés avec des enzymes dégradantes, mais également d'une large gamme de paramètres environnementaux [42]. En outre, certains aspects physiologiques, écologiques, biochimiques et moléculaires jouent un rôle important dans la transformation microbienne des polluants [43, 44].

Le progrès dans la biotechnologie de biodégradation s'appuie sur la microbiologie environnementale et la géochimie analytique. Les outils d'analyses moléculaires (séquençage de l'ADN des microorganismes), nous ont permis d'approfondir nos connaissances sur les micro-organismes et les mécanismes de la biodégradation [45].

Tableau 4 : Quelques exemples de microorganismes impliqués dans la dégradation des pesticides[46].

Pesticides	Micro-organismes
<ul style="list-style-type: none"> • Pentachlorophenol(PCP) • Conservateur du bois, biocide agricole et industriel 	<ul style="list-style-type: none"> • Arthrobacter, Mycobacterium,Flavobacterium, Pseudomonas, • Phanerochaetechrysosporium
<ul style="list-style-type: none"> • S-triazines • Dérivés azotés hétérocycliques, herbicides dont métribuzine 	<ul style="list-style-type: none"> • Rhodococcus, klebsiella,Pseudomonas,Acinetobacter Cunninghamellaechinulata.
<ul style="list-style-type: none"> • Carbamates, • Esters d'acide carbamique, • N-substitué (méthyle carbates, thiocarbatesphénylcarbamates et dithiocarbates). 	<ul style="list-style-type: none"> • Pseudomonas, Achromobacter
<ul style="list-style-type: none"> • Organophosphorés, • (parathion, méthyl parathion,diazinon ; fenitrothion ; couphamos, gliocladium, virens malathion), pesticides agricoles 	<ul style="list-style-type: none"> • Pseudomonas, Flavobacterium

Les mécanismes de la biodégradation

Les micro-organismes ont la capacité d'interagir chimiquement et physiquement avec des substances, conduisant à des changements structurels ou à la dégradation complète de la molécule cible. Les bactéries, les champignons et les actinomycètes sont les principaux microorganismes dégradant les pesticides [47]. Les champignons transforment généralement les pesticides et les rend non toxique en introduisant des changements structurels mineurs à la molécule. Les pesticides biotransformés sont libérés dans l'environnement, où il sont susceptible d'être dégradé par des bactéries [48].

Les micro-organismes peuvent être impliqués dans la dégradation des pesticides selon trois principaux mécanismes d'action (**Figure 4**) :

- Le métabolisme direct qui fait des pesticides une source d'énergie utilisée pour leur croissance.
- Le co-métabolisme : il induit une transformation chimique des pesticides sans que ceux-ci ne servent de source d'énergie.
- La conjugaison : ce sont des réactions chimiques catalysées par des enzymes exocellulaires, entre les pesticides eux-mêmes ou avec d'autres molécules présentes dans la solution du sol.

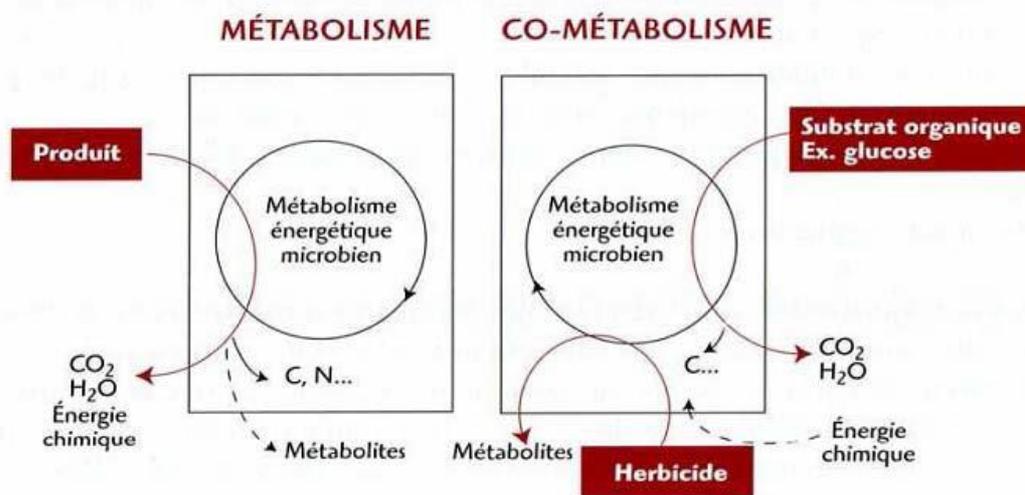


Figure 4 : Schéma simplifié du métabolisme et du co-métabolisme d'un produit phytosanitaire par les microorganismes.[49]

Les enzymes, généralement intracellulaires catalysent toutes les réactions chimiques qui rentrent dans le mécanisme de la biodégradation. Les principales réactions sont la réaction d'hydrolyse, la réaction d'oxydation et la réaction de réduction [50].

Les bactéries et les champignons sont des micro-organismes producteurs d'enzymes extracellulaires capables de dégrader les pesticides. Cette capacité due à la production d'enzymes extracellulaires qui agissent sur une large gamme de composés organiques. Diverses bactéries qui dégradent les pesticides ont été isolées et la liste est encore en expansion. Les trois grandes familles d'enzymes impliquées dans la dégradation sont les estérases, les glutathion S-transférases (GST) et les cytochromes P450 [51].

Les réactions générales de chacune de ces classes d'enzymes sont montrées dans les figures 5, 6, et 7 respectivement.

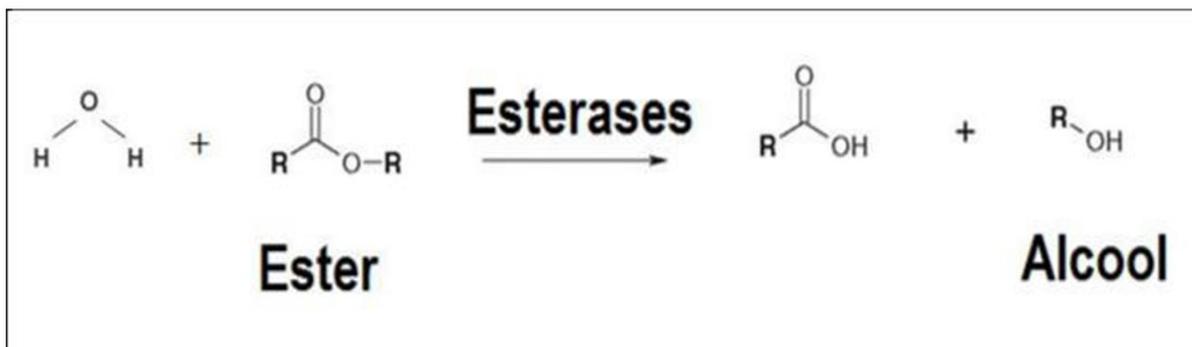


Figure 5 : Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par les estérases

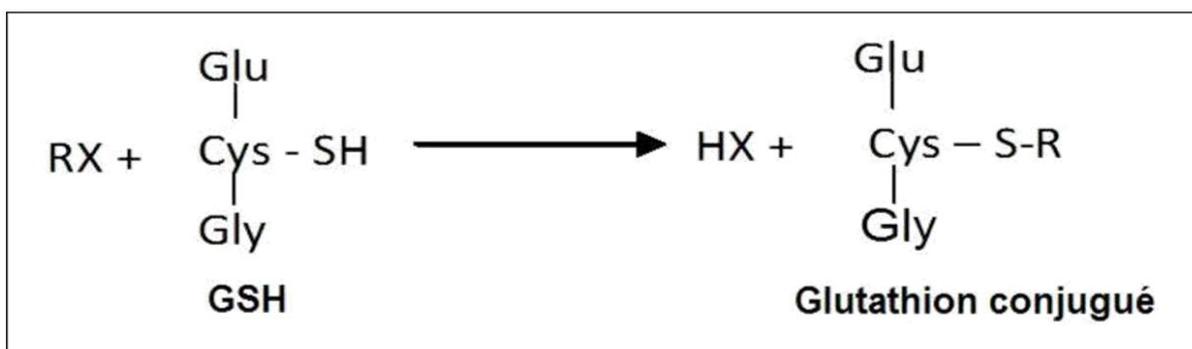


Figure 6 : Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par la glutathion S-transférase (GST)

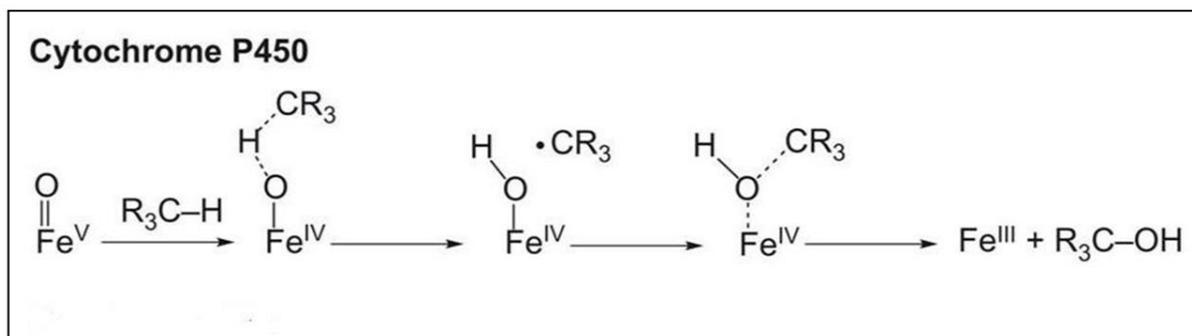


Figure 7 : Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par les cytochromes P450

L'application des enzymes pour transformer ou dégrader les pesticides est une méthode de traitement innovante pour éliminer ces produits chimiques dans les milieux pollués. Les enzymes sont également impliqués dans la dégradation des composés pesticides, à la fois dans l'organisme cible, grâce à des mécanismes de détoxification intrinsèques et une résistance métabolique évoluée, et dans l'environnement, par l'intermédiaire de la biodégradation par les micro-organismes du sol et de l'eau [52].

Chapitre 2

LES

PYRÉTHRINOÏDES

2. Les pytrénoïde :

2.1 Introduction

Depuis longtemps, Les substances toxiques ayant un pouvoir insecticide ont été utilisées. D'ailleurs, ça fait 2 000 ans, les Chinois utilisaient déjà de la poudre de fleurs séchées, les pyrèthres. La Quintinie a découvert les qualités antiparasitaires du tabac en 1690. Puis à la fin du XVIII' siècle et début du XIX' siècle, les arsenicaux, les fluorures, le soufre, sont à leur tour employés [53].

C'est ensuite, avec le développement de la chimie organique, que les insecticides de synthèse sont mis au point, l'exemple le plus connu étant celui de la découverte de la propriété insecticide du DDT par Muller et Wiesman en 1939. A partir de ce moment-là, de nombreux autres composés insecticides sont découverts que l'on regroupe dans les catégories des organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyrèthrinoides de synthèse, les neonicotinoides, Les sulfones et sulfonates, Les formamidines, Les benzoylurées (perturbateurs de mues). Avec l'apparition de souches résistantes à ces produits, notamment aux composés organo-phosphorés, ainsi que la connaissance profonde de l'action toxique des constituants naturels des pyrèthres vont alors déterminer le développement de la grande famille des pyrèthrinoides de synthèse [53].

2.2 Les pyrèthrines et les pyrèthrinoides

Le pyrèthre est un mélange naturel de produits chimiques extrait des fleurs de chrysanthème. Cette dernière sert à l'extraction d'une poudre insecticide contenant le pyrèthre, d'où l'appellation pyrèthrinoides. Le pyrèthre a été reconnu pour la première fois comme ayant des propriétés insecticides vers 1800 en Asie et était utilisé pour tuer les tiques et divers insectes tels que les puces et les moustiques. Six produits chimiques individuels ont des propriétés insecticides actives dans l'extrait de pyrèthre, ces composés sont appelés pyrèthrines. Le pyrèthre ressemble à une poussière de couleur beige comme des fleurs broyées ou un liquide sirupeux comme extrait brut. Les pyrèthrines ne sont que légèrement solubles dans l'eau, mais elles se dissolvent dans des solvants organiques tels que l'alcool, les hydrocarbures chlorés et le kérosène. Les pyrèthrines sont souvent utilisées pour lutter contre les insectes sur les animaux domestiques ou le bétail. Les pyrèthrines sont instables, se décomposent rapidement dans l'environnement et perdent leur pouvoir toxique à la suite d'un contact avec l'air ou encore la chaleur et surtout lorsqu'elles sont exposées à la lumière naturelle du soleil [54].

Les pyréthrinoïdes sont des produits chimiques de synthèse dont la structure est rassemblée à celle des pyréthrines, mais ils sont souvent plus toxiques pour les insectes et les mammifères et durent plus longtemps dans l'environnement que les pyréthrines. Les pyréthrines et les pyréthrinoïdes sont souvent combinés commercialement avec d'autres produits chimiques appelés synergistes, qui renforcent l'activité insecticide des pyréthrines et des pyréthrinoïdes et empêchent certaines enzymes de les décomposer, augmentant ainsi leur toxicité [54]. Les pyréthrinoïdes présentent une meilleure stabilité que le pyrèthre naturel sous l'effet de la lumière et possèdent une très bonne activité insecticide [55].

2.3 Historique

Les pyréthrinoïdes (pyréthrinoïdes synthétiques) ont été développés pour la première fois en 1973, Le premier pyréthrinoïde (fenvalérate) a été commercialisé en 1978. À l'heure actuelle, la classe des pyréthrinoïdes comprend 42 substances actives de structure chimique ou de composition relative en stéréoisomères [55].

L'utilisation des pyréthrinoïdes dans le secteur de santé publique a une grande importance vu leur innocuité relative pour les humains, leur grande puissance insecticide à faible dose et leurs effets d'assourdissement rapides [56].

Les pyréthrinoïdes sont des insecticides très employés en Afrique sub-saharienne pour lutter contre la malaria [57]. D'ailleurs ils représentaient 15,1% du marché mondial des insecticides [58]. Cette large utilisation s'explique par leur grande et rapide efficacité pour les insectes avec une relative innocuité pour les mammifères et les oiseaux [59].

2.4 Structure et activité insecticide

Les pyréthrinoïdes synthétiques sont historiquement divisés en deux types, selon leur structure chimique : les composés du type I, dont la molécule ne contient pas le groupement α -cyané, regroupent les composés suivants : alléthrine, bifenthrine, perméthrine, D-phénothrine, resméthrine, sumithrine, téfluthrine, tétraméthrine, et qui provoquent principalement des tremblements. (Syndrome T) ; et les composés du type II, dont la molécule contient le groupement α -cyané, sont représentés par les composés suivants : cyfluthrine, cyhalothrine, cyperméthrine, deltaméthrine, fenvalérate, fluméthrine, fluvalinate, tralométhrine, et qui provoquent une choréoathétose et une salivation (syndrome CS) [60].

A noter que les syndromes dépendent du modèle animal utilisé. Cependant, Les composés de type II sont plus toxiques que ceux du type I et ce en fonction de la durée de leur mode d'action [61]. Nombreux pyréthrinoïdes tels que la perméthrine, présentent à la fois des caractéristiques T et CS, et parfois ces deux syndromes se combinent [52].

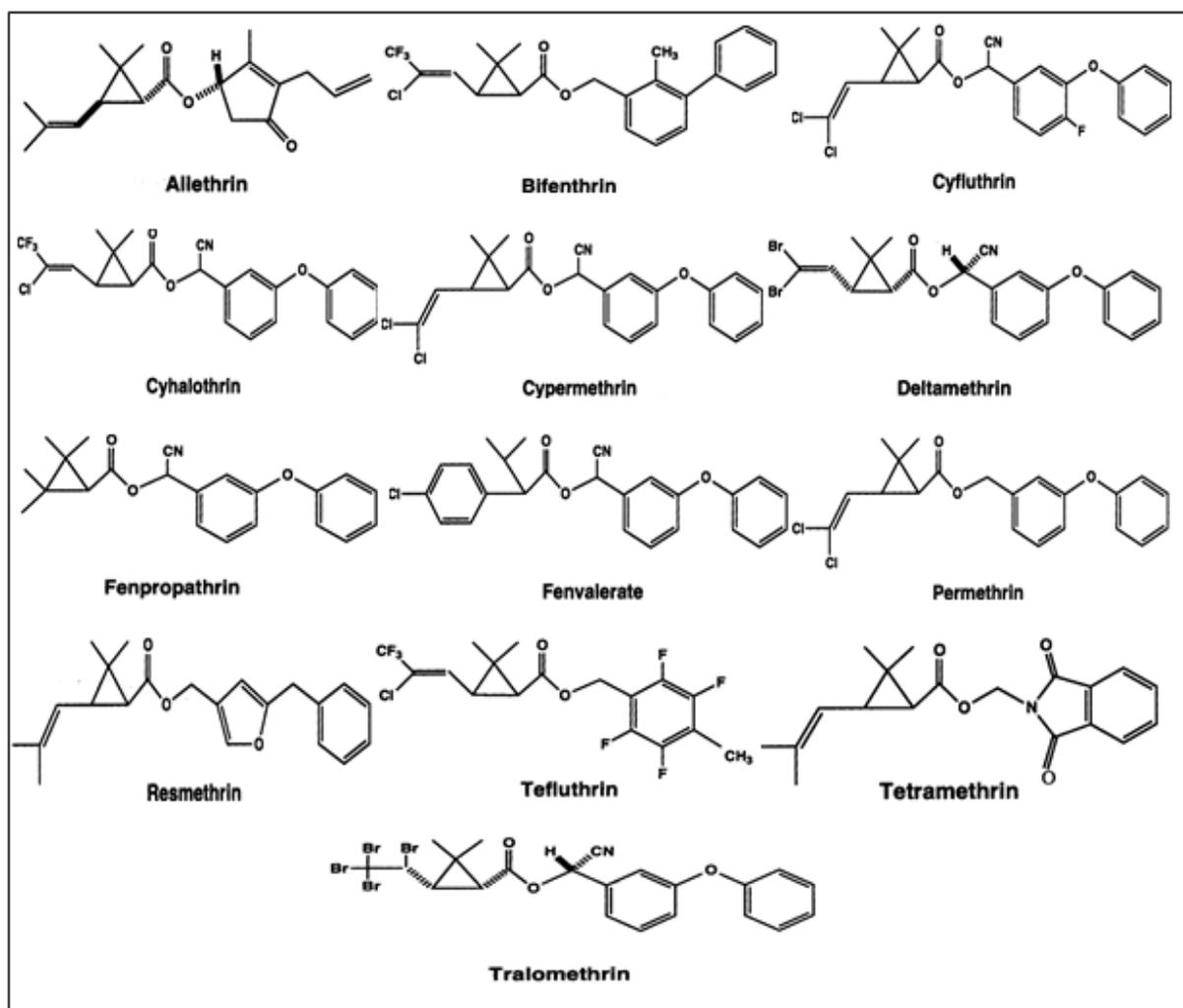


Figure 8 : - Structures de certains pyr thrinoides synthetiques appartenant aux types I et II [62].

Les pyr thrines naturelles sont des esters d'un acide cyclopropanecarboxylique et d'un alcool cyclopent nolone. Des modifications structurelles de ces fractions ont produit les divers pyr thrinoides qui sont disponibles comme insecticide dans le commerce. Les fractions acides des pyr thrines naturelles sont exclusivement dans la configuration 1R trans. Lors de la préparation des esters à partir des quatre isomères d'acide chrysanth mique résolus, ceux de configuration R au cyclopropane C-1 étaient insecticides, alors que les composés 1S énantiomères, bien que physiquement identiques, étaient sans activité insecticide [62].

2.5 Mécanisme de toxicité

La toxicité des pyr thrinoides chez les mammifères est due par des mécanismes similaires à ceux de l'activité insecticide. La différence marquée dans la toxicité des pyréthroides vis-à-vis des insectes (organismes cibles) et des mammifères est apparemment due aux différences principalement dans les canaux sodiques sensibles au voltage [62, 63].

Les pyréthriinoïdes entravent l'opération de transport des ions à travers la membrane des axones nerveux, provoquant une paralysie musculaire chez l'insecte; ce qui fait que la mort est consécutive à une atteinte du système nerveux qui survient quelques minutes après l'absorption du pesticide [64, 65]. Les insecticides pyréthriinoïdes agissent sur les nerfs des insectes et des animaux supérieurs, induisant une grande perméabilité de transition de sodium au niveau de la membrane nerveuse pendant l'excitation. Cette action implique des trains relativement courts d'impulsions nerveuses répétitives dans les fibres nerveuses sensorielles (afférentes) [66]. Les pyréthriinoïdes de type I (sans groupe alpha-cyano) entraînent une saillie légère de la perméabilité des canaux sodiques dans la membrane nerveuse, tandis que les pyréthriinoïdes de type II (alpha-cyaniques) entraînent une long prolongation de la perméabilité au sodium de la membrane nerveuse excitée [67, 68]. Les vertébrés sont moins sensibles aux effets toxiques des pyréthriinoïdes que les invertébrés et certaines espèces à sang froid sont plus [69].

2.5.1 Effets sur la santé

L'exposition professionnelle aux pyréthriinoïdes peut survenir par contact cutané et par inhalation de poussières et d'aérosols. Cependant, l'inhalation est la principale voie d'exposition chez les travailleurs industriels, la peau est la principale voie d'exposition chez les travailleurs appliquant les composés dans l'agriculture ou la santé publique [70, 71]. Vers le début des années 1980, Les pyréthriinoïdes ont été introduits en Chine, les producteurs de coton chinois n'étaient pas suffisamment informés du risque sur la santé lié à la manipulation de ces composés sans prendre de précautions. En conséquence, dans les années 1980, les épidémies d'intoxication aiguë par la deltaméthrine et le fenvalérate sont produites. Après 1988, aucun cas clinique n'a été signalé provenant d'intoxication par des pyréthriinoïdes d'origine professionnelle [56].

L'exposition de la population peut se produire par inhalation, contact cutané avec des produits, consommation d'aliments contenant des résidus de pyréthriinoïdes appliqués en tant que pesticides ou médicaments vétérinaires, ingestion ou consommation accidentelle de produits pyréthriinoïdes. Les analyses des échantillons urinaires de la population générale ont montré des quantités détectables de métabolites de pyréthriinoïde dans des études menées dans l'Union européenne et aux États-Unis [72, 73].

2.5.2 Le destin dans le corps

L'élimination des pyréthriinoïdes de l'organisme se fait principalement par métabolisme puis par excrétion des métabolites dans l'urine et les selles. Le métabolisme hépatique des pyréthriinoïdes a une très grande importance pour la détoxification et,

enfin, l'excrétion de ces composés. Malgré que les enzymes de microsomes catalysent une grande partie des réactions de biotransformation et que leur activité enzymatique est impliquée dans les réactions de conjugaison, les enzymes spécifiques impliquées dans le métabolisme des pyréthriinoïdes n'ont pas été identifiées. Par voie métabolique, les adultes et les enfants ont une capacité de détoxification des composés pyréthriinoïdes différente [74, 75, 76]. La létalité a été utilisée comme indicateur de toxicité afin d'évaluer la sensibilité aux pyréthriinoïdes liée à l'âge, les rats âgés de 11 et 21 jours sont plus sensibles à la deltaméthrine administrée par voie orale que les rats adultes par environ 16 et 7 fois, respectivement [77].

Les pyréthriinoïdes n'empêchent pas développement morphologique global chez les animaux. Car certaines études ont montré que l'exposition orale répétée de souris néonatales à des pyréthriinoïdes sélectionnés pourrait faire une modification de la densité des récepteurs de neurotransmetteurs cérébraux à l'âge adulte et du comportement locomoteur [78, 79, 80].

Etant des composés hydrosolubles, la capacité des métabolites des pyréthriinoïdes à traverser la barrière hémato-encéphalique est probablement limitée. Chez les enfants, la diminution de la production de ces métabolites pourrait entraîner une augmentation de la distribution de pyréthriinoïdes non métabolisés dans le système nerveux central, ainsi une possibilité d'une augmentation de la distribution des pyréthriinoïdes dans le système nerveux central en raison du développement immature de la barrière hémato-encéphalique. Rarement le pyréthriinoïde non métabolisé est excrété dans l'urine, probablement parce que les composés de pyréthriinoïde sont très solubles dans les lipides et, en cas où ils sont filtrés par le glomérule, ils vont subir une réabsorption rénale importante par diffusion lipidique. Chez les enfants, si le métabolisme des pyréthriinoïdes est réduit, l'excrétion rénale des pyréthriinoïdes peut diminuer. La méconnaissance des détails des mécanismes de manipulation rénale des pyréthriinoïdes a rendu difficile la détermination de la manière dont la fonction des reins immatures affecte l'excrétion des pyréthriinoïdes et de leurs métabolites chez les nouveau-nés et les jeunes [54].

2.5.3 Interaction avec d'autres produits chimiques

Les réactions de biotransformation catalysées par des enzymes microsomaux éliminent les pyréthriinoïdes, hors que les enzymes spécifiques impliquées n'ont pas été identifiées. Des études sur des animaux de laboratoire révèlent que l'inhibition des réactions hydrolytiques et du métabolisme oxydatif rend la toxicité des pyréthriinoïdes plus importante, alors que l'induction des oxydases microsomaux diminue leur toxicité [81]. Et donc les produits chimiques ou les médicaments sont capables d'induire ou d'inhiber les enzymes impliquées dans les réactions de biotransformation des pyréthriinoïdes et qui par la suite peuvent altérer le métabolisme des pyréthriinoïdes. Étant donné que les métabolites

despyréthroïdes sont plus solubles dans l'eau que les composés parents, ils sont moins susceptibles de franchir la barrière hémato-encéphalique et sont plus facilement excrétés par les reins et le foie que les composés parents. Ainsi, des altérations du métabolisme des pyréthroïdes par inhibition ou induction d'enzymes microsomaux pourraient modifier la distribution et l'excrétion des pyréthroïdes. Par exemple, le pipéronyl butoxyde, un synergiste insecticide courant, inhibe les enzymes microsomaux et potentialise les effets toxiques des pyréthrines et des pyréthroïdes sur les mammifères [54].

Une hypothèse dit que certains anciens combattants de la guerre du Golfe présentant des symptômes chroniques non spécifiques pourraient souffrir d'un dysfonctionnement neurologique causé par une faible exposition à des mélanges d'agents anti-cholinestérasés, d'insectifuges et de pyréthroïdes pouvant avoir des effets additifs ou synergiques [82, 83, 84]. Plusieurs études ont été administrées à des rats afin de tester cette hypothèse. Une exposition par voie orale, des doses d'un agent anti-cholinestérase à action rapide (bromure de pyridostigmine), d'un insectifuge (DEET) et de la perméthrine, seule ou en association, et ont montré qu'une exposition combinée conduit à un degré de létalité supérieur à celui attendu des valeurs létales additives obtenues pour chaque produit chimique séparément [85]. Les effets d'une exposition combinée peuvent être le résultat d'effets synergiques exprimés après l'absorption, car les résultats d'un test *in situ* sur la peau de souris ont révélé que le DEET semblait inhiber l'absorption cutanée de la perméthrine [86].

La découverte d'une augmentation significative des aberrations chromosomiques dans les cellules de la moelle osseuse de rats administrés par voie orale à des doses répétées de cyperméthrine et de plomb, est une autre indication d'une interaction toxique indésirable entre les pyréthroïdes et d'autres produits chimiques [87]

Chapitre 3

LA DELTAMÉTRINE

3. La deltaméthrine

3.1. Introduction

Les pyréthrinoïdes synthétiques de type II, dont fait partie la deltaméthrine, se caractérisent par des propriétés insecticides sur un large spectre d'espèces et ils sont plus toxiques que ceux de type I et ce en fonction de la durée de leur mode d'action [88]

Au cours des années 1970, des dégâts environnementaux ont été induit par les organochlorés et les organophosphorés, ce qui fait un réel essor de la production et l'usage des pyréthrinoïdes depuis la première pyréthrine de synthèse qui avait été synthétisée en 1973 [89]. La deltaméthrine a été synthétisée en 1974 puis commercialisée en 1977 pour la première fois [90,91]. Parmi les pyréthrinoïdes, celle-ci est considérée comme la plus toxique, car elle n'est ni jamais complètement dégradé ni rapidement métabolisée et de ce fait s'accumule dans les lipides [92].

3.2. Définition

La deltaméthrine est un pyréthrinoïde de synthèse de type II, appartient à la famille des organobromés, voir la structure chimique de la deltaméthrine montré dans la Figure 9. Elle est utilisée principalement comme insecticide et répulsif pour les insectes en raison de ses propriétés neurotoxiques, son action insecticide est due, comme tous les pyréthrinoïdes synthétiques, à l'interaction avec les canaux ioniques des axones de l'espèce ciblée. La deltaméthrine est un insecticide non systémique à action rapide par contact et ingestion, très toxique pour les organismes aquatiques, considérée comme polluant marin qui entraîne des effets néfastes à long terme et son efficacité peut durer pendant plusieurs mois [93, 94, 95, 96]. Ses principales caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le **Tableau 5**

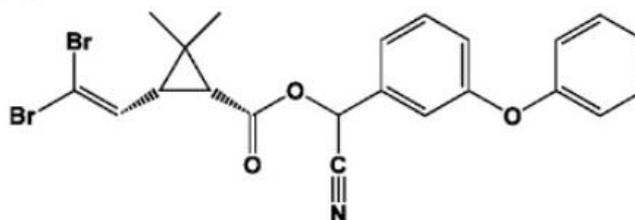


Figure 9 : structure chimique de la deltaméthrine.

Tableau 5 : Propriétés physico-chimiques de la deltaméthrine [94, 97, 98]

Nom chimique selon ISO	Deltaméthrine
Nom chimique selon IUPAC	(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthyl-cyclopropane carboxylate de (S)- α -cyano-3-phénoxybenzyle
Numéro CAS	52918-63-5
Formule moléculaire	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
Type de pesticide	Insecticide et ecto-parasiticide
Famille de pesticide	Pyréthriinoïde
Poids moléculaire (g/mole)	505,2
Etat physique	Solide/Poudre cristalline
Couleur	Incolore à blanc ou légèrement beige
Odeur	Inodore
La corrosivité	Non corrosif pour les métaux
Densité	0,55 Kg/dm ³ à 25°C
Stabilité	Reste stable pendant 3 ans conservée dans son emballage d'origine dans des conditions normales de température et d'humidité.
Point de fusion	90°C
Point d'ébullition	Se décompose à partir de 270 °C
Pression de vapeur	1,24.10 ⁻⁵ mPa à 20°C
Solubilité dans les solvants	Soluble dans la plupart des solvants pétroliers ou organiques.
Solubilité dans l'eau	0,2 µg/l
Constante d'adsorption (Koc)	204 000 à 577 000
Coefficient de partage Octanol-eau (log Kow)	4,6 à 25°C

3.3. Description

La deltaméthrine est un insecticide appartenant à la famille des pyréthriinoïde de synthèse, très efficace sur la majorité des insectes nuisibles en hygiène publique, agit par contact et ingestion sur les insectes à des doses très faibles. Elle agit sur la membrane de l'axone qui contrôle la conduction de l'influx nerveux (les chaînes Na⁺). Elle est caractérisée par un effet de choc important. Du fait de sa liposolubilité très élevée, elle permet une pénétration rapide au niveau de la cuticule des insectes.

Elle est très efficace contre les insectes devenus résistants aux organophosphorés et aux carbamates. Le produit utilisé à faible dose est complètement biodégradable et ne risque pas de s'accumuler dans le temps. Dans le sol, sa mobilité est très faible [99].

3.4. Spectre d'utilisation de la deltaméthrine

La consommation de la deltaméthrine dans le monde était d'environ 250 tonnes en 1987. Elle a été utilisée principalement pour le coton (45% de la consommation) et pour des cultures telles que le café, le maïs, les céréales, les fruits, les légumes, ainsi que pour les produits stockés. La deltaméthrine est également utilisée en santé animale, en lutte antivectorielle et en santé publique [90].

La deltaméthrine intervient comme matière active pour la préparation d'insecticides à usages

agricole, vétérinaire et ménager. La deltaméthrine est également utilisée pour lutter contre les moustiques adultes : la lutte adulticide qui est la plus largement pratiquée est conduite afin d'interrompre le cycle de développement des vecteurs des grandes endémies [94].

La deltaméthrine est très employée dans le secteur agricole et forestier et ce depuis qu'elle a prouvé son efficacité vis-à-vis de nombreux insectes [100]. Par ailleurs, la deltaméthrine a été homologuée pour une utilisation dans des domaines tels que les terrains de golf, les jardins d'agrément, les pelouses, les traitements de périmètre extérieurs [101]. Cette molécule est aussi utilisée pour lutter contre le doryphore de la pomme de terre, l'acridelle, le ver-gris, la mineuse, la légionnaire bertha, l'altise, la sauterelle et la punaise grise [102]. En outre, la deltaméthrine est utilisée dans les pays concernés dans les programmes de contrôle de la malaria [103]

3.5. Risque d'incendie et d'explosion de la deltaméthrine

La deltaméthrine n'est pas une substance inflammable. Toutefois, il y a lieu de noter que la deltaméthrine est souvent commercialisée en solution dans des solvants organiques. Il peut alors se présenter des risques d'incendie et d'explosion qui sont en fonction de la nature des solvants utilisés [94].

Les produits commerciaux peuvent se présenter sous les différentes formes suivantes : solutions ; concentrés émulsionnables ; poudres et poudres mouillables ; granulés ; suspensions concentrées. [94], un exemple des formes des deltaméthrines commercialisées en Algérie dans le tableau suivant (tableau 6).

Tableau 6 : Les formes des produits commerciaux de deltaméthrine en Algérie [94, 99]

APPELLATION COMMERCIALE				
	Alphythrine 2 % ULV	Alphythrine 2.5 WP	Alphythrine 2.5 %EC	Alphythrine 25 EC
Substance active	Teneur en substance active : 20 g/L	Teneur en substance active : 25 g/Kg	Teneur en substance active : 25 g/L	Teneur en substance active : 25 g/L
Formulation	Ultra bas Volume (ULV)	Poudre mouillable (WP)	Concentré émulsifiable (EC)	Concentré émulsifiable (EC)
Spectre d'action	Insectes nuisibles en hygiène publique (insectes volants et rampants : mouches, moustiques, cafards, ...).			
Utilisation en fumigation	A l'état PUR	En pulvérisation	En pulvérisation	En pulvérisation
	-Traitement extérieur des milieux urbains. -Traitement des lieux de prolifération des insectes volants (Amas d'ordure, Autours des abattoirs, Caves) -Pulvériser l'insecticide dans tous les endroits susceptibles de contenir les insectes.			
Persistance d'action	Six mois			
Toxicité	Nocif, dangereux pour les poissons.			

3.6. Mode d'action

Selon *l'Insecticide Resistance Action Committee*, la deltaméthrine est un insecticide pyréthrinoïde qui appartient aux insecticides au mode d'action du Groupe 3A, qui provoque une décharge excessive d'influx nerveux. Ce qui entraîne la paralysie et la mort de l'insecte [104].

3.6.1 Organisme ciblés

La deltaméthrine est efficace contre les insectes par ingestion et par contact direct [105]. Généralement, les pyréthroïdes interfèrent avec la production normale et la conduction des signaux nerveux dans le système nerveux et agissent sur les membranes nerveuses en retardant la fermeture de la porte d'activation du canal ionique du sodium [106].

Les recherches ont montré que la deltaméthrine et d'autres pyréthroïdes pouvaient également affecter les canaux ioniques du système nerveux autres que les canaux sodiques, probablement en raison de leur état de phosphorylation [107,108].

3.6.2 Organisme non ciblés

La deltaméthrine et les autres pyréthrinoïdes ont le même mécanisme d'action pour les organismes cibles et non ciblés [109]. Les pyréthrinoïdes sont moins toxiques pour les mammifères que pour les insectes, en raison de la température corporelle qui est plus élevée, la taille ainsi que la faible sensibilité des canaux ioniques [110,110].

3.7. La toxicocinétique

3.7.1 Absorption

La deltaméthrine est une molécule lipophile avec une faible solubilité dans l'eau, pouvant être absorbée principalement par voie orale et par voie cutanée ou encore par inhalation [96].

Lorsque la deltaméthrine est administrée par voie orale, elle est considérée comme étant facilement absorbée. Le support ou le solvant peut affecter le taux d'absorption [106]

Les pyréthrinoïdes ont un caractère lipophiles. L'absorption dans le tractus gastro-intestinal et les voies respiratoires est plus élevée que l'absorption par la peau [111].

3.7.2 Distribution

Des études chez les animaux de laboratoires montrent qu'après ingestion, la deltaméthrine se distribue dans les différents tissus de l'organisme, avec une concentration légèrement plus importante dans les graisses (demi-vie de 7 à 9 jours) [90].

Une étude chez le rat a révélé que le pic plasmatique apparaît 1 à 2 heures après l'administration de la deltaméthrine par voie orale et reste détectable jusqu'à 48 heures. Elle est distribuée dans les tissus nerveux et toutes les régions du cerveau testées [112]. D'autres

études chez la même espèce ont montré que la deltaméthrine administrée par voie orale était retrouvée dans la graisse à des concentrations légèrement supérieures à celles des autres tissus [106]. Chez le rat, la deltaméthrine avait une demi-vie dans le sang de 5,5 heures [113].

3.7.3 Métabolisme

Le métabolisme de la deltaméthrine en composés non toxiques se fait par hydrolyse, par oxydation de la fonction ester et par conversion du groupement cyano en thiocyanate [106]. Le clivage des esters est la principale voie de dégradation de l'organisme [113, 114]. Chez l'homme, elle est rapidement métabolisée au niveau hépatique avec formation d'acide 3-phénoxybenzoïque, d'acide décamétrique (ou acide *cis*-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-1-carboxylique ou *cis*-Br₂CA). Les métabolites oxydés sont ensuite sulfo- ou gluco conjugués, facilitant ainsi leur élimination dans les urines (Figure 10) [115, 116].

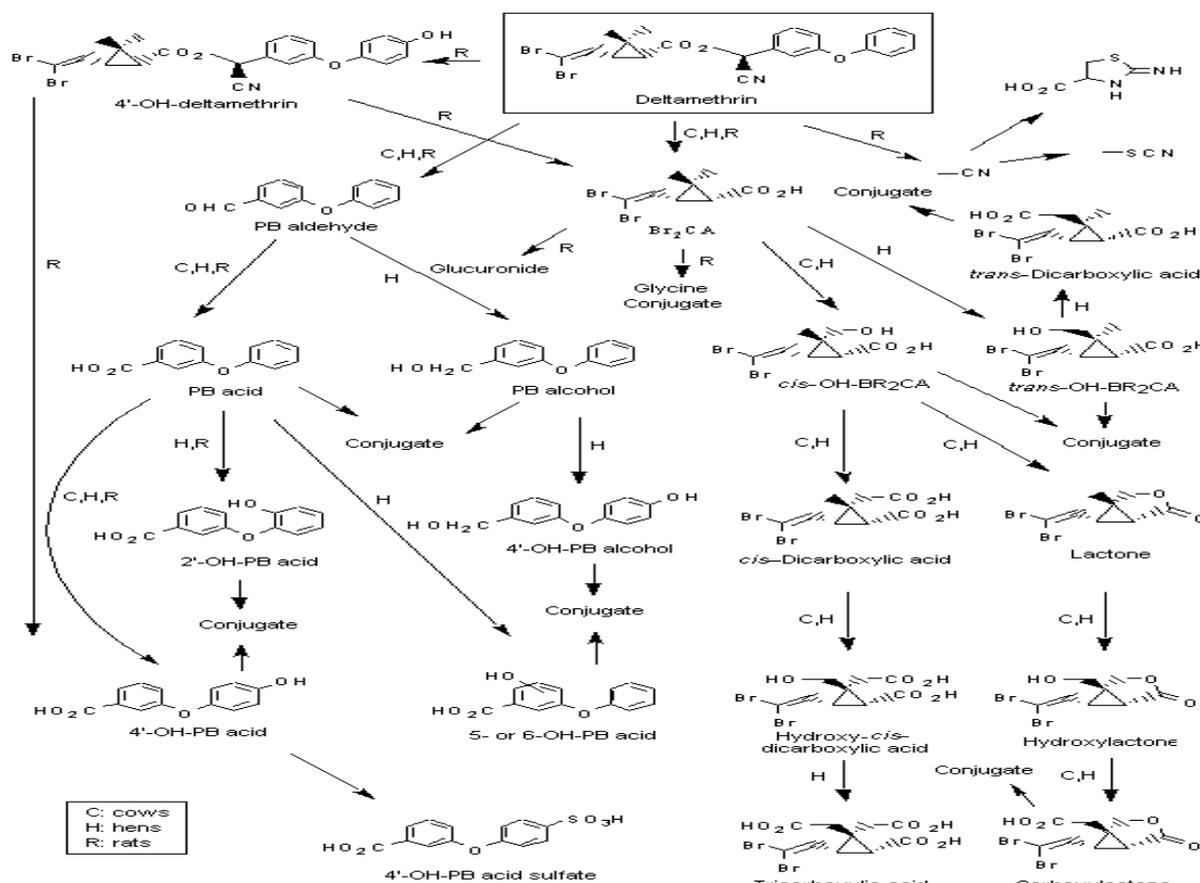


Figure 10 : Voies de métabolisme de la deltaméthrine chez les mammifères [90].

3.7.4 Élimination et Excrétion

La deltaméthrine est éliminée de façon sensiblement équivalente, par les urines et les fèces chez le rat et la souris. Chez l'homme, l'élimination urinaire représente entre 51 et 59 % de la dose absorbée ; l'élimination fécale de 10 à 26 %. La deltaméthrine peut être éliminée

soit sous forme de 3-PBA, de cis-Br₂CA, soit sous forme inchangée. La demi-vie d'élimination varie entre 10 et 13,5 heures [106, 94, 95].

3.8. Effets toxiques de la deltaméthrine

3.8.1 Toxicité sur l'être humain

L'altération de métabolisme cellulaire, provocation des dégâts à l'ADN et une induction de micronoyaux dans des lymphocytes humains, sont des effets rend la deltaméthrine nocive pour la santé humaine [116].

Une étude chinoise sur 325 personnes intoxiquées par la deltaméthrine a révélé divers effets (paresthésie, vertiges, maux de tête, nausées, anorexie, fatigue, troubles de la vision, transpiration accrue, etc...) [117].

La cancérogénicité de la deltaméthrine a été évaluée par le Centre International de Recherche sur le Cancer [118] et l'a classée dans le groupe 3 (non classable quant à sa cancérogénicité pour l'homme) alors qu'elle est classée dangereuse pour l'environnement et toxique par [94].

PARTIE
EXPÉRIMENTALE

Matériel et méthodes

4. Matériel et méthodes

4.1 Matériel biologique

4.1.1 *Boues activées : origine et réparation*

Le matériel biologique faisant l'objet de cette étude a consisté en des boues activées prélevées au niveau de la station d'épuration des eaux usées de la commune de Baraki (SEAAAL de Baraki, Alger), la troisième plus grande station d'épuration des eaux usées en Afrique. Elle est conçue pour traiter un effluent de 300.000 m³ de volume par jour et donc 300.000 tn de boue, qui proviennent de différentes régions de la ville d'Alger précisément Alger-est. Les eaux traitées sont par la suite acheminées vers Oued El-Harrache (distant de 14 Km du site de la STEP) et enfin déversées dans la mer.

Les boues activées utilisées ont été prélevées à partir d'un des quatre bassins d'aération de la STEP (deux tranches chaque tranche comporte deux bassins d'aération, la tranche 1 est en arrêt alors que la tranche 2 est opérationnelle), équipé par un injecteur d'air qui assure l'oxygénation et le mélangeage de la liqueur de boues activées (Figure 11)



Figure 11 : Bassins d'aération de la station d'épuration de Baraki.

4.1.2 *Entretien des boues activées*

Avant l'entame des essais, on a entrepris l'entretien des boues activées prélevées. Cet entretien consiste en une alimentation régulière en oxygène et en nutriments visant à maintenir les microorganismes en vie. Avant leur mise en culture, les boues activées ont subi un rinçage avec de l'eau distillée, répété quatre fois. La procédure suivie a consisté en la décantation des boues activées, suivie de l'élimination du surnageant et son remplacement par de l'eau distillée jusqu'à trait de jauge (Figure 12).



Figure 12 : Décantation des boues activées.

L'entretien à proprement parler a été réalisé dans un Erlenmeyer de 2 litres, contenant un milieu de culture dont la composition est détaillée dans le paragraphe ci-après. L'aération a été assurée par un agitateur (Stuart CB 162, Royaume-Uni) avec une vitesse d'agitation élevée d'environ 533 tr/min et l'incubation a été effectuée à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

L'alimentation des boues activées en nutriments et en oxygène a été effectuée tous les quatre jours avec ajustement du volume total avec de l'eau distillé, si nécessaire. Cette alimentation permet de fournir les éléments de base (C/N/P) nécessaires à la croissance des microorganismes contenus dans les boues activées. La composition du milieu de culture ayant servi à l'entretien a la composition suivante : 2 g/L de glucose (source de carbone), 1 g/L d'urée ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ source d'azote) et 1 g/L de KH_2PO_4 (source de phosphore).

4.2 Matériel non biologique

Le pesticide qui fait l'objet de la présente étude (deltaméthrine) nous ont été fournis à titre gracieux par l'EPE ALPHYT SPA (Algérienne des Phytosanitaires) de Baraki, Alger. D'après la fiche technique du fabricant (CIE EU REALISATION ANTIPARISITAIRES, CERA S.A.S - France), ce pesticide contient 98 % de matière active et demeure stable pendant 3 ans conservés dans son emballage d'origine et dans des conditions normales de température et d'humidité. Le pesticide a été conservé dans de flacon en verre, et mis au réfrigérateur.

4.3 L'adaptation des boues activées au pesticide

Le but de cette procédure est de permettre aux microorganismes de s'adapter à leur nouvel environnement (présence de deltaméthrine) en leur permettant de synthétiser ou de réactiver les enzymes nécessaires à la dégradation du pesticide, ou bien encore de subir les mutations adéquates, dont les effets permettent l'acquisition par certains d'entre eux de nouvelle(s) version(s) de gène(s) préexistant(s) dont le ou les produit(s) assureront la dégradation du pesticide testé ou tout du moins sa biotransformation.

Ce processus a consisté en la culture des boues activées sur un milieu minéral contenant deux sources de carbone (glucose et deltaméthrine) et/ou deux sources d'azote (nitrate d'ammonium et deltaméthrine).

Le milieu de culture utilisé pour la phase d'adaptation a la composition suivante :

Pour un litre d'eau distillée : K_2HPO_4 : 1,6g ; KH_2PO_4 : 0,4g ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,2g ; NaCl : 15g ; $CaCl_2$: 0,02g ; NH_4NO_3 : 3g ; $ZnSO_4$: 0,01g ; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,05g ; $MnSO_4 \cdot H_2O$: 0,008g ; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$: 0,004 g ; $CoCl_2$: 0,0026g et le glucose : 3g. Le pH est ajusté à 7 avec des solutions de NaOH et de HCl. Le milieu minéral ainsi constitué est stérilisé par autoclavage à 121°C pendant 20 min.

L'acclimatation a été menée dans un Erlenmeyer de 250mL dans lesquels ont été introduits 5% (v/v) de boue activée (soit 12,5 ml), 10 mg de pesticide (dilué dans 2 ml d'éthanol pur), et le reste du volume avec le milieu de culture.

La culture ainsi obtenue a été incubée à température ambiante ($21^\circ C \pm 2^\circ C$), et sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique (Stuart CB 162, Royaume-Uni) réglé à une vitesse d'agitation d'environ 417 tr/min pendant 4 jours (**Figure 13**).

Cette procédure est répétée quatre fois, s'étalant ainsi sur une période totale de 16 jours.



Figure 13 : Photo montrant la culture microbienne utilisée pour la phase d'adaptation.

4.4 Sélection des souches microbiennes susceptible d'utiliser le pesticide -élément xénobiotique- comme élément nutritif

Afin de parvenir à isoler les souches microbiennes susceptibles de métaboliser le pesticide testé, deux milieux de culture liquides ont été préparés permettant la sélection de souches microbiennes susceptibles d'utiliser le pesticide testé comme unique source de carbone (SC) ou bien comme unique source d'azote (SN) (Figure14).



Figure 14 : Photo montrant deux cultures microbiennes sur les deux milieux sélectifs (SC et SN).

a) Sélection des souches utilisant la deltaméthrine comme source de carbone :

Cet essai a consisté en la culture des microorganismes (boues activées) sur le milieu minéral cité précédemment contenant deux sources de carbone (glucose et deltaméthrine).

L'utilisation de la deltaméthrine comme unique source de carbone est valable parce que la deltaméthrine contient des atomes de carbone dans sa structure chimique.

La concentration de glucose a été réduite progressivement de 3000 mg/l jusqu'à la valeur de zéro parallèlement à l'augmentation progressive de la concentration du deltaméthrine (de 400 mg/l jusqu'à 2000 mg/l).

b) Sélection des souches utilisant la deltaméthrine comme source d'azote :

Le choix de l'utilisation de la deltaméthrine comme unique source d'azote est motivée par le fait que la structure chimique du pesticide contient un atome d'azote.

Le milieu minéral utilisé contient une source d'azote (NH_4NO_3). La concentration du NH_4NO_3 a été réduite progressivement de 500 mg/l jusqu'à la valeur de 0. La concentration du deltaméthrine est passée de 320 mg/l à 600 mg/l.

L'ensemble des essais ont été incubés à une température ambiante ($22\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) et une vitesse d'agitation d'environ 417 tr/min pendant une durée de 38 jours (Tableau 7).

Tableau 7 : Procédure de variation de la composition du milieu de culture durant la phase de sélection.

Nombre des jours	0	4	7	13	19	24	28	32	38
Source de carbone : Pesticide-Glucose									
Quantité de Glucose (g/L)	3	2,5	2	1,5	1	0,5	0	0	/
Quantité de Pesticide (g/L)	0,4	0,7	0,9	1,2	1,4	1,8	2	2	/
Source d'azote : Pesticide-Nitrate d'ammonium									
Quantité de NH_4NO_3 (g/L)	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,05	0	0	/
Quantité de Pesticide (g/L)	0,3 2	0,3 7	0,4	0,4 5	0,5	0,55	0,6	0,6	/

4.5 Isolement et identification des microorganismes

Cette partie du travail sert à isoler et identifier les souches microbiennes aptes à dégrader la deltaméthrine en l'utilisant comme source de carbone ou d'azote.

4.5.1 Isolement des microorganismes

L'isolement des souches microbiennes obtenues à l'issue de la phase de sélection décrite précédemment a été effectuée sur deux milieux de culture synthétiques solides, et incubés à 37 °C pendant 72 h. Ces milieux ont la même composition que les milieux liquides de la phase de la sélection des souches mais additionnés d'agar à 2 % (p/v). Avant de procéder

à leur identification, les différentes colonies mises en évidence dans chaque milieu ont été préalablement repiquées individuellement sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées à 35°C.

On a procédé pour chaque milieu à des dilutions décimales et des tests de contrôle pour l'éthanol afin d'assurer que l'éthanol n'a pas servi les bactéries comme source de carbone. Le travail est résumé dans le Tableau suivant (Tableau8).

Tableau 8 : Etapes de la procédure d'isolement

<p>Préparation des dilutions décimales</p>	
<p>Ensemencement</p>	
<p>Préparation des boîtes de Pétries</p>	
<p>Remarques</p>	<ul style="list-style-type: none"> -les tubes à essai qui servent aux dilutions sont remplis avec 9 mL d'eau physiologique ; -le pesticide introduit dans les milieux SC et SN est dilué, respectivement dans 3mL et 2mL d'éthanol ; -la solution mère correspond à la culture obtenue à l'issue de la phase de sélection ; -SC : est un milieu dans lequel le pesticide sert comme unique source de Carbone ; -SN : est un milieu dans lequel le pesticide sert comme unique source d'azote.

Préparation des boîtes de Pétri pour le contrôle :

- Coulage du milieu sélectif (milieu minérale + Agar + éthanol avec la même quantité que l'étape précédente) dans des boîtes de Pétri.
- Laisser le milieu solidifier.
- Encensurer les boîtes de Petri avec 0,5mL de la solution mère.

4.5.2. Lecture du dénombrement

a) Dénombrement

- Le dénombrement des bactéries repose sur le principe selon lequel une colonie se forme par divisions d'un seul micro-organisme. On parle alors d'Unité Formant Colonie (UFC).
- Compter les colonies en marquant chaque colonie sur le fond de la boîte avec un marqueur indélébile.
- Pour des raisons de sécurité, ne jamais ouvrir la boîte.

b) Lisibilité des résultats

- Une boîte est considérée comme lisible si la population est inférieure à 300 colonies.
- Sinon, effectuer le comptage sur une boîte où l'échantillon a été dilué. Le cas des dilutions, une boîte est considérée comme significative si elle contient au moins 30 colonies.

c) Nombre de bactéries par mL

Calculer la population par ml d'échantillon en tenant compte de la dilution.

UFC=N/VF telle que : N : nombre moyen des colonies ; VF : nombre de dilution.

4.5.3 Identification des microorganismes

L'identification des souches bactériennes est basée sur des schémas d'identifications dichotomiques. Chaque colonie purifiée est prélevée et diluée dans 1 ml d'eau physiologique. A partir de cette suspension bactérienne dense, on procède aux tests d'orientation (aspects des colonies, observation microscopique après coloration de Gram, recherche des enzymes de la chaîne respiratoire (oxydase, catalase) et aux tests de confirmation (une série de tests biochimiques classiques effectués sur des galeries API20E, API20NE, APIM20, ...ça dépend des résultats des tests précédent) pour l'identification définitive [120, 121, 122].

a) Coloration de Gram

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer. Son avantage est de

donner une information rapide sur les bactéries présentes dans un produit ou un milieu tant sur le type que sur la forme.

Des frottis sont préparés à partir des souches pures cultivées en milieu solide. Les frottis sont colorés par la méthode de Gram, puis ils sont observés au microscope optique. Les étapes de la coloration sont :

- Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute, puis rincez à l'eau.
- Mordançage au lugol (solution d'iodure de potassium iodée) : étalez le lugol et laissez agir le même temps que le violet de gentiane ; rincez à l'eau déminéralisée.
- Décoloration (rapide) à l'alcool (+ acétone) est l'étape la plus importante de la coloration : versez goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveillez la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincez abondamment avec de l'eau déminéralisée pour stopper la décoloration.
- Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Mettez de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de fuchsine. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute. Lavez doucement à l'eau déminéralisée. Séchez la lame sur une platine chauffante à 50°C.

Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$). **La**

Figure 15 ci-dessous montre les étapes de la coloration de Gram [123].

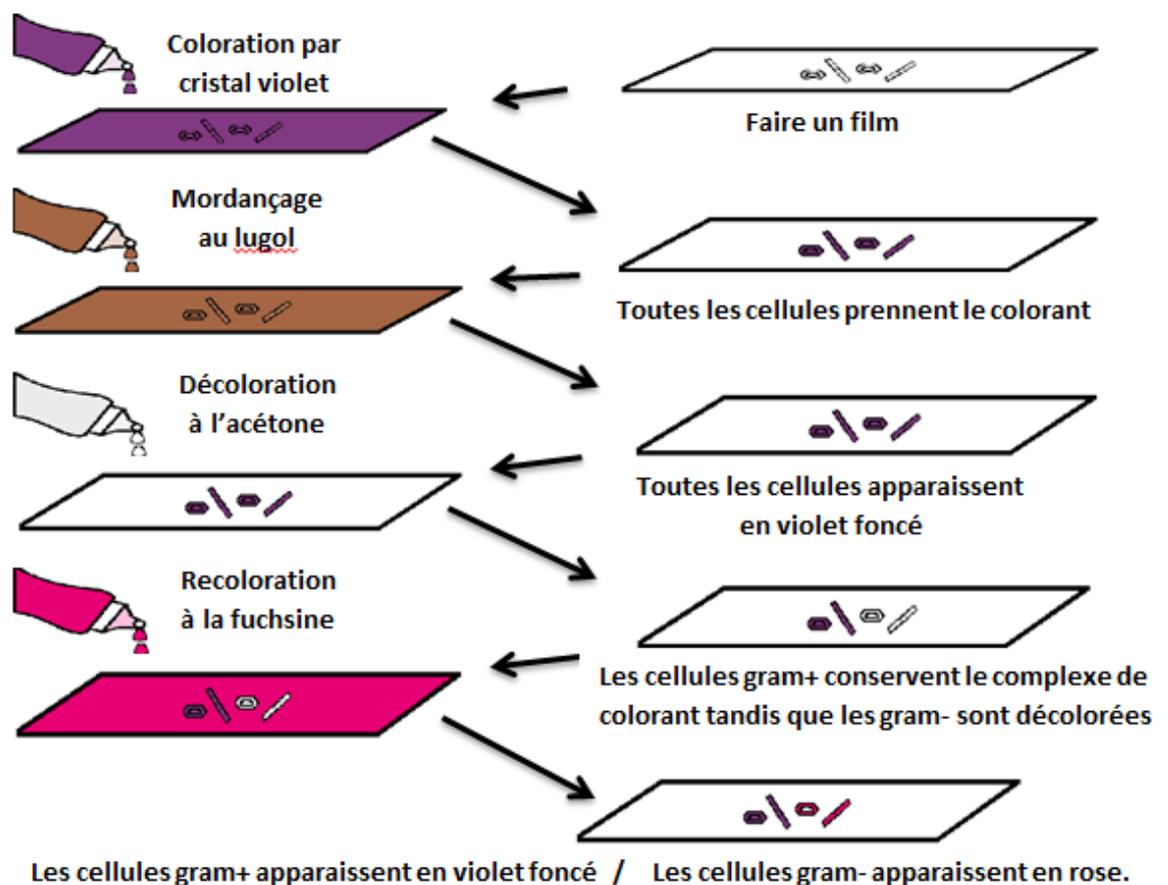


Figure 15 : Les étapes de la coloration de Gram.

b) Recherche de la catalase

Ce test est important pour la première orientation dans l'identification d'une souche pure bactérienne.

Le test classique consiste à mettre du matériel bactérien, prélevé par une anse métallique dans une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) déposée sur une lame de verre. La présence de catalase s'exprime aussitôt par un dégagement gazeux (O_2) aisément discernable [120]. La Figure 16 montre le mode opératoire du test de la catalase.

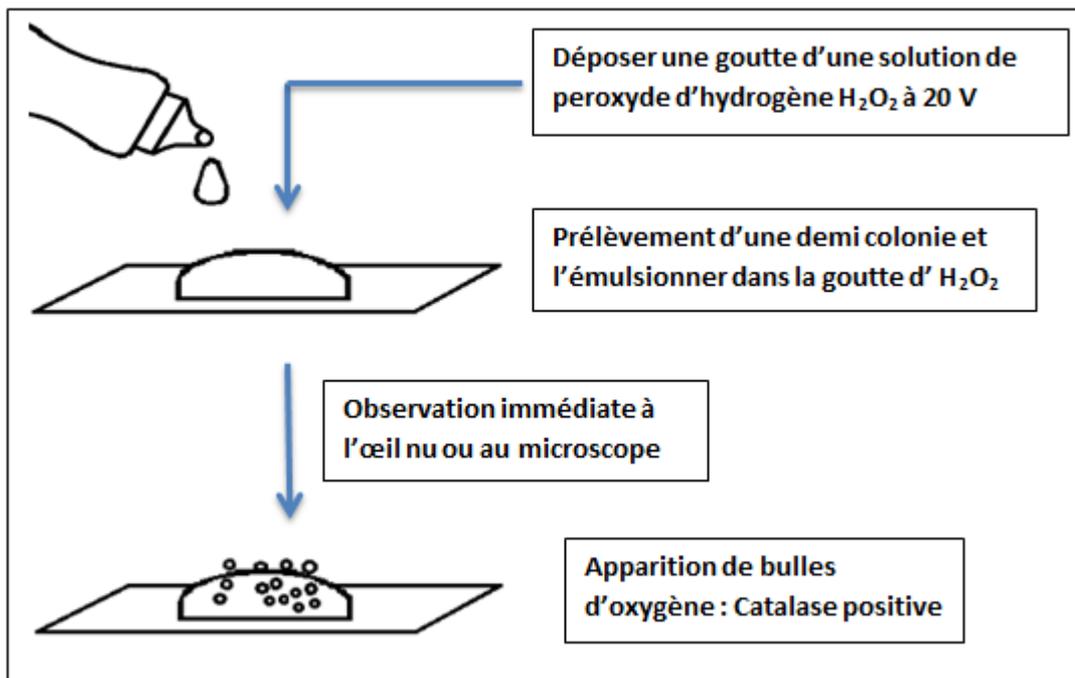


Figure 16 : Mode opératoire du test à la catalase.

- Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase +
- Pas de bulles : catalase – [124].

c) Recherche de l'oxydase

La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif.

Sur une lame de verre, on dépose un carré de papier buvard que l'on imbibe de substrat. On prélève des colonies avec une pipette pasteur boutonnée avec laquelle on les écrase sur la lame de verre.

- Si la colonie prend une teinte rose, violette. Le germe possède une oxydase : le test est positif
- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif [125].

d) La méthode d'identification par la galerie API20E

Principe

La galerie API 20 E se compose de 20 micro-tubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée. Il permet l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés. Il y a une partie pour l'auxanogramme et une autre pour le zymogramme (les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant). Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs [120, 121, 122, 125].

Technique

Préparation de la galerie

- Répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire les références de la souche bactérienne sur la languette latérale de la boîte.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% ou dans un tube d'eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l'étalon 0,5 Mcfarland.

Inoculation de la galerie

- Remplir les tubes (et non les cupules) de tous les tests sauf CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.
- Eviter la formation de bulles en appuyant sur la pointe de la pipette Pasteur à l'intérieur des tubes et sur le côté lors de remplissage.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Remplir en suspension bactérienne les tubes et les cupules des tests CIT, VP et GEL, en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 37° C pendant 24 heures.

Lecture

Après incubation, la lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un tableau de lecture.

Identification

Avec le catalogue analytique : les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification [120, 121, 122, 123]

Résultats et discussion

5. Résultats et discussion

5.1 Résultats de l'ensemencement sur les deux milieux sélectifs

Deux milieux de culture liquides ont été préparés permettant la sélection de souches microbiennes susceptibles d'utiliser le pesticide testé comme unique source de carbone (SC) ou bien comme unique source d'azote (SN).

L'isolement des souches microbiennes a été effectué sur des milieux de culture synthétiques solides, et incubés à 37°C pendant 72 h.

Avant de procéder à leur identification, les différentes colonies obtenues dans les deux milieux sont repiquées individuellement sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive puis incubées à 37 °C.

Les résultats de l'ensemencement sur les deux milieux sélectifs préparés sont résumés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 9**). L'apparition des colonies sur les différentes boîtes de Pétri n'a été observée qu'après 144 h (6 jours) d'incubation.

Tableau 9 : Résultats de l'ensemencement sur les deux milieux sélectifs.

	SC	SN
Solution mère	- -	- -
Dilution 10⁻¹	+ +	+ -
Dilution 10⁻²	+ 80 colonies + 46 colonies	+ +
Dilution 10⁻³	+ +	+ +
Dilution 10⁻⁴	+ +	+ 280 colonies + 232 colonies
Contrôle d'éthanol	- -	- -

(- : absence de croissance bactérienne, + : croissance bactérienne)

5.2 Dénombrement des colonies obtenues

Pour le milieu SC :

Les boîtes de Pétri correspondante à la solution mère, dilution 10⁻¹, dilution 10⁻³ et à la dilution 10⁻⁴ sont non significative.

On a considéré la boîte de Pétri correspondante à la dilution 10⁻²

Avec $N = (80+46)/2 = 63$ colonies \Rightarrow $UFC = 63/10^{-2} = 63 \cdot 10^2 UFC/0,5mL$
 $= 72 \cdot 10^2 UFC/mL$

Pour le SN :

Les boites de Pétri correspondante à la solution mère, dilution 10^{-1} dilution 10^{-2} et à la dilution 10^{-3} sont non significative.

On a considéré la boite de Pétrie correspondante à la dilution 10^{-4}

Avec $N = (280+232)/2 = 256$ colonies \Rightarrow $UFC = 256/10^{-4} = 256 \cdot 10^4 UFC/0,5mL$
 $= 512 \cdot 10^4 UFC/mL$

5.3 Isolement et identification des souches bactériennes mises en évidence dans les deux milieux sélectifs

5.3.1 Isolement et purification

Avant d'entreprendre les tests d'identification, l'ensemble des souches bactériennes détectées sur les deux milieux sélectifs ont été purifiées par ensemencement sur gélose nutritive.

5.3.2 Identification

a) Etude morphologique des colonies détectées

Les photos des colonies obtenues sont présentées dans la figure suivante (Figure17) :

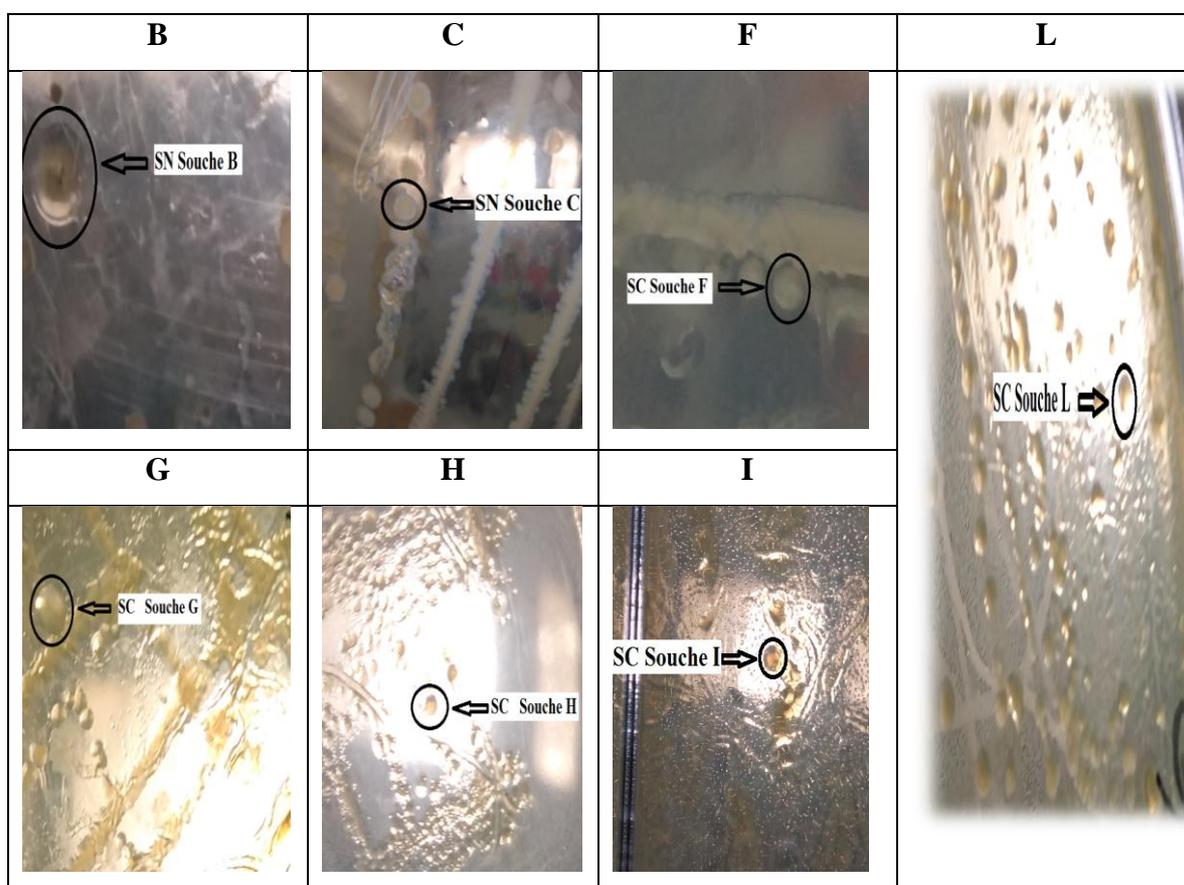


Figure 17 : Les photos des colonies obtenues dans le GN

L'observation microscopique à l'état frais des souches bactériennes isolées montre que toutes les souches sont des bacilles (**Figure 18**)

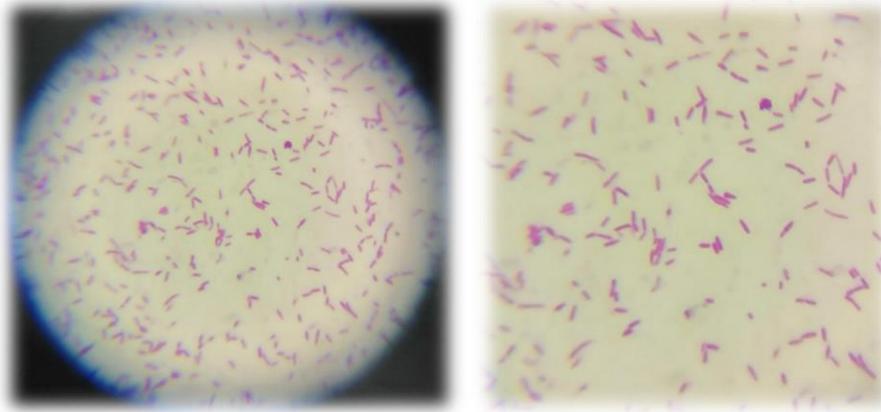


Figure 18 : Forme des bactéries observées par microscope.

b) Etude biochimique

- **Coloration de Gram**

L'observation microscopique après la coloration de Gram révèle que toutes les souches isolées sont à Gram négatif.

- **Recherche des enzymes de la chaîne respiratoire**

Recherche de la catalase

Dès l'étalement des suspensions bactériennes dans le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), un dégagement gazeux est observé, ce que veut dire que les souches bactériennes sont catalase positive et appartiennent au groupe des bacilles Gram négatif aérobies.

Recherche de l'oxydase

Les résultats de ce test ont été positifs, et donc toutes les souches isolées sur le milieu sélectif possèdent de l'oxydase par le fait de l'apparition d'une coloration violette sur le disque d'oxydase (Figure 19).



Figure 19 : Résultats du test de l'oxydase

- **Tests d'identification par galerie API 20 E :**

Les résultats des tests effectués avec les galeries API20E sont montrés dans le Tableau10ci-dessous :

Tableau 10 : Les caractères biochimiques des différentes souches obtenus avec la galerie API20E.

Tests	Substrat	S.N		S.C				
		B	C	F	G	H	I	L
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	-	-	-	-	-	-	-
ADH	Arginine	-	+	-	-	-	-	-
LDC	Lysine	-	-	-	+	+	+	+
ODC	Omithine	-	-	-	-	-	-	-
CIT	Citrate de sodium	-	-	-	+	+	+	+
H₂S	Thiosulfate de sodium	-	-	-	-	-	-	-
URE	Urée	-	-	-	-	-	-	-
TDA	Tryptophane	-	-	-	-	-	-	-
IND	Tryptophane	-	-	-	-	-	-	-
VP	Pyruvate de sodium	-	-	-	-	-	-	-
GEL	Gélatine de Kohn	-	-	+	+	+	+	+
GLU	Glucose	-	-	-	-	-	-	-
MAN	Mannitole	-	-	-	-	-	-	-
INO	Inositol	-	-	-	-	-	-	-
SOR	Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-
RHA	Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-
SAC	Saccharose	-	-	-	-	-	-	-
MEL	Melibiose	-	-	-	-	-	-	-
AMY	Amygdaline	-	-	-	-	-	-	-
ARA	Arabinose	-	-	-	-	-	-	-
OX	Oxydase	+	+	+	+	+	+	+



Figure 20 : Les photos des galeries biochimiques obtenues après l'addition des additives aux souches C, L, G, H et I

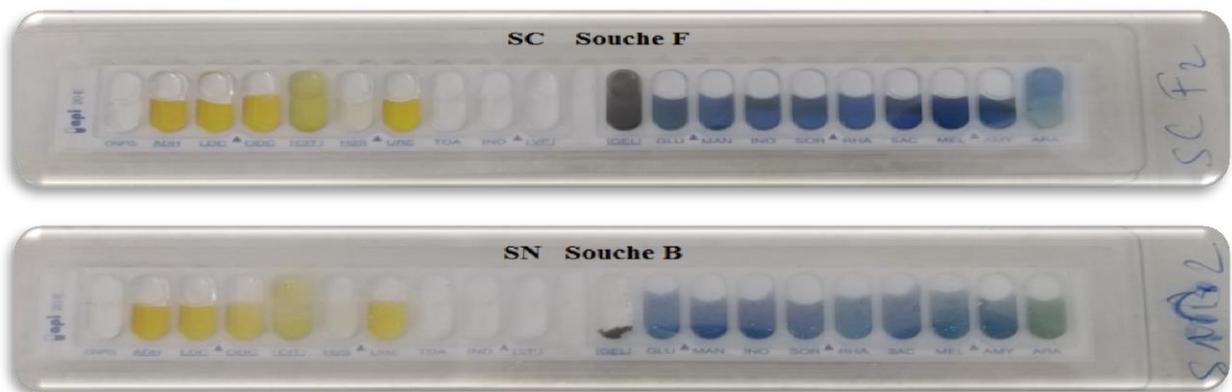


Figure 21 : Les photos des galeries biochimiques obtenues avant l'addition des additives aux souches B et F.

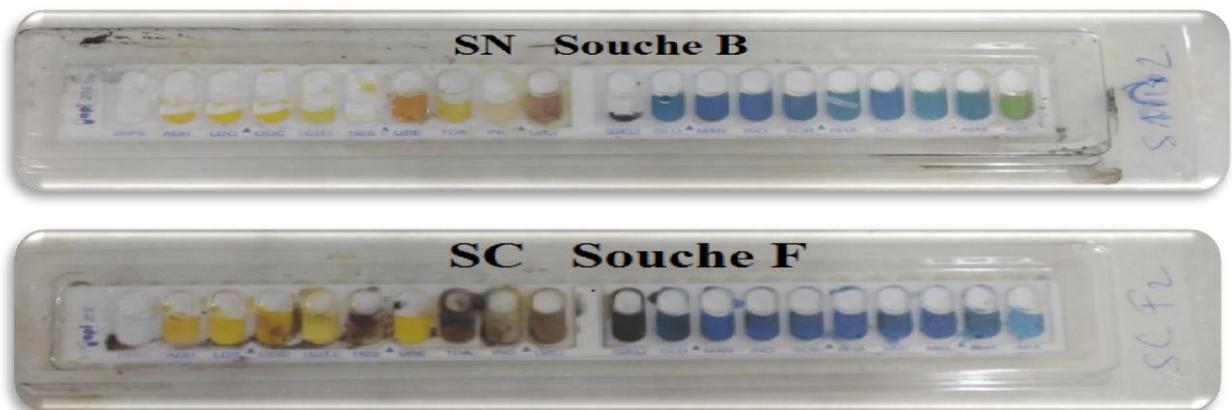


Figure 22 : Les photos des galeries biochimiques obtenues Après l'addition des additives aux souches B et F.

Les résultats finaux de l'identification des souches isolées sont montrés dans le **Tableau11** ci-dessous:

Tableau 11 : Résultats de l'identification biochimique des souches isolées.

	Souches	Résultats
Milieu SN	B	<i>Non-fermenter spp</i>
	C	<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>
Milieu SC	F	<i>Myroides/Chryseobacterium indologenes</i>
	G	<i>Burkholderia cepacia</i>
	H	<i>Burkholderia cepacia</i>
	I	<i>Burkholderia cepacia</i>
	L	<i>Burkholderia cepacia</i>

5.4 Discussion derésultats obtenus

Dans cette étude, nous sommes parvenus à isoler trois espèces bactériennes métabolisant et donc dégradant la deltaméthrine au cours de leur croissance. Deux d'entre elles (*Burkholderia cepacia* et *Myroides/Chryseobacterium indologenes*) se sont avérées capables d'utiliser le pesticide comme unique source de carbone et une seule (*Aeromonas salmonicida ssp salmonicida*) capable de l'utiliser comme unique source d'azote. Ceci suggère que ces microorganismes possèdent les enzymes nécessaires à la production des sous-produits de dégradation du pesticide pouvant être intégrés dans les voies métaboliques classiques telle que la voie d'Embden–Meyerhof–Paranas.

Selon les études rapportées dans la littérature, de nombreuses souches ont été décrites comme étant capables de métaboliser la deltaméthrine.

Dans une étude rapportée par Shaohua Chen et son équipe des souches bactériennes issues de boues activées et capables de dégrader la deltaméthrine ont été isolées par une technique de culture d'enrichissement. La souche bactérienne isolée est du genre *Streptomyces aureus*. Cette souche pouvait dégrader environ 98% de la deltaméthrine en 4 jours et 100% après 5 jours à la concentration de 50 mg L⁻¹. La souche *Streptomyces aureus* s'est également révélée très efficace pour dégrader la cyfluthrine, la bifenthrine, le fenvalérate, la fenpropathrine, la perméthrine et la cyperméthrine. La souche *Streptomyces aureus* a

rapidement dégradé la deltaméthrine sans phase de latence, et a généré les deux métabolites suivants : l' α -hydroxy-3-phénoxybenzèneacétonitrile et du 3-phénoxybenzaldéhyde par hydrolyse de la liaison carboxylester [126].

Dans une autre étude rapportée par Agnieszka Kalwasinska et son équipe, évaluant la biodegradation de la deltaméthrine ($1 \mu\text{g. l}^{-1}$) par des cultures pures de bactéries *neustoniques* et *épiphytes* et par des cultures mixtes composées d'un mélange de 25 souches bactériennes isolées. Les résultats indiquent que les bactéries *neustoniques* et *épiphytes* sont caractérisées par une capacité moyenne similaire à dégrader la deltaméthrine. Après une incubation de 15 jours, les bactéries isolées de la microcouche de surface ont réduit la concentration initiale de deltaméthrine de 60%, tandis que l'efficacité moyenne de la bactérie trouvée sur le roseau commun était de 47%. Les résultats de l'identification des souches les plus performantes en termes de dégradation de la deltaméthrine ont indiqué que l'espèce *Burkholderia cepacia* était le plus efficace pour réduire la concentration de deltaméthrine. Parmi les bactéries épiphytes analysées, deux souches, l'une appartenant à l'espèce *Pseudomonas luteola*, et l'autre à l'espèce *Aeromonas hydrophila* ont montré un meilleur rendement de dégradation du pesticide [127].

Les espèces bactériennes *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* et *Aeromonas hydrophila*, caractérisées par leur capacité à décomposer un large spectre de polluants organiques, y compris les pesticides, sont très utiles en bioremédiation. L'espèce *Burkholderia cepacia* démontre une capacité exceptionnelle à décomposer de nombreux composés organiques structurellement complexes. Les capacités de ce microorganisme à décomposer l'acide 2,4,5-trichloroacétique [128], le benzo (a) - pyrène, le dibenz (a, h) l'anthracène, le coronène [129], le p-nitrophénol [130] et d'autres hydrocarbures polyaromatiques ont été confirmés [131].

Aeromonas hydrophila, qui est courant dans les eaux de surface [132], possède un large spectre d'exoenzymes (amylase, protéase, lipase, nucléase et autres), actifs dans la décomposition de nombreux composés organiques [133].) il est également capable de décomposer un herbicide commun, le propanil [134] et des colorants textiles parmi d'autres agents [135].

Notre étude a révélé, pour la première fois, l'implication de deux souches l'une appartenant à l'espèce *Aeromonas salmonicida ssp salmonicida* et l'autre de l'espèce

Chryseobacterium indologenes dans la dégradation (minéralisation) de la déltaméthrine enrichissant ainsi la littérature sur la bioremédiation des pesticides, en général, et celle de la déltaméthrine, en particulier.

Les études en rapport avec l'isolement et l'identification de cultures bactériennes pures capables de dégrader la deltaméthrine sont rares et décrivent principalement les environnements de sol.

Des cultures pures des espèces de *Bacillus cereus* et de *Pseudomons fluorescens* et des bactéries du genre *Achromobacter* sont capables de décomposer la deltaméthrine à la concentration de 50 mg l⁻¹ en présence de Tween 80 [136].

Grant et al. (2002) ont découvert les *Pseudomonas sp.* et *Serratia sp.* isolés du sol sont utiles pour décomposer les pyréthroïdes synthétiques. Lee et son équipe ont isolé jusqu'à 56 souches bactériennes capables de décomposer des perythroïdes synthétiques à partir de sédiments de fond pollués par des pesticides [137].

La deltaméthrine est dégradable par les bactéries du genres *Micrococcus sp* [138].

Par ailleurs, il a été rapporté que la souche souche *Bacillus cereus* Y1 augmentait le taux de dissipation de la deltaméthrine dans le sol. Cette étude fournit des preuves scientifiques et un soutien aux applications agricoles de la biorestauration de la souche Y1 de *B. cereus* dans le but de réduire les résidus de pesticides [139].

**CONCLUSION
ET
PERSPECRIVE**

Une utilisation fréquente et abusive des pesticides peut poser de graves problèmes pour l'environnement et la santé. Ce qui fait que le contrôle et l'élimination de la pollution générée par ces composés est une nécessité urgente.

L'objectif de notre étude est l'isolement et l'identification de souches microbiennes contenues dans des boues activées, capables de métaboliser la deltaméthrine.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude nous ont permis de sélectionner trois souches bactériennes dont deux (*Burkholderia cepacia* et *Myroides/Chryseobacterium indologenes*) sont capables de métaboliser le deltaméthrine en l'utilisant comme seule source de carbone et une seule (*Aeromonas salmonicida ssp salmonicida*) a l'utilisant comme seule source de d'azote.

Les résultats obtenus indiquent l'implication de ces souches dans la biodégradation de la deltaméthrine et donc la possibilité de leur utilisation dans le domaine de la bioremédiation. De plus, il ne faut pas négliger la possibilité que ces souches puissent dégrader d'autres polluants organiques existant dans l'environnement.

Il convient, en perspective, d'envisager l'étude de plusieurs aspects liés à ce travail comme par exemple :

- L'identification des métabolites intermédiaires et terminaux issus du métabolisme du deltaméthrine.
- L'identification encore plus poussée des souches sélectionnées par séquençage du gène de l'ARN_r 16s ou par analyse de l'espace intergénique ribosomal.
- L'extraction et la caractérisation des enzymes impliquées dans l'hydrolyse des deux pesticides.
- L'étude approfondie d'un éventuel effet d'inhibition qui serait exercé par la deltaméthrine à l'égard des souches sélectionnées.
- L'étude des performances des souches sélectionnées en termes de dégradation de la deltaméthrine, et ce, en optimisant les paramètres nutritionnels et physico-chimiques de culture ou bien encore en présence de divers substrats additionnels (simples et complexes).

Bibliographie

- [1] Elliott M (1995) Chemicals in insect control. In: Casida JE, Quistad GB (eds) Pyrethrum flowers: production, chemistry, toxicology, and uses. Oxford University Press, NY.
- [2] Zhang ZY, Liu XJ, Yu XY, Zhang CZ, Hong XY (2007) Pesticide residues in the spring cabbage. (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) grown in open field. *Food Control* 18:723–730.
- [3] Malika Nait Atmane. 2011. Élimination du malathion par électrocoagulation monopolaire et bipolaire. Ecole Nationale Polytechnique. 94p.
- [4] Martín-Gullón I. and Font R., 2001, « Dynamic pesticide removal with activated carbon fibers » *Wat. Res.*, 35:516-520 pp.
- [5] Bourguine F., Chapman J., Martin S. 1997. « Traitement des pesticides par photolyse UV », *TSM l'eau*, n°7-8, juillet-août, pp.23-27.
- [6] Acero J.L., Stemmler K., and von Gunten U., 2000. Degradation kinetics of atrazine and its degradation products with ozone and OH radicals: a predictive tool for drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.*, 34:591-597 pp.
- [7] Vallet, F. 2002. Mesure des pesticides dans l'atmosphère en Pointou-Charentes: Développements des techniques de biosurveillance des pesticides. *Atmo PointouCharentes*. 93 p.
- [8] FAO (1990)-Food and Agriculture Organization of the United Nations, report of the joint meeting of the FAO, Pesticide Residues in Food, 39-40 pp
- [9] Benzine, M. 2006. Les pesticides : toxicité, résidus et analyse, département des produits frais. Etablissement Autonome de Contrôle et de Coordination des Exportations (EACC). Les technologies de laboratoire, N° 0: 1-24
- [10] FOURNIER, J., 1988. Chimie des pesticides. Cultures et Techniques. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Université d'Angers, pp. 350.
- [11] DAMALAS, CA., 2009. Comprendre les avantages et les risques de l'utilisation des pesticides. *Recherche scientifique et Essai*, vol 4, n° 10, p. 945-949.
- [12] Claude Gatignol, M. & Jean-Claude Etienne, M. 2010. Rapport sur les pesticides et la santé. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. 260 p.
- [13] Calvet, R., Barriuso, E., Bedos, C., Benoit, P., Charnay, M-P & Coquet, Y., 2005. Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. Edit. France Agricole, Paris. 637 p. ISBN : 2-85557-110-7.
- [14] Miguel La qualité de l'eau et l'assainissement en France <http://www.senat.fr>
- [15] Cooper J, Dobson H (2007)- The Benefits of Pesticides to Mankind and the Environment. *Crop Protection*, 26, 1337-1348.
- [16] EL BAKOURI, H., 2006. Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles (S.O.N). Thèse de doctorat : Faculté des sciences et technique : Tanger, Maroc, Université Abdelmalek Essaadi
- [17] Inserm (2013)- (Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale) Expertise collective. Pesticides, effets sur la santé, 2013. Disponible sur <http://editions.inserm.fr/zh5/109743>
- [18] ORTIZ-HERNÁNDEZ, ML., 2002. Biodegradación de plaguicidas organofosforados por nuevas bacterias aisladas del suelo. Thesis. Biotechnology PhD. Universidad

Autónoma del Estado de Morelos, México.

- [19] Boland J, Koomzn I, Van Lidth J, Jeude DE, Oudejans J (2004)- les pesticides compositions, utilisation et risques. Edition Agrosdok.
- [20] Union des Industries de a Protection des Plantes <http://www.uipp.org/Services-pro/Chiffres-cles/Repers-monde-et-Europe>
- [21] FAOSTAT <http://faostat.fao.org/site/423/default.aspx#ancor>
- [22] E.BARRIUSO, R. CALVET, M. SCHIAVON et G. SOULAS .(1996). Les pesticides et les polluants organiques des sols Transformations et dissipation. Etude Gestion Sols . Vol 3 : 279-296.
- [23] Robert F. Carsel, Lee A. Mulkey, Matthew N. Lorber and Leland B. Baskin.(1985). The Pesticide Root Zone Model (PRZM): A procedure for evaluating pesticide leaching threat to groundwater, Ecological Modelling, 30 : 49-69.
- [24] Gril J. J . , Gouy V. , Carluer C. , 1998 , Processus de transfert des pesticides par ruissellement , Document de la Societé Hydrotechnique de France . 380 p .
- [25] BerrahA (2011)- Etude sur les pesticides. Mémoire de Master Université de Tébessa Algérie
- [26] Calvet, R. (1989). Adsorption of organic chemicals in soils. Environmental Health Perspectives, Vol.83, pp.145-177
- [27] Calvet, R.; Barriuso, E.; Bedos, C.; Benoit, P.; Charnay, M.P. & Coquet, Y. (2005). Les pesticides dans les sols. Conséquences agronomiques et environnementales (Editions France Agricole), Dunod, ISBN 2-85557-119-7, Paris, 637 p .
- [28] Mamy, L. & Barriuso, E. (2007). Desorption and time-dependent sorption of herbicides in soils. European Journal of Soil Science, Vol.58, No.1, pp.174-187
- [29] Fenner, K.; Canonica, S.; Wackett, L. P.; Elsner, M. (2013). "Evaluating Pesticide Degradation in the Environment: Blind Spots and Emerging Opportunities". Science 341 (6147): 752.
- [30] CORPEN (1995) : Protection des cultures et prévention des risques de pollution des eaux par les produits phytosanitaires utilisés en agriculture: Recommandations générales , Ministère de l'agriculture et de la pêche et de l'environnement , France , 90p.
- [31] Scheunert I. . 1992. Transformation and degradation of pesticides in soil. Springer - Verlag .Berlin . 125 p .
- [32] Arias-Esévéz M., Lopez-Periago E., Martinez-Carballo E., Merut J. et Garcia-Rio L., 2008- The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. Agriculture, Ecosystems and Environment, Vol. 123, p 247-260.
- [33] Bérard A. et Pelte T., 1999- Les herbicides inhibiteurs du photo-système II, effet sur les communautés algales et leur dynamique. Revue des sciences de l'eau, Cedex, France, p 333-361.
- [34] Fdil F., Aaron J. et Oturan N., 2003- Dégradation photochimique des herbicides chlorophénoxyalcanoïques en milieux aqueux. Revue des sciences de l'eau, Vol. 16, N°1, p 123-142.
- [35] Spark K. et Swift R., 2002- Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. Journal of Science Total Environment, Vol. 298, p 147-161.
- [36] Jokanovic M. 2009. Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. Toxicology letters. vol 190(2) : 107-115.

- [37] Regnault-Roger C., Philogène B.J.R et Vincent Ch., 2005, Biopesticides d'origine végétale. Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p 465
- [38] IUPAC Glossary of Terms Used in Toxicology, 2nd edition <http://sis.nlm.nih.gov/enviro/iupacglossary/glossaryb.html>
- [39] Qiu X, Zhong Q, Li M, Bai W, Li, B. , 2007 , Biodegradation of p-nitrophenol by methyl parathion- degrading *Ochrobactrum* sp. B2. *International Biodeterioration and Biodegradation* ; vol 59 : 297-301.
- [40] Araya M, Lakhi A. , 2004 , Response to consecutive nematicide applications using the same product in musa AAAcv. Grande naine originated from in vitro propagative material and cultivated in virgin soil. *Nematologia Brasileira* ; vol 28(1): 55-61.
- [41] Singh BK, Walker A. , 2006 , Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol. Rev.*; Vol 30 (3): 428–471.
- [42] Aislabie J, Lloyd-Jones G., 1995, A review of bacterial-degradation of pesticides. *Australian Journal of Soil Research*; Vol 33(6); 925-942.
- [43] Iranzo M, Sain-Pardo I, Boluda R, Sanchez J, Mormeneo S. The use of microorganisms in environmental remediation. *Annals Microbiol* ,2001; Vol 51: 135-143.
- [44] Vischetti C, Casucci C, Perucci P., 2002, Relationship between changes of soil microbial biomass content and imazamox and benfluralin degradation. Springer Verlag.
- [45] Jeon, C. O., E. L. Madsen. 2013. In situ microbial metabolism of aromatic-hydrocarbon environmental pollutants. *Current Opinion in Biotechnology*. vol 24:474–481.
- [46] G.M. Serdar., 1989, Strategies for National Competitiveness” "BIOTECHNOLOGY" N°7; pp.1151-1155.
- [47] Briceño G, Palma G, Duran N. , 2007 . Influence of Organic Amendment on the Biodegradation and Movement of Pesticides. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* ; Vol 37: 233-271.
- [48] Diez MC.2010. Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants J. *Soil. Sci. Plant. Nutr.* Vol 10(3): 244–267.
- [49] BAILEY, G.-W., SWANK, R.-R., NICHOLSON, H.-P., 1974. Predicting pesticide runoff from agricultural land : a conceptual model. *Journal of environmental quality* N° 3, p: 95-102.
- [50] Tazdait D., 2014, Traitement d'un pesticide par voie biologique, Thèse de doctorat, Ecole Nationale Polytechnique (Alger), 147 p.
- [51] Bass C, Field LM.,2011, Gene amplification and insecticide resistance. *Pest Management Science*.Vol 67 (8): 886–890.
- [52] Scott C, Pandey G, Hartley CJ, Jackson CJ, Cheesman MJ, Taylor MC., Pandey R, Khurana JL., Teese M, Coppin CW, Weir KM, Jain RK., Lal R, Russell RJ, Oakshott JG.2008 .The enzymatic basis for pesticide bioremediation. *Indian J. Microbiol.* Vol 48: 65-79.
- [53] RICHOU-BAC, L. et VENANT, Annick., 1985, Une nouvelle famille d'insecticides: les pyrèthrinoïdes de synthèse. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.
- [54] TODD, G. Daniel, WOHLERS, David, et CITRA, Mario J., , 2003, Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- [55] National Pesticide Telecommunications Network (NPTN) Fact Sheets (1998).

- Pyrethrins and pyrethroids. <http://npic.orst.edu/factsheets/pyrethrins.pdf>
- [56] WHO Pesticide Evaluation Scheme & World Health Organization. Chemical Safety Team. (2005). Safety of pyrethroids for public health use. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69008>
- [57] ADAMOU, Rabani, ABDOULAYE, Alassane, SOUMAÏLA, Maimouna, et al., 2010, Dégradation abiotique de la Deltaméthrine et de l'Étofenprox dans les eaux naturelles du Niger. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, vol. 29, p. 45-54.
- [58] Bodereau-Dubois B., 2011. Récepteurs nicotiniques neuronaux d'insectes et insecticides : caractérisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l'efficacité des néonicotinoïdes. Thèse de Doctorat, spécialité : Biologie des Organismes. Université Angers. p195
- [59] SAYEED, Iqbal, PARVEZ, Suhel, PANDEY, Suwarna, et al., 2003, Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicology and environmental safety*, vol. 56, no 2, p. 295-301.
- [60] Tordoir WF, Maroni M, He F (1994). Health surveillance of pesticide workers. A manual for occupational health professionals (ICOH-ICPS-WHO, vol. 91).
- [61] SCHLEIER III, Jerome J. et PETERSON, Robert KD., 2012, The joint toxicity of type I, II, and nonester pyrethroid insecticides. *Journal of economic entomology*, vol. 105, no 1, p. 85-91.
- [62] SODERLUND, David M., CLARK, John M., SHEETS, Larry P., et al. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 2002, vol. 171, no 1, p. 3-59.
- [63] NARAHASHI, Toshio., 2000, Neuroreceptors and ion channels as the basis for drug action: past, present, and future. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 294, no 1, p. 1-26.
- [64] Reigart J, Roberts R (1999). Recognition and management of pesticide poisonings, 5th ed. Washington, DC, United States Environmental Protection Agency (Publication No. 735-R-98-003).
- [65] Mueller-Beilschmidt (1990). Toxicology and Environmental Fate of Synthetic Pyrethroids. *J. Pesticide Reform*, 10(3)Fall 1990. Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides, Eugene, OR – PANNA (Pesticide Action Network North America).
- [66] Pollack RJ, Kiszewski A, Armstrong P, Hahn C, Wolfe N, Rahman HA, Laserson K, Telford SR III, Spielman A (1999). Differential permethrin susceptibility of head lice sampled in the United States and Borneo. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 153(9):969-973.
- [67] EXTOXNET, Extension Toxicology Network-Pesticide Information Profiles. Pyrethrins And Pyrethroids <http://ace.orst.edu/info/extoxnet/ghindex.html>
- [68] EPA-US. Environmental Protection Agency (2000). Prevention, Pesticides and Toxic substances – Synthetic Pyrethroids for Mosquito Control
- [69] Narahashi T, Ginsburg KS, Nagata K, Song JH, Tatebayashi H (1998). Ion channels as targets for insecticides. *Neurotoxicology*, 19(4-5):581-590
- [70] IPCS – International Programme on Chemical Safety (1990c). Fenvalerate. Environmental Health Criteria 95. Geneva, World Health Organization.
- [71] IPCS – International Programme on Chemical Safety (1990b). Deltamethrin.

Environmental Health Criteria 97. Geneva, World Health Organization.

- [72] Schettgen T, Heudorf U, Drexler H, Angerer J. (2002). Pyrethroid exposure of the general Population is this due to diet. *Toxicol. Lett.*, 134(1–3):141–145.
- [73] Baker SB, Barr DB, Driskel WJ, Beeson MD, Needham LL (2000). Quantification of selected pesticide metabolites in human urine using isotope dilution high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Expo. Anal. Env. Epid.*, 10:789–798.
- [74] Komori M, Nishio K, Kitada M, et al. 1990. Fetus-specific expression of a form of cytochrome P-450 in human livers. *Biochemistry* 29:4430-4433.
- [75] Leeder JS, Kearns GL. 1997. Pharmacogenetics in pediatrics: Implications for practice. *Pediatr Clin North Am* 44(1):55-77.
- [76] NRC. 1993. National Research Council. Pesticides in the diets of infants and children. Washington DC: National Academy Press.
- [77] Sheets LP, Doherty JD, Law MW, et al. 1994. Age-dependent differences in the susceptibility of rats to deltamethrin. *Toxicol Appl Pharmacol* 126:186-190.
- [78] Ahlbom J, Fredriksson A, Eriksson P. 1994. Neonatal exposure to a Type-I pyrethroid (bioallethrin) induces dose-response changes in brain muscarinic receptors and behaviour in neonatal and adult mice. *Brain Res* 645:318-324.
- [79] Eriksson P, Fredriksson A. 1991. Neurotoxic effects of two different pyrethroids, bioallethrin and deltamethrin, on immature and adult mice: Changes in behavioral and muscarinic receptor variables. *Toxicol Appl Pharmacol* 108:78-85.
- [80] Talts U, Fredriksson A, Eriksson P. 1998a. Changes in behavior and muscarinic receptor density after neonatal and adult exposure to bioallethrin. *Neurobiol Aging* 19(6):545-552.
- [81] Hutson DH. 1979. The metabolic fate of synthetic pyrethroid insecticides in mammals. *Prog Drug Metab* 5:215-252.
- [82] Haley RW, Kurt TL. 1997. Self-reported exposure to neurotoxic chemical combinations in the Gulf War: A cross-sectional epidemiologic study. *JAMA* 277:231-237.
- [83] Haley RW, Hom J, Roland PS, et al. 1997a. Evaluation of neurologic function in Gulf War veterans: A blinded case-control study. *JAMA* 277(3):223-230.
- [84] Haley RW, Kurt TL, Hom J. 1997b. Is there a Gulf War syndrome? Searching for syndromes by factor analysis of symptoms. *JAMA* 277(3):215-222.
- [85] McCain WC, Lee R, Johnson MS, et al. 1997. Acute toxicity study of pyridostigmine bromide, permethrin, and DEET in the laboratory rat. *J Toxicol Environ Health* 50:113-124.
- [86] Baynes RE, Halling KB, Riviere JE. 1997. The influence of diethyl-m-toluamide (DEET) on the percutaneous absorption of permethrin and carbaryl. *Toxicol Appl Pharmacol* 144:332-339.
- [87] Nehéz M, Lorencz R, Dési I. 2000. Simultaneous action of cypermethrin and two environmental pollutant metals, cadmium and lead, on bone marrow cell chromosomes of rats in subchronic administration. *Ecotoxicol Environ Saf* 45:55-60.
- [88] [-Schleier J.J. & Peterson R.K.D., 2012. The joint toxicity of type I, II and non-ester pyrethroid insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 105, 85–91

- [89] Meyer E.K., 1999. Toxicosis in cats erroneously treated with 45 to 65% permethrin products. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2, 198–203
- [90] - IPCS – International Programme on Chemical Safety (1990b). Deltamethrin. Environmental Health Criteria 97. Geneva, World Health Organization.
- [91] Leahey J.P., 1985. The pyrethroid insecticides. London: Taylor and Francis.
- [92] Sayeed I., Parvez S., Pandey S., Bin-Hafeez B., Haque R. & Raisuddin S., 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 56, 295–301 }
- [93] CERA S.A.S. Compagnie Européenne de Réalisations Antiparasitaires, Société par Actions Simplifiée. Fiche technique N°61 « Deltaméthrine », 4 rue de Laborde 75008 Paris.
- [94] INRS, 2007. Institut National de Recherché et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles. Fiche toxicologique 193 « Deltaméthrine », établie par les services techniques et médicaux de l'INRS, édition 2007. 30 rue Olivier Noyer 75680 Paris, cedex 14.
- [95] Shivanoor, S. M., & David, M. (2014). Protective role of turmeric against deltamethrin induced renal oxidative damage in rats. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(4), 543-553.
- [96] Ekaluo, U. B., Ibiang, Y. B., Ikpeme, E. V., Ekanem, B. E., & Erem, F. A. (2013). Effect of deltamethrin and ridomil on sperm parameters and reproductive hormones of male albino rats. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 5(1), 9-14.
- [97] Rubrique Hazardous Substances Data Bank disponible sur le site : <http://toxnet.nlm.nih.gov/>
- [98] Directive 98/8/EC concerning the placing biocidal products on the market (2011)]
- [99] [Site officiel Algérienne des Phytosanitaires (EPE ALPHYT SPA) <http://www.alphyt.com>]
- [100] Villarini M., Moretti M., Pasquini R., Scassellati- Sforzolini G., Fatigoni C., Silvano Monarca M.M. & Rodriguez A.V., 1998. In vitro genotoxic effects of the insecticide deltamethrin in human peripheral blood leukocytes: DNA damage ('comet assay') in relation to the induction of sisterchromatid exchanges and micronuclei. *Toxicology*, 130,129–139.
- [101] Deltamethrin; Pesticide Tolerance. *Fed. Regist.* October 27, 2004, 69 (207), 62602-62615.
- [102] Conseil canadien des ministres de l'environnement. 1999. Recommandations canadiennes pour la qualité des eaux : protection des utilisations de l'eau à des fins agricoles — deltaméthrine, dans *Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement*, 1999, Winnipeg, le Conseil.
- [103] Yadav R.S., Sampath R.R. & Sharma V.P., 2001. Deltamethrin treated bednets for control of malaria transmitted by *Anopheles culicifacies* (Diptera: Culicidae) in India. *J. Med. Entomol.*, 38, 613–622.]
- [104] [Classification des modes d'action, Insecticide Resistance Action Committee, Poster Edition 6.1, April 2016. Based on the MoA Classification Version 8.1, site officiel : www.irc-online.org

- [105] Tomlin, C. D. S., 2006, *The Pesticide Manual: A World Compendium*, 14th ed.; British Crop Protection Council: Farnham, UK; pp 286-287.
- [106] WHO. *Environmental Health Criteria 97 - Deltamethrin*; International Programme on Chemical Safety, World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1990; pp 1-133.
- [107] Burr, S. A.; Ray, D. E. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels. *Toxicol. Sci.* 2004, 77, 341-346.
- [108] Ray, D. E.; Fry, J. R. A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides. *Pharmacol. Ther.* 2006, 111 (1), 174-193.
- [109] Leake, L. D.; Buckley, D. S.; Ford, M. G.; Salt, D. W. Comparative effects of pyrethroids on neurones of target and non-target organisms. *Neurotoxicol.* 1985, 6 (2), 99-116.
- [110] Bradberry, S. M., Cage, S. A., Proudfoot, A. T., Vale, J. A. Poisoning due to Pyrethroids. *Toxicol. Rev.* 2005, 24 (2), 93-106.]
- [111] Soderlund, D. M.; Clark, J. M.; Sheets, L. P.; Mullin, L. S.; Piccirillo, V. J.; Sargent, D.; Stevens, J. T.; Weiner, M. L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicol.* 2002, 171 (1), 3-59.
- [112] Anadón, A.; Martínez-Larrañaga, M. R.; Fernández-Cruz, M. L.; Díaz, M. J.; Fernandex, M. C.; Martínez, M. A. Toxicokinetics of deltamethrin and its 4'-HO-metabolite in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1996, 141, 8-16.
- [113] *Pesticide Residues in Food 2000 - Deltamethrin*; International Programme on Chemical Safety, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2001; pp 79-110.
- [114] Roberts, T.; Hutson, D. *Metabolic Pathways of Agrochemicals - Part 2: Insecticides and Fungicides*, 1st ed.; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 1999; pp 638-644.
- [115] Ruzo, L. O., Engel, J. L., & Casida, J. E. (1979). Decamethrin metabolites from oxidative, hydrolytic and conjugative reactions in mice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 27(4), 725-731.
- [116] [-SCASSELLATI, Brian M., ALEXOPOULOS, Sophoclis, et FLICKNER, Myron D. Retrieving images by 2D shape: a comparison of computation methods with human perceptual judgments. In : *Storage and Retrieval for image and Video Databases II*. International Society for Optics and Photonics, 1994. p. 2-14.
- [117] HE, Xi, TREACY, Maurice N., SIMMONS, Donna M., et al. Expression of a large family of POU-domain regulatory genes in mammalian brain development. *Nature*, 1989, vol. 340, no 6228, p. 35.
- [118] IARC, 1991. International Agency on Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Occupational exposures in insecticide application, and some pesticides. Lyons, IARC (53).
- [119] Notice of Filing of Pesticide Petitions. *Fed. Regist.* April 30, 1997, 62 (83), 23455-23460.
- [120] SMITH, P. B., TOMFOHRDE, K. M., RHODEN, D. L., et al. API system: a multitube micromethod for identification of Enterobacteriaceae. *Applied microbiology*, 1972, vol. 24, no 3, p. 449.

- [121] DEVENISH, J. A. et BARNUM, D. A. Evaluation of the API 20E system for the identification of gram-negative nonfermenters from animal origin. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1982, vol. 46, no 1, p. 80.
- [122] HOLMES, B., WILLCOX, W. R., et LAPAGE, S. P. Identification of Enterobacteriaceae by the API 20E system. *Journal of clinical pathology*, 1978, vol. 31, no 1, p. 22-30.
- [123] BERRAHMA, Rouchdi., 2015, Isolement et caractérisation de souches bactériennes dégradant le fénitrothion et le malathion à partir des boues activées. 69 p. PFE : Environnement : Alger, Ecole Nationale Polytechnique.
- [124] TAYLOR, Welton I. et ACHANZAR, David., 1972, Catalase test as an aid to the identification of Enterobacteriaceae. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 24, no 1, p. 58-61.
- [125] BioMérieux SA, Système d'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, Fiche technique des API 20 ETM, 69280 Marcy l'Etoile-France, réf 20 100/20 160.
- [126] CHEN, Shaohua, LAI, Kaiping, LI, Yanan, et al. , 2011, Biodegradation of deltamethrin and its hydrolysis product 3-phenoxybenzaldehyde by a newly isolated *Streptomyces aureus* strain HP-S-01. *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 90, no 4, p. 1471-1483.
- [127] KALWASIŃSKA, Agnieszka, KEŚY, Jacek, WILK, Iwona, et al., 2011, Neustonic versus epiphytic bacteria of eutrophic lake and their biodegradation ability on deltamethrin. *Biodegradation*, vol. 22, no 4, p. 699-707.
- [128] Daubras DL, Danganan CE, Hu'bnér A, Ye RW, Hendrickson W, Chakrabarty AM (1996) Biodegradation of 2, 4, 5- trichlorophenoxyacetoc acid by *Burkholderia cepacia* strain AC1100: evolutionary insight. *Gene* 179:1–16
- [129] Juhasz AL, Britz ML, Stanley GA (1997) Degradation of benzo(a)pyrene, dibenz(a, h)anthracene and coronene by *Burkholderia cepacia*. *Wat Sci Tech* 36:45–49
- [130] Bhushan B, Chauhan A, Samanta SK, Jain RK (2000) Kinetics of biodegradation of p-nitrophenol by different bacteria. *Biochem Biophys Res Commun* 274:626–632
- [131] Kim TJ, Lee EY, Kim YJ, Cho K-S, Ryu HW (2003) Degradation of polyaromatic hydrocarbons by *Burkholderia cepacia* 2A–12. *World J Microb Biotechnol* 19:411 419
- [132] Szewczyk U, Szewczyk R, Manz W, Schleifer KH (2000) Microbial safety of drinking water. *Annu Rev Microbiol* 54:81–127
- [133] Pemberton JM, Kidd SP, Schmidt R (1997) Secreted enzymes of *Aeromonas*. *FEMS Microbiol Lett* 152:1–9
- [134] Dilek FB, Anderson GK, Bloor J (1996) Investigation into the microbiology of the rate jet-loop activated sludge reactor treating brewery wastewater. *Wat Sci Tech* 43:107 121
- [135] Chen K-H, Wu J-Y, Liou D-J, Hwang SZ-CHJ (2003) Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. *J Biotechnol* 101:57–68
- [136] Maloney SE, Maule A, Smith ARW (1988) Microbial transformation of the pyrethroid insecticides: permethrin, deltamethrin, fastac, and fluvalinate. *Appl Environ Microbiol* 54:2874–2876
- [137] Lee S, Gan, Kim J-S, Kabashima JN, Crowley DE (2004) Microbial transformation of pyrethroid insecticides in aqueous and sediment phases. *Environ Toxicol Chem* 23: 1–6

- [138] Tellur PN, Megadi V B, Ninnekar HZ (2007) Biodegradation of cypermethrin by *Micrococcus* sp. strain CPN 1. Biodegradation. <http://www.springerlink.com/content/m071432200687520>.
- [139] ZHANG, Hao, ZHANG, Yamei, HOU, Zhiguang, et al. Biodegradation potential of deltamethrin by the *Bacillus cereus* strain Y1 in both culture and contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, vol. 106, p. 53-59.