

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE



Mémoire de fin d'études en vue d'obtention du diplôme de Master
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

**Isolement et identification de souches bactériennes
capables de dégrader un pesticide périmé (le malathion)**

Présenté par :
BERKOUD Moussa

Soutenu le 22 Octobre 2019 devant le jury composé de :

- **Président:** Mr, OUELHADJ A. MCA (UMMTO)
- **Promoteur:** Mr, TAZDAÏT D. MCA (UMMTO)
- **Examineur:** Mr, BOUACEM K. MCB (UMMTO)

Promotion 2018/2019

Dédicace

*Je dédie ce travail à mes très chers parents, qui
m'ont toujours soutenu*

Mes sœurs et mon frère et toute la famille

BERKOUD

*Aussi à tous ceux qui ont participé de près ou de
loin dans l'élaboration de ce travail*

Remerciements

Je voudrais dans un premier temps remercier, mon promoteur Djaber Tazdaït (maitre de conférences du département de biochimie et de microbiologie, de l'université mouloud mammeri), pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion, qu'il trouve ici ma profonde gratitude.

J'aimerai souligner ma reconnaissance et ma gratitude envers Mr Akli Oulhadj (maitre de conférences du département de biochimie et de microbiologie de l'université mouloud mammeri) qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de mon mémoire. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance et de vifs remerciements.

J'exprime également mes sincères remerciements à Mr Khelifa Bouacem (maitre de conférences du département de biochimie et de microbiologie de l'université mouloud mammeri) pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de juger mon travail et d'être examinateur, qu'il trouve ici toutes les expressions de mon respect.

Résumé

Le malathion est l'un des pesticides les plus utilisés au monde, et plus particulièrement dans le domaine agricole, et cela en raison de son action perturbatrice efficace sur le système nerveux des insectes et des acariens. Cette molécule est connue sur son effet indésirable qu'elle peut induire sur l'environnement, et aussi pour sa toxicité sur plusieurs organismes vivants y compris l'homme. La péremption du malathion peut se traduire par des modifications physicochimiques que cette molécule a subi au point qu'elle ne peut plus être utilisée. La suraccumulation de ces déchets pose un véritable problème d'où l'importance de leur traitement. La biodégradation par les microorganismes est l'une des méthodes de traitement des déchets les plus soutenues, et ce, en raison de sa simplicité d'application et à son efficacité. L'objectif du présent travail est d'isoler et d'identifier des microorganismes capables de dégrader du malathion périmé à partir de boues activées. On est ainsi parvenu à isoler deux souches bactériennes capables d'utiliser le malathion comme unique source de soufre, et ensuite à les identifier par galeries API. La première appartenant à l'espèce *Chryseobacterium indologenes* identifié avec une probabilité de 94,9%, et la seconde affiliée à l'espèce *Staphylococcus sciuri* avec une probabilité de 90,8%. Ceci suggère que les deux souches isolées possèdent les enzymes nécessaires pour libérer l'atome de soufre de la molécule du malathion.

Mots clés : Biodégradation, Boues activées, *Chryseobacterium indologenes*, Malathion périmé, *Staphylococcus sciuri*.

Abstract

Malathion is one of the most widely used pesticide in the world, especially in agriculture, because of its effective disruptive action on the nervous system of insects and mites. This molecule is known for its undesirable effect on the environment, and also for its toxicity on several living organisms including humans. The expiry of malathion is due to physicochemical changes that affect the molecule to the point that it can no longer be used. The overaccumulation of this waste is a real problem, hence the importance of their treatment. Biodegradation by microorganisms is one of the most supported waste treatment method due to its simplicity of application and its effectiveness. The aim of this work was to isolate and identify microorganisms capable of degrading expired malathion from activated sludge. Thus, two bacterial strains were isolated as capable of using malathion as their unique source of sulfur, and were identified by API galleries. The first strain was found belonging to the species *Chryseobacterium indologenes* identified with a probability of 94.9%, and the second strain was affiliated with the species *Staphylococcus sciuri* with a probability of 90, 8%. These results suggest that the two isolated strains possess the necessary enzymes to release the sulfur atom from the expired molecule.

Key words: Activated sludge, Biodegradation, *Chryseobacterium indologenes*, Obsolete malathion, *Staphylococcus sciuri*.

Liste des Figures

Figure 1. Structure chimique du malathion	6
Figure 2. Mécanisme d'action toxique des OPs et carbamates principal.....	8
Figure 3. Différents modes de dispersion des pesticides dans l'environnement ¹ (d'après le Conseil Général des Pyrénées-Orientales)	9
Figure 4. Image du bassin d'aération de la station d'épuration des eaux usées de Tizi Ouzou.	18
Figure 05. Résultats de la coloration de Gram pour les deux souches (MS 2) et (MS 1)	30
Figure 06. Résultats du test de la catalase pour les deux souches isolée.	31
Figure 07. Test de l'oxydase	31

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques physicochimique du malathion (Tomlin, (1997) ; Hansch <i>et al.</i> , 1995 ; Palumbo <i>et al.</i> , 2012)	6
Tableau 2. Résultats obtenus sur les différents milieux sélectifs	29
Tableau 3. Morphologies des souches bactériennes obtenues.	29
Tableau 4. Caractères biochimiques de la bactérie MS 2 obtenus avec la galerie API 20 NE.	32
Tableau 5. Caractères biochimiques de la bactérie MS 1 obtenus avec la galerie Api 20 Staph	33
Tableau 6. Résultats d'identification des souches isolées	34

Liste des abréviations

AChE : acétyle choline estérase

OPs : Organophosphorés

FAO : Food and agriculture organisation of the united nations (l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)

DDT : dichlorodiphényltrichloéthane

HCH : hexachlorocyclohexane

API : Analytical profile index

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste abréviations

Introduction.....1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les pesticides 4

1. Définition des pesticides 4

2. Classification des pesticides 4

2.1. Classification selon les organismes vivants visés..... 4

2.2. Classification selon la structure chimique de la substance active 5

II. Présentation du pesticide étudié (Le malathion)..... 6

1. Définition 6

2. Caractéristiques physicochimiques du malathion 6

3. Utilisation 7

4. Mécanisme d'action 7

III. Devenir des pesticides dans l'environnement 9

IV. Effets toxiques du malathion 12

1. Sur l'environnement..... 12

2. Sur la santé humaine 12

V. L'état périmé du malathion..... 13

VI. Technique d'élimination du malathion périmé..... 14

VII. Les mécanismes de biodégradation 14

VIII. Les microorganismes impliqués dans la dégradation du malathion .. 15

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes 18

1. Matériel biologique..... 18

2. Matériel non biologique..... 19

II. Procédures d'adaptation des boues activées au malathion..... 19

III. Procédure de sélection.....19

2. Sélection des souches utilisant le malathion comme seule source de carbone.....19

2. Sélection des souches utilisant le malathion comme seule source de phosphore.20

Table des matières

3. Sélection des souches utilisant le malathion comme seule source de soufre.....	20
IV. Isolement et identification des microorganismes.....	20
1. Isolement.....	20
2. Identification.....	21
2.1. Coloration de Gram.....	23
2.2. Recherche de la catalase.....	24
2.3. Recherche de l'oxydase.....	25
2.4. Les méthodes d'identification par les galeries API.....	25
2.4.1. La méthode d'identification par la galerie API 20 NE.....	25
2.4.2. La méthode d'identification par la galerie Api 20 Staph.....	27
Chapitre III : Résultats et discussion	
I. Résultats.....	29
1. Résultats de l'ensemencement sur les différents milieux sélectifs.....	29
2. Isolement et identification des souches bactériennes obtenues à partir des différents milieux sélectifs.....	29
2.1. La morphologie des colonies obtenues.....	30
2.2. Etude biochimique.....	30
2.3. Tests d'identification par les galeries API 20 NE et Api 20 Staph.....	32
II. Discussion	34
Conclusion et perspectives	38
Références bibliographiques	39

Introduction

Actuellement notre environnement est de plus en plus pollué suite à des activités et des applications industrielles intensives dues à l'homme, et cela conduit inéluctablement à une production très importante de molécules toxiques et de divers polluants (produits phytosanitaire, médicaments, et autres xénobiotiques). Parmi eux, les pesticides qui sont des produits destinés à lutter contre les ravageurs ou parasites jugés indésirables pour les cultures agricoles. Par conséquent, ces produits lorsqu'ils sont appliqués, leurs dispersions et leurs diffusions dans la nature conduit à la pollution de différents compartiments environnementaux, donc à la perturbation de différents écosystèmes terrestres et aquatiques. En effet, plusieurs de ces produits causent de véritables effets indésirables et toxiques sur l'environnement mais aussi sur la santé humaine (Hill *et al.*, 1971 ; Sanborn *et al.*, 2007 ; Capkin *et al.*, 2006).

Etant donné qu'une grande partie des différents problèmes environnementaux est liée à l'emploi des pesticides, le recours à des applications et à des procédés techniques d'élimination de ces derniers est une nécessité absolue (Nait atmane, 2011).

Le traitement des pesticides par des techniques physiques (nanofiltration, adsorption sur charbon actif en poudre ou en grain, *etc.*) ou chimiques (ozonation, hydrolyse, photodégradation, *etc.*) ont fait l'objet de nombreuses études. L'incinération à haute température est l'une des technologies les plus utilisées pour l'élimination des stocks de pesticides périmés, mais ces techniques sont très onéreuses et qui ont un impact environnemental très important. Une autre alternative qui offre un bon traitement de ces produits toxiques d'une façon très simple et à un moindre coup, est le traitement biologique (Loqman, 2009). Ce type de traitement consiste en l'utilisation du matériel biologique (plantes et microorganismes en générale) dans le but de traiter divers polluants y compris les pesticides. Dans ce procédé, les pesticides sont utilisés comme source nutritive et d'énergie par les organismes vivants. Les réactions de dégradation de ces substances par les microorganismes peuvent se dérouler à l'intérieur et/ou à l'extérieur (Calvet *et al.*, 2005). L'élimination des pesticides périmés par voie biologique à grande échelle n'est pas tout à fait au point, car la maîtrise des processus biologiques là sous-tendant est un préalable à sa mise en œuvre.

La biodégradation par les microorganismes est aujourd'hui l'une des techniques les plus appréciées, du fait de sa simplicité d'utilisation et de son importance dans la bioremédiation.

Ce procédé peut aussi être appliqué dans un avenir très proche, dans l'élimination de stocks périmés de pesticides dont les quantités sont en augmentation constante partout dans le monde.

Le malathion est un pesticide qui est largement utilisé dans le monde notamment en Algérie, ses stocks périmés sont en augmentation permanente aussi bien en Algérie qu'ailleurs dans le monde. Selon les estimations déclarées par la FAO en 2002, plus de 500 000 tonnes de pesticides périmés éparpillés dans le monde, et de 50 000 tonnes de ces stocks seulement sur le continent africain. L'objectif de ce travail s'inscrit dans une optique visant à isoler et d'identifier des souches bactériennes contenus dans les boues activées, prélevée à partir de la station d'épuration de Tizi Ouzou, capables de biodégrader et d'utiliser le malathion périmé comme élément nutritif.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les pesticides

1. Définition des pesticides

Le terme pesticide dérive d'un mot anglais « **Pest** » qui désigne tout organisme vivant jugé comme nuisible à l'homme ou à son environnement et de « **cide** », du latin *caeder* signifiant abattre, frapper, tuer (Gatignol et Etienne, 2010).

Les pesticides désignent toutes les substances naturelles ou de synthèses capables de contrôler, de détruire ou de s'opposer au développement des organismes vivant (microbes, animaux ou végétaux) considérés comme indésirables pour l'agriculture, l'hygiène publique, la santé publique ou vecteurs de maladies telles que le paludisme et les bactéries pathogènes de l'eau détruites par la chloration, la santé vétérinaire, ou les surfaces non-agricoles (routes, aéroports, voies ferrées, réseaux électriques...). Le terme « pesticide » couvre un champ plus vaste et général que les expressions « produit phytosanitaire » ou « produit phytopharmaceutique » (Aubertot *et al.*, 2005 ; ORP, 2014).

2. Classification des pesticides

Généralement, les pesticides sont classés selon deux systèmes de classification, soit en fonction des organismes vivants visés, soit en fonction de la structure chimique de la substance active qui les composent.

2.1. Classification selon les organismes vivants visés

Ce premier système repose sur le type de l'organisme à contrôler. Il existe principalement trois grandes catégories de pesticides selon la nature des cibles visés : les herbicides, les fongicides, les insecticides (Merabet *et al.*, 2006).

- Les herbicides : sont les plus utilisés dans le monde en tonnage et en surface, ils sont destinés à éliminer les mauvaises herbes des cultures.
- Les fongicides : permettant quant à eux de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons pathogènes (Margoum, 2010).
- Les insecticides : ce sont les premiers pesticides utilisés dans le monde, et les plus utilisés en Algérie. Ils sont destinés à détruire les insectes nuisibles.

Outre, ces trois grandes familles de pesticides citées ci-dessus, il existe d'autres catégories telles que :

- Les taupicides contre les taupes
- Les acaricides contre les acariens
- Les rodenticides contre les rongeurs
- Les nématicides contre les nématodes et les vers
- Les molluscicides contre les mollusques, limaces et escargots
- Les corvicides contre les corbeaux et tous les oiseaux ravageurs de cultures.

2.2. *Classification selon la structure chimique de la substance active*

Dans cette deuxième classification on distingue :

- Les organochlorés :

Il existe plusieurs produits qui appartiennent à ce groupe de pesticides tels que : Le dichlodiphényltrichloroéthane (DDT), le lindane (HCH), le chlordane, etc. (Liliana, 2007).

- Les organophosphorés :

Ce sont des esters, des amides ou des dérivés thiols des acides phosphoriques, phosphonique, phosphorothioïque ou phosphonothioïque qui possèdent une structure chimique générale assez similaire (Temple et Smith, 1996). Les organophosphorés (OP) sont des insecticides qui agissent sur le système nerveux. Ils inhibent la synthèse de l'acétylcholinestérase (AChE), cette enzyme sera inactive c'est ce qui va empêcher la transmission de l'influx nerveux et enfin la mort de l'insecte (Floesser, 2001).

Outre que la forte capacité insecticide, les organophosphorés présente une toxicité aigüe considérée modérée chez les mammifères et une stabilité relativement faible dans l'environnement (par rapport aux organochlorés). En fait les OP est la principale classe d'insecticides utilisés dans le monde, et encore actuellement (Costa, 2006). Cette famille inclut plusieurs types de molécules, parmi elle on peut citer (le malathion, le parathion, le fenitrothion, le clorpyrifos, etc.).

- Les carbamates : Ce sont des esters d'acides carbamiques (carbaryl, propoxur, etc.)
- Les pyréthriinoïdes : Sont des esters de l'acide cyclopropane-carboxylique, on peut citer par exemple (Alphaméthrine, Acrinathrine, Bifenthrine, etc.)
- Les triazines : (atrazine, propazine, simazine, etc.) ;
- Les Urées substituées (Merabet et *al.*, 2008 ; Testud et Grillet, 2007).

Masse molaire (g/mole)	330,358 *
Couleur	Liquide incolore
Odeur	Caractéristique, désagréable
Densité	1,23 Kg/l à 20 °C
Stabilité	Reste stable pendant 3 ans conservé dans son emballage d'origine dans des conditions normales de température et d'humidité
Point d'ébullition	> 156 °C
Pression de vapeur	53 mPa (30°C)
Solubilité dans les solvants	Très solubles dans les solvants organiques
Solubilité dans l'acétone	> 99.5 % (matières insolubles < 0.5%)
Solubilité dans l'eau	145 mg / L
Coefficient de partage	2.36 (20 °C)

3. Utilisation

Le malathion est un pesticide qui est largement utilisé dans le monde, employé comme insecticide en agriculture et en usage vétérinaire (Flessel *et al.*, 1993), ainsi il est utilisé aussi pour contrôler les pucerons, les mouches, les sauterelles, les poux, les fourmis, les araignées et les moustiques. Il est appliqué sur la luzerne, le trèfle, les pâturages, les récoltes céréalières, le coton, le soja, les betteraves à sucre, le maïs, les haricots, les myrtilles et les grains stockés à l'intérieur des maisons (Roberts, 2002). Le malathion est utilisé également pour le traitement des pédiculoses du cuir chevelu de l'adulte et de l'enfant (Testud et Grillet, 2007).

4. Mécanisme d'action

Le malathion est un insecticide neurotoxique non systémique qui agit par contact, ingestion et inhalation sur de nombreux insectes piqueurs et suceurs ravageurs des cultures et d'autres organismes. Il est l'inhibiteur de l'acétylcholinestérase (Jones et English, 2003).

L'Acétylcholinestérase est une enzyme nécessaire au fonctionnement des synapses du système nerveux central et de la jonction neuromusculaire.

Cette enzyme a pour but d'hydrolyser l'acétylcholine libre dans la fente synaptique, en acétate et choline. Et cela pour mettre à nouveau l'activation des récepteurs cholinergiques (Milan *et al.*, 2006).

L'inhibition de l'AChE provoque une accumulation de l'acétylcholine dans la fente synaptique induisant ainsi une hyperstimulation des récepteurs cholinergiques (Figure 2), donc à la perturbation du système nerveux et ou au non fonctionnement des synapses pouvant mener à l'apparition de divers troubles nerveux et aussi à la mort de l'individu (Lotti, 1995).

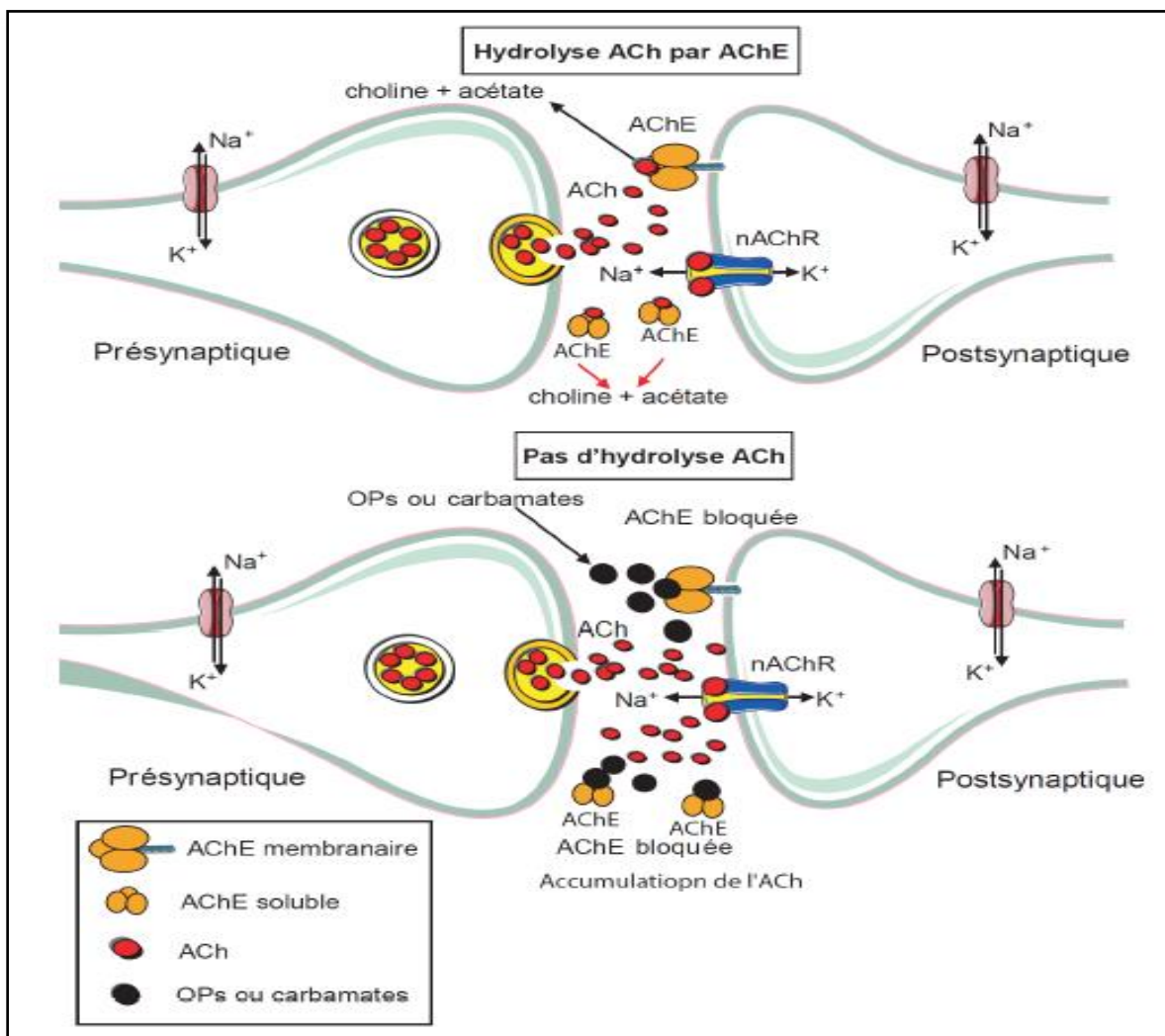


Figure 2. Mécanisme d'action toxique principal des OPs et carbamates, est de bloquer la dégradation de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques par inhibition de l'AChE en forme membranaire et soluble (Aly Ahmed, 2011).

III. Devenir des pesticides dans l'environnement

Les pesticides sont destinés à être épanchés sur les champs agricoles par les agriculteurs pour assurer un rendement et une bonne production de leurs cultures, par conséquent il y'a qu'un petit pourcentage de ces pesticides qui va atteindre la cible visée, tandis que la majorité de ces toxiques vont être dispersés dans l'environnement, le devenir et le comportement incontrôlable de ces derniers va conditionner leurs persistance et leurs diffusion vers d'autres compartiments de l'environnement (Hélène Blanchoud, 2011). (Figure 3).

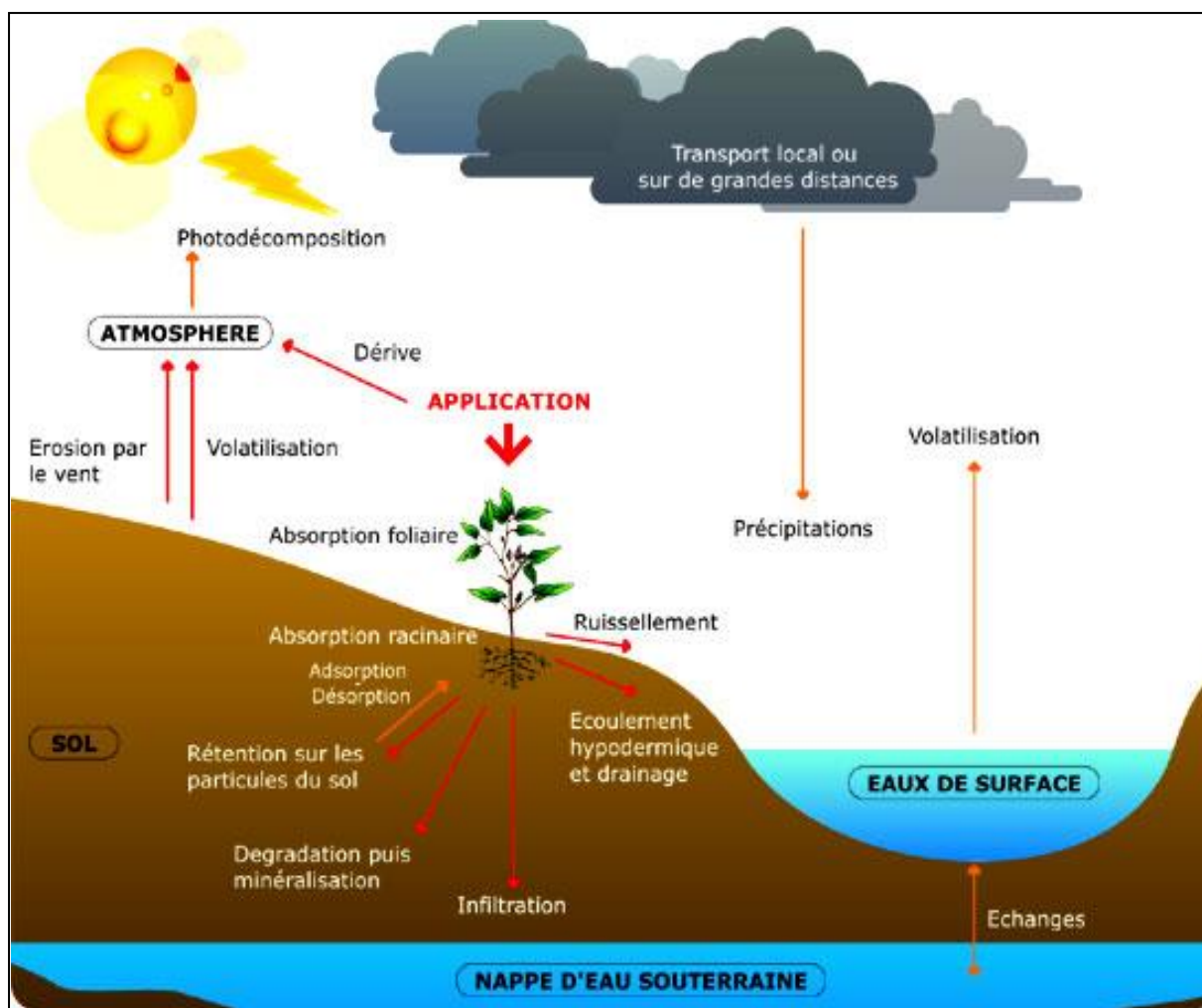


Figure 3. Différents modes de dispersion des pesticides dans l'environnement ¹(d'après le Conseil Général des Pyrénées-Orientales)

Parmi les principaux phénomènes qui concourent au devenir des pesticides dans l'environnement on citera :

- La dissipation : (Robert *et al.*, 1985 ; Bariusso *et al.*, 1996 ; Gril *et al.*, 1998) :

La dissipation est un phénomène qui permet la dispersion ou la disparition et la détermination de la durée de persistance d'un pesticide appliqué sur une partie du milieu environnemental.

Il y a trois types principaux de dissipation : dissipation par dispersion, dissipation par formation de résidus non extractibles, dissipation et prélèvement par les plantes (Spark et Swift, 2002).

- ✓ Dissipation par dispersion :

Les différents processus par lequel un pesticide est susceptible d'être soumis à la dispersion sont : la volatilisation, le lessivage et le ruissèlement.

La volatilisation est le processus par lequel une substance s'évapore vers l'atmosphère. Harris et Liechtenstein (1961) ont étudiés le phénomène de volatilisation, et ils n'ont trouvé aucune preuve de volatilisation du malathion à partir du sable de quartz sec traité à 4 ppm.

Le lessivage est le phénomène de transfert des solutés par l'eau en profondeur jusqu'aux nappes d'eaux souterraines tandis que le ruissèlement concerne le transfert vers les eaux de surfaces (Jokanovic, 2009).

- ✓ Dissipation par formation de résidus non extractibles :

Elle correspond aux liaisons stables formés entre les résidus et les constituants du sol et qui sont devenus des résidus liés ou résidus non extractibles (Regnault-Roger *et al.*, 2005).

- ✓ Dissipation et prélèvement par les plantes :

Le prélèvement par la plante est conditionné par la disponibilité des résidus, l'accessibilité, la solubilité dans l'eau et les constituants lipidiques racinaires et par les paramètres qui définissent l'activité biologique de la plante (capacité d'absorption, température et humidité) (Regnault-Roger *et al.*, 2005).

- La rétention dans le sol :

Le principal phénomène essentiel à la rétention des pesticides dans les sols est l'adsorption, qui est le passage d'un soluté de la phase aqueuse à la surface d'un adsorbant solide (les particules des sols) (Calvet, 1989).

Ce mécanisme d'adsorption entre le pesticide et les différents constituants du sol peut se faire par : les liaisons d'hydrogène, les échanges ioniques, les interactions avec des cations métalliques, les interactions polaires, le transfert de charge (Calvet *et al.*, 2005). Le processus inverse de l'adsorption est la désorption (Mamy et Barriuso, 2007).

- La dégradation biotique et abiotique :

La dégradation biotique correspond à l'activité enzymatique des micro-organismes du sol tels que les bactéries, les champignons et les algues, et qui permettent la décomposition des matières organique. Ce processus est accéléré grâce aux différentes conditions notamment la bonne aération du sol, la teneur élevée en matière organique et aussi l'humidité (Bérard et Pelte, 1999).

Deux phénomènes principaux sont envisageables lors de la dégradation biotique : dans le premier cas, le pesticide est dégradé en produits inorganiques (CO₂, H₂O, Cl⁻, etc.), cette dégradation s'appelle la minéralisation. Dans le deuxième cas, le pesticide est partiellement dégradé en molécules organiques (Fdil *et al.*, 2003), c'est la biotransformation.

La dégradation abiotique concerne les réactions physicochimiques qui se développe dans la solution du sol ou sur la surface des colloïdes. Il existe deux réactions fondamentales qui concourent à la décomposition des pesticides, l'une elle s'effectue sur le sol sous l'effet des rayons solaires (réactions photochimique) et l'autre dans l'eau par des réactions d'hydrolyse. Ce type de dégradation dépend aussi de plusieurs facteurs, notamment le PH, la température et la lumière (Cook, 1955 ; Muhlman et Schrader, 1957 ; Cook et Ottes, 1959 ; Ruzicka *et al.*, 1967). La dégradation abiotique contribue à la suppression du pouvoir biocide spécifique de la matière active et la génération de nouvelles molécules dans l'environnement (Scheunert, 1992 ; Arias-Esévez *et al.*, 2008).

IV. Effets toxiques du malathion

1. Sur l'environnement

La majeure partie des pesticides appliqués sur les champs agricoles atteint une destination autre que leurs espèces cibles (George, 2004). Les phénomènes naturels et les habitudes agricoles peuvent conduire à une répartition importante de ces toxiques dans l'environnement, ce qui facilite leurs influences sur les différents écosystèmes terrestres et aquatiques.

Dans la littérature scientifique, il a été décrit que ces produits phytopharmaceutiques notamment le malathion, causent des effets indésirables ou parfois mortels pour certains êtres vivants, dont on peut citer ceux qui sont bénéfiques pour de nombreuses fonctions écologiques comme les pollinisateurs telle que les abeilles (Lieberman *et al.*, 1954 ; Hill *et al.*, 1971), certains auteurs comme Wood en 1953 a signalé que le malathion à une concentration de 5 ppm (trop élevée dans les situations d'utilisation réelle) était mortel pour plusieurs espèces de poissons notamment les poules truites arc-en-ciel, la perche jaune, la branchie bleue et le poisson-soleil.

Ainsi, des études sur les effets du malathion sur les communautés microbiennes du sol (les bactéries, les champignons) ont été aussi décrites (Swaminathan and Sullia, 1969 ; Hall et Dunn, 1959). En effet, l'affection de ces derniers peut conduire à la perturbation de la biodiversité des écosystèmes, donc à la diminution de la fertilisation des sols, la biodisponibilité des nutriments, et au déséquilibre écologique aquatique et terrestre.

De nombreuses études sont effectuées dans ce sens, notamment sur les amphibiens, les plantes, les mammifères (Haviland et Highland, 1955 ; Hayes, 1963 ; Sanders, 1970), ainsi que sur d'autres organismes vivants.

2. Sur la santé humaine

Des résultats choquants ont été révélés après de nombreuses études scientifiques qui sont effectuées sur des sujets ayant subi une exposition élevée aux pesticides. Ils ont trouvé beaucoup de maladies liées à ces toxiques, notamment des problèmes neurologiques, des malformations congénitales, de la mort fœtale et des troubles du développement neurologique (Sanborn *et al.*, 2007 ; Jurewicz et Hanke, 2008).

L'apparition des maladies chroniques telles que les différents types de cancers (cerveau, poumons, foie, estomac, etc.), peuvent être aussi à l'origine de l'exposition aléatoire et intensive des gens aux pesticides. Cette exposition aux pesticides peut conduire aussi à une affection du système de la reproduction, et également causer des troubles neurodégénératifs comme la maladie de Parkinson (Capkin *et al.*, 2006 ; Van den Brink *et al.*, 2000).

D'autres études ont montré qu'une exposition aiguë, subchronique ou chronique au malathion, fait apparaître des altérations métaboliques dont la plus fréquente est l'hyperglycémie. Cet état joue un rôle clé dans le développement de maladies chroniques telles que le diabète sucré de type 2, les accidents vasculaires cérébraux et les maladies cardiovasculaires (Levitan *et al.*, 2004 ; Barclay *et al.*, 2008 ; Stead *et al.*, 2009).

V. L'état périmé du malathion

On appelle un pesticide périmé, un produit stocké qui ne peut plus être utilisé ni comme initialement prévu, ni autrement et doit donc être éliminé. Cet état de péremption peut être dû par plusieurs causes, par exemple :

- L'entreposage prolongé ou effectué dans de mauvaises conditions ;
- Il a subi des modifications chimiques et/ou physiques productrices d'effets phytotoxiques sur la culture visée, ou créant un danger inacceptable pour la santé humaine ou l'environnement ;
- Le produit a subi une perte inacceptable d'efficacité biologique du fait de la dégradation de sa matière active et/ou d'autres modifications chimiques ou physiques ;
- Ses propriétés physiques sont altérées à tel point qu'il ne peut plus être appliqué avec le matériel standard ou stipulé d'application.

La détérioration du malathion peut générer de nouvelles molécules d'une toxicité très élevée, dont les plus principales sont :

Le malaaxon qui est le produit d'une désulfuration oxydative du malathion ($P = S$ à $P = O$), et qui est 60 fois plus toxique que la molécule mère (Mir *et al.*, 1981). Une autre molécule toxique que l'originale est l'isomalathion. Cette dernière est le résultat d'une isomérisation thermique de la liaison phosphorothionate ($RO-P = S$) en phosphorothiolate (liaison $RS-P = O$) de la molécule mère (Metcalf et March, 1953 ; Rengasamy et Parmar, 1988).

VI. Technique d'élimination du malathion périmé

Selon la FAO (Organisation des Nations Unis pour l'alimentation et l'agriculture, 1996), la méthode la plus utilisée pour se débarrasser de pesticides périmés est la destruction par incinération à haute température. Les pays en développement ne disposent en général pas d'installations d'incinération à haute température pour les déchets dangereux, alors l'expédition de ces produits périmés vers les pays ayant les installations spéciales devient nécessaire.

Les coûts de reconditionnement, d'expédition et d'incinération sont élevés et les procédures administratives à suivre conformément aux conventions internationales concernant l'expédition de déchets dangereux peuvent être longues et complexes. Ce procédé d'élimination pose également des problèmes car il émet des émissions toxiques et des cendres dangereuses lors du traitement.

Par contre, plusieurs auteurs ont déjà décrit des méthodes et des techniques qui permettront la décontamination et/ou la réduction de la pollution des sites atteints par ces pesticides périmés. Ces technologies peuvent être scindées en deux catégories : celles permettant un traitement *in situ* et *ex situ* (Omar Ben Khatab, 2010), on peut citer l'exemple de la bioaugmentation *in situ*, le lavage des sols *ex situ*, la phytoremediation, l'épandage contrôlé, La désorption thermique à haute température, oxydation chimique, *etc.*

VII. Les mécanismes de biodégradation

La biodégradation des pesticides dans le sol et dans les eaux, est réalisée par la microflore présente dans ces milieux et qui est capable d'interagir, à la fois chimiquement et physiquement, avec des substances conduisant à des changements structurels ou à la dégradation complète de la molécule cible. Cette dégradation est assurée principalement par des systèmes enzymatiques. Les réactions de dégradation des pesticides peuvent se dérouler à l'intérieur et/ou à l'extérieur des microorganismes (Calvet *et al.*, 2005). Généralement les réactions chimiques qui rentrent dans le mécanisme de la biodégradation des pesticides sont catalysées par des enzymes intracellulaires. Les principales réactions sont la réaction d'hydrolyse, la réaction d'oxydation et la réaction de réduction (Tazdaït, 2014). Il existe également des enzymes extracellulaires produites par des champignons et des bactéries, et peuvent être impliqués dans le mécanisme de dégradation des pesticides, on cite l'exemple des ligninases ou les peroxydases qui sont produites par le champignon de la pourriture

blanche (*Phanerochaete chrysosporium*) sous certaines conditions, notamment en milieu aéré (Turgeon *et al.*, 2008).

Trois mécanismes d'action considérés comme étant directement à l'origine de la dégradation microbienne des pesticides : ce sont le métabolisme direct, le Cométabolisme et la conjugaison.

➤ Le métabolisme direct :

Consiste en une utilisation des pesticides comme source d'énergie par les microorganismes. En effet, ils ont besoin d'éléments nutritifs (C, N, P, S, éléments traces) d'eau et d'énergie pour croître et maintenir leur activité. Certaines bactéries, sont capables d'assurer la minéralisation complète des molécules de pesticide (Calvet *et al.*, 2005).

➤ Le Co-métabolisme :

La dégradation complète des pesticides et la production de métabolites par ce processus requiert la participation de plusieurs souches. Les métabolites formés ont des propriétés différentes de celles du pesticide initial, en particulier celles relatives à leur transport et leur toxicité. Ils sont souvent plus polaires et donc plus solubles dans l'eau et parfois plus toxiques (Calvet *et al.*, 2005).

➤ La conjugaison :

Est un processus au cours duquel des pesticides interagissent entre eux ou avec d'autres molécules présentes dans la solution du sol, les réactions chimiques étant catalysées par des enzymes exocellulaires (Calvet *et al.*, 2005). Elle conduit à l'union de deux molécules par méthylation ou par acétylation. Lorsque la conjugaison réunit plus de deux molécules on parle de condensation.

VIII. Les microorganismes impliqués dans la dégradation du malathion

La dégradation par les micro-organismes est l'une des principales raisons de la courte durée de vie de la plupart des insecticides OP dans les sols et les eaux. A titre d'exemple, la persistance du malathion dans le sol limoneux de Carrington s'est avérée qu'elle est conditionnée par la dégradation de ce composé par les bactéries et les levures du sol (Lichtenstein et Schulz, 1964). Le fait que ce composé soient décomposés par les micro-organismes présents dans le sol et dans l'eau (Conte et Parker 1971, Guerrant *et al.* 1970, Eichelberger et Lichtenberg 1971 ; Tagatz *et al.* 1974 ; Yasuno *et al.* 1965) est corroboré par

des preuves selon lesquelles le malathion est utilisé par certains organismes comme source de phosphore et de carbone (Walker et Stojanovic, 1974). Parmi ces microorganismes on peut citer quelques exemples de bactéries, de champignons et aussi de microalgues.

Plusieurs études par lots ont été rapportées sur la biodégradation du malathion à l'aide des souches bactériennes tels que *Acinetobacter johnsonii*, *Lysinibacillus*, *Pseudomonas sp.*, des souches qui sont isolées à partir des sols contaminés et boues de sites agricoles et industriels (Geed *et al.*, 2016; Adhikari *et al.*, 2010; Sujatha *et al.*, 1999). Zeinat *et al.* (2008) ont montré la capacité de *Bacillus thuringiensis* à dégrader le malathion dans des milieux minimum salins. L'ajout de glucose et de l'extrait de levure, a eu comme effet de favoriser la croissance de cette bactérie conduisant à un taux de dégradation du malathion dépassant les 99%, et ce, au bout de 30 jours seulement.

De nombreuses enzymes (*Fusarium oxy* POR, Mf. Sp. Piscutinase et glutathion réductase) ont été obtenues à partir d'espèces fongiques se sont également révélées utiles pour dégrader le malathion. (Kim *et al.*, 2005). La dégradation du malathion par la cutinase fongique et l'estérase de levure en MMA (malathion monoacide) et MDA (malathion diacide) a été également rapportée (Kim *et al.*, 2005).

En outre, d'autres auteurs ont aussi décrit les capacités que possèdent les microalgues pour métaboliser les pesticides organophosphorés (Megharaj *et al.*, 1994), on peut citer l'exemple de *Chlorella sorokiniana* UUIND6 qui peut tolérer un maximum de concentration du malathion de 100 ppm (Nanda *et al.*, 2019). Le malathion semble assez instable en milieu aquatique lorsqu'il est ajouté à la culture de l'algue *Gonium pectorale* à 1 ppm, environ 56% de la dose appliquée était métabolisée par l'algue en 4 jours (Moore and Dorward, 1968), les microalgues tels que *Spirulina platensis* et quelques cyanobactéries comme *Anabaena oryzae* et *Nostoc muscorum* ont été aussi décrites comme de bons candidats capables de dégrader le malathion (ibrahim *et al.*, 2014).

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans le cadre de ce travail a consisté en des boues activées provenant de la station d'épuration de la ville de Tizi Ouzou. Elle est située sur la rive gauche d'Oued Sebaou à 200 m en amont du Pont de Bougie sur le chemin de Wilaya n° 124 reliant Tizi-Ouzou à Béjaia. La STEP est donc implantée à la sortie Est de la ville de Tizi-Ouzou, en dehors du tissu urbain. D'une superficie de 35591 m² dont 14714 m² bâtis. Elle est conçue pour 120000 habitants.



Figure 4. Image du bassin d'aération de la station d'épuration des eaux usées de Tizi Ouzou.

Les boues activées ont été prélevées à partir de l'un des trois bassins d'aération de la station d'épuration d'un volume de 3250m³, équipé de 3 turbines d'aération d'une puissance de 45Kw qui assurent l'oxygénation et le brassage de la liqueur mixte (Figure 4). Ce travail à été effectué dans deux laboratoires différents (laboratoire d'analyse Zerrar Ammar, et le laboratoire de microbiologie de l'hôpital universitaire de Tizi Ouzou).

2. Matériel non biologique

Le pesticide qui fait l'objet de la présente étude est le malathion périmé, il nous a été gracieusement fourni par l'Algérienne des Phytosanitaires (Alphyt Spa) de Baraki, Alger.

II. Procédures d'adaptation des boues activées au malathion

Cette étape est nécessaire puisqu'elle consiste à faire l'adaptation des microorganismes à leur nouvel environnement (c'est-à-dire en présence du malathion), et cela pour leurs permettre de synthétiser ou de réactiver les enzymes nécessaires à la dégradation du pesticide. Dans ce processus les boues activées sont cultivées sur un milieu minéral contenant deux sources de carbone (glucose et le malathion). 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 ; Urée : 3g ; $Zn SO_4$: 0,01g ; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,05g ; $MnSO_4 \cdot H_2O$: 0,008g ; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$: 0,004 g ; $Co (NO_3)_2$: 0,0026g et le glucose : 3g. Le milieu minéral ainsi constitué est stérilisé par autoclavage à 121°C pendant 20 min. L'acclimatation a été menée dans un Erlenmeyer de 250 ml (en présence du malathion) dans lequel été introduits 5% (v/v) de boue activée (soit 12,5 ml), 10 mg de pesticide (dilué dans 2 ml d'éthanol pure), et le reste du volume avec le milieu de culture.

L'Erlenmeyer a été incubé dans un agitateur-incubateur orbital (IKAMAG[®]RET, JANKE & KUNKELIKA[®]-Labortechnik, Allemagne, 1981) à une température de 30°C et avec une vitesse d'agitation de 115 tr/min pendant 4 jours.

III. Procédure de sélection

Pour pouvoir isoler les souches microbiennes capables de métaboliser le pesticide testé, la préparation de différents milieux est nécessaire, permettant la sélection de souches microbiennes susceptibles d'utiliser le malathion comme unique source de carbone, unique source de phosphore ou comme unique source de soufre. Pour se faire, trois milieux de culture différents ont été préparés :

1. Sélection des souches utilisant le malathion comme seule source de carbone

Dans cet essai les microorganismes (boues activées) ont été cultivés sur le milieu minéral cité précédemment contenant deux sources de carbone (glucose et malathion). La concentration du glucose a été réduite progressivement de 3000 mg/L jusqu'à la valeur de

zéro parallèlement à l'augmentation progressive de la concentration du malathion (de 400 mg/L jusqu'à 2000 mg/L).

2. Sélection des souches utilisant le malathion comme seule source de phosphore

Dans cet essai le malathion a été substitué progressivement aux deux sources de phosphore du milieu minéral utilisé que sont le KH_2PO_4 et le K_2HPO_4 . Les concentrations du KH_2PO_4 , K_2HPO_4 ont été réduites progressivement de 400mg/L et 800mg/L jusqu'à la valeur de 0 et ont été remplacés par une quantité équimolaire de KCl (de 780 mg/L jusqu'à 1570 mg/L). La concentration du malathion est passée de 320 mg/L à 600 mg/L.

3. Sélection des souches utilisant le malathion comme seule source de soufre

Dans ce cas le malathion a été substitué progressivement à la source du soufre du milieu minéral utilisé qui est le MgSO_4 , la concentration de MgSO_4 a été réduite progressivement de 272 mg jusqu'à 0 mg, et a été remplacé par une quantité équimolaire de Mg Cl_2 . L'ensemble des essais ont été incubés à une température de 30 °C à une vitesse de 115 tr/min pendant une durée de 26 jours.

IV. Isolement et identification des microorganismes

Le but de cette partie du travail est d'isoler et d'identifier les souches bactériennes aptes à dégrader le malathion et ceci en l'utilisant comme source de carbone, de phosphore ou de soufre.

1. Isolement

Les souches bactériennes sont isolées sur des milieux de culture contenant la même composition des milieux de culture liquides de la phase d'isolement mais additionnés d'agar noble à 2 %, et incubés à 37°C pendant 72 h. Avant de procéder à leur identification, les différentes colonies mises en évidence dans chaque milieu sont ensuite repiquées individuellement sur des boîtes Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées à 35 °C pendant 24 h.

2. Identification

L'identification des souches bactériennes se fait comme suit :

- Etude macroscopique (aspect des colonies) ;
- Etude microscopique a l'état frais.
- Observation microscopique après coloration de Gram ;
- Recherche des enzymes de la chaine respiratoire (oxydasse, catalase) ;
- Enfin, on procède aux tests par les galeries API (les galeries API 20 NE et Api 20 Staph).

2.1. 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 1 minute, puis rincez à l'eau distillée.

- Mordançage au Lugol (solution d'iodure de potassium iodée) : étalez le lugol et laissez agir pendant 1 minute ; puis rincez à l'eau distillée.

- Décoloration à l'alcool est l'étape la plus importante de la coloration : versez goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement et laissez agir 30 seconde. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincez abondamment avec de l'eau distillée pour stopper la décoloration.

- Recoloration à la Fuchsine. Mettez quelques gouttes de fuchsine et laissez agir de 30 secondes à 1 minute. Lavez doucement à l'eau distillée. Séchez la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes. Observation avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).

2.2. Recherche de la catalase :

Cet examen nous permet une première orientation dans l'identification d'une souche pure bactérienne. Le principe de ce test consiste à mettre une colonie bactérienne, prélevé par une pipette pasteur dans une goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) déposée sur une lame de verre. La présence de catalase s'exprime aussitôt par un dégagement gazeux (O₂) aisément discernable.

2.3. Recherche de l'oxydase :

La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Dans ce test on prélève des colonies avec une pipette pasteur avec laquelle on les écrase sur un disque d'oxydase. L'apparition de la couleur rose violacée indique la présence de cette enzyme dans la souche bactérienne prélevée. Dans ce test, la forme réduite incolore de dérivés N-méthylé du paraphénylène diamine va être oxydée en une forme semi quinonique rose violacée facilement observable.

2.4. Les méthodes d'identification par les galeries API :

2.4.1. La méthode d'identification par la galerie API 20 NE :

- Principe :

La galerie API 20 NE se compose de 20 micro-tubes contenant des milieux et substrats sous forme déshydratée. Il permet l'identification des bacilles gram (-) non entérobactéries 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 (Site officiel de Biomerieux, 2015 ; Smith *et al.*, 1972).

- 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 un tube d'eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l'étalon 0,5 McFarland.

Inoculation de la galerie :

- Remplir uniquement les tubes des tests (et non les cupules) NO₂ à PNPG avec la suspension bactérienne.
- Créer une anaérobiose dans les tests GLU, ADH, URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Transférer 200 µl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente, dans une ampoule au medium.
- Homogénéiser.
- Remplir les micro-cupules des tests GLU à PAC.
- Remplir les tubes et les cupules des tests GLU à PAC 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 (Sorour et Shaalan, 2013 ; Smith *et al.*, 1972).

2.4.2. La méthode d'identification par la galerie Api 20 Staph

Le principe et la méthode d'identification par la galerie Api 20 Staph est le même avec le test par la galerie API 20 NE, la différence est lors de la préparation de l'inoculum, dans ce cas la suspension bactérienne est préparée à l'aide du medium spécial pour la galerie API 20 Staph, cette différence est aussi au niveau de la lecture de la galerie dans laquelle on rajoute les réactifs pour enfin identifier la souche bactérienne, donc pour l'API 20 Staph on rajoute en plus :

- Le Zym A et le Zym B pour le test PAL ;
- Et enfin, Le VP1 et le VP2 pour le test VP.

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Résultats

1. Résultats de l'ensemencement sur les différents milieux sélectifs

Les résultats de l'ensemencement sur les différents milieux sélectifs après 72h d'incubation, sont résumés dans le tableau 2 ci-dessous :

Tableau 2. Les résultats obtenus sur les différents milieux sélectifs :

Milieux sélectifs	Croissance
MC (malathion solubilisé dans de l'éthanol et testé comme unique source de carbone)	-
MP (malathion solubilisé dans de l'éthanol et testé comme unique source de phosphore)	-
MS (malathion solubilisé dans de l'éthanol et testé comme unique source de soufre)	+

(- : absence de croissance ; + : présence de croissance).

Le tableau ci-dessus résume la croissance des bactéries dans les différents milieux sélectifs. Ainsi, on a observé la croissance des bactéries que dans le milieu où le malathion est utilisé comme unique source de soufre, dans ce cas on a dénombré 89 colonies, par contre on a observé aucune croissance dans les deux autres milieux (MC et MP).

2. Isolement et identification des souches bactériennes obtenues à partir des différents milieux sélectifs

Les deux souches bactériennes obtenues ont été isolées et purifiées par ensemencement sur gélose nutritive, et ce, avant de procéder à l'étape d'identification.

2.1. La morphologie des colonies obtenues

Tableau 3. Morphologies des souches bactériennes obtenues.

Souche	Forme	Aspect	Couleur
MS 1	Petites, Rondes, à bords réguliers	Légèrement bombés, Lisses	Blanches
MS 2	Plates, à bords réguliers.	Lisses	Légèrement jaunâtre

MS 1 et MS 2 : Souches utilisant le **Malathion** comme unique source de **Soufre**

L'observation microscopique des souches bactériennes isolées, montre que la souche MS 2 est un bacille, alors que la souche MS 1 a une forme de Cocci.

2.2. Etude biochimique

- **Coloration de Gram**

Après la coloration de Gram, il en ressort que les deux souches isolées (MS 1 et MS 2) appartiennent à deux groupes bactériens différents, une souche MS 2 qui appartient au groupe des Gram positif et l'autre MS 1 au groupe des Gram négatif (Figure 11).

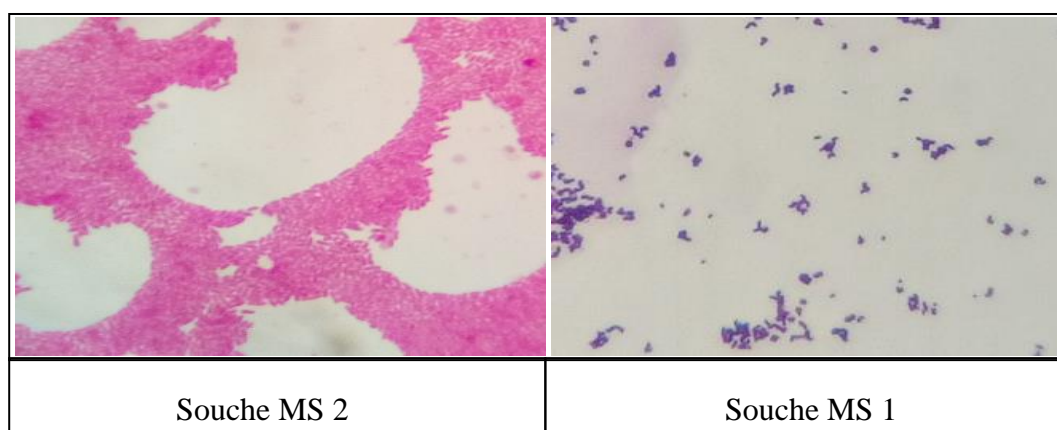


Figure 05. Résultats de la coloration de Gram pour les deux souches (MS 2) et (MS 1)

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

Recherche de la catalase

Après l'étalement des colonies bactériennes dans le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), un dégagement gazeux est apparu pour les deux souches isolées, cela indique donc que les deux souches bactériennes à Gram positif (MS 1) et à Gram négatif (MS 2) sont des bacilles aérobies. Le résultat de ce test est illustré sur la figure suivante :



Figure 06. Résultats du test de la catalase pour les deux souches isolées : souche Gram négatif (MS 1) et souche Gram positif (MS 2).

Recherche de l'oxydase

La coloration violette est observée après écrasement des fragments de colonies correspondant à la souche MS 2 sur le disque d'oxydase (Figure 12), indiquant donc que la souche (MS 2) est oxydase positive, et cela nous permet d'orienter notre recherche vers les espèces non entérobactéries. Le résultat du test obtenu pour la souche Gram positif (MS 1) montre une absence de réaction indiquant que cette dernière ne possède pas d'oxydase.



Figure 07. Test de l'oxydase (observation de la couleur violette pour la souche Gram négatif (MS 2), et absence de couleur pour la souche Gram positif (MS 1))

2.3. Tests d'identification par les galeries API 20 NE et Api 20 Staph

1) Résultats d'identification par la galerie API 20 NE pour la souche MS 2

Les résultats obtenus par la galerie API 20 NE sont montrés dans le tableau 4 ci-dessous

Tableau 4. Caractères biochimiques de la souche MS 2 obtenus avec la galerie API 20 NE

Tests	Résultats
Nitrate réductase	+
Tryptophane	-
Glucose	-
ADH	-
Urée	+
Esculine	+
Gélatinase	+
PNPG	+
Glucose	-
Arabinose	-
Mannose	-
Mannitol	-
N-acétyle glucosamine	-
Maltose	-
Potassium Gluconate	-
Acide caprique	-
Acide adipique	-
Acide malique	-
Citrate	-
Acide phenyl acétique	-

Oxydase	+
---------	---

Profile numérique : 1630004

2) Résultats d'identification par la galerie Api 20 Staph pour la souche MS 1

Les résultats des tests effectués sur la galerie Api 20 Staph pour la souche bactérienne MS 1 sont montrés dans le tableau 5 ci-dessous :

Tableau 5. Caractères biochimiques de la souche MS 1 obtenus avec la galerie API 20 Staph

Tests	Résultats
Glucose	+
Fructose	+
Mannose	+
Maltose	+
Lactose	+
Tréhalose	+
Mannitol	+
Xylitol	-
Melibiose	-
Nitrate de pottassium	+
β - naphthyle phosphate	-
Pyruvate de sodium	-
Raffinose	+
Xylose	-

Saccharose	+
Méthyl- α D-glucopyranoside	-
N-acétyl glucosamine	+
ADH	-
Urée	-
LSTR (résistance à lysoStaphine)	-

Profile numérique : 6732250

Les deux souches bactériennes identifiées sont montrées dans le tableau 6 ci-dessous :

Tableau 6. Résultats d'identification des souches isolées

Souches bactérienne	Résultats d'identification
MS 2	<i>Chryseobacterium indologenes</i> à 94,9%
MS 1	<i>Staphylococcus sciuri</i> (90,8%)

II. Discussion

Au cours de cette étude, on a isolé deux souches bactériennes appartenant à deux espèces différentes pouvant métaboliser le malathion, en l'utilisant comme unique source de soufre. L'espèce *Chryseobacterium indologenes* identifiée avec une probabilité près de 95%, et une souche appartenant à l'espèce *Staphylococcus sciuri* avec une probabilité de 90,8%. Cela peut être expliqué par le fait que ces souches possèdent les enzymes nécessaires pour la dégradation du malathion, ou bien elles ont subi des mutations au niveau de leurs gènes lors des deux phases d'adaptation et de sélection, ce qui les a permis à s'adapter à ce pesticide, donc à le dégrader.

La dégradation du malathion par le genre *Staphylococcus* a déjà fait l'objet d'étude, et ils ont été décrites par plusieurs auteurs notamment pour l'espèce *Staphylococcus sciuri* qui a été testée et trouvée qu'elle a le potentiel de biodégrader le malathion mais à des pourcentages très limités (Tamer *et al.*, 2013). *Staphylococcus vitulinus* a aussi été testée pour la biodégradation *in vitro* du malathion, la capacité de dégradation du malathion par cette espèce était d'environ 44,24 % (Faiza Kadhim *et al.*, 2015).

Une autre espèce qui a prouvé son efficacité dans la dégradation du malathion, est l'espèce *Staphylococcus aureus* qui a été rapportée dans une étude réalisée par Akilandeswari et Sona (2013). La dégradation par *Staphylococcus xylosus* des autres substances polluantes comme ceux constituant des intermédiaires dans la fabrication des pesticides tel que le 1,2 dichlorobenzène (1,2 DCB) et le 2,4-dichlorophénol (2,4-DCP) ont été décrites par Ziagovaa, (2010).

Les études sur la dégradation des pesticides par l'espèce *Chryseobacterium indologenes* sont peu nombreuses. Ainsi, cette bactérie a un potentiel de dégradation du flubendiamide, du DDT et du HCH très important (Shrinivas *et al.*, 2016 ; Jie Qu *et al.*, 2015). On notera cependant l'absence dans la littérature scientifique d'études portant sur la biodégradation du malathion par cette espèce voir même par le genre *Chryseobactérium*.

La dégradation du malathion ne se limite pas aux deux genres bactériens. D'autres souches appartenant à d'autres genres dont *Bacillus* et *Acinetobacter*, jouent un rôle important dans l'élimination du malathion (Abd Elaziz *et al.*, 2016 ; Ahmed *et al.*, 2015). Il est également avéré que *Pseudomonas putida* est capable de dégrader le malathion lors d'une étude rapportée par Perez *et al.* (2016). Par ailleurs, une souche appartenant à l'espèce *Stenotrophomonas maltophilia* identifiée pour la première fois par Rym Salah-tazdaït *et al.* (2018) a été isolée pour sa capacité à utiliser le malathion comme unique source de carbone et de phosphore.

Dans cette étude, il n'a pas été possible d'isoler les microorganismes pouvant utiliser le malathion comme unique source de carbone et comme unique source phosphore, et ceci peut être dû aux boues activées testées qui ne renfermeraient pas les souches capables de synthétiser les enzymes nécessaires pour libérer les atomes de carbone et de phosphore contenus dans la molécule du malathion. On peut également suggérer que le malathion a été utilisé d'une façon Cométabolique par les bactéries identifiées au cours de leurs croissances pendant la phase de sélection, ou bien c'est en rapport avec la durée et les conditions des deux

phases d'adaptation et de sélection qui n'est pas suffisantes pour permettre la sélection des microorganismes adéquats par mutations ou par réactivation de leurs gènes préexistants.

Conclusion et perspectives

Ces dernières décennies, les pesticides sont utilisés d'une façon incontrôlable et très abusive malgré leur toxicité très élevée et leur impact environnemental indésirable. Pour cela, le contrôle de la pollution qui peut être généré par ces produits et la gestion de leurs déchets est l'une des priorités dont l'homme doit se préoccuper.

L'étude qui a été menée dans ce travail, a pour but la sélection et l'identification des microorganismes issus de boues activées, prélevées à partir de la station d'épuration des eaux usées de la ville de Tizi Ouzou, capables de dégrader le malathion périmé et de l'utiliser comme unique source de soufre. Il a ainsi été possible d'isoler et d'identifier deux souches distinctes capables d'utiliser le malathion périmé comme unique source de soufre, l'une appartenant à l'espèce *Chryseobacterium indologenes* et l'autre affiliée à l'espèce *Staphylococcus sciuri*.

Les deux souches isolées, peuvent être appliquées dans l'élimination à grande échelle des stocks de malathion périmé.

En guise de perspectives, ce travail gagnerait à être amélioré en considérant les aspects complémentaires suivants :

- Isoler d'autres souches permettant la dégradation du malathion et d'autres pesticides ;
- L'identification plus poussée des souches isolées par séquençage du gène de l'ARNr 16s ;
- L'identification des sous-produits/ et ou les métabolites intermédiaires qui peuvent être générés lors de la biodégradation du malathion par ces deux bactéries ;
- L'extraction des enzymes impliqués dans la biodégradation du malathion ;
- Distinguer le mécanisme de biodégradation effectué par les deux souches sélectionnées ;
- Étude des performances des deux souches isolées en terme de dégradation de ce pesticide notamment ceux qui sont récalcitrants.

Références bibliographiques:

Adhikari, Sunita Chattopadhyay, Parimal Ray Lalitagauri. (2010): Biosorption of Malathion by immobilized cells of *Bacillus* sp. S14. *Journal of Chemical Speciation & Bioavailability*. Taylor & Francis, Vol.22. pp.271-276, Doi:10.3184/095422910X12897518708787, URL:https://doi.org/10.3184/095422910X12897518708787.

Akilandeswari, K. Sona, V. (2013): Efficiency of *Staphylococcus aureus* in the degradation of an organo phosphorous pesticide, malathion. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation (JPSI)*. Belgaum. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation (JPSI)*. Vol.2. Research article 13-21, Doi: 10.7897/2277-4572.02686.

Almeida, M. G. Fanini, F. Davino, S. C. Aznar, A. E. Koch, O. R. Barros, S. B. de M., (1997): Pro- and anti-oxidant parameters in rat liver after short term exposure to hexachlorobenzene. *Journal of Human & Experimental Toxicology*. SAGE Publications Ltd STM, Vol.16. pp. 257-261, Doi: 10.1177/096032719701600504, URL: https://doi.org/10.1177/096032719701600504.

Aly Ahmed Abd-Ella Mohamed. (2011): Etude du mode d'action neurotoxique d'un repulsif, le deet utilise seul et en association avec un insecticide sur l'acetylcholinesterase des dum neurones d'un insecte la blatte *periplaneta americana*. *Agronomie*. Université d'Angers. Français. (tel-00969250).

Arias-Esévez 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 ground water resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. pp.247-260.

Aubertot, JN. Barbier, JM. Carpentier, A. Gril, JJ. Guichard, L. Lucas, P. Savary, S. Savini, I. Voltz, M. (2005) : Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'expertise scientifique collective, Pesticides, agriculture et environnement. INRA et Cemagref (France).

Barclay, Alan Petocz, Peter McMillan, Joanna Flood, Vicki Prvan, Tania Mitchell, Paul Brand-Miller, Jennie. (2008): Glycemic index, glycemic load, and chronic disease risk - A metaanalysis of observational studies. *The American journal of clinical nutrition*. Vol.87. pp.627-37. 2008/04/01. Doi: 10.1093/ajcn/87.3.627.

Barriuso, E. Calvet, R. Schiavon, M. et Soulas, G. (1996) : Les pesticides et les polluants organiques des sols. Transformations et dissipation. *Etude et Gestion Sols* : Vol.3 (4), pp.279-

296. UAR 1172 Unité centrale de documentation information scientifique et technique de versailles UC DIST, Centre de recherche de Versailles-Grignon, 78026 Versailles, France (DOCVE -P4560). <https://prodinra.inra.fr/record/126292>.
- Berard, A. & Pelte, T.** (1999). Les herbicides inhibiteurs du photosystème II, effets sur les communautés algales et leur dynamique. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, Vol.12 (2). pp.333–361. <https://doi.org/10.7202/705355ar>.
- Calvet, R.** (1989): Adsorption of organic chemicals in soils. *Environmental Health Perspectives*, Vol.83, pp.145-177. DOI: 10.2307/3430653.
- Calvet, R. Barriuso, E. Bedos, C. Benoit, P. Charnay, M.P. Coquet, Y.** (2005). Les pesticides dans les sols. Conséquences agronomiques et environnementales. Paris, FRA : France Agricole. 637p. <https://prodinra.inra.fr/record/17519>.
- Capkin, E. Altinok, I. & Karahan, S.** (2006): Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere*, Vol.64. pp.1793-1800. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2005.12.050.
- Carsel, Robert F. Mulkey, Lee A. Lorber, Matthew N. Baskin, Leland B.** (1985): The pesticide root zone model (PRZM): A procedure for evaluating pesticide leaching threats to groundwater. *Ecological Modelling*. Vol.30. pp.49-69.
- Conte, F. S. and Parker, J. C.** (1971): Ecological aspects of selected crustacea of two marsh embayments of the Texas coast. *Texas A&M Univ. Sea Grant Program, TAMU-SG-71-211*, College Station.
- Cook, and Ottes, R.:** Note on the conversion of some organophosphate pesticides to less polar compounds by ultraviolet light. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. Vol.42. 211 p.
- Cook, J. W.** (1959): Paper chromatography of some organic phosphate insecticides. V. Conversion of organic phosphates to in vitro cholinesterase inhibitors by N-bromosuccinimide and ultraviolet light. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists* Vol.38. 826p. (1955).
- Costa, Lucio G.** (2006) : Current issues in organophosphate toxicology. *Clinica Chimica Acta*. Vol. 366. pp. 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.10.008>. URL : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898105006273>.

- Eichelberger, James W. Lichtenberg, James J.** 1971 : Persistence of pesticides in river water. *Environmental Science & Technology*. American Chemical Society. Vol.5. pp. 541-544. DOI : 10.1021/es60053a002. URL : <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es60053a002>.
- El Mrabet, K. Poitevin, Martine. Vial, Jérôme. Pichon, Valérie. Amarouche, S. Hervouet, G. Lalere, Béatrice.** (2006): An interlaboratory study to evaluate potential matrix reference materials for herbicides in water. Vol.1134. pp.151-161.
- El Mrabet, Kh. Charlet, P. Lalère, B.** (2008) : Les pesticides. *Rapport de Laboratoire National De Metrologie et D'essaie-Paris*.
- Farag azmy, Ahmed Saafan, Amal Essam, Tamer Amin, Magdy Ahmed, Shaban.** (2015): Biodegradation of Malathion by *Acinetobacter baumannii* Strain AFA Isolated from Domestic Sewage in Egypt. *International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering*. Vol.9, pp.55-65.
- 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, pp. 123-142.
- Flessel, Peter. Quintana, P. J. E. Hooper, Kim.** (1993): Genetic toxicity of malathion: A review of *Environmental and Molecular Mutagenesis*. John Wiley & Sons, Ltd. Vol.22. pp. 7-17. DOI: 10.1002/em.2850220104. URL : <https://doi.org/10.1002/em.2850220104>.
- Floesser-Mueller, and Schwack W.** (2001): Photochemistry of organophosphorus insecticides. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Vol. 172. pp.129-228.
- Gatignol, C. et Etienne, JC.** (2010) : Pesticides et santé. Rapport de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, 262 p. URL : <https://www.vie-publique.fr/rapport/31062-rapport-sur-pesticides-et-sante>.
- Geed, S. R. Kureel, M. K. Shukla, A. K. Singh, R. S. Rai, B. N.** (2016): Biodegradation of malathion and evaluation of kinetic parameters using three bacterial species. *Resource-Efficient Technologies*. Vol. 2. pp. S3-S11. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2016.09.005>. URL : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405653716300380>.
- Geed, SR. Kureel, MK. Shukla, AK. Singh, RS. Rai, BN.** (2016): Biodegradation of malathion and evaluation of kinetic parameters using three bacterial species. *Resource-Efficient Technologies*. Vol.2. pp.S3-S11.

- Gril, J. J. Gouy, V. Carluer, C.** (1998): Processus de transfert des pesticides par ruissellement, Document de la Société Hydrotechnique de France. 380 p.
- Guerrant, G. O. Fetzer, L. E., Jr. Miles, J. W.** (1970): Pesticide residues in Hale County, Texas, before and after ultra-low volume aerial application of malathion. *Pesticides Monitoring Journal*. Vol.4. PP. 14-20. CABDirect.
- Hall, Irvin M. Dunn, Paul H.** (1959): The Effect of Certain Insecticides and Fungicides on Fungi Pathogenic to the Spotted Alfalfa Aphid1. *Journal of Economic Entomology*. Vol.52. pp.28-29. Doi: 10.1093/jee/52.1.28. URL: <https://doi.org/10.1093/jee/52.1.28>.
- Hansch, Corwin Leo, Albert Hoekman, DH.** (1995): Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. Washington, DC: American Chemical Society., p. 80.
- Harris, C. R. Lichtenstein, E. P.** (2014) : Factors Affecting the Volatilization of Insecticidal Residues from Soils1. *Journal of Economic Entomology*. Vol.54. pp.1038-1045. Doi: 10.1093/jee/54.5.1038. URL : <https://doi.org/10.1093/jee/54.5.1038>.
- Haviland, EE. Highland, HA. Weatherburn, AS. Bayley, CH.** (1955) : 2412021. The phytotoxicity of malathion to poinsettias. *Journal of economic entomology*. Vol 48. p 326.
- Hayes, Wayland Jackson.** (1963) : Clinical handbook on economic poisons: emergency information for treating poisoning. *US Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service*. Communicable Disease Center-Toxicology Section, Atlanta, GA.
- Hélène, Blanchoud.** (2011) : Les pesticides dans le bassin de la Seine. Programme Interdisciplinaire de Recherche sur l'Environnement de la Seine. Piren Seine. France. Université Pierre et Marie Curie (Paris VI) 4, place Jussieu 75005 Paris .67p.
- Hill, Elwood F. Eliason, Donald A. Kilpatrick, John W.** (1971): Effects Of Ultra-Low Volume Applications of Malathion in Hale County, Texas: III. Effect on Nontarget Animals. *Journal of medical entomology*. Vol 8. pp 173-179.
- Ibrahim, Wael M. Karam, Mohamed A. El-Shahat, Reda M. Adway, Asmaa A.** (2014): Biodegradation and utilization of organophosphorus pesticide malathion by cyanobacteria. *BioMed research international*. Vol 2014.
- Ishag, Abd Elaziz S. A. Abdelbagi, Azhari O. Hammad, Ahmed M. A. Elsheikh, Elsiddig A. E. Elsaid, Osama E. Hur, J. H. Laing, Mark D.** (2016) : Biodegradation of Chlorpyrifos, Malathion, and Dimethoate by Three Strains of Bacteria Isolated from Pesticide-Polluted Soils in Sudan, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, American Chemical Society, Vol.64, 45. pp.8491-8498, 2016/11/16, Doi : 10.1021/acs.jafc.6b03334, URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03334>.

- Jadhav, Shrinivas S. David, M.** (2016): Biodegradation of flubendiamide by a newly isolated *Chryseobacterium* sp. strain SSJ1. *3 Biotech*. Vol.6. 31p.
- Jokanović, Milan.** (2009): Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. *Toxicology letters*. Vol 190. pp 107-115.
- Jokanović, Milan. Stojilković, Miloš P.** (2006): Current understanding of the application of pyridinium oximes as cholinesterase reactivators in treatment of organophosphate poisoning. *European journal of pharmacology*. Vol 553. pp. 10-17.
- Jones, Kimberly N. English, Joseph C.** (2003): Review of common therapeutic options in the United States for the treatment of pediculosis capitis. *Clinical Infectious Diseases*. Vol 36. pp 1355-1361.
- Juc, Liliana.** (2007) : Etude des risques liés à l'utilisation des pesticides organochlorés et impact sur l'environnement et la santé humaine. Sciences de la Terre. Université Claude Bernard - Lyon I, Français. ff tel-00330431.
- Jurewicz, Joanna. Hanke, Wojciech.** (2008): Prenatal and childhood exposure to pesticides and neurobehavioral development: review of epidemiological studies. *International journal of occupational medicine and environmental health*. Vol 21. pp 121-132.
- Kadhim Faiza, Rabee Adel, Abdalraheem Esam.** (2015): Biodegradation of Malathion by Selected Bacterial Isolates. Department of biology/Collage of sciences/Universite of Baghdad, Ministry of Science and technology/Environmental Research Center Baghdad, Iraq. Vol.10. pp.361-366.
- Kehrer, James P.** (1993): Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical reviews in toxicology*. Vol.23. pp.21-48.
- Kim, Yang-Hoon. Ahn, Ji-Young. Moon, Seung-Hyeon. Lee, Jeewon.** (2005): Biodegradation and detoxification of organophosphate insecticide, malathion by *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi cutinase. *Chemosphere*. Vol.60. pp.1349-1355.
- Levitan, Emily B. Song, Yiqing. Ford, Earl S. Liu, Simin.** (2004): Is nondiabetic hyperglycemia a risk factor for cardiovascular disease? : a meta-analysis of prospective studies. *Archives of internal medicine*. Vol.164. pp.2147-2155.
- Lieberman, F. V. Bohart, G. E. Knowlton, G. F. Nye, W. P.** (1954): Additional Studies on the Effect of Field Applications of Insecticides on Honey Bees. *Journal of Economic Entomology*. Vol.47. pp.316-320. Doi: 10.1093/jee/47.2.316. URL: <https://doi.org/10.1093/jee/47.2.316>.

- Loqman, Souad.** (2009) : La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. *Thèse doctorat.* Université de Reims. Vol.1. 216p.
- Lotti, Marcello.** (1995) : Cholinesterase inhibition : complexities in interpretation. *Clinical Chemistry.* Vol.41. pp.1814-1818.
- Low, VL. Chen, Chee Dhang. Lee, HL. Lim, PE. Leong, CS. Sofian–Azirun, Mohd.** (2013): Current susceptibility status of Malaysian *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) against DDT, propoxur, malathion, and permethrin. *Journal of Medical Entomology.* Vol.50. pp.103-111.
- Malika Nait Atmane,** 2011 : Elimination du malathion par électrocoagulation monopolaire et bipolaire. Ecole Nationale Polytechnique. 94p.
- Mamy, Laure. Barriuso, E.** (2007) : Desorption and time-dependent sorption of herbicides in soils. *European Journal of Soil Science.* Vol.58. pp.174-187.
- Margoum, C.G-B.** (2010) : *thèse de doctorat.* Reims Champagne-Ardenne.
- Megharaj, Mallavarapu. Madhavi, DR. Sreenivasulu, C. Umamaheswari, A. Venkateswarlu, K.** (1994) : Biodegradation of methyl parathion by soil isolates of microalgae and cyanobacteria. *Bulletin of environmental contamination and toxicology.* Vol. 53. pp. 292-297.
- Metcalf, Robert L. MARCH, BB.** (1953): The Isomerization of Organic Thionophosphate Insecticides. *Journal of Economic Entomology.* Vol.46.
- Miller, George Tyler.** (2004): Sustaining the Earth: An Integrated Approach. Thomson/Brooks/Cole. pp. 211–216.
- Mühlmann, R. Schrader, G.** (1957) : Hydrolyse der insektiziden Phosphorsäureester. *Zeitschrift für Naturforschung B.* Vol.12. pp.196-208.
- Mulla, Mir S. Mian, Lal S. Kawecki, James A.** (1981) : Distribution, transport, and fate of the insecticides malathion and parathion in the environment. *Gunther, Francis A. Gunther, Jane Davies. Residue Reviews.* New York, NY. Springer New York. pp. 1-159.
- Nanda, Manisha. Kumar, Vinod. Fatima, Nighat. Pruthi, Vikas. Verma, Monu. Chauhan, PK. Vlaskin, Mikhail S. Grigorenko, Anatoly V.** (2019): Detoxification

mechanism of organophosphorus pesticide via carboxylestrase pathway that triggers de novo TAG biosynthesis in oleaginous microalgae. *Aquatic toxicology*. Vol.209. pp. 49-55.

Ndiaye, Omar Ben Khatab. (2010) : Technologies de décontamination de sols contaminés par des pesticides au Mali. Université de Sherbrooke. Québec, Canada.

Newhart, KayLynn. (2006): Environmental fate of malathion. California Environmental Protection Agency.

Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture., 1996 : Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italie, FAO.

ORP., 10 juin 2014. Observatoire des Résidus de Pesticides, ANSES. 2014. [En ligne] <http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr>.

Palumbo, Amanda J. TenBrook, Patti L. Fojut, Tessa L. Faria, Isabel R. Tjeerdema, Ronald S. (2012): Aquatic life water quality criteria derived via the UC Davis method: I. Organophosphate insecticides. *In-Aquatic life water quality criteria for selected pesticides*. Springer. pp.1-49.

Peng, Jianbiao. Shi, Huanhuan. Li, Jianhua. Wang, Lianhong. Wang, Zunyao. Gao, Shixiang. (2016): Bicarbonate enhanced removal of triclosan by copper (II) catalyzed Fenton-like reaction in aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*. Vol.306. pp. 484-491.

Qu, Jie. Xu, Yang. Ai, Guo-Min. Liu, Ying. Liu, Zhi-Pei. (2015): Novel *Chryseobacterium* sp. PYR2 degrades various organochlorine pesticides (OCPs) and achieves enhancing removal and complete degradation of DDT in highly contaminated soil. *Journal of environmental management*. Vol 161. pp 350-357.

Regnault-Roger, C. Philogène, B.J.R. et Vincent, Ch. (2005) : Biopesticides d'origine végétale. Editions Tec e & Doc, Lavoisier, Paris, p 465.

Rengasamy, S. Parmer, Balraj S. (1988): Investigation of some factors influencing isomalathion formation in malathion products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society. Vol.36. pp.1025-1030. Doi: 10.1021/jf00083a030. URL : <https://doi.org/10.1021/jf00083a030>.

Roberts, Richard J. (2002) : Head lice. *New England Journal of Medicine*. Vol.346. pp. 1645-1650.

Ruzicka, JH. Thomson, J. Wheals, BB. (1967): The gas chromatographic determination of organo-phosphorus pesticides: Part II. A comparative study of hydrolysis rates. *Journal of Chromatography A*. Vol.31. pp. 37-47.

- Sanborn, Margaret. Kerr, KJ. Sanin, LH. Cole, DC. Bassil, KL. Vakil, C.** (207): Non-cancer health effects of pesticides: systematic review and implications for family doctors. *Canadian Family Physician*. Vol.53. pp. 1712-1720.
- Sanders, Herman O.** (1970): Pesticide toxicities to tadpoles of the western chorus frog *Pseudacris triseriata* and Fowler's toad *Bufo woodhousii fowleri*. *Copeia*. pp. 246-251.
- Scheunert, I.** (1992) : Transformation and degradation of pesticides in soil. Chemistry of Plant Protection (Germany, FR).
- Smith, PB. Tomfohrde, KM. Rhoden, DL. Balows, A.** (1972): API system: a multitube micromethod for identification of Enterobacteriaceae. *Applied microbiology*. Vol.24. 449p.
- Sorour, MH. Shaalan, HF.** (2013): Removal of malathion using ceramic nanofiltration/adsorption system. *Desalination and Water Treatment*. Vol.51. pp. 5009-5013.
- Spark, KM. Swift, RS.** (2002) : Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *Science of the Total Environment*. Vol.298. pp.147-161.
- Stead, Latha G. Gilmore, Rachel M. Bellolio, M Fernanda. Mishra, Shaily., Bhagra, Anjali. Vaidyanathan, Lekshmi. Decker, Wyatt W. Brown, Robert D.** (2009): Hyperglycemia as an independent predictor of worse outcome in non-diabetic patients presenting with acute ischemic stroke. *Neurocritical care*. Vol.10. pp.181-186.
- Sujatha, CH. Nair, SM. Chacko, J.** (1999) : Determination and distribution of endosulfan and malathion in an Indian estuary. *Water research*. Vol.33. pp.109-114.
- Swaminathan, R. Sullia, SB.** (1969): INFLUENCE OF THE PESTICIDE MALATHION ON GROUNDNUT (ARACHIS HYPOGAEA L.) MICROFLORA. *Current Science*. Vol.38. pp.282-284.
- Tagatz, ME. Borthwick, PW. Cook, GH. Coppage, DL.** (1974): Effects of ground applications of malathion on salt-marsh environments in northwestern Florida. *Mosq. News*. Vol.34. pp.309-315.
- Tazdaït Djaber.,** (2014) : Traitement d'un pesticide par voie biologique. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Polytechnique (Alger), 147 p.
- Testud, F. Grillet, JP.** (2007) : Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes de synthèse et divers. *Encycl Méd Chir*. Vol.16. pp.059-C-10.
- Thabit, Tamer MA. El-Naggar, Medhat AH.** (2013) : Malathion degradation by soil isolated bacteria and detection of degradation products by GC-MS. *International Journal of Environmental Sciences*. Vol.3. pp.1467-1476.

Tomlin, CDS. (1997): The Pesticide Manual: a World Compendium, 11e éd. The British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, UK. Vol.1606.

Turgeon, M. Delisle, S. & Drouin, K. 2008 : Champignon de la pourriture blanche. Unpublished manuscript.

Van den Brink, Paul J. Hattink, Jasper. Bransen, Fred. Van Donk, Ellen. Brock, Theo CM. (2000): Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. II. Zooplankton, primary producers and final conclusions. *Aquatic Toxicology*. Vol.48. pp.251-264.

Walker, WW. Stojanovic, BJ. (1974) : Malathion Degradation by an Arthrobacter Species 1. *Journal of Environmental Quality*. Vol.3. pp.4-10.

Wood, EM. Hollis, EH. Lennon, RE. (1953): The toxicity of 3400 chemicals to fish (part 1). *The US Fisher and Wildlife Service Report*.

Yasuno, Masayuki. Hirakoso, Shunnosuke. Sasa, Manabu. Uchida, Motokiyo. (1965): Inactivation of some organophosphorous insecticides by bacteria in polluted water. *Jikken Igaku Zasshi= Japanese Journal of Experimental Medicine*. Vol.35.

Ziagova, Maria G. Liakopoulou-Kyriakides, Maria. (2010) : Comparative studies on the degradation of three aromatic compounds by *Pseudomonas* sp. and *Staphylococcus xylosus*. *Journal of Environmental Science and Health Part A*. Vol.45. pp.1017-1025.

Webiographie:

1. <http://www.nappes-roussillon.fr/Pesticides-apprenons-a-nous-en.html>.