

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة
Université MOULAY Tahar, Saïda



N° d'Ordre

كلية العلوم
Faculté des Sciences
قسم البيولوجيا
Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Contribution à l'étude des bactéries tolérantes aux métaux lourds isolées à partir des effluents industriels de la région de Saïda

Présenté par :

- Mlle : HOUAR Asla Khadidja
- Mlle : HENNOUNE Rekia

Soutenu le : Lundi 26 Juin 2023

Devant le jury composé de :

Président

Mme. BENABDESSALEM Yasmina

MCA à l'Université MOULAY
Tahar de Saïda

Examineur

Mr. BENREGUIEG Mokhtar

MCA à l'Université MOULAY
Tahar de Saïda

Rapporteur

Mr. BELLIL Yahia

MCA à l'Université MOULAY
Tahar de Saïda

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Nous remercierons Dieu ,le tout puissant de nous avoir donnée le courage ,

la volonté et la patience de monter à terme ce travail

-Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre professeur encadrant

M.BELLIL Yahia pour sa disponibilité ,pour son aide ainsi que pour l'intérêt

consacré à nos recherches .

Nous tenons aussi remercier tous les enseignants du département de

Biologie de

L'université de Saida.

Nous remercierons tous l'équipe de laboratoire et sans oublier nos collègues

les intense un grand merci au membres jury d'avoir accepté de examiner notre

travail:

Dr hachem

Dr benreguieg mokhtar

Dédicace

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères sœurs FATIMA , ASMAA pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mon frères, ELHABIB pour leur appui et leur encouragement,

A mon fiancé KHALILE pour leur appui et leur encouragement

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

A ma belle mère que j'aime

A POUR mes copines ABIR , MARWA, ASMAA , AICHA ,AMIRA , LEILA , AMINA , REKIA ,HALIMA ,AMEL ,

A Tous mes amis d'enfance et du long parcours scolaire et universitaire. Tout ceux qui

m'aiment et que j'aime

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi

H. KHADIDJA

Dédicace

Dédicaces

J'ai l'immense honneur de dédier ce mémoire :

**A mes très chers parents qui étaient présents pour moi durant toute ma vie,
qu'ils trouvent ici**

Le témoignage de mon amour profond et de ma gratitude certaine.

A mes frères Arebi Habib Houssein

A ma sœur fatima

A toute ma grande famille

A mes amis Khadéja Saadia Chaima Noor et toute mes amies

A tous ceux qui m'ont aidé durant ma vie universitaire

A toute la promotion de Microbiologie Appliqué

A mon binôme Houar asla houar

H. Rekia

Résumé

Les bactéries tolérantes aux métaux lourds isolées à partir des rejets industriels constituent une source prometteuse de solutions pour lutter contre la pollution environnementale. Les métaux lourds présents dans les déchets industriels sont hautement toxiques et persistent dans l'environnement, ce qui peut entraîner des effets néfastes sur la santé humaine et les écosystèmes. Au cours des dernières années, des recherches approfondies ont été menées pour isoler et étudier ces bactéries tolérantes aux métaux lourds. Les scientifiques ont exploré divers sites industriels, tels que les mines et les usines chimiques, et ont réussi à identifier des espèces bactériennes capables de survivre dans des environnements extrêmement contaminés. Ces bactéries ont développé des mécanismes de tolérance qui leur permettent de résister aux concentrations élevées de métaux lourds. L'objectif de cette étude avait pour but la recherche et la sélection des bactéries tolérantes aux métaux lourds omniprésentes dans les rejets industriels de deux sites de la région de SAIDA. L'isolement de 43 isolats bactériens capables de survivre dans des concentrations de 200 et 300mg de sept cations métalliques (Al, Cr, Co, Cu, Ni, Pb, Ag). Le screening primaire par la méthode de diffusion sur gélose a permis de retenir 10 souches performantes. Ensuite, le test de sensibilité envers plusieurs concentrations des cations métalliques testés distingue 4 souches candidates (19, 26, 37, 39). Après un suivi cinétique des quatre souches pendant sept jours pour évaluer leur potentiel à surmonter la présence des cations métalliques testés durant leur croissance. Les résultats ont montré preuve que les souches candidates exhibent un rendement de croissance atteint 56.29% pour la souche 19 après 72h. Les perspectives dans ce domaine sont encourageantes. La poursuite des recherches permettra d'identifier de nouvelles espèces bactériennes tolérantes aux métaux lourds et de comprendre leurs adaptations spécifiques. De plus, il faut développer des stratégies de dépollution plus efficaces et durables, contribuant ainsi à préserver la santé de notre environnement, par l'utilisation de ces bactéries dans la dépollution industrielle offre des perspectives passionnantes pour un avenir plus propre et plus durable.

Mots clés : Bactéries tolérantes, dépollution, métaux lourds, mécanismes de tolérance, pollution environnementale, rejets industriels.

Abstract

Heavy metal tolerant bacteria isolated from industrial waste are a promising source of solutions to fight environmental pollution. Heavy metals in industrial waste are highly toxic and persist in the environment, which can cause adverse effects on human health and ecosystems. In recent years, extensive research has been conducted to isolate and study these heavy metal tolerant bacteria. Scientists explored various industrial sites, such as mines and chemical plants, and managed to identify bacterial species capable of surviving in extremely contaminated environments. These bacteria have developed tolerance mechanisms that allow them to resist high concentrations of heavy metals. The objective of this study was to research and select bacteria tolerant to heavy metals ubiquitous in industrial waste from two sites in the SAIDA region. The isolation of 43 bacterial isolates able to survive in concentrations of 200 and 300mg of seven metal cations (Al, Cr, Co, Cu, Ni, Pb, Ag). The primary screening by the method of diffusion on agar made it possible to retain 10 high-performance strains. Then, the sensitivity test towards several concentrations of the metal cations tested distinguishes 4 candidate strains (19, 26, 37, 39). After a kinetic monitoring of the four strains for seven days to assess their potential to overcome the presence of the metal cations tested during their growth. The results showed evidence that the candidate strains exhibited a growth yield of up to 56.29% for strain 19 after 72h. The prospects in this area are encouraging. Further research will identify new bacterial species tolerant to heavy metals and understand their specific adaptations. In addition, there is a need to develop more effective and sustainable depollution strategies, thus contributing to preserving the health of our environment, by the use of these bacteria in industrial depollution offers exciting prospects for a cleaner and more sustainable future.

Keywords: Tolerant bacteria, depollution, heavy metals, tolerance mechanisms, environmental pollution, industrial waste

ملخص

تعد البكتيريا المقاومة للمعادن الثقيلة والمعزولة من النفايات الصناعية مصدرًا واعدًا للحلول لمكافحة التلوث البيئي. المعادن الثقيلة في النفايات الصناعية شديدة السمية وتستمر في البيئة ، مما قد يتسبب في آثار ضارة على صحة الإنسان والنظم البيئية. في السنوات الأخيرة ، تم إجراء بحث مكثف لعزل ودراسة هذه البكتيريا المقاومة للمعادن الثقيلة. استكشف العلماء مواقع صناعية مختلفة ، مثل المناجم والمصانع الكيماوية ، وتمكنوا من تحديد الأنواع البكتيرية القادرة على البقاء في بيئات شديدة التلوث. طورت هذه البكتيريا آليات تحمل تسمح لها بمقاومة تركيزات عالية من المعادن الثقيلة. كان الهدف من هذه الدراسة هو البحث واختيار البكتيريا المقاومة للمعادن الثقيلة في كل مكان في النفايات الصناعية من موقعين في منطقة صيدا. عزل 43 عزلة بكتيرية قادرة على البقاء على قيد الحياة بتركيزات 200 و 300 مجم لسبعة كاتيونات معدنية (Al، Cr، Co، Cu، Ni، Pb، Ag) أتاح الفحص الأولي عن طريق طريقة الانتشار على أجار الاحتفاظ بـ 10 سلالات عالية الأداء. بعد ذلك ، يميز اختبار الحساسية تجاه تركيزات عديدة من الكاتيونات المعدنية المختبرة 4 سلالات مرشحة (19 ، 26 ، 37 ، 39). بعد المراقبة الحركية للسلالات الأربعة لمدة سبعة أيام لتقييم قدرتها على التغلب على وجود الكاتيونات المعدنية التي تم اختبارها أثناء نموها. أظهرت النتائج دليلاً على أن السلالات المرشحة أظهرت عائد نمو يصل إلى 56.29% للسلالة 19 بعد 72 ساعة. إن الآفاق في هذا المجال مشجعة. ستحدد الأبحاث الإضافية الأنواع البكتيرية الجديدة التي تتحمل المعادن الثقيلة وتفهم تكيفاتها المحددة. بالإضافة إلى ذلك ، هناك حاجة لتطوير استراتيجيات أكثر فاعلية واستدامة لإزالة التلوث ، وبالتالي المساهمة في الحفاظ على صحة بيئتنا ، من خلال استخدام هذه البكتيريا في إزالة التلوث الصناعي يوفر آفاقاً مثيرة لمستقبل أنظف وأكثر استدامة.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا مقاومة ، تلوث ، معادن ثقيلة ، آليات تحمل ، تلوث بيئي ، مخلفات صناعية

INTRODUCTION

Introduction

Au cours des dernières décennies, l'industrialisation croissante a entraîné une augmentation significative de la pollution environnementale, notamment par les métaux lourds. Ces substances toxiques sont souvent utilisées dans divers procédés industriels et peuvent être rejetées dans l'environnement sous forme de déchets industriels. Les métaux lourds, tels que le mercure, le plomb, le cadmium et l'arsenic, sont persistants et peuvent avoir des effets néfastes sur les écosystèmes et la santé humaine.

La problématique de la présence de métaux lourds dans les rejets industriels a été soulignée par de nombreuses études récentes. **Li et al. (2021)** a identifié des concentrations élevées de cadmium, de plomb et de mercure dans les eaux usées industrielles d'une zone fortement industrialisée. Cette situation pose des risques potentiels pour les écosystèmes biologiques nécessite des stratégies de dépollution efficaces.

Cependant, la nature est dotée d'une capacité étonnante à s'adapter et à trouver des solutions pour survivre dans des environnements hostiles. C'est dans ce contexte que les bactéries tolérantes aux métaux lourds ont suscité un intérêt croissant en tant qu'agents de dépollution potentiels. Ces micro-organismes unicellulaires, présents dans les sols, les sédiments et les eaux contaminées, sont capables de résister à des concentrations élevées de métaux lourds et de les transformer en formes moins toxiques (**Zhang et al., 2021**).

L'isolement de ces bactéries tolérantes aux métaux lourds à partir des rejets industriels offre une opportunité précieuse d'étudier leur adaptation et leur potentiel pour la bioremédiation (**Wang et al., 2022**). La bioremédiation est une approche écologique qui utilise des organismes vivants pour éliminer ou réduire la toxicité des contaminants présents dans l'environnement. En exploitant les capacités métaboliques spécifiques de ces bactéries, il est possible de développer des stratégies de dépollution plus durables et respectueuses de l'environnement.

De plus, l'étude de ces bactéries peut également contribuer à la compréhension de la résistance aux métaux lourds chez d'autres organismes, y compris les plantes et les animaux. Comprendre les mécanismes moléculaires qui permettent aux bactéries de tolérer et de détoxifier les métaux lourds peuvent ouvrir la voie à des applications biotechnologiques prometteuses, telles que l'ingénierie génétique pour améliorer la résistance des cultures aux métaux lourds ou le développement de nouveaux agents de dépollution (**Rajapaksha et al., 2020**).

Introduction

Dans cet optique s'inscrit notre travail, qui consiste à explorer les avancées récentes dans l'isolement et l'étude des bactéries tolérantes aux métaux lourds à partir des rejets industriels. Nous mettrons en évidence leur rôle potentiel dans la dépollution et discuterons leurs implications pour la protection de l'environnement et la santé publique. En comprenant mieux ces micro-organismes résilients, nous pourrions ouvrir la voie à des solutions innovantes et durables pour atténuer les effets néfastes des métaux lourds sur notre planète.

Face à ce problème, la recherche scientifique s'est intéressée à l'étude des bactéries tolérantes aux métaux lourds présentes dans les rejets industriels. Ces bactéries sont capables de survivre et de se développer dans des environnements hautement contaminés, où la plupart des organismes ne peuvent pas prospérer. Leur découverte et leur caractérisation offrent des opportunités prometteuses pour la bioremédiation, c'est-à-dire le traitement des sites contaminés par des agents biologiques.

L'étude de ces bactéries tolérantes aux métaux lourds revêt une importance particulière en raison de leur potentiel d'application dans le domaine de la dépollution environnementale (**Nies et al., 2019**). Leur capacité à résister et à transformer les métaux lourds en composés moins toxiques ou non toxiques offre des perspectives prometteuses pour la réhabilitation des sites contaminés (**Wuana & Okieimen, 2011**). De plus, ces bactéries pourraient également être utilisées dans des processus industriels visant à récupérer les métaux lourds présents dans les rejets et à les recycler (**Xu et al., 2022**).

Dans cette perspective, cette étude vise à fournir une revue récente des bactéries tolérantes aux métaux lourds isolées à partir des rejets industriels. Nous aborderons les différentes techniques d'isolement et d'identification des bactéries, les mécanismes de tolérance aux métaux lourds, ainsi que leur potentiel d'application en matière de dépollution environnementale. En comprenant mieux ces micro-organismes adaptés aux environnements contaminés, nous pourrons développer des stratégies plus efficaces pour atténuer les effets néfastes des rejets industriels sur notre environnement.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1

1) Définition de pollution

La pollution, liée en général à l'activité humaine, se définit par la dégradation ou l'altération de l'environnement due à l'introduction directe ou indirecte de substances (solides, liquides, gaz) ayant une composition chimique potentiellement toxique. Elle provoque des modifications chimiques, physiques ou biologiques du biotope, empêchant ainsi le fonctionnement des processus naturels et engendrant des effets indésirables sur l'écosystème et sur la santé des êtres vivants.



figure 01: Image montre la pollution de l'environnement (Michel D.1998)

2) Quels sont les différents types de pollution ?

La pollution est un phénomène mondial qui évolue continuellement d'année en année. Cette problématique, connue depuis un certain temps mais souvent négligée, voit maintenant ses conséquences des 20 dernières années devenir de plus en plus visibles. Le réchauffement climatique, la fonte de la banquise dans le cercle polaire, les émissions de particules fines, les maladies ou les décès sont autant d'effets néfastes qui se multiplient quotidiennement. (Michel D.1998)

a) La pollution de l'air :

Aussi appelée pollution atmosphérique, la pollution de l'air est sans doute le type de pollution le plus connu et le plus dévastateur. Initialement présents de manière naturelle, puis fortement amplifiés par l'activité humaine depuis le XIXe siècle, les gaz à effet de serre sont les

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

principaux responsables des ravages infligés à notre planète. En plus de polluer la Terre, ces gaz sont également responsables du réchauffement climatique observé désormais à l'échelle mondiale.

Les autres polluants atmosphériques, tels que les particules fines, sont également extrêmement nuisibles pour la planète. Elles contribuent à la destruction de la couche d'ozone terrestre, ce qui permet aux rayons ultraviolets nocifs de pénétrer dans l'atmosphère. Tous ces polluants réduisent progressivement la qualité de l'air et entraînent la perte de nombreux organismes vivants, ainsi que le développement de diverses maladies cardiovasculaires.

Certains pays de l'Union européenne, comme la France, ont mis en place des normes pour encadrer la qualité de l'air afin de réduire au maximum la pollution atmosphérique. (M.Morgan.al 2005)



Figure 02 : Image montre la pollutuïn de l'air (M.Morgan.al 2005)

b) la pollution du sol terrestre

La pollution des sols est l'une des formes de pollution dont on parle le moins, car elle est certainement la moins visible pour la population mondiale. Cependant, cette pollution peut s'avérer très dangereuse pour la santé. Elle se produit lorsque des produits chimiques sont rejetés directement dans le sol, entraînant ainsi sa contamination. Une fois que ces produits chimiques se retrouvent dans le sol, ils contaminent ensuite les cultures agroalimentaires (comme les pesticides et les engrais) qui sont ensuite récoltées et consommées par l'homme. (M.Horrison 1980)



Figure 03: Image montre la pollution de sol (M.Horrison 1980)

c) Pollution de l'eau

Cette pollution provient de différentes sources. Elle peut être causée par la pollution industrielle, telle que les émissions de gaz des navires en mer ou les rejets de produits chimiques. Elle peut également être due à la pollution résultant de l'agriculture, où l'utilisation de produits chimiques contamine les nappes phréatiques. La pollution automobile contribue également, avec des déversements d'huile ou de carburant dans les cours d'eau. Enfin, le défaut de traitement des eaux usées peut également être à l'origine de cette pollution.



Figure04 :Image montre la pollution de l'eau (M.Horrison 1980)

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

d) La pollution des déchets nucléaires et chimiques

Ces déchets peuvent entraîner de graves conséquences sur notre environnement s'ils sont rejetés directement dans l'air ou dans le sol, que ce soit en raison d'un mauvais traitement ou d'un accident. Ils ont la particularité de rester actifs pendant de très longues périodes dans l'environnement et d'être particulièrement mortels pour toutes les formes de vie. (M.Horrison 1980)



Figure 05: Image montre la pollution par des produits chimiques (M.Horrison 1980)

3) Causes de la pollution de l'environnement :

L'activité humaine est effectivement la principale cause de pollution. Il est vrai que le développement de la technologie a apporté d'énormes progrès dans la qualité de vie des êtres humains, mais en contrepartie, il a également causé d'importants dommages à l'environnement. L'activité humaine est à l'origine du développement de la technologie, de la déforestation, de l'utilisation de produits chimiques et de pesticides, de la production de déchets industriels et domestiques, de l'utilisation de combustibles fossiles, ainsi que de la production et de l'accumulation de déchets. Ce sont là les principales causes de la pollution de l'environnement. (M.Horrison 1980)

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE



Figure05 : Image montre la pollution de l'environnement par l'activité humaine (M.Horrison 1980)

a) Le developpement de la technologie :

Effectivement, le développement industriel, l'utilisation excessive de véhicules à essence ou diesel, les émissions de gaz, la production et l'utilisation sans discernement d'objets en plastique, la grande production de déchets non biodégradables, la croissance démographique, la nécessité d'extraire davantage de ressources naturelles et l'élevage à grande échelle sont autant d'activités humaines responsables de la pollution de l'environnement. (M.Horrison 1980)



Figure 06 : Image montre le role de la technologie et développement de la pollution de l'environnement (M.Horrison 1980)

b) Déforestation :

La déforestation, ou l'abattage aveugle des arbres, a considérablement réduit les forêts et les jungles de la Terre. Elle est également responsable de l'extinction de nombreux habitats naturels. Les arbres et autres plantes jouent un rôle crucial dans la purification de l'air. Leur

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

diminution entraîne donc une pollution de l'air et la propagation de diverses maladies respiratoires pouvant être mortelles.

La déforestation est causée par l'exploitation du bois, la nécessité d'agrandir les espaces pour l'élevage du bétail, ainsi que par l'expansion des zones urbaines, industrielles et touristiques.



Figure 07: Image montre la déforestations

c) Produits chimiques et pesticides utilisés dans l'agriculture :

Le secteur agricole est en effet l'un des plus gros utilisateurs de produits chimiques et de pesticides. Ces substances sont utilisées dans les méthodes de culture et de soin des plantes. Bien que les agriculteurs les utilisent pour protéger les cultures de fruits et légumes, il est vrai que ces produits chimiques sont très polluants et ont un impact sur les sols et les ressources en eau.

L'utilisation excessive de pesticides peut entraîner la contamination des sols, des nappes phréatiques et des cours d'eau, ce qui peut avoir des conséquences néfastes sur l'environnement et la santé humaine. C'est pourquoi il est important de promouvoir des pratiques agricoles durables qui réduisent la dépendance aux produits chimiques et favorisent des alternatives plus respectueuses de l'environnement, telles que l'agriculture biologique ou les méthodes de lutte intégrée contre les ravageurs.



Figure 08 : Image montre l'utilisations de pesticide dans l'agriculture

d) Production de gaz par le bétail :

L'élevage à grande échelle génère une quantité importante de gaz, ce qui contribue à l'effet de serre et endommage la couche d'ozone. Cette situation est exacerbée par la nécessité de produire davantage de nourriture pour répondre à la croissance démographique mondiale en constante augmentation.

e) Déchets industriels et ménagers :

Les activités industrielles produisent une grande quantité de déchets toxiques pour l'environnement, tels que des gaz, des produits chimiques, des solvants, et autres. De nombreux de ces déchets sont déversés directement et illégalement dans l'eau ou l'air, ce qui pollue ces ressources et cause de graves dommages à l'environnement.

Il en va de même pour une quantité importante de déchets ménagers, tels que les détergents, les solvants ou les huiles, qui sont hautement polluants et se retrouvent dans les déchets domestiques après utilisation. Actuellement, le taux de production de déchets industriels et ménagers est très élevé, dont la plupart provient de l'utilisation excessive de plastique et d'autres produits non biodégradables.

Pour réduire leur impact, il est recommandé de trier les déchets selon leur type de matériau (verre, plastique, aluminium, carton ou papier), afin de pouvoir les traiter ou les réutiliser grâce à des processus de recyclage.

d) Combustibles fossiles :

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

Les combustibles fossiles sont en effet un facteur majeur de pollution. Depuis leur extraction jusqu'à leur raffinage et leur utilisation, les combustibles fossiles ont un impact négatif sur l'environnement. Parmi les ressources naturelles les plus exploitées pour produire des carburants, on trouve le pétrole, le gaz naturel et le charbon, qui sont tous très polluants.

Cependant, des progrès significatifs ont été réalisés dans le développement de technologies visant à réduire l'utilisation de ces carburants, en particulier dans le domaine de l'automobile. Des véhicules électriques et hybrides ont déjà été introduits sur le marché, offrant des alternatives plus propres et plus durables. Il est important de continuer à promouvoir ces technologies et à investir dans des sources d'énergie renouvelables afin de réduire notre dépendance aux combustibles fossiles et de diminuer les impacts néfastes sur l'environnement.

4) Les effets de pollution :

a) Les effets sur la sante

Les polluants atmosphériques sont des gaz ou des particules irritants et agressifs qui peuvent pénétrer plus ou moins profondément dans l'appareil respiratoire. Ils peuvent avoir des effets néfastes sur la santé, en particulier sur le système respiratoire et cardiovasculaire. Voici quelques effets couramment observés :

Augmentation des affections respiratoires : bronchiolites, rhino-pharyngites, etc.

Détérioration de la fonction pulmonaire : diminution de la capacité respiratoire, exacerbation de la toux ou des crises d'asthme.

Augmentation de la production de mucus bronchique.

Irritations oculaires accrues.

Augmentation des problèmes cardiovasculaires (notamment liée aux particules fines).

Affaiblissement des défenses de l'organisme contre les infections microbiennes.

Augmentation de la mortalité à court terme due aux affections respiratoires ou cardiovasculaires (notamment causée par le dioxyde de soufre et les particules fines).

Incidence sur la mortalité à long terme en raison des effets mutagènes et cancérigènes (notamment des particules fines et du benzène).

b) Les effets sur l'environnement

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Effectivement, la pollution atmosphérique a des effets néfastes sur l'environnement, notamment sur les matériaux et les végétaux. Voici quelques exemples :

Matériaux : La pollution atmosphérique, en particulier le dioxyde de soufre, peut entraîner la corrosion des matériaux, ce qui endommage les structures et les bâtiments. Les poussières provenant de la combustion des produits pétroliers peuvent entraîner le noircissement et l'encroûtement des surfaces. De plus, en association avec le gel, l'humidité et les micro-organismes, la pollution atmosphérique peut causer diverses altérations des matériaux.

Végétaux : Des concentrations élevées de certains polluants atmosphériques peuvent causer des nécroses visibles sur les plantes. La pollution de l'air peut également entraîner une réduction de la croissance des plantes, même en l'absence de dommages visibles. Par exemple, l'ozone peut entraîner une baisse de la production agricole de céréales telles que le blé. De plus, la pollution atmosphérique peut affaiblir la résistance des plantes face à certains agents pathogènes.

Ces effets sur les matériaux et les végétaux peuvent avoir des conséquences significatives sur les écosystèmes, la biodiversité et l'agriculture. Il est donc important de réduire la pollution atmosphérique afin de préserver l'environnement et la santé des écosystèmes.

2) Classification des pollutions

Les polluants appartenant à des classes différentes peuvent avoir des effets voisins.

Il existe 3 grands groupes de polluants :

A. Les polluants de nature physique

- La chaleur :
- Pollution radioactive :
- Le bruit :
- La pollution lumineuse :

B. Les polluants de nature chimique

- Les hydrocarbures liquides :
- Les détergents et tensioactifs :
- Les plastifiants :
- Les phtalates :

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

- Les pesticides :
- Les matières eutrophisantes :
- Les métaux lourds :
- Les médicaments et cosmétiques :

A. Les polluants de nature biologique

- toxines algales,
- les germes pathogènes
- les parasites.

Parmet les causes majeure de la pollution est les éléments métalliques

Les métaux lourds

5) Définition de métaux lourds

Effectivement, le terme "métaux lourds" est utilisé de manière arbitraire et imprécise. Il est employé pour des raisons de simplicité, regroupant des éléments ayant des propriétés métalliques et un numéro atomique supérieur à 20 (**Raskin et al., 1994**). Cependant, il existe certaines variations dans la définition de ces éléments. Les métaux lourds sont généralement définis comme des éléments chimiques toxiques ayant une densité supérieure à 5 g/cm³ (**Elmsley, 2001**). Parmi les éléments regroupés sous cette appellation, certains sont effectivement des métaux tels que le nickel, le cuivre, le zinc, le plomb, le cadmium, le mercure, l'aluminium, etc. Cependant, des métalloïdes tels que l'arsenic et le sélénium sont également inclus. Ces éléments se trouvent le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces et leurs concentrations varient selon les milieux et les organismes.

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

Parmi les métaux lourds, le cadmium, l'arsenic, le plomb et le mercure sont considérés comme les plus toxiques. Ils sont présents naturellement dans la croûte terrestre et se retrouvent dans tous les organismes vivants, bien que leurs concentrations puissent varier.

Selon la législation, la pollution par les métaux toxiques regroupe huit métaux (chrome, zinc, cuivre, nickel, plomb, arsenic, cadmium et mercure) ainsi qu'un métalloïde (l'arsenic).

Il est important de prendre en compte les risques liés à la présence de ces métaux toxiques dans l'environnement et de mettre en place des mesures de prévention et de gestion appropriées pour réduire leur impact sur la santé humaine et l'écosystème (Koller, 2004).

TABLEAU PÉRIODIQUE DES ÉLÉMENTS

Le tableau périodique des éléments est présenté avec l'élément Fer (Fe) mis en évidence. Le tableau est coloré par groupes : les métaux alcalins et alcalino-terreux sont en rose, les métaux de transition sont en orange, les métaux de la zone p sont en vert, les métaux de la zone d sont en bleu, et les gaz nobles sont en gris. L'élément Fer (Fe) est situé dans la zone d, à la 8ème colonne et à la 4ème ligne.

Figure09 : Image tableau périodique des éléments

6). Les différents métaux lourds et leurs risques pour la santes

a) L'antimoine (sb) :

L'antimoine est rarement utilisé seul, mais il est souvent utilisé dans des alliages, notamment avec le plomb. Cependant, l'antimoine et la plupart de ses dérivés sont toxiques. Dans la population générale, l'exposition alimentaire est prédominante, et l'absorption par le tractus digestif dépend de la solubilité et de la forme chimique de l'antimoine. Chez l'animal, l'absorption intestinale est estimée entre 5 et 20% de la dose ingérée, tandis que chez l'homme, de rares données suggèrent une absorption d'environ 5% en cas d'intoxication.

L'antimoine est éliminé principalement par les voies urinaires, biliaires et fécales, ainsi que partiellement par les phanères. Il peut facilement traverser la barrière placentaire et avoir un effet sur le fœtus. Le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a classé l'antimoine comme

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

cancérogène possible chez l'homme en raison de l'apparition de cancers bronchiques chez les animaux exposés. De plus, il a été suggéré que l'antimoine pourrait agir comme perturbateur endocrinien en raison de son activité oestrogénique.

Du point de vue environnemental, l'antimoine pollue principalement les sols et peut se propager sur de grandes distances dans les eaux souterraines. Les concentrations d'antimoine dans l'environnement sont généralement le reflet de l'activité industrielle locale. Dans les régions non polluées, la concentration d'antimoine dans l'eau est inférieure à 0,01 mg/L, mais dans certaines régions métallurgiques, notamment en Asie centrale, elle peut atteindre 10 mg/L. La demi-vie de l'antimoine dans l'atmosphère est relativement courte, d'environ 3 jours, mais il peut néanmoins se propager sur de grandes distances. Bien que l'antimoine ne semble pas s'accumuler chez les animaux, il peut s'accumuler chez les végétaux. Les conséquences de l'exposition à l'antimoine sont généralement similaires chez les animaux et chez les humains.

Il est important de prendre des mesures pour réduire l'exposition à l'antimoine et pour contrôler sa dispersion dans l'environnement, afin de minimiser les risques pour la santé humaine et les écosystèmes.

b). L'arsenic :

L'arsenic est un élément naturellement présent dans la partie superficielle de l'écorce terrestre à une concentration moyenne d'environ 2 mg/kg. Il peut également se retrouver dans l'atmosphère par des phénomènes naturels tels que l'érosion des roches, les réactions d'oxydo-réduction, l'activité volcanique et les feux de forêt. De plus, des émissions d'origine humaine, telles que l'utilisation de combustibles minéraux solides, la combustion du fioul lourd, la production de verre et la métallurgie, peuvent contribuer à la présence d'arsenic dans l'environnement.

En raison de sa présence dans les sols, l'arsenic peut être trouvé dans les aliments, mais surtout dans l'eau potable. En plus des risques sanitaires, l'arsenic peut également avoir des effets sur l'environnement.

Sur le plan sanitaire, l'arsenic est connu pour sa toxicité. Cependant, la toxicité varie en fonction de sa forme chimique. L'arsenic inorganique (sous forme pure ou liée à l'oxygène, au chlore ou au soufre) est beaucoup plus toxique que l'arsenic organique (lié au carbone ou à l'hydrogène). Néanmoins, l'arsenic est également un oligoélément essentiel pour les êtres

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

humains et certaines espèces animales. Les besoins humains sont estimés à 10-20 µg/jour et sont couverts par l'alimentation.

L'arsenic, lorsqu'il pénètre dans l'organisme, se lie aux protéines et s'accumule dans plusieurs organes tels que le foie, la peau, les phanères et les poumons. Les métabolites de l'arsenic sont ensuite éliminés dans les urines en quelques jours (90% est éliminé en 6 jours). Il est possible de détecter la présence d'arsenic accumulé dans les cheveux jusqu'à leur chute.

Sur le plan environnemental, les effets de l'arsenic varient en fonction de sa forme chimique, de la nature des sols et de sa bioaccumulation éventuelle. Les effets sur les animaux sont similaires à ceux sur les humains, que ce soit en tant que perturbateur endocrinien ou en cas d'intoxication aiguë.

Les plantes sont capables d'accumuler de l'arsenic, certaines étant capables de le détoxifier par différents processus, tandis que d'autres sont devenues résistantes aux dérivés de l'arsenic. Certaines plantes consommées par l'homme, notamment le riz, peuvent bioaccumuler de fortes quantités d'arsenic lorsqu'elles sont en contact avec de l'eau contaminée.

Il est essentiel de prendre des mesures pour contrôler et réduire l'exposition à l'arsenic dans l'environnement, ainsi que pour mettre en œuvre des pratiques agricoles durables afin de minimiser la bioaccumulation dans les cultures alimentaires.

c).Le cadmium :

Effectivement, la majeure partie du cadmium accumulé par l'organisme humain provient des activités agricoles telles que l'utilisation d'engrais phosphatés et l'épandage de boues, ainsi que des activités industrielles telles que la métallurgie. L'absorption du cadmium par l'organisme est principalement d'origine alimentaire, et cette absorption est fortement augmentée par le tabagisme. Les végétaux à feuillage vert (salades, choux, épinards), les céréales et les champignons constituent la principale source de cadmium.

En ce qui concerne les risques sanitaires, le cadmium est un élément très toxique qui n'a aucune fonction connue dans le corps humain. Lorsqu'il pénètre dans l'organisme par ingestion ou inhalation, il est transporté dans le sang et s'accumule principalement dans le foie, provoquant également des troubles rénaux. Le cadmium forme des composés métalliques avec l'urée.

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

Le cadmium est chimiquement similaire au calcium et peut interagir avec le calcium présent dans les os. Il peut se substituer au calcium dans les os, altérant ainsi les propriétés mécaniques du squelette en créant une porosité osseuse, une déformation des os, des fractures et un affaiblissement progressif du corps.

En ce qui concerne les effets environnementaux, la pollution au cadmium a diminué depuis les années 1980, en raison de l'abandon de son utilisation dans les pigments pour peinture et du remplacement des batteries au cadmium par des batteries au lithium. Cependant, cette pollution reste préoccupante, notamment dans les coquillages et les organismes situés en haut de la chaîne alimentaire. Les origines de la pollution au cadmium sont multiples :

Agriculture : utilisation d'engrais et épandage de boues

Pollution atmosphérique : combustion de produits pétroliers, incinération des déchets ménagers, combustion du charbon, industries sidérurgiques, batteries

Pollution aquatique : industries, fabrication d'engrais phosphatés

Le cadmium est toxique, même à faible dose, pour de nombreuses espèces animales et végétales. Il peut avoir des effets néfastes sur les écosystèmes aquatiques et terrestres en perturbant les processus biologiques et en affectant la santé des organismes qui y sont exposés. La surveillance et la réduction de la pollution au cadmium sont donc essentielles pour protéger la santé humaine et l'environnement.

d). Le chrome :

Le chrome est un élément qui fait partie de la famille des métaux de transition. Il est connu pour sa résistance à la corrosion et au ternissement, ce qui en fait un matériau couramment utilisé dans différents secteurs industriels. Le chrome peut se trouver dans plusieurs états d'oxydation.

En ce qui concerne les risques sanitaires, la toxicité du chrome varie considérablement selon sa forme chimique. Le chrome trivalent (chrome III) est un oligoélément essentiel pour le métabolisme glucidique chez l'homme. Une carence en chrome peut affecter l'activité de l'insuline, qui joue un rôle crucial dans la régulation de la glycémie.

En revanche, l'ion chrome hexa valent (chrome VI) peut être bio accumulé par différents organismes et est classé comme un cancérigène avéré. Chez les travailleurs exposés par voie

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

respiratoire, les principaux effets observés sont liés au système respiratoire et au développement d'allergies.

En ce qui concerne les effets environnementaux, le chrome se trouve en petites quantités à l'état naturel dans tous les types de roches et de sols. Il peut être entraîné dans l'atmosphère par la mise en suspension de poussières et dans les eaux de surface par le ruissellement, l'altération et l'érosion des sols. Les émissions de chrome dans l'environnement se font principalement vers les milieux aquatiques.

Le chrome VI est considéré comme la forme la plus mobile du chrome dans les milieux terrestres et aquatiques, tandis que le chrome III a tendance à être peu soluble et à être absorbé par les sols et les eaux naturelles, limitant ainsi son transport sur de grandes distances.

La surveillance et la gestion appropriée des rejets de chrome dans l'environnement sont importantes pour minimiser les risques pour la santé humaine et l'écosystème. Des mesures de prévention et de contrôle des émissions de chrome sont nécessaires pour réduire son impact sur l'environnement et la santé publique.

e). Le cuivre :

Le cuivre est un élément naturellement présent dans la croûte terrestre et il est essentiel au développement de la vie sur Terre. Il est largement utilisé par l'homme depuis des milliers d'années, principalement en raison de ses propriétés physiques telles que la malléabilité, la ductilité, la conductivité et la résistance à la corrosion.

En ce qui concerne les risques sanitaires, à de très faibles doses, le cuivre est un oligo-élément essentiel pour le fonctionnement de l'organisme. Les besoins quotidiens en cuivre chez l'adulte sont d'environ 2 mg. Cependant, à des doses plus élevées, le cuivre peut devenir toxique. Il favorise la formation d'espèces réactives de l'oxygène, qui sont responsables du stress oxydant dans l'organisme.

L'exposition chronique au cuivre peut entraîner une irritation des zones affectées, notamment les muqueuses, les fosses nasales et les yeux. Cela peut provoquer des maux de tête, des maux d'estomac, des vertiges et des troubles digestifs tels que des vomissements et des diarrhées. Des troubles de la reproduction peuvent également être observés.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

En ce qui concerne les effets environnementaux, le cuivre peut être écotoxique, même à faibles doses, notamment pour certains organismes aquatiques, les mousses et les lichens. L'épandage excessif de cuivre dans l'agriculture peut entraîner une accumulation de cuivre dans le sol, ce qui peut avoir des effets toxiques sur les animaux. Des effets ont été observés chez les moutons en particulier.

Il est important de surveiller et de contrôler correctement l'utilisation et l'élimination du cuivre afin de minimiser les risques pour la santé humaine et les écosystèmes. Des pratiques agricoles durables et une gestion appropriée des déchets contenant du cuivre sont nécessaires pour réduire les impacts environnementaux néfastes liés à ce métal.

f). Le mercure :

Le mercure est un métal liquide argenté brillant, unique parmi les métaux à être liquide dans les conditions normales de température et de pression. Il peut se présenter sous forme native, ionique ou sous forme de composés oxydés.

Le mercure est naturellement présent dans l'environnement, principalement dans les roches du sous-sol. Certains gisements contiennent des quantités significatives de mercure et ont été exploités comme mines. Les principales sources naturelles d'émission de mercure sont les volcans, le dégazage progressif de la croûte terrestre et certains geysers.

En ce qui concerne les risques sanitaires, le mercure n'est pas un oligoélément essentiel pour le corps humain. Il est toxique sous toutes ses formes organiques et chimiques. Son utilisation est réglementée et plusieurs directives européennes limitent son utilisation. Cependant, la toxicité du mercure dépend de sa forme d'oxydation.

Sous forme de vapeur, le mercure est toxique pour les voies respiratoires et se dissout dans le sang, attaquant ensuite les reins, le cerveau et le système nerveux. Chez les femmes enceintes, il traverse la barrière placentaire pour atteindre le fœtus, et le lait maternel peut également être contaminé. Sous forme dissoute, le mercure est extrêmement neurotoxique, même à faible dose.

L'alimentation est la principale source de contamination au mercure, principalement liée à la consommation de gros poissons prédateurs. Il est donc recommandé d'éviter de consommer fréquemment ces poissons (tels que la dorade, l'espadon, le marlin, le grenadier, le bar, le requin, le thon).

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

En ce qui concerne les effets environnementaux, la pollution au mercure affecte l'ensemble de la planète, y compris les régions polaires qui sont fortement contaminées. Cette pollution est durable car le mercure n'est pas biodégradable et peut contaminer plusieurs fois la chaîne alimentaire.

Le mercure est extrêmement toxique pour toutes les espèces vivantes connues. Il n'est pas éliminé par la pluie : il se volatilise facilement, pollue l'atmosphère, est entraîné par la pluie et se retrouve dans les eaux de surface et les sédiments.

g). Le nickel :

Le nickel représente environ 0,8 à 0,9 % de la croûte terrestre et est utilisé dans diverses applications. Le nickel pur est utilisé dans la fabrication de cordes de guitare électrique, de fil dentaire, de spatules, d'aimants et d'écrans magnétiques. Il est également utilisé comme résistance chauffante dans des appareils tels que les grille-pain, les radiateurs et les sèche-cheveux, ainsi que comme revêtement sur des casques. De plus, le nickel est présent dans certaines pièces de monnaie, notamment les pièces américaines et canadiennes, ainsi que les pièces de 1 et 2 euros. En bijouterie, le nickel est utilisé en alliage avec l'or pour obtenir une bonne résistance mécanique et des couleurs originales, ce qui donne de l'or blanc.

En ce qui concerne les risques sanitaires, le nickel est considéré comme un oligoélément pour les animaux et les plantes lorsqu'il est présent en très faible quantité et sous des formes assimilables. Le corps humain contient généralement moins de 500 µg de nickel. Le métal nickel pur est peu toxique, mais il a un fort pouvoir allergisant. L'ingestion de sels de nickel dilués dans l'eau peut provoquer des troubles digestifs tels que des nausées, des vomissements et des diarrhées. Plus de 12 % de la population générale est allergique au nickel. Certains composés de nickel, tels que le nickel tétra-carbonyle présent dans les vapeurs et les fumées, sont très toxiques et considérés comme des cancérigènes avérés. La poussière de nickel est également allergisante et cancérigène. Une exposition chronique au nickel est un facteur de risque de cancer du poumon et du nez chez les travailleurs des raffineries.

En ce qui concerne les effets environnementaux, on estime que de 24 000 à 87 000 tonnes de nickel sont rejetées dans l'atmosphère chaque année. Il existe également des émissions

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

naturelles de nickel. L'écotoxicité du nickel est peu connue, mais on sait que cet élément est concentré chez les mollusques aquatiques.

h). Le plomb :

Le plomb est un métal présent dans la croûte terrestre et réparti dans tous les compartiments de la biosphère. Il est l'un des métaux les plus anciennement connus. De nos jours, les principales émissions de plomb proviennent du secteur industriel, notamment de la métallurgie, de la production de matériaux et de l'utilisation de minéraux non métalliques.

En ce qui concerne les risques sanitaires, l'absorption de plomb présente de nombreux dangers. Cette absorption peut se faire par inhalation, ingestion ou contact cutané. Les enfants, les femmes enceintes et les personnes âgées sont les plus vulnérables. En effet, le fœtus n'est pas protégé par le placenta et est extrêmement sensible au plomb, qui peut provoquer des effets neurologiques même à faibles doses d'exposition. Les enfants sont particulièrement touchés car leur organisme absorbe plus de plomb que celui des adultes. Les risques d'intoxication au plomb sont accrus pour les enfants qui jouent au sol. À fortes doses, le plomb a également été associé à l'apparition de tumeurs rénales chez le rat.

En ce qui concerne les effets environnementaux, le plomb est l'un des contaminants les plus toxiques pour l'environnement. Il peut également agir en synergie avec d'autres métaux et polluants tels que le cuivre, le cadmium ou le sélénium. Le plomb n'est pas biodégradable et sa demi-vie géochimique est d'environ 7 siècles. Il est également très toxique pour de nombreux invertébrés, en particulier ceux vivant en eau douce, ainsi que pour les amphibiens.

i). Le sélénium :

Le sélénium, bien qu'il ne soit pas un métal mais plutôt un élément chimique du groupe des calogènes, est souvent inclus dans la catégorie des métaux lourds en raison de ses propriétés similaires. Il est relativement rare mais se trouve dans certains minéraux sulfures. On le retrouve également concentré dans certaines plantes, céréales et levures.

La production de sélénium provient principalement du retraitement des boues résiduelles du raffinage de plusieurs métaux tels que le plomb, le nickel, le cobalt et le cuivre.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

En ce qui concerne les risques sanitaires, le sélénium est un oligoélément essentiel nécessaire à la formation de scléroprotéines, qui sont des protéines antioxydants. Dans l'alimentation occidentale, les besoins quotidiens en sélénium sont généralement comblés. La concentration de sélénium dans le corps dépend de facteurs tels que les niveaux d'acide folique, de vitamine B12 et d'homocystéine. Une consommation quotidienne de 200 µg de sélénium pourrait réduire le risque de développement de certains cancers, notamment de la peau, de la prostate et du côlon. Cependant, le sélénium peut être toxique à des doses excessives. Des effets indésirables tels que des nausées, des diarrhées, une fragilisation des ongles, une perte de cheveux et une asthénie peuvent survenir.

En ce qui concerne les effets environnementaux, le sélénium se présente sous différentes formes chimiques dans l'environnement, la forme sélénite étant la plus toxique et la plus courante. Certaines matières résiduelles d'origine industrielle ou agricole peuvent contenir du sélénium et contribuer à sa présence dans l'environnement.

j). Le thallium :

qui se ternit à l'air.

-RISQUES SANITAIRES :

Le thallium fait partie des métaux lourds et est hautement toxique. Le corps humain absorbe très facilement le thallium, particulièrement à travers la peau, l'appareil respiratoire et l'ingestion. Les symptômes principaux sont des douleurs abdominales et des troubles du système nerveux, parfois irréversibles et conduisant au décès.

-EFFETS ENVIRONNEMENTAUX :

Le thallium peut s'accumuler dans plusieurs végétaux dont les arbres, il est très toxique pour les rongeurs et pour la plupart des mammifères.

07). Les métaux lourds sont-ils tous toxiques ?

Le Fer est un élément trace métallique ou métal lourd et il est pourtant ajouté dans les céréales des petits déjeuners pour enfants, car c'est également un nutriment essentiel pour notre organisme. Alors pourquoi certains métaux lourds sont-ils bénéfiques et d'autres moins ?

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

En fait tout dépend de leur nature, leurs caractéristiques, leur forme chimique, leur concentration et les éléments avec lesquels ils sont présents.

Certains métaux lourds agissent à plus ou moins long terme également, comme le méthylmercure (notamment présent dans le poisson) qui s'accumule progressivement dans notre cerveau.

Au final, tous les métaux lourds ne sont pas forcément toxiques, certains sont même vitaux comme le fer.

8). Les symptômes d'une intoxication aux métaux lourds :

Les symptômes d'une intoxication aux métaux lourds peuvent varier selon le ou les composé(s) impliqué(s) et selon les personnes, ce qui rend son diagnostic complexe. Les signaux les plus fréquents sont une fatigue chronique, des maux de tête, des douleurs au niveau du dos, des troubles psychiques (irritabilité, dépression, colère, instabilité émotionnelle...), des troubles digestifs (diarrhées, nausées, vomissements) ou encore des troubles du sommeil.

-par exemple, les symptômes d'une intoxication au cadmium :

- ✓ Fonction rénale dégradée
- ✓ Douleur fémorale
- ✓ Lumbago
- ✓ Ostéopénie
- ✓ Hypertension
- ✓ Maladie vasculaire
- ✓ Perte de coordination
- ✓ Engourdissement des membres
- ✓ Perte auditive
- ✓ Hypertension
- ✓ Emphysème

9). Le cycle biogéochimique des métaux lourds

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

Pour qu'un métal puisse participer aux cycles biogéochimiques, il doit être disponible et mobilisé. La disponibilité d'un métal dépend de son abondance dans la croûte terrestre ainsi que de la stabilité de ses minéraux. Certains métaux peuvent être plus abondants et présents dans des minéraux facilement solubles, ce qui les rend plus disponibles pour être mobilisés.

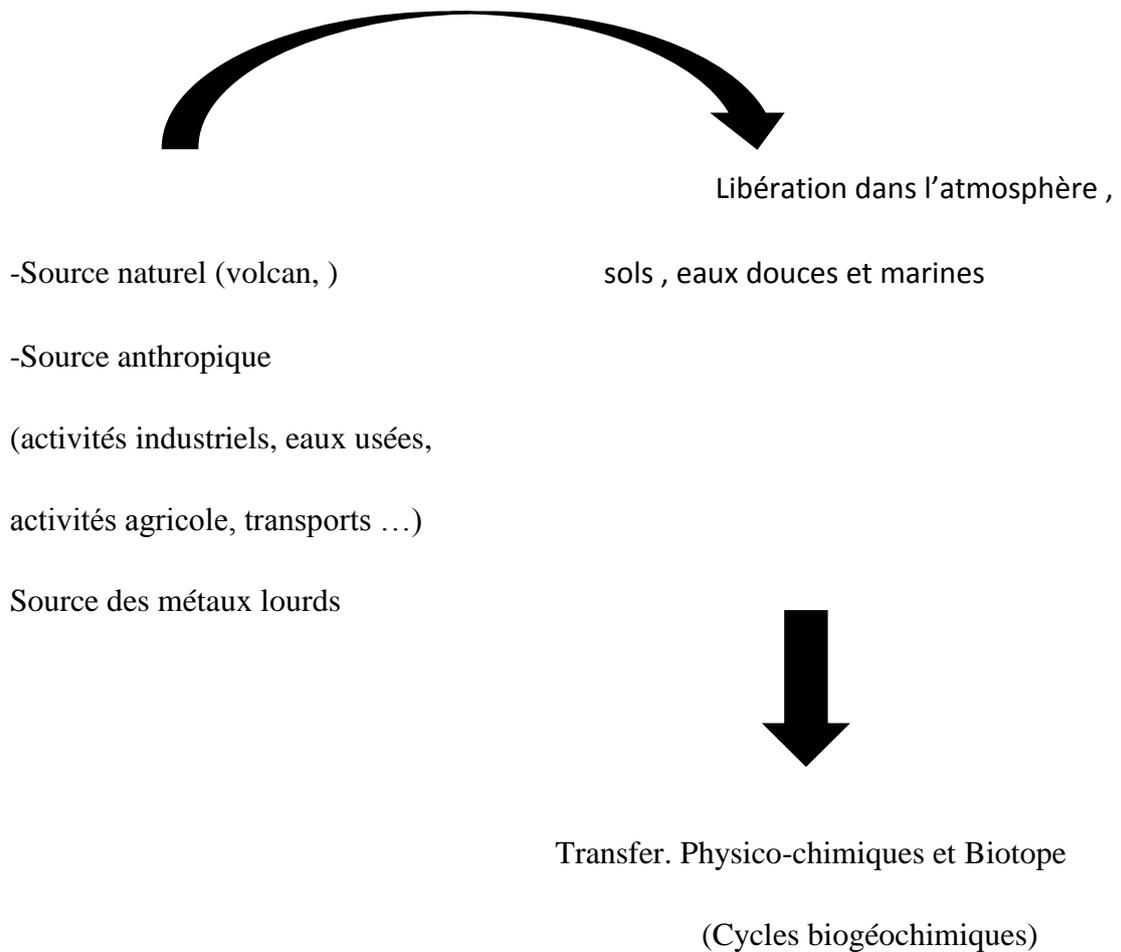
La mobilisation des métaux peut être le résultat de l'érosion chimique, qui altère les roches et libère des composés métalliques plus mobiles. L'érosion chimique peut être causée par des processus naturels tels que les réactions chimiques entre les roches et les agents atmosphériques, ou par des activités humaines telles que l'exploitation minière.

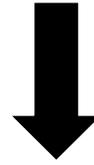
L'activité biologique joue également un rôle dans la mobilisation des métaux. Par exemple, la croissance des racines des plantes peut broyer mécaniquement les roches, exposant ainsi de nouvelles surfaces à l'érosion chimique. De plus, les interactions entre les solutions du sol et les plantes peuvent modifier le pH des eaux, leur composition chimique et leur réactivité, ce qui peut influencer la mobilisation des métaux.

L'activité volcanique est une autre source de mobilisation des métaux, en particulier pour les métaux volatils tels que le plomb (Pb), le cadmium (Cd), l'arsenic (As) et le mercure (Hg). L'activité volcanique peut extraire ces métaux des réservoirs profonds de la Terre et les injecter dans l'atmosphère sous forme de gaz, de particules ou de composés chimiques, ce qui les rend disponibles pour être transportés dans l'environnement.

En résumé, la disponibilité et la mobilisation des métaux dans les cycles biogéochimiques dépendent de divers facteurs tels que l'abondance des métaux, la stabilité de leurs minéraux, les processus d'érosion chimique, l'activité biologique et l'activité volcanique (**Monna , 2008**).

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE





Neutralisation des métaux
ou au contraire Accroissement
de sa dispersion et/ou de sa toxicité

Figure09 : Schéma Montrent Cycle biogéochimique des métaux lourds

CHAPITRE 02

01). Définition de la tolérance:

La tolérance, synonyme de résistance, fait référence aux réactions permettant de limiter les effets néfastes des métaux dans l'organisme. Elle peut être due à la protection de l'intégrité membranaire ou à la protection de la fonction des protéines associées au plasmalemme, telles que les transporteurs, les canaux ioniques et les pompes à protéines.

02). Toxicité et tolérance:

La toxicité des métaux lourds sur les végétaux se manifeste initialement par une inhibition de la croissance. Cela s'accompagne souvent d'autres indices de dysfonctionnement tels que la chlorose foliaire, des lésions nécrotiques importantes, un jaunissement progressif, un repliement ou un dessèchement du feuillage. Ces perturbations sont généralement attribuées à un stress oxydatif causé par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les ROS altèrent divers substrats biologiques importants, ce qui entraîne des modifications des fonctions biologiques, telles que l'inhibition de l'activité enzymatique, la perturbation du métabolisme végétal, l'oxydation des protéines, l'altération des membranes cellulaires par la peroxydation lipidique, ainsi que des dommages à l'ADN pouvant conduire à la mort cellulaire.

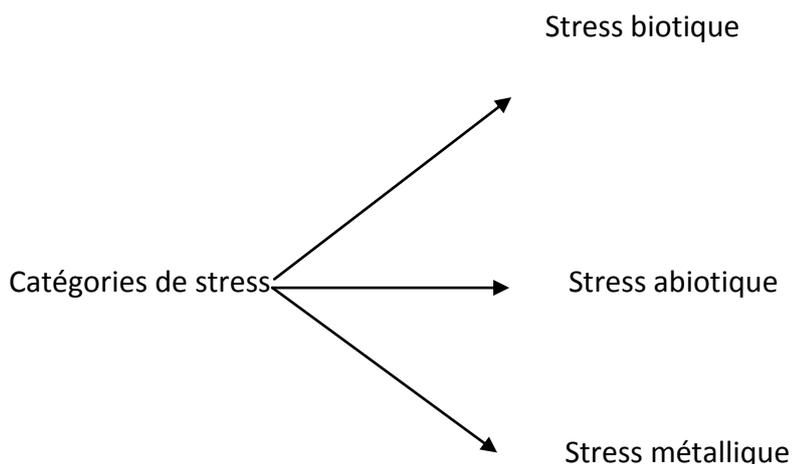
SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

03). Mesure de la tolérance:

Pour mesurer la tolérance d'une plante, les chercheurs observent souvent l'allongement des racines des plantes cultivées dans un milieu liquide, avec ou sans ajout de métaux. Parallèlement à l'allongement des racines, ils évaluent également l'état de santé des plantes (arrêt de la croissance, troubles de la photosynthèse) et mesurent leur biomasse. Un indice de tolérance, correspondant au rapport de l'allongement des racines en solution toxique sur l'allongement des racines en solution témoin, a été développé. Cependant, cet indice présente quelques limitations, car il est un ratio qui varie selon la concentration en métal, et un génotype peut donner lieu à plusieurs indices de tolérance. Par conséquent, les chercheurs ont également utilisé des substituts tels que la DL50 (dose létale moyenne), la DL100 (dose létale 100), la CE50 (concentration efficace moyenne) et la CE100 (concentration efficace 100) pour évaluer la tolérance aux métaux.

4). Définition du stress chez les microorganismes:

Le stress chez les microorganismes fait référence à l'ensemble des perturbations physiologiques ou pathologiques provoquées dans un organisme par des agents biotiques (d'origine biologique) ou abiotiques (d'origine non biologique), tels que les changements de température, les variations de pH, les substances toxiques, etc. Le stress peut avoir un impact sur le métabolisme, la croissance, la reproduction et la survie des microorganismes.



5). Contamination de l'eau par les éléments traces métalliques:

Les éléments traces métalliques (ETM) sont des facteurs polluants importants et très toxiques en raison de leur capacité à s'accumuler dans les écosystèmes. Ils pénètrent dans les

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

écosystèmes par le biais des précipitations, des cours d'eau, des effluents industriels et des rejets accidentels, ainsi que des sous-produits des industries et des mines, ou des échappements provenant des bateaux. Dans l'eau, les ETM subissent des cycles de transformation et de complexation, tels que la réduction par des processus biochimiques, la méthylation, la déméthylation et l'oxydation d'espèces métalliques isolées. Les réactions redox peuvent également faciliter certaines transformations. Cette pollution, combinée à la charge polluante déversée dans l'écosystème aquatique, entraîne une altération de la qualité de la vie marine.

Tableau 01 : Les valeurs limites de la concentration des métaux dans l'eau

Métal	Formule chimique	Selon O.M.S(mg/L)	Selon N.A(mg/)
Plomb	Pb	0,01	0,5
Cadmium	Cd	0,003	0,07
Cuivre	Cu	2	0,5
Zinc	Zn	2	3
Fer	Fe	0,2	3
Chrome	Cr	0,1	1
Nickel	Ni	0,02	0,5
Manganèse	Mn	0,4	1

Tableau 02 : les normes de concentration des métaux lourds dans l'eau potable

Métal	Symbole	Nombre selon O.M.S
Cadmium	Cd	0,003
Plomb	Pb	0,01
Zinc	Zn	5

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

Cuivre	Cu	2
Fer	Fe	0,3

Dans la littérature scientifique, il est souvent fait référence à la tolérance et à la résistance des microorganismes vis-à-vis des concentrations de métaux lourds. Les termes de tolérance et de résistance sont souvent utilisés de manière interchangeable, et il est difficile de faire une distinction claire entre les deux. Le Conseil de la Recherche National du Canada propose une définition générale de la résistance et de la tolérance comme étant la capacité d'un organisme à réduire sa réponse face à un composé chimique auquel il a été exposé précédemment.

En d'autres termes, la résistance ou la tolérance des microorganismes aux métaux lourds fait référence à leur capacité à survivre ou à maintenir leur croissance en présence de concentrations élevées de ces métaux. Cela peut être dû à des mécanismes biochimiques ou génétiques spécifiques qui leur permettent de détoxifier ou d'éviter les effets nocifs des métaux lourds. Ces mécanismes peuvent inclure la séquestration des métaux, la réduction de leur entrée dans les cellules, la formation de complexes avec des ligands, la production d'enzymes de détoxification, etc.

Il convient de noter que la résistance ou la tolérance aux métaux lourds peut varier d'une espèce de microorganisme à une autre et peut également être influencée par des facteurs environnementaux tels que la concentration et la durée de l'exposition aux métaux lourds (wright et welbourn,2002) .

6). Voie d'entrée des métaux lourds dans la cellule bactérienne

Les cellules bactériennes utilisent deux types de systèmes pour l'entrée des métaux lourds à l'intérieur de la cellule. Le premier type est un système passif constitutif de la cellule, qui est de faible affinité et rapide. Ce système est utilisé par une grande variété de substrats et est principalement composé de protéines de la famille MIT (Metal Inorganic Transport). Ce système n'est pas spécifique à un ion particulier (Nies, 1999).

Le deuxième type de système de transport est un système actif de haute affinité pour le substrat. Ce système est plus lent et inductible, et il utilise souvent l'hydrolyse de l'ATP comme source d'énergie. Il est principalement composé des ATPases de type P et des ATPases de type A.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Ces systèmes de transport actif sont capables de reconnaître spécifiquement les métaux lourds et de les transporter à l'intérieur de la cellule bactérienne.

Il convient de noter que les mécanismes spécifiques d'entrée des métaux lourds peuvent varier en fonction du type de métal, de la souche bactérienne et de l'environnement. Certains métaux lourds peuvent être transportés à travers les membranes cellulaires par des canaux ioniques spécifiques ou être liés à des ligands spéciaux avant d'être transportés à l'intérieur de la cellule (Odermatt et al., 1993) et les ATPases de type A (Nies, 1999 ; Gatti et al., 2000).

7). Résistance bactérienne aux métaux lourds

La résistance bactérienne aux ions métalliques est une adaptation évolutive qui s'est développée tôt dans l'histoire de la vie sur Terre. Sous la pression sélective exercée par l'environnement, les bactéries ont évolué pour développer divers mécanismes de résistance aux métaux (Senez, 1968).

L'une des stratégies utilisées par les bactéries pour résister aux ions métalliques consiste en :

8). Des modifications de la paroi cellulaire.

La membrane ou l'enveloppe cellulaire des microorganismes agit comme une barrière de perméabilité membranaire. Les bactéries peuvent modifier la composition de leur paroi cellulaire pour limiter l'entrée des métaux toxiques dans la cellule. Cela peut impliquer des changements dans la structure des lipides membranaires, la production de polysaccharides protecteurs ou la formation de complexes métalliques insolubles qui empêchent la pénétration des ions métalliques.

Ces modifications de la paroi cellulaire sont une tentative de l'organisme pour protéger les composants cellulaires essentiels qui sont sensibles aux métaux toxiques. En empêchant ou en limitant l'entrée des métaux, les bactéries peuvent survivre et se développer dans des environnements contenant des concentrations élevées de métaux lourds (Rouch et al., 1995).

9). Séquestration

La Méthallothionine (MT) est un exemple de protéine intracellulaire qui joue un rôle important dans la défense contre les métaux lourds. La MT est présente dans de nombreux organismes vivants et sa structure chimique unique la rend intéressante pour les chercheurs.

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

La MT est une petite protéine, avec un poids moléculaire inférieur à 7000 Da. Elle est caractérisée par une forte teneur en cystéine, un acide aminé contenant un groupement thiol (-SH). Cette particularité permet à la MT de se lier spécifiquement à certains métaux, en particulier ceux impliqués dans l'homéostasie des métaux essentiels tels que le cuivre et le zinc (Latendre, 2009).

La fonction principale de la MT est de réguler les concentrations intracellulaires de ces métaux. Elle agit en séquestrant ces métaux, c'est-à-dire en les liant de manière réversible à ses groupements thiols. Cela empêche les métaux de circuler librement dans la cellule et de se fixer sur d'autres protéines vitales, ce qui pourrait causer des dommages (Picard et al., 2010).

La liaison des métaux avec les groupements thiols de la MT est dynamique, ce qui signifie que les métaux peuvent être libérés à tout moment selon les besoins de la cellule (Achard, 2005). Ainsi, la MT assure une protection en limitant l'accessibilité des métaux à d'autres sites cellulaires, contribuant ainsi à la détoxification cellulaire (Nezengue, 2008).

En résumé, la MT joue un rôle clé dans la régulation des métaux lourds dans la cellule en les liant et en les séquestrant, ce qui permet de limiter leurs effets toxiques et de maintenir l'homéostasie des métaux essentiels.

Transformation en une forme moins toxique

Les métaux peuvent subir des transformations biologiques au sein des cellules bactériennes afin de réduire leur toxicité. Ces transformations peuvent être réalisées par des mécanismes d'oxydoréduction liés à la respiration cellulaire, notamment pour des métaux tels que le fer (Fe) et le manganèse (Mn). Par exemple, certaines bactéries sulfato-réductrices peuvent réduire les oxydes de fer et de manganèse présents dans leur environnement, ce qui a un impact sur la biodisponibilité, la mobilité et la toxicité de ces métaux.

De plus, certains métaux toxiques peuvent être transformés en formes moins toxiques, voire non toxiques, grâce à des processus enzymatiques d'oxydation ou de réduction. Ces transformations enzymatiques permettent de neutraliser la toxicité des métaux en les convertissant en des formes chimiques moins réactives ou moins nocives pour la cellule bactérienne.

Il est également important de noter que de nombreux procaryotes utilisent les métaux présents sous différents états d'oxydation (tels que le chrome, le manganèse, le fer, le cobalt, le

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

cuivre, l'arsenic ou le sélénium) comme donneurs ou accepteurs d'électrons dans leur métabolisme énergétique. Cette capacité à utiliser les métaux dans leurs réactions biochimiques est une adaptation évolutive qui permet aux bactéries de tirer profit de la présence de ces éléments dans leur environnement (Ledin, 2000).

10). Porté hors cellule

C'est le système d'efflux qui permet de réduire l'accumulation intracellulaire de métaux Lourds. Par exemple chez les procaryotes, il existe une pompe à cadmium codée par le gène YCF1 Qui permet d'expulser les métaux or cellule (Li et al., 1997).

11). Réduction

C'est un procédé utilisé par divers micro-organismes pour éliminer les métaux, il se fait par La réduction du métal jusqu'à un état d'oxydation moins toxique. Pour être réduit, le métal doit Posséder un potentiel redox compris entre celui des couples hydrogène/proton (-421 mv) et Oxygène/hydrogène (+808 mv), ceci représente l'échelle physiologique redox pour la plupart Des cellules aérobies. Ainsi, la réduction est nécessairement couplée à la séquestration de l'ion Réduit (Nies, 1999).

12). Plasmides et transposons

En effet, la résistance aux métaux lourds chez les bactéries peut résulter de l'acquisition de systèmes spécifiques qui permettent à la bactérie de rejeter les métaux indésirables hors de la cellule. Un exemple de cela est observé chez *E. coli* et *S. aureus* avec l'arséniate, qui agit généralement comme un analogue du phosphate et est transporté à l'intérieur de la cellule par les transporteurs de phosphate. La résistance à l'arséniate est augmentée par l'acquisition d'une ATPase codée par un plasmide, ce qui permet d'expulser l'arséniate hors de la cellule.

Il est probablement assez courant dans la nature, en particulier à proximité des régions minières et des sites de déchets industriels, de trouver une sélection spontanée de souches bactériennes hautement résistantes à des concentrations élevées de métaux lourds. Ces environnements contiennent des concentrations élevées de métaux toxiques, ce qui crée une pression sélective sur les bactéries pour développer des mécanismes de résistance afin de survivre et de se reproduire dans ces conditions défavorables.

L'acquisition de gènes de résistance aux métaux peut se produire par différents mécanismes, tels que la conjugaison, la transformation ou la transduction, qui permettent le transfert

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

horizontal de gènes entre les bactéries. Cela permet la propagation rapide des mécanismes de résistance dans les populations bactériennes, ce qui contribue à l'émergence de souches résistantes aux métaux (Chennouf et Siradj, 2008)

13). EFFETS SUR LA CELLULE BACTERIENNE

Les microorganismes sont les premiers organismes à être influencés par la toxicité des métaux lourds (Giller et al., 1998). Ces composés peuvent avoir divers effets néfastes sur les microorganismes, tels que l'allongement de la phase de latence (Morozzi et al., 1982), l'inhibition des activités enzymatiques (Nweke et al., 2007), l'altération de la structure de l'ADN (Bruins et al., 2000 ; Rathnayak et al., 2009), la modification de la composition et de la structure des populations microbiennes (Kozdroj et van elsas, 2001), ainsi que la réduction de la diversité microbienne (Sandaa et al., 1999). Ces effets peuvent compromettre la fertilité des écosystèmes et menacer leur pérennité, étant donné le rôle clé des bactéries dans l'environnement.

Face à la présence abondante de métaux lourds dans l'environnement, les bactéries ont développé plusieurs mécanismes qui leur permettent de persister et de croître. Ces mécanismes de résistance aux métaux lourds sont souvent véhiculés par des plasmides, qui sont des éléments génétiques autonomes présents dans les bactéries. Les plasmides portent des gènes de résistance aux métaux lourds qui confèrent aux bactéries la capacité de tolérer et de détoxifier ces composés toxiques. Ces gènes peuvent coder pour des systèmes de transport actifs qui expulsent les métaux hors de la cellule, des enzymes de détoxification qui modifient les métaux pour les rendre moins toxiques, ou d'autres mécanismes de résistance spécifiques.

La présence de plasmides portant des gènes de résistance aux métaux lourds permet aux bactéries de survivre et de se reproduire dans des environnements contaminés par ces métaux. Cependant, la dissémination des plasmides de résistance aux métaux lourds peut également contribuer à la propagation de la résistance dans les populations bactériennes, ce qui peut poser des problèmes en termes de santé humaine et d'environnement, car cela peut favoriser l'émergence de souches bactériennes résistantes aux traitements antimicrobiens (Silver, 1996).

14). Résistance des bactéries aux métaux lourds

- Notion de toxicité, résistance et tolérance.

Une substance est dite toxique lorsque mise en contact avec un organisme vivant, elle peut entraîner chez lui une réaction spécifique ou un stress compromettant la réalisation de ses

SYNTESE BIBLIOGRAPHIQUE

fonctions physiologiques au point d'avoir des effets néfastes sur lui-même et sur sa progéniture (Sasseville, 1980).

Dans la littérature scientifique courante, se rapportant à la croissance ou à la survie des microorganismes en présence de certaines concentrations en métaux lourds, on parle souvent soit de tolérance soit de résistance. Il est très difficile de distinguer une différence entre les deux termes. Cependant, le Conseil de la Recherche National de Canada définit globalement résistance et tolérance comme " la capacité d'un organisme à diminuer sa réponse face à un composé chimique relatif auquel il a été exposé précédemment" (Wright and Welbourn., 2002).¹⁰

Pratiquement ou techniquement, la résistance, la sensibilité et/ou la tolérance à un composé inhibiteur ou toxique donné, chez une population bactérienne, peuvent être visualisés en traçant la courbe de distribution d'une population de souches bactériennes (%) en fonction des concentrations minimales inhibitrices (CMI) aux métaux lourds correspondantes. La forme de cette courbe renseigne si cette population présente ou non une communauté tolérante.

Si la courbe est de type modale, la population présente trois communautés (sensible, tolérante, résistance). Par contre, si elle est de type bimodale, cette population ne présente que deux communautés (sensible, et résistante).

15). Les espèces microbiennes

La résistance aux métaux lourds dans un environnement donné dépend aussi bien des types microbiens, des genres et des espèces testées. Bachich and Stotzsky (1977a) remarquèrent, en général, que les actinomycètes sont plus tolérants au cadmium que les eubactéries, les eubactéries à Gram négatif sont elles mêmes plus tolérantes que les eubactéries à Gram positif. De même, la résistance au cadmium chez les actinomycètes, les bactéries à Gram positif et à Gram négatif varie en fonction des genres et des espèces.

Par ailleurs, certaines communautés bactériennes tolèrent plus que d'autres les environnements contaminés par les métaux lourds. Ainsi les bactéries à Gram négatif sont plus répandues que les bactéries à Gram positif dans les sols contaminés par les métaux lourds (Pennanen *et al.*, 1996).

16). Mécanismes de résistance aux métaux lourds

La résistance bactérienne aux ions métalliques est le résultat d'une évolution probablement due à la dispersion des métaux par des événements géologiques. Deux termes couramment

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

utilisés pour décrire le transport des ions métalliques à travers une cellule sont l'absorption et l'efflux. L'absorption fait référence à l'entrée des ions toxiques dans la cellule, tandis que l'efflux décrit l'expulsion de ces ions par la cellule.

La résistance à un métal donné peut être soit inductible, c'est-à-dire que son expression est activée en réponse à la présence du métal, soit constitutive, ce qui signifie que la résistance est constamment présente dans la cellule. Certains systèmes d'absorption des ions métalliques sont rapides, non spécifiques et dépendent généralement du gradient chimiosmotique à travers la membrane cytoplasmique des bactéries (constitutif), tandis que d'autres systèmes sont plus lents, spécifiques du substrat et utilisent souvent l'hydrolyse de l'ATP comme source d'énergie (inductible). Cependant, cela peut être plus coûteux pour la cellule en termes d'énergie, surtout en cas de privation de nutriments.

Selon Hobman et al. (2007) et Bruins et al. (2000), il existe quatre mécanismes

Principaux de résistance bactérienne aux métaux :

- Exclusion du métal par la perméabilité de la barrière ou maintien de l'ion toxique à l'extérieur de la cellule en réduisant son absorption.
- Pompage par efflux spécifique, qui consiste à éliminer les ions toxiques entrés dans la cellule à l'aide de systèmes de transport de cations ou d'anions. Les pompes à efflux peuvent être des ATPases ou des canaux chimiosmotiques, utilisant l'énergie de l'ATP pour créer un gradient de concentration.
- Séquestration intracellulaire ou extracellulaire des ions métalliques par des composants spécifiques de fixation des métaux tels que la métallothionéine, ou leur ségrégation dans des composés complexes.
- Détoxification enzymatique (oxydoréduction), qui convertit un ion très toxique en un ion moins toxique.

Les deux premiers mécanismes sont regroupés sous le terme "éloignement", car ils maintiennent les métaux à distance des composants cellulaires sensibles, tandis que les deux derniers sont des mécanismes de séquestration. Les environnements riches en métaux exercent des pressions sélectives qui ont conduit au développement de systèmes de résistance chez la

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

plupart des bactéries. Ces systèmes de résistance sont souvent portés par des plasmides, sont très spécifiques et se retrouvent chez presque tous les groupes de bactéries.

Des modifications de la paroi cellulaire, de la membrane ou de l'enveloppe d'un microorganisme sont des exemples d'exclusion des métaux par la barrière de perméabilité membranaire. Ce mécanisme est une tentative de protection des composants cellulaires essentiels sensibles aux métaux. Par exemple, chez *E. coli*, on observe une exclusion du Cu^{2+} résultant d'une altération de la production de la protéine porine au niveau du canal membranaire (Rouch et al., 1995).

17). Relation entre la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds

Il a été constaté que la pollution métallique, notamment causée par des métaux lourds persistants et non biodégradables, peut jouer un rôle important dans la résistance aux antibiotiques. Baker-Austin et al. (2006) ont souligné que la propagation de la résistance aux antibiotiques n'est pas uniquement due à l'utilisation appropriée ou inappropriée des antibiotiques par l'homme, mais peut également être influencée par d'autres activités humaines, telles que la présence de polluants environnementaux.

Des études ont montré que des souches bactériennes à Gram négatif et à Gram positif isolées à partir de milieux contenant des métaux tels que le cobalt, le plomb, le mercure et le molybdène présentaient une résistance à l'ampicilline et au chloramphénicol. Cependant, peu de souches isolées des milieux contenant du plomb ou du molybdène se sont révélées résistantes à la gentamicine (Allen et al., 1977).

Calomiris et al. (1984) ont étudié l'association entre la résistance aux métaux (Hg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Sn^{2+} , Al^{3+}) et la résistance aux antibiotiques chez des souches bactériennes à Gram négatif et à Gram positif en utilisant la technique des répliques. Leurs observations ont montré que la multi-tolérance au Cu^{2+} , au Pb^{2+} et au Zn^{2+} était significativement associée aux souches bactériennes multi-résistantes aux antibiotiques, mais pas aux souches sensibles. De plus, la résistance à la kanamycine était liée à la tolérance au Cu^{2+} , au Pb^{2+} et au Zn^{2+} . Des souches de *Staphylococcus pasteurii* isolées à partir d'un système de distribution d'eau se sont révélées simultanément résistantes au mercure et aux β -lactamines (Faria et al., 2009).

Des études ont également montré que la résistance au mercure chez les souches d'*E. coli* était portée par un plasmide qui codait également pour la multirésistance aux antibiotiques

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

(Harnett et Gyles, 1984). Karbasizaed et al. (2003) ont étudié des souches d'entérobactéries impliquées dans des infections nosocomiales et ont identifié un plasmide conjugatif (>56,4 kb).

Chapitre 3

➤ L'eau est l'une des ressources les plus exposées à la pollution par les métaux lourds qui agissent contre tous les organismes vivants y compris les bactéries présentes dans l'eau

1) Les rejets industriels

Il fait référence à toute matière résiduelle liquide, solide ou gazeuse résultant d'activités industrielles, et indépendamment du fait que les déchets soient classés comme ménagers ou industriels, tout type de déchet peut présenter un risque pour la santé des employés, si des plans d'élimination appropriés ne sont pas en place .

Étant donné qu'un large éventail de déchets peuvent techniquement être classés comme déchets industriels, il est essentiel que vous identifiiez les différents types de matières premières utilisées par votre entreprise, car cela peut vous aider à déterminer le type de déchets qu'ils génèrent et si ces matériaux et leur par -les produits peuvent être réutilisés ou recyclés.



Figure10 : Image montre Les rejets industriel

2) Combien de types de rejets industriels ?

Voici quelques catégories de déchets industriels :

a) Déchets liquides

Des déchets liquides sont générés à la maison et sur le lieu de travail. La plupart des opérations industrielles nécessitent de grandes quantités d'eau, qui peuvent entrer en contact avec des produits chimiques dangereux tels que des matières radioactives, de l'eau sale, des liquides organiques, de l'eau de rinçage, des déchets de détergents et même de l'eau de pluie.

Les déchets liquides industriels qui se déversent dans les mers, les rivières ou les lacs causent une multitude de problèmes environnementaux, en raison de la forte concentration de polluants. Les entreprises et les fabricants sont obligés de mettre en place des installations de traitement des eaux usées, afin d'éviter que l'eau sale ne se répande dans de grandes étendues d'eau, car une eau non traitée peut nuire à l'environnement et, dans des situations extrêmes, à la population environnante.



Figure11 : Image montre Déchets liquides

B. Déchets solides industriel

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Le papier, le plastique, le bois, le carton, les matériaux d'emballage, la ferraille et tout autre déchet solide qui ne peut plus remplir sa fonction prévue sont des exemples de déchets solides industriels. Cependant, ce qui est considéré comme un déchet dans une entreprise peut être utilisé comme matière première dans une autre, et certains déchets industriels sont recyclés pour être réutilisés dans des usines de recyclage.

Vous pouvez réduire considérablement les coûts de nettoyage des déchets en recyclant autant de déchets industriels que possible, et la mise en place de stratégies adéquates d'élimination des déchets contribue à assurer la gestion de vos déchets, et les solutions de traitement des déchets sont aussi écologiques et rentables que possible



Figure13 : Image montre Déchets solides industriel

C. Déchets chimiques

La plupart des activités industrielles génèrent une certaine quantité de déchets chimiques, qui comprennent toutes sortes de déchets inflammables, corrosifs, toxiques et explosifs. L'élimination des déchets chimiques doit être gérée par des experts, car ils contiennent souvent des résidus chimiques toxiques qui nuisent à la vie humaine, animale et végétale

Avec des préoccupations environnementales croissantes, les industries et les entreprises du monde entier sont désormais tenues de suivre l'élimination des déchets industriels et les directives et normes de gestion des déchets, telles que celles publiées par l'Environmental Protection Agency et l'Occupational Safety and Health Administration, et ces déchets doivent être pris en charge par des spécialistes.



Figure 14 : Image montre Déchets chimiques

D. Déchets toxiques industriels

La majorité des déchets chimiques générés par les industries, telles que les laboratoires, les hôpitaux, les usines chimiques, sont toxiques et nocifs. Les déchets toxiques, s'ils ne sont pas traités ou éliminés correctement, peuvent présenter des dangers majeurs pour la santé et l'environnement, c'est pourquoi les directives exigent qu'ils soient traités uniquement par des installations spécialisées et approuvées par le gouvernement.



Figure 15 : Image montre Déchets toxiques industriels

E). Décharge industrielle :

signifie l'acte d'introduire ou de déposer des déchets provenant de toute source non domestique dans un égout public, un égout privé ou un égout latéral affluent du système d'égouts de la ville. Ces sites sont fréquemment contaminés par un mélange de composés organiques très

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

Complexes comme par exemples les huiles minérales ou les solvants industriels. A cela S'ajoutent des polluants inorganiques comme les métaux lourds.



Figure 16 : Image Montre Décharge industrielle montre le

➤ La nécessité de dépolluer les sites contaminés a conduit au développement de nouvelles technologies de l'environnement qui ont pour objectif de détruire les composés xénobiotiques plutôt que de les accumuler dans les décharges. La bioremédiation est une option qui offre la possibilité de détruire ou de rendre moins toxiques les polluant, en utilisant des activités biologiques naturelles. Les microorganismes sont utilisés depuis environ un siècle pour le traitement des eaux usées et des composts. Ce qui est nouveau c'est l'utilisation de ce procédé microbiologique pour nettoyer les sols, les eaux souterraines, les estuaires etc. Les systèmes sont différents en raison de la nature du polluant et du milieu où se déroule la dégradation.

3) Dépollution des eaux usées et des effluents industriels

Dans les stations d'épuration, ce sont des microorganismes qui retirent des eaux usées les polluants les plus courants, avant qu'elles ne rejoignent la rivière, le lac ou la mer.

Les pollutions croissantes (dues à l'industrie et à l'agriculture) nécessitent le développement de procédés capables d'éliminer des polluants spécifiques comme l'azote, le phosphore, les métaux lourds et les composés chlorés.

Selon la vieille méthode des boues activées, les eaux usées passent dans un premier bassin dit biologique, où un agitateur mécanique brasse les boues (mélange de biomasse, de polluants et de débris) pour les maintenir en suspension et stimuler la biodégradation du substrat. Les bactéries se développent librement dans ce bassin où les effluents sont fournis de manière continue et les boues se décantent. L'eau est alors libérée dans la nature (et utilisée) alors que les boues sont maintenues dans ce bassin biologique.

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

Plusieurs dizaines d'espèces bactériennes, en particulier du genre *Pseudomonas*, peuvent dégrader les polluants organiques. Ces organismes hétérotrophes se reproduisent très vite et les boues sont renouvelées au bout de 2 à 10 jours. En revanche les *Nitrosomas*, qui transforment en nitrite les fortes concentrations d'ammoniac des eaux résiduaires et les

Nitrobacters qui convertissent ces nitrites en nitrates ont un faible taux de croissance. Pour

laisser à ces bactéries le temps d'opérer, on ne peut renouveler les boues qu'en 20 jours environ.

A la place des cultures libres, les professionnels développent depuis quelques années des cultures de bactéries sur des supports minéraux fixes ou sur des supports mobiles constitués de billes de polystyrène en suspension. Le recyclage des déchets en produits utiles peut réduire les coûts du traitement des eaux usées. Par exemple, grâce à des bactéries utilisant le soufre dans leur métabolisme, les métaux lourds et les composés soufrés, présents dans les eaux usées peuvent être retirés puis réutilisés. La production d'aliments pour les animaux à partir la biomasse de champignons qui demeure après l'extraction de la pénicilline en est un autre exemple. Enfin la plupart des systèmes de traitement des eaux usées produisent un gaz utilisable (biogaz).

4) Qu'est-ce que la bioremédiation ?

La bioremédiation consiste en la dépollution de milieux contaminés en utilisant des techniques basées sur la dégradation des polluants par voie chimique ou par l'activité des organismes vivants.

Les milieux qui peuvent être décontaminés par la bioremédiation sont les sols pollués et les eaux de surface ou souterraines.

Ce procédé s'appuie sur la capacité naturelle des organismes vivants à dégrader des molécules organiques qui présentent un risque pour l'environnement. Les organismes employés sont des micro-organismes tels que les bactéries et les champignons. Ces micro-organismes sont soit indigènes (présents naturellement dans le sol pollué) soit exogènes (ajoutés par injection dans le sol pollué).

La bactérie va alors dégrader et modifier la composition chimique de la substance contaminant tout en consommant l'oxygène et les nutriments pour se développer.

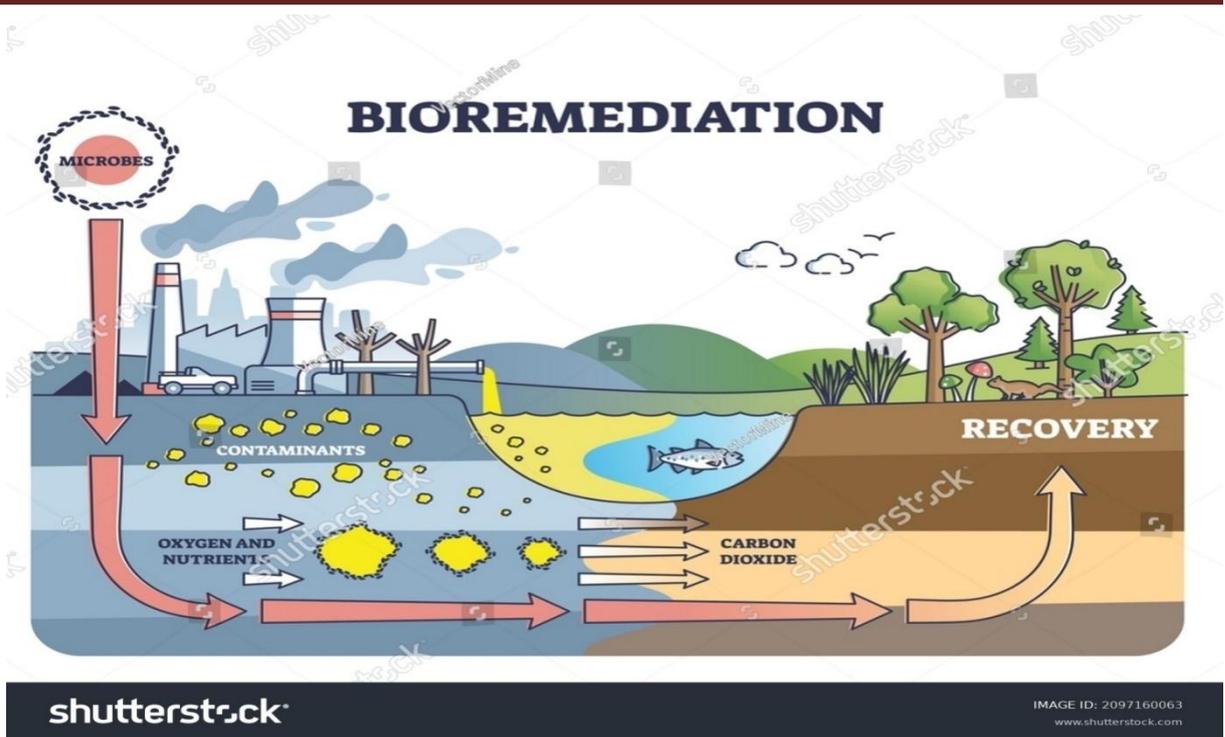


Figure 17 : schéma montre le processus de bioremédiation

5) Principe de la bioremédiation

Le procédé de la bioremédiation consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes, la plupart des temps microscopiques (bactéries, microalgues, Champignons), à dégrader les polluants en composés inertes, comme l'eau et le gaz Carbonique. Ces organismes peuvent être indigènes (déjà présents dans la zone polluée), ou Exogènes (ajoutés au milieu), ou encore être prélevés sur le site contaminé, cultivées au Laboratoire puis réintroduits dans le sol (bio augmentation). La bioremédiation se déroule Généralement en condition d'aérobie, cependant l'application de systèmes de bioremédiation En condition d'anérobie permet la dégradation d'un certain nombre de molécules Récalcitrantes. Les principales technologies utilisées dans la bioremédiation sont les Suivantes :

➤ La bio augmentation :

Cette technologie consiste à introduire des cultures de microorganismes à la surface du milieu contaminé dans l'objectif d'augmenter la biodégradation des contaminants organiques.

Généralement les microorganismes sont sélectionnés sur la base de leur aptitude à dégrader Les composés organiques présents dans le site à dépolluer. La culture peut comprendre une ou Plusieurs espèces de microorganismes. Des éléments nutritifs sont généralement apportés dans La solution contenant les microorganismes. Cette suspension de microorganisme est apporté

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

à La surface du sol dans les conditions naturelles ou injecte dans le site contaminé sous pression. Cette technologie est largement utilisée pour décontaminer les sites contenant des Hydrocarbures : Les microorganismes choisis sont des bactéries dotées d'une grande capacité De digestion de ces hydrocarbures.

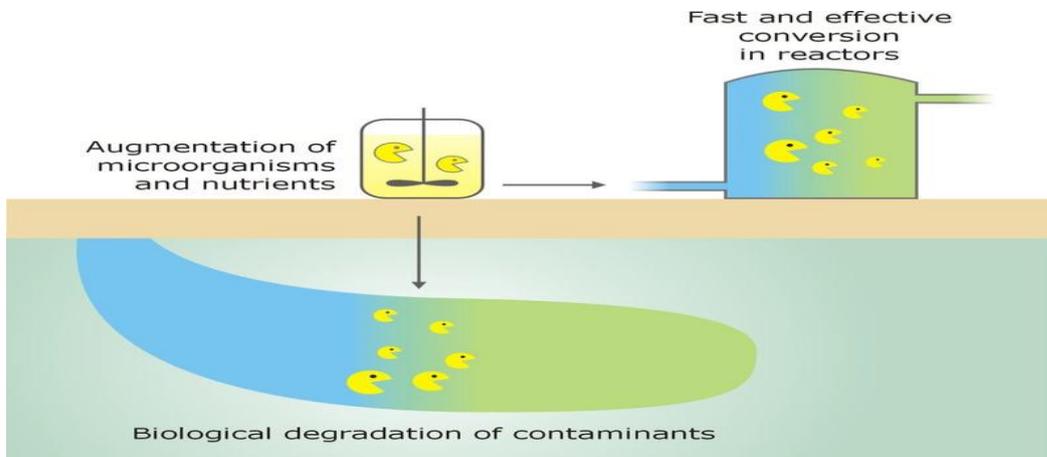


Figure 18: Schéma montre la technologie de bioaugmentation

➤ La biofiltration

consiste à l'utilisation d'un biofiltre pour traiter les émissions gazeuses : Le principe consiste à utiliser des microorganismes pour dégrader les polluants contenus dans l'air à traiter : la phase aqueuse (l'air contaminé) est mise en contact avec une phase aqueuse dans laquelle se développe la population microbienne, connue aussi sous le nom de la biomasse. Dans une unité de biofiltration, l'air à épurer (à dépolluer) traverse d'abord un filtre et un humidificateur afin de supprimer les particules (poussières, graisses) présentes dans le gaz et d'amener le niveau d'humidité à 100%. L'air est ensuite introduit dans un réacteur (une cuve) contenant un garnissage formé de matériaux très poreux (très avide pour l'humidité). A la surface des particules qui constituent le garnissage se trouve un biofilm qui correspond à une pellicule d'eau contenant des microorganismes (bactéries et champignons) dont la fonction est de dégrader les polluants présents dans l'air à traiter.

Cette technologie est par exemple utilisé pour traiter l'air polluer par le xylène ou par des Composés azotés .

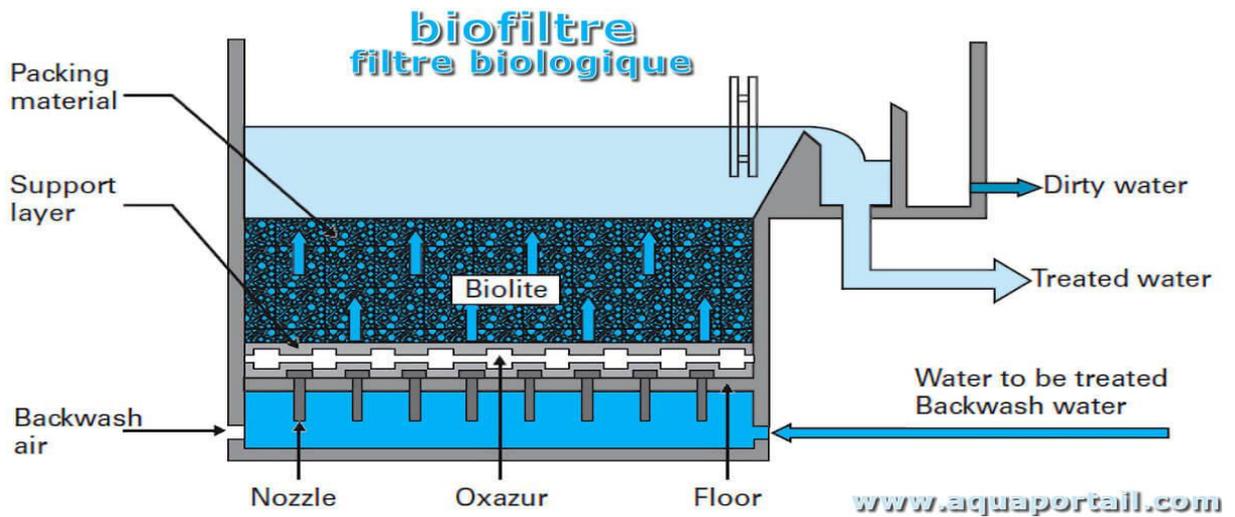


Figure19 : Schéma montre la technologie de biofiltration

➤ La bio stimulation

Cette technologie consiste à stimuler l'activité des populations Microbiennes indigènes (présentes dans le sol ou dans les eaux souterraines) par apport de Nutriments et par ajustement des conditions du milieu (potentiel d'oxydo-réduction, Humidité).

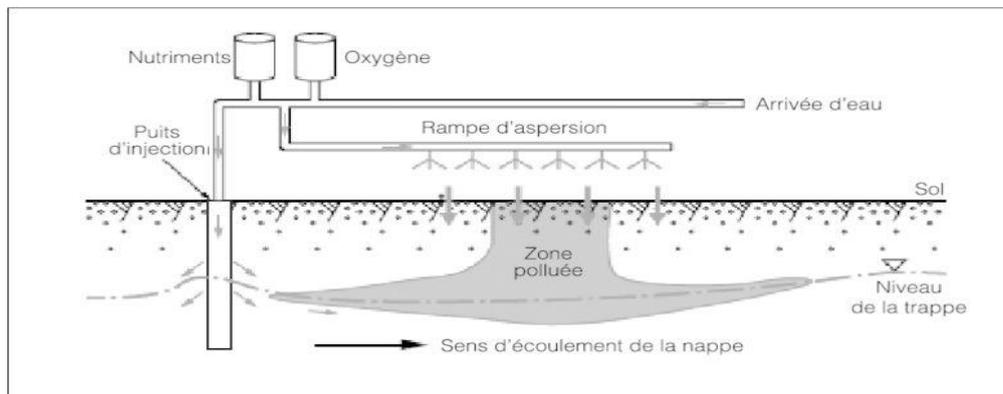


Figure 20: Schéma montre la technologie de biostimulation

➤ La biolixiviation

C'est la lixiviation favorisée par la voie biologique (généralement Bactérienne). Elle correspond à une méthodologie de solubilisation des métaux lourds grâce à Des bactéries acidophiles fonctionnant en présence ou en l'absence d'oxygène. Deux facteurs Sont importants pour la biolixiviation : la température qui doit être comprise entre 25 et 35 °C. La taille des particules qui doivent être très proches de celle des bactéries.

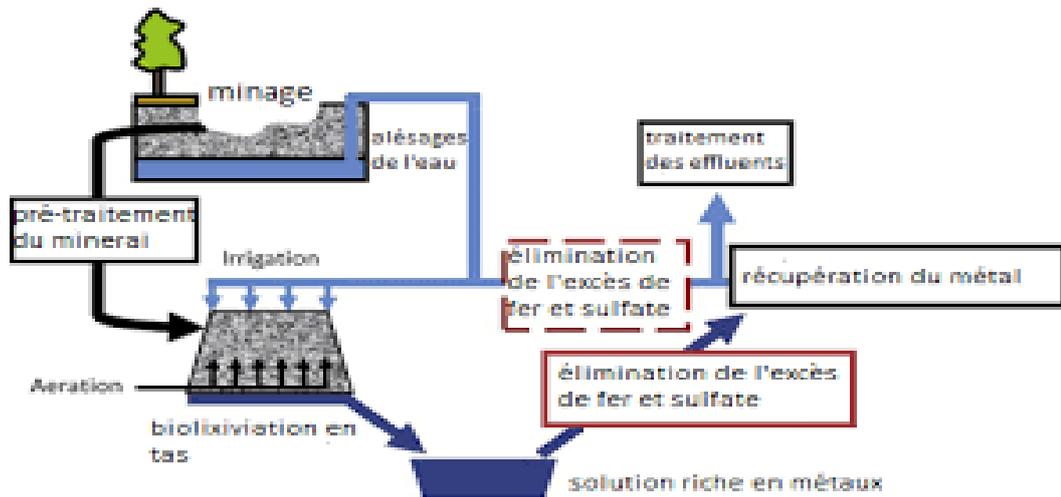


Figure21 : Schéma montre la technologie de biolixiviation

6) Les microorganismes utilisés en bioremédiation

Ils proviennent de milieux très variés et peuvent vivre dans des conditions extrêmes : des températures en dessous de 0°C ou au contraire, très élevées, dans des milieux inondés ou en plein désert, en présence d'un excès d'oxygène ou milieu anaérobie. En raison de leur pouvoir d'adaptation, ces micro-organismes sont utilisés pour éliminer les composés xénobiotiques.

Parmi les bactéries aérobies reconnues pour leur pouvoir de dégradation, nous pouvons citer celles appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas* et *Mycobacterium*. Elles peuvent dégrader les pesticides, les hydrocarbures, les alcanes et les composés polyaromatiques. Souvent, elles utilisent le polluant comme source de carbone et d'énergie.

Les bactéries anaérobies sont moins fréquentes que les aérobies. Cependant, elles présentent un grand intérêt dans la bioremédiation des polyphényles polychlorés, du trichloroéthylène et le 1,2 dichloroéthane. Dans tous les cas, l'opération implique le contrôle non seulement de la disponibilité des dépollueurs mais aussi l'ajustement en permanence des conditions de leur efficacité : quantité et type de nutriments, concentration en oxygène, pH, température et salinité.

7) Les stations d'épuration

Une station d'épuration est installée généralement à l'extrémité d'un réseau de collecte des effluents (eaux usées domestiques et urbaines et, par extension, les eaux usées industrielles ou agricoles) et juste en amont de la sortie des eaux qui seront épurées.

Les premiers traitements sont présents dans toutes les stations, ils consistent en :

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

- un **dégrillage** : passage des eaux au travers d'une grille retenant les éléments les plus grossiers qui seront éliminés avec les ordures ménagères.

- un **dessablage, dégraissage, déshuilage** : élimination des sables qui sont déposées et des graisses qui flottent et seront raclées en surface.

Pour enlever les matières restantes, on utilise différents systèmes faisant intervenir :

- des micro-organismes (pour les matières biodégradables),
- et/ou des composés chimiques.

Le schéma ci dessous résume pour le système le plus couramment utilisé les différentes étapes du traitement des eaux



Figure 22 : schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à boues activées

➤ Les systèmes biologiques

a) L'élimination des composés organiques :

Ils utilisent des bactéries aérobies qui dégradent rapidement par voie oxydative les composés organiques contaminant l'eau. Ces micro-organismes ont une activité pratiquement illimitée. Ils sont capables de transformer nombre de molécules organiques ou minérales grâce à leur extrême richesse en enzymes qui catalysent les réactions nécessaires d'une part, à leur respiration, d'autre part à la synthèse de la matière vivante par biodégradation du milieu.

b) L'élimination de l'azote :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

L'azote organique se transforme dans les eaux usées en azote ammoniacal (NH_4^+). L'élimination de l'azote ammoniacal est, le plus souvent, obtenue grâce à des traitements biologiques, de « nitrification-dénitrification ». La nitrification consiste en une transformation, par des cultures bactériennes, de l'azote ammoniacal en nitrates (NO_3), une forme oxydée de l'azote. Une seconde phase, la dénitrification, complète le processus. Les nitrates, sous l'action de bactéries « dénitrifiantes », sont transformés en azote gazeux. Ce gaz s'échappe alors dans l'atmosphère.

c) L'élimination du phosphore :

La déphosphatation biologique consiste à provoquer l'accumulation du phosphore dans les cultures bactériennes des boues. Le rendement moyen est d'environ 60 %. Sur SIG -Beauce les stations d'épuration sont repérées en fonction de leur système d'épuration

d) Les boues activées (BA) :

Dans cette méthode, le traitement des eaux est réalisé par des microorganismes, les bactéries qui se nourrissent de matières polluantes, mais il faut leur apporter de l'oxygène (par des apports d'air) pour leur permettre d'assimiler les polluants. Suivant ce que l'on veut traiter, on utilise différentes bactéries soit pour :

- traiter le carbone (transformer le carbone en CO_2),
- transformer l'azote en nitrates puis les nitrates en azote gaz,
- stocker le phosphore.

La séparation de l'eau traitée de la masse des bactéries (que l'on appelle « boues ») se fait dans un bassin spécifique : le "clarificateur".

Pour conserver un stock constant et suffisant de bactéries dans le bassin de boues activées, une grande partie des boues extraites du clarificateur est ensuite renvoyée dans le bassin



Figure 23 : Image montre le boues activées

e) Le décasteur-digesteur :

Les matières en suspension tombent par gravité, décantation. Les microorganismes se développent naturellement.

f) Les filtres à sable (FS) :

L'eau traverse un massif de sable qui la filtre, des bactéries épuratrices se développent et complètent cette filtration.

g) Les filtres à roseaux :

Les eaux usées sont traitées dans un bassin à deux étages de graviers planté de roseaux. Les bactéries agissent au niveau des graviers, la présence des roseaux permet d'aérer les eaux. Ainsi depuis la route on aperçoit les roseaux de la station de Loury

h) Les procédés biologiques à cultures fixées :

les biofiltres et les lits bactériens

Le principe de ces procédés consiste à faire percoler l'eau à traiter à travers un matériau sur lequel les bactéries se développent constituant alors un biofilm sur ce support.

- lit bactérien (des galets ou des supports alvéolaires) : les eaux usées décantent sur un lit bactérien poreux L'aération est donnée par l'oxygène de l'air. Le biofilm qui se forme se détache et tombe au fur et à mesure de sa formation.

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

- les biofiltres (des argiles cuites, des schistes, du polystyrène, des graviers ou des sables), le développement des bactéries se fait sur des disques. Le biofilm obtenu dans ce cas reste accroché aux filtres.

9) Les traitements physico-chimique:

Ils permettent d'agglomérer les particules par :

- coagulation
- floculation

qui seront ensuite éliminées par décantation ou flottation.

Certaines stations d'épuration n'utilisent que des traitements physico-chimiques (environ une centaine d'unités en France). Elles sont adaptées aux contextes touristiques saisonniers où les variations de charge peuvent être très brutales sur une courte période et permettent d'enlever jusqu'à 90 % des matières en suspension : La pollution dissoute n'est que très partiellement traitée.

Remarque : l'élimination du phosphore se fait par l'adjonction de réactifs, comme des sels de fer ou d'aluminium, et permet d'obtenir une précipitation de phosphates insolubles et leur élimination par décantation. Ces techniques, les plus utilisées actuellement, éliminent entre 80 et 90 % du phosphore, mais engendrent une importante production de boues.

SYNTESE BIBLIGRAOHIQUE

Matériel Et Méthode

Matériel Et Méthode

1) . Collecte des échantillons

Quatre échantillons d'eau usées ont été prélevées à partir de deux fosses de collecte des eaux usées au niveau de deux sites industriels dans le nord-ouest de Saida (zone industrielle) : Usine de détergents ENAD Saïda ($34^{\circ}51'33.0''\text{N} / 0^{\circ}08'41.0''\text{E}$), et usine des produits abrasifs ABRAS Saïda ($34^{\circ}51'53.2''\text{N} / 0^{\circ}08'45.6''\text{E}$) à partir de leurs rejets industriels. Après la collecte, les échantillons ont été transportés à 4°C . Les analyse des échantillons ont été réalisés dès l'arrivée au laboratoire. Pour éviter les contaminations lors du prélèvement, une asepsie locale a été assurée. Un volume de 100ml environ d'eau usée a été recueilli dans des flacons stériles. Ce dernier a été refermé et a été placé dans la glacière. Avant tout manipulation l'eau a été soumis à un examen rapide de T° et pH.

Matériel Et Méthode

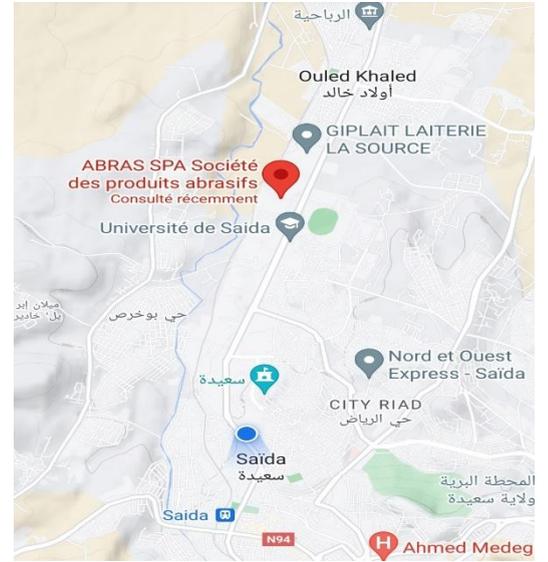
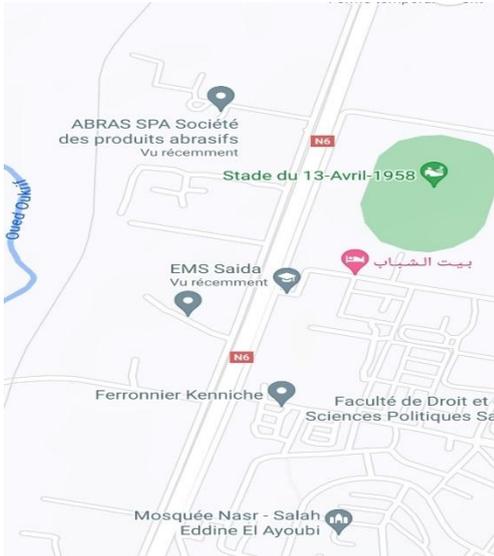


Figure 24 : des image montrent de zone de prélèvement de la région de Saïda

2). Matériels

- Tube a vise
- Les flacons
- Ance de platine
- Les écouvillons
- Les disque
- Les boites pétri
- tubes Eppendorf
- Micropipette
- Thermomètre
- pH-mètre

A. Milieux de culture

- Gélose nutritive (GN)
- Bouillon nutritive (BN)
- Lauria bertani (LB)
- La gélose éosine au bleu de méthylène (EMB)
- Mac conkey
- Chromagar

La composition chimique de ces milieux est décrite dans l'annexe

b. Solutions et réactifs

- Alcool (éthanol)
- Disques d'oxydase
- Acide nitrique HNO₃
- Eau distillée
- Eau b distillée
- Eau physiologique
- Fuchsine
- Huile à immersion
- Solution de Lugol
- Violet de gentiane
- Solution tampon 4,4
- Solution tampon 5,8

Matériel Et Méthode

- Xylénol orange
- diphénylcarbazon

c. Les métaux lourds utilisés

- Sulfates d'aluminium : $Al_2(SO_4)_3$
- Sulfates de cuivre : $CuSO_4$
- $NiSO_4$
- $K_2Cr_2O_7$
- PB
- AG
- CO

d. appareillage

- Agitateur magnétique avec plaque chauffante
- Autoclave
- Bain marie
- Balance de précision
- Etuve
- Microscope optique
- Réfrigérateur
- Spectrophotomètre

- Centrifugeuse

- shaker

3). Isolement et purification des isolats bactériens

Pour l'isolement de la flore autochtone et contaminante des eaux usées, nous avons utilisés plusieurs milieux ; Chromagar (CH), gélose nutritive (GN), Mc conkey (MK), Lauria

Bertani (LB) et La gélose éosine au bleu de méthylène (EMB).

Un millilitre de l'échantillon a été pipeté aseptiquement dans 9 ml d'eau physiologique et des dilutions décimales ont été réalisées (10^{-1} à 10^{-6}). Les dilutions ainsi préparées, un millilitre de la dilution appropriée a été ensemencée en masse et à la surface des différents milieux de culture.

Matériel Et Méthode

Après incubation, huit à dix colonies isolées ont été prélevées aléatoirement de chaque boîte de Petri. Les colonies présentant des aspects morphologiques différenciés selon le Bergey's Manual of Bacteriology ; l'élévation, le pourtour, l'aspect, la pigmentation, le diamètre et l'opacité de la colonie.

Chaque colonie prélevée a été ensuite repiquée en bouillon LB, puis a été incubée sur gélose LB à 37°C.

A ce stade, les isolats bactériens ont été purifiés par isolement par la méthode de stries. L'opération de purification a été renouvelée à deux reprises en prenant chaque fois une colonie bien isolée dans la gélose LB. Ceci nous a conduits à obtenir une culture dont la pureté a été estimée par observation macroscopique et microscopique. Après purification, des répliques de ces isolats ont été conservées.

4). Conservation de courte durée

Le maintien des isolats purs à court terme pour un usage journalier ou hebdomadaire a été effectué sur gélose LB inclinée à une température de +4 C° après elles ont été incubées à 37 °C pendant 16 h. Des cultures ainsi conservées ont été repiquées toutes les trois semaines.

5). Conservation de longue durée

A partir des cultures jeunes (16-18 h) sur milieu liquide qui ont été centrifugées à 4000 rpm pendant 10 minutes. Une fois le surnageant éliminé, le milieu de culture de conservation a été ajouté (bouillon LB additionnée de 30% de glycérol stérile) au culot. Les cultures ont été conservées en suspension dense et en tubes Eppendorf à -20 °C. Accolas et al, (1977) indiquent que des suspensions plus concentrées résistent mieux à la congélation.

6). Identification et caractérisation des isolats bactériens

Cette étude a comporté :

-dans une première étape, une caractérisation microbiologique, biochimique et physiologique des isolats a été effectuée grâce aux différents tests bactériologiques pour caractériser et pré-identifier les isolats selon le genre.

-dans une deuxième étape, l'identification des isolats a été réalisée à l'aide de galeries biochimiques API20E qui peut conduire à l'identification de l'espèce bactérienne.

Matériel Et Méthode

A). Identification phénotypique des isolats bactériens

La caractérisation des isolats a été réalisée selon les caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques.

- Caractères culturels et morphologiques

Après purification, les colonies de cultures pures sur milieu gélosé ont été examinées selon leurs caractéristiques relatives à leur taille, contour, forme, couleur, aspect (brillant, mat, muqueux) ainsi que leur consistance. Cet examen peut être effectué à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire. Par examen microscopique après avoir subi une coloration de Gram. Celle-ci permet, de plus, la mise en évidence de la morphologie et du mode d'association des bactéries.

- Caractères physiologiques

• La thermorésistante (la sporulation)

La croissance bactérienne a été évaluée en bouillon LB, les bactéries ont été incubées au bain marie à 80°C pendant 10 minutes puis refroidi à 4°C et ensuite elles ont été incubées à 37°C pendant 24 à 48h.

- Caractères biochimiques

• Test catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H_2O et O_2 .

Pour mettre en évidence cette enzyme, une partie de la colonie suspecte a été diluée dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame stérile. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase (Delarras Camille, 2007).

• Test oxydase

Ce test est basé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C , cette enzyme oxyde le réactif phénylédiamine pour former un composé coloré en violet.

Préparez une culture pure de la souche de *Bacillus* que vous souhaitez tester. Assurez-vous que la culture est en phase de croissance active. Stérilisez la boucle d'inoculation en la chauffant à la flamme jusqu'à ce qu'elle soit incandescente. Transférez une petite quantité de la culture bactérienne sur une zone du papier filtre en utilisant la boucle d'inoculation stérile. Étalez la culture sur le papier filtre pour obtenir une zone de diamètre d'environ 1 cm. Laissez

Matériel Et Méthode

sécher la culture bactérienne sur le papier filtre à température ambiante. Déposez quelques gouttes de la solution de réactif oxydase sur la zone de culture bactérienne séchée. Le virage de couleur indique que oxydase positive

B). Identification biochimique par le système API20 E

API 20 E est une galerie composée de 20 tests biochimiques, qui représente un grand pouvoir discriminant, ce qui permet la mise en évidence d'enzymes ou de fermentations de sucres. Les tests enzymatiques ont été inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui réhydrate les substrats. Les tests de fermentation ont été inoculés par un milieu API20 E, dans lequel ont été ensemencés la souche à tester. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification du milieu se traduisant par un virage de l'indicateur de pH. Le résultat obtenu permet d'identifier la souche testée. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les résultats ont été interprétés avec le logiciel PIBWin (Probabiliste Identification of Bacteria For Windows) (Trevor, 2010)

7). Criblage

Après purification des isolats pré-identifiés ont été incubés sur milieu **LB** agar additionnée de **200mg** , **300mg** des métaux lourds (Pb, Al, Cr, Cu, Co, Ag, Ni) à **37°C** pendant **24 heures**

Après incubation 24 souches présentant une tolérance aux métaux ont été cribler pour les études de toxicité.

8). Test de toxicité des métaux lourds

Les solutions de métaux lourds ont été préparées dans des flacons en verre stérile rincés par l'acide nitrique **65%** , avec des concentrations de **200 mg** , **300 mg** la méthode de diffusion sur gélose a été réalisée par la formation de puits central de **10mm** au niveau de chaque boîte de pétri de gélose **LB** ; par la suite de **1 ml** de chaque métal a été déposé dans le puit en confrontation avec six souches ajustées à 0,5 Mc Farland ensemencées à la surface de chaque boîte de pétri puis incubées à **37°C** pendant 24h

Après incubation les diamètres de croissance des colonies et le pourcentage de la croissance ont été mesurés.

Matériel Et Méthode

9). Test de sensibilité :

Selon la méthode de Kirby-bauer modifiée. Dix souches performantes par leur tolérance aux toxicité ont été sélectionnées pour être testé envers les sept métaux lourds, dont les concentration choisi sont : **1, 1.5, 2, 2.5, 3 mM, 200 mg, 300mg** .

Les souches bactériennes ont été suspendu dans le bouillon LB et incubées à 37 °C pendant 24h, Après incubation, Les souches ajustées à 0,5 Mc Farland ont été étalés par écouvillonnage sur gélose LB. Des disques de papier wattman stérile de 5mm de diamètre ont été déposés stérilement à la surface de gélose **LB**, puis les disques ont été imprégnés par 2 μ L de chaque concentration de cations métallique. Toutes les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24h.

10). La résistance multiple de métaux lourds (MMR)

La méthode utilisée a été inspiré de la méthode de la résistance multiple d'antibiotique de krumperman,1983 selon l'équation suivante :

$$MMR=a\backslash b$$

a: nombre de cation métallique résistante par la souche

b: le nombre total des cations métalliques testées

Une équation similaire a été appliquée par Matyar 2008 et Kimiran-Erdem 2015

11). La cinétique de croissance des souches tolérantes

La cinétique de croissance des souche en présence de métaux lourdes A partir des cultures jeunes ajusté à **0,5 Mc Farland**. Les flacons en verre contenant **100ml** de bouillon **Lb** contenant les différentes concentrations de cations métalliques : **1, 1.5, 2, 2.5, 3 mM** ont étéensemencés de l'ordre de **1%** par les cultures sélectionnées ajustées

-ces dernières ont été incubées dans un incubateur **shaker avec** les paramètres suivants : **37°C, 120 rpm** pendant **7 jours** avec un témoin négatif (bouillons LB + cation métallique) et avec témoin positif (bouillons LB +la souche)

-Un suivi cinétique de la croissance a été vérifié chaque jour par la mesure de la densité optique à **600nm**.

La concentration de chaque cation métallique a été mesurée chaque jour on se référant à la droit d'étalonnage spécifique.

Résulta discussion

Résulta Discussions

1). Prélèvement

Dans ce travail 4 échantillons d’eau usée des rejets industriels provenant de la zone industrielle de Saida ont été examinées a fin d’isolée les bactéries tolérantes aux métaux lourds.

Le tableau N° 01 regroupe les caractéristique des échantillons d’eau usée de rejets industriels. La mesure du pH affiche des valeurs allant de 7 à 7,2 et la température était comprise entre 0,9 et 1,6°C (tableau N°03)

Tableaux 03: Les caractéristiques des échantillons d’eau usées prélevées

Les sites	Les échantillons	pH	Temperature
Site 1 (ENAD)	E1	7,11	1,6°C
	E2	7,09	1,6°C
Site 2 (ABRAS)	E1	7,0	0,9°C
	E2	7,2	0,9°C

2). Isolement et caractérisation morphologique

Les différents échantillons ont été dilués à 10^{-6} et ensemencer à la surface des géloses EMB, Chromagar, GN et Mc Conkey solide puis incubées à 37°C pendant 24h à 48h.

Après incubation, les boîtes de Pétri ont été examinées. Ainsi, 8 à 10 colonies ont été prélevées aléatoirement selon leur apparence macroscopique.



Figure 25 : Image montrant l’apparition des isolats sur gélose Chromagar

Résulta Discussions

L'aspect macroscopique des 43 souches isolées à partir de 04 échantillons d'eau usée conduisant à les différenciées sur milieu LB, EMB comme des colonies petites (0.5 - 1.5mm), rondes, blanches (Figure 25). Par contre, sur milieu Chromagar apparaissent Beiges, bleu et grenat (Figure 25). L'observation microscopique montre que les cellules sont Gram positive, catalase positive, oxydase positive avec une forme bacillaire associées en paires ou en courtes chainettes, contenant une spore centrale, terminale ou subterminale (Tableau ???).

3). Purification des isolats bactériens

Une fois l'isolement des isolat bactérienne, l'opération de purification par la méthode de strie a été renouvelée jusqu'à l'apparition des colonies identiques avec une même taille, couleur, aspect morphologique (Figure 26)



Figure 26 : Image montre la Purification des isolats bactériens

4). Pré-identification des souches bactériennes tolérantes aux métaux lourds

Pour caractériser les différentes espèces qu'elles appartiennent les isolats, les caractères physiologiques et biochimiques ont été examinés.

Pour déterminer le genre des isolats bactériens isolés, les critères suivants sont examinés : Coloration de Gram, test catalase, test oxydase, fermentations des sucres avec la production du gaz, et la thermorésistance.

L'isolement de plus de 80 isolats bactériens a permet de caractériser 43 souches Gram positif), catalase positive, oxydase positive, fermente tous les sucres des milieux TSI et Kligler avec production de gaz

Résulta Discussions

Tableau 04 : Les caractères macroscopique des colonies bactériennes en présence des cations métalliques

colonie	Cr	Cu	Co	Ni	Al
1	colonie blanche	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie jaune + brillante
2	colonie blanche				
3	colonie blanche rhizoïde	colonie blanche	colonie jaune + brillante	colonie blanche	colonie blanche
4	colonie beige + brillante				
5	colonie blanche	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie blanche	colonie blanche
6	colonie beige + brillante				

Résulta Discussions

7	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante
8	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante
9	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante
10	colonie beige brillante	colonie jaune brillante	colonie jaune brillante	colonie jaune brillante	colonie jaune brillante
11	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante
12	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante
13	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante
14	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante

Résulta Discussions

15	colonie beige brillante	colonie beige brillante	colonie jaune brillante	colonie jaune brillante	colonie beige brillante
16	colonie beige + brillante				
17	colonie beige + brillante				
18	colonie beige + brillante				
19	colonie beige + brillante				
20	colonie beige + brillante				
21	colonie beige + brillante				
22	colonie beige + brillante				
23	colonie beige + brillante				

Résulta Discussions

24	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie jaune brillante	colonie beige + brillante
25	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche	colonie maron
26	colonie beige avec noirissement	colonie beige avec noirissement	colonie beige avec noirissement	colonie beige avec noirissement	colonie beige avec noirissement
27	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie beige + brillante	colonie marron
28	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche	Colonie maron
29	colonie beige avec noirissement	colonie beige avec noirissement	colonie beige avec noirissement	colonie beige avec noirissement	colonie beige avec noirissement
30	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche

Résulta Discussions

31	colonie blanche				
32	colonie blanche				
33	colonie beige avec noircissement				
34	colonie blanche				
35	colonie blanche				
36	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche	Maron claire
37	colonie blanche avec noircissement				
38	colonie beige brillante	colonie beige brillante	colonie blanche	colonie maron	colonie beige brillante

Résulta Discussions

39	colonie beige avec noircissement	colonie blanche	colonie beige avec noircissement	colonie blanche	colonie beige avec noircissement
40	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement
41	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement	colonie blanche	colonie beige avec noircissement
42	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement	colonie beige avec noircissement
43	colonie blanche	colonie blanche	colonie blanche	colonie beige avec noircissement	colonie blanche

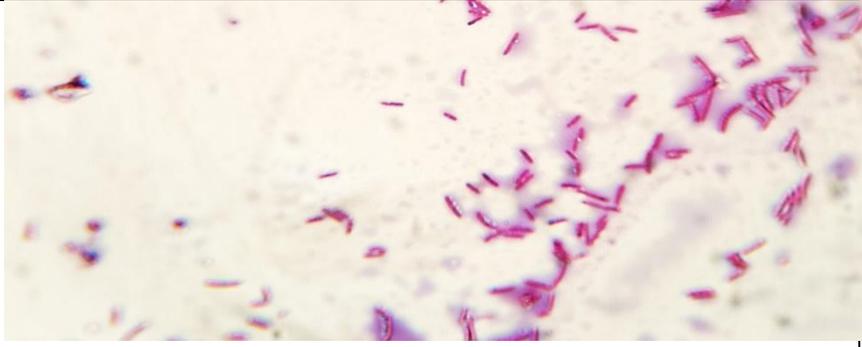
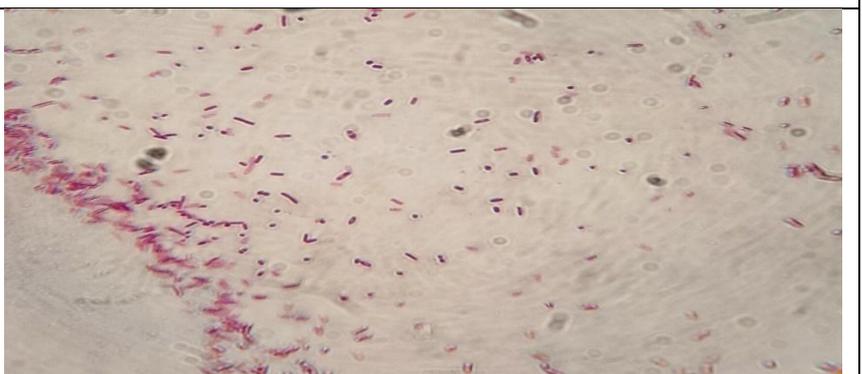
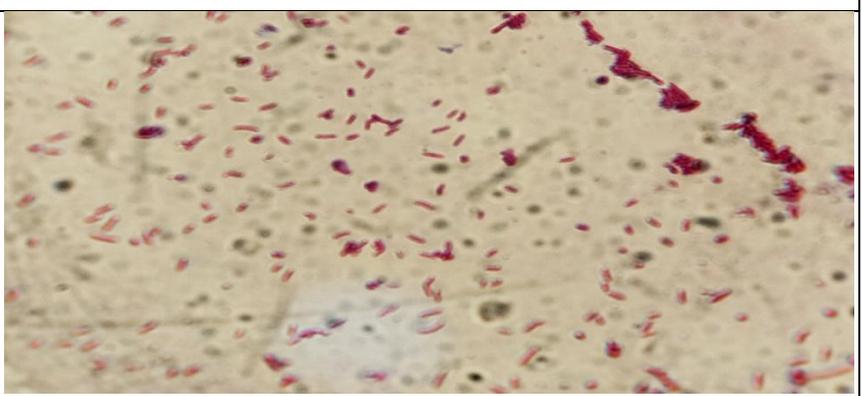
Résulta Discussions

a). Caractères physiologiques :

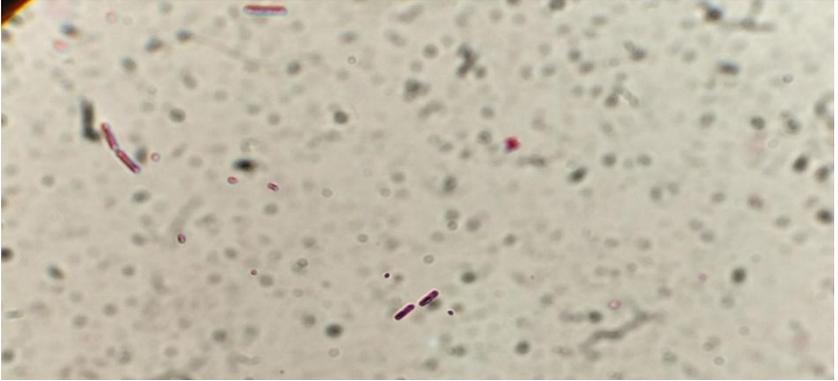
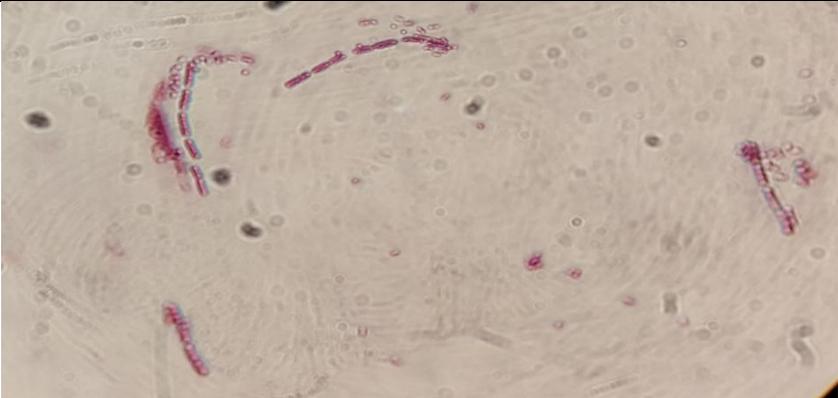
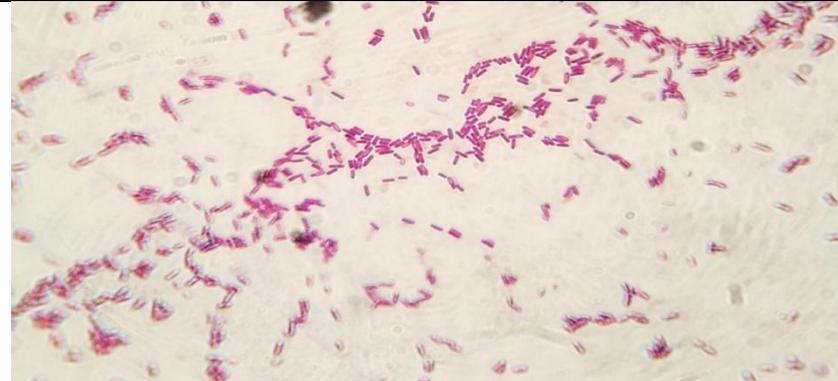
D'après le test de thermorésistance à 80°C pendant 10min, les six souches bactériennes sont sporulés

b). Caractérisation microscopique

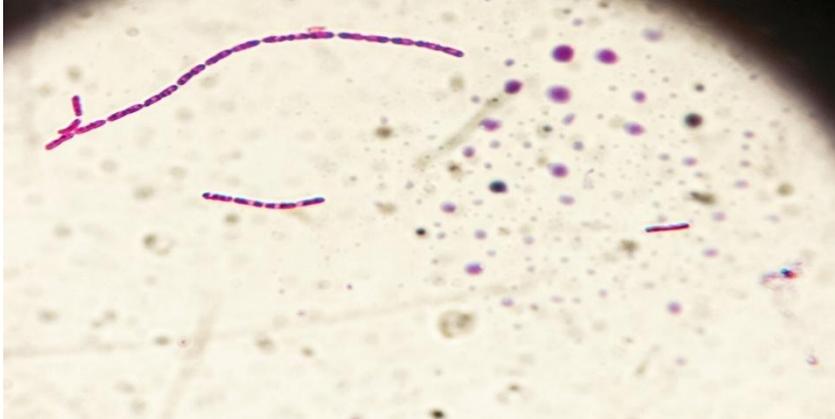
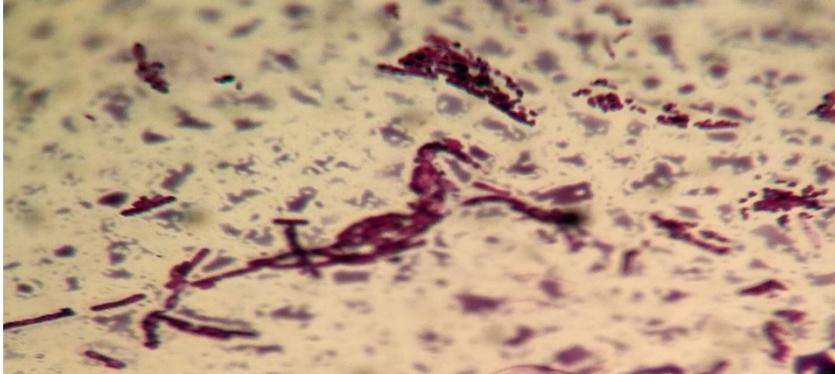
Tableau N°05: Les caractéristiques microscopiques des isolats bactériens

1	Cocobacille Gram + Asporulée	
3	Bacille Gram + spore subterminale	
4	Bacille Gram + spore centrale	
5	Bacille Gram + spore centrale	

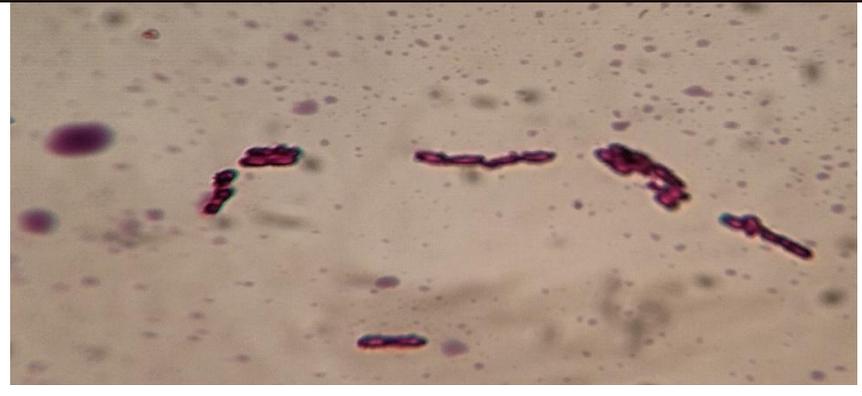
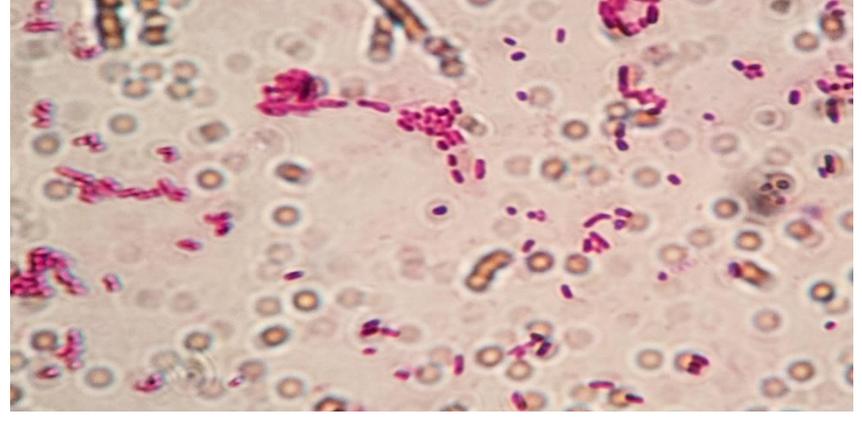
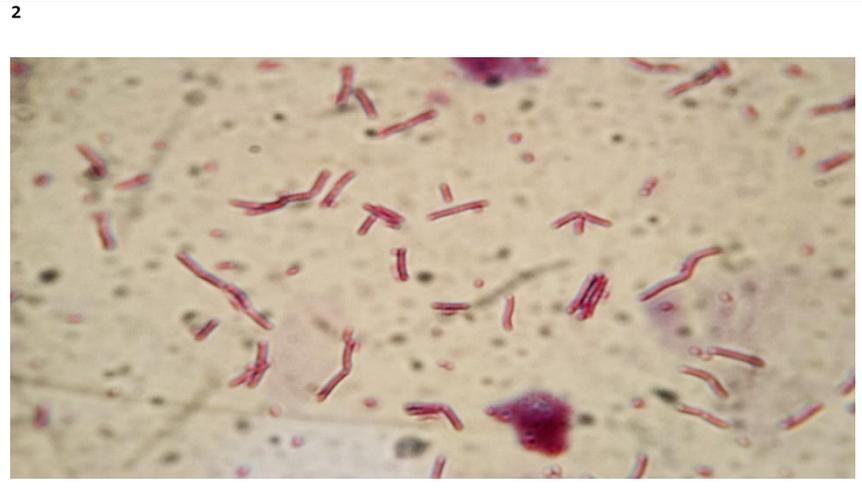
Résulta Discussions

7	Bacille Gram + spore centrale	 Micrograph showing several Gram-positive bacilli with a central spore. The spores are smaller than the vegetative cells and are located in the middle of the bacilli. The background is light pink with some darker spots.
8	Bacille Gram + spore centrale	 Micrograph showing several Gram-positive bacilli with a central spore. The spores are smaller than the vegetative cells and are located in the middle of the bacilli. The background is light pink with some darker spots.
13	Bacille Gram + spore terminale	 Micrograph showing several Gram-positive bacilli with a terminal spore. The spores are smaller than the vegetative cells and are located at the end of the bacilli. The background is light pink with some darker spots.
14	Bacille Gram + spore centrale	 Micrograph showing several Gram-positive bacilli with a central spore. The spores are smaller than the vegetative cells and are located in the middle of the bacilli. The background is light pink with some darker spots.

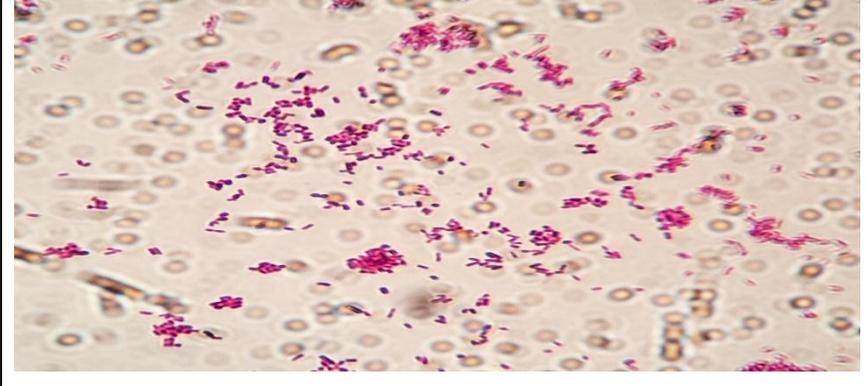
Résulta Discussions

19	Bacille Gram + Spore centrale	 Micrograph showing numerous Gram-positive bacilli (purple) with a central spore (lighter, oval structure) visible within each cell. The background is light pinkish-purple.
22	Bacille Gram + spore centrale	 Micrograph showing several Gram-positive bacilli (purple) with a central spore (lighter, oval structure) visible within each cell. The background is light greyish-purple.
23	Bacille Gram + spore centrale	 Micrograph showing a few Gram-positive bacilli (purple) with a central spore (lighter, oval structure) visible within each cell. The background is light yellowish-purple.
24	Cocobacille Gram + spore centrale	 Micrograph showing Gram-positive cocobacilli (purple) with a central spore (lighter, oval structure) visible within each cell. The background is light yellowish-purple.

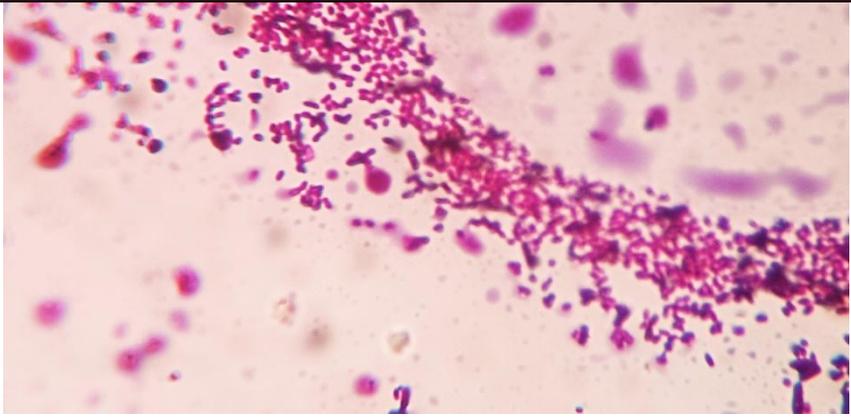
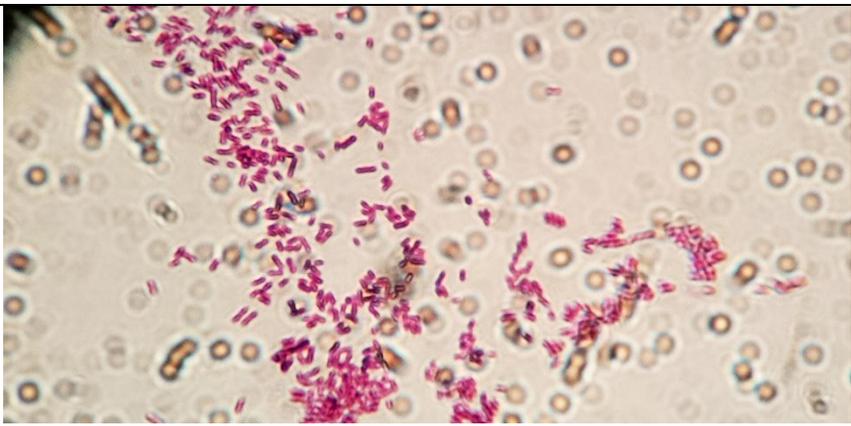
Résulta Discussions

25	Bacille Gram + asporulée	 Micrograph showing several Gram-positive, non-spore-forming bacilli. The bacteria are pinkish-purple, rod-shaped, and appear in small groups and chains against a light background.
26	Cocobacille Gram + centrale et terminale	 Micrograph showing Gram-positive coccobacilli. The bacteria are pinkish-purple, rod-shaped, and appear in small groups and chains. Some bacteria have central and terminal spores, which are darker and more rounded than the vegetative cells.
28	Cocobacille Gram + spore centrale	²  Micrograph showing Gram-positive coccobacilli. The bacteria are pinkish-purple, rod-shaped, and appear in small groups and chains. Some bacteria have a central spore, which is darker and more rounded than the vegetative cells.
31	Bacille Gram + spore centrale	 Micrograph showing Gram-positive bacilli. The bacteria are pinkish-purple, rod-shaped, and appear in small groups and chains. Some bacteria have a central spore, which is darker and more rounded than the vegetative cells.

Résulta Discussions

35	Bacille Gram + asporulé	 Micrograph showing Gram-positive, non-spore-forming bacilli. The bacteria are purple-stained and appear as individual rods or short chains, scattered across the field of view.
36	Bacille Gram + Spore centrale	 Micrograph showing Gram-positive bacilli with central spores. The bacteria are purple-stained, and the spores are visible as clear, circular structures within the rods.
37	Bacille Gram + spore centrale	 Micrograph showing Gram-positive bacilli with central spores. The bacteria are purple-stained, and the spores are visible as clear, circular structures within the rods.
39	Bacille Gram + spore centrale	 Micrograph showing Gram-positive bacilli with central spores. The bacteria are purple-stained, and the spores are visible as clear, circular structures within the rods.

Résulta Discussions

41	Bacille Gram + asporulée	
43	Bacille Gram + spore centrale	

5). Identification biochimique par le système api20 E

Il y avait une similitude de sucre entre la galerie Api20 E et le galerie Api50 CHB qui ont été utilisée pour nous orienter vers le genre 4 bactérie (36, 26, 37, 43). Ces caractères phénotypiques nous orienter vers l'appartenance probable des isolats aux groupes de bactéries telluriques, la résistance à la température permet une pré-identification au genre *Bacillus*.

Résulta Discussions



Figure 27 : Image montre les résultats de la galerie Api 20 E de les quarte souches

6). Criblage des bactérie tolérance aux métaux lourds :

Une fois les analyses physico-chimiques des échantillons d'eau terminées, les recherches se sont concentrées sur l'isolement des bactéries tolérantes et résistantes aux métaux lourds, et ont été sélectionnées un totale de 43 isolats tolérantes ont été criblés et testées sur de la gélose nutritive additionnée de 200mg et 300mg de chaque cations métalliques (Cr, Ag, Pb, Cu, Co, Ni, Al). Vingt-quatre isolats qui ont été sélectionnée sur la base de leur croissance importante, cela implique la croissance de ces isolats est en fonction de leur capacité à surmonter la toxicité des métaux lourds (Figure 28).

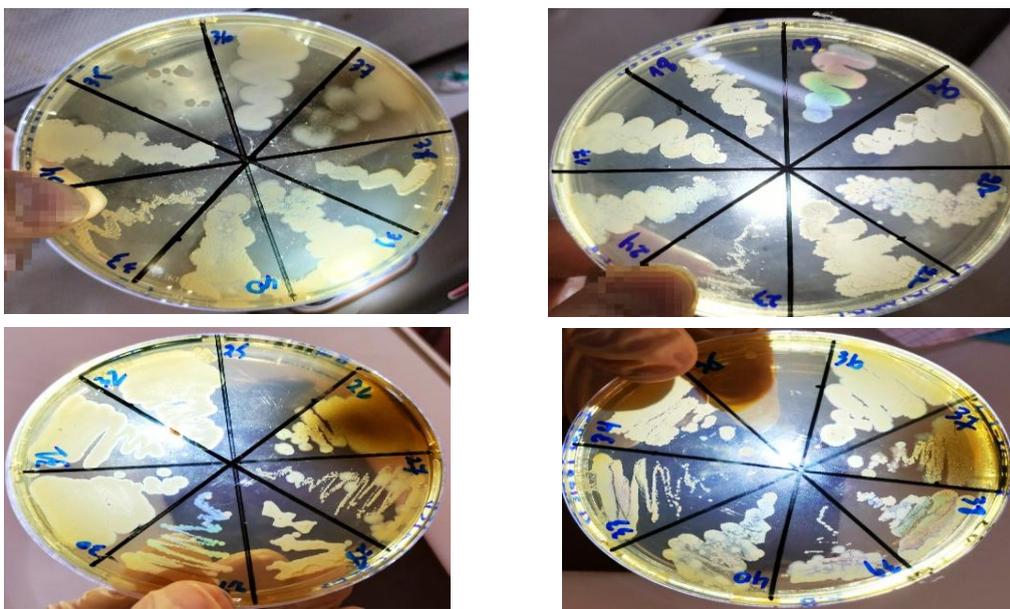


Figure 28: Image montrant la croissance des bactérie tolérantes en présence de métaux lourds a des concentrations de 200mg et 300mg

Résulta Discussions

7). Le test de toxicité:

Les tableaux 06 exposent les résultats du test de toxicité des cations métalliques envers les isolats sélectionnés permettre de visualiser la croissance des bactéries après la diffusion des cations métalliques en un gradient de concentration descendant, montré par la distance entre le puits central rempli par les différents métaux et le début de croissance bactérienne.

Dix souches ont été sélectionnées selon leur résistance envers tous les cations métalliques (6, 11, 17, 19, 24, 26, 32, 37, 39, 43)

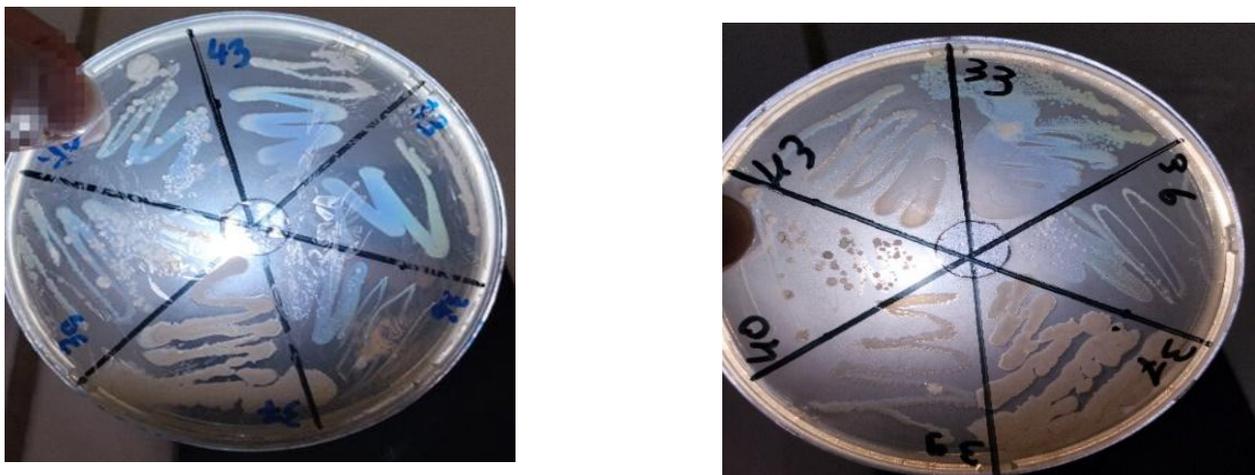


Figure 29 : Image montrant la croissance des isolats bactériens après confrontation directe avec 200mg et 300mg de chaque cation métallique

Tableau 06 : Diamètres d'inhibition des souches sélectionnées suite au toxicité des cations métalliques

Souches	Métal	Témoin	Les concentrations (mM)						
			1	2	3	4	5	6	7
6	Ag	+	T	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	D=7m m	D=7m m	D=10m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm

Résulta Discussions

11	Ag	+	D=4m m	D=10m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	T	T	D=10m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
17	Ag	+	D=4m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	D=6m m	D=6m m	D=10m m	D=10m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
19	Ag	+	D=5m m	D=7m m	D=10m m	D=13m m	D=15m m	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	D=6m m	D=7m m	D=8m m	D=10m m	D=12m m	≥ 25mm	≥ 25mm
24	Ag	+	T	D=10m m	D=11m m	D=14m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	T	T	D=8m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
26	Ag	+	T	D=3m m	D=5m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	T	T	D=7m m	D=10m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
32	Ag	+	T	D=6m m	D=10m m	D=10m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	T	T	D=10m m	D=13m m	D=18m m	≥ 25mm	≥ 25mm
37	Ag	+	T	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	T	T	D=10m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
39	Ag	+	T	D=13m m	D=15m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	T	T	T	T	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm

Résulta Discussions

43	Ag	+	T	D=10m m	D=12m m	D=14m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Cr	+	T	T	T	T	D=12m m	≥ 25mm	≥ 25mm

D : diamètre, T : complètement tolérante

Tableau 07 : Diamètres d'inhibition des souches sélectionnées suite au toxicité des cations métalliques (suite)

			Les concentrations (mM)						
Souch e	Méta l	Témoi n	1	2	3	4	5	6	7
6	Ni	+	T	D=7mm	D=10m m	D=10m m	D=13m m	≥ 25mm	≥ 25mm
	Pb	+	T	T	T	T	T	T	T
11	Ni	+	D=6mm	D=7mm	D=10m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Pb	+	T	T	T	T	T	T	T
17	Ni	+	T	T	D=5mm	D=6mm	D=10m m	D=10m m	D=10m m
	pb	+	T	T	T	T	T	T	T
19	Ni	+	T	T	T	T	T	T	D=8mm
	Pb	+	T	T	T	T	T	T	T
24	Ni	+	D=5mm	D=7mm	D=10m m	D=14m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Pb	+	T	T	T	T	T	T	T
32	Ni	+	T	D=3mm	D=5mm	D=7mm	D=7mm	D=7mm	D=1mm
	Pb	+	T	T	T	T	T	T	T
37	Ni	+	T	T	D=5mm	D=6mm	D=6mm	D=7mm	D=9mm
	Pb	+	T	T	T	T	T	T	T
39	Ni	+	T	T	T	T	T	T	D=10m m
	Pb	+	T	T	T	T	T	T	T

Résulta Discussions

43	Ni	+	T	T	D=10m m	D=10m m	D=13m m	D=14m m	≥ 25mm
	Pb	+	D=13m m	D=14m m	D=14m m	D=14m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm

D : diamètre, T : complètement tolérante

Tableau 08 : Diamètres d'inhibition des souches sélectionnées suite au toxicité des cations métalliques (suite)

			Les concentrations (mM)						
Souche	Métal	Témoignage	1	2	3	4	5	6	7
6	Cu	+	D=3mm	D=5mm	D=7mm	D=10m m	D=13m m	D=15	≥ 25mm
	Al	+	T	D=5mm	D=7mm	D=7mm	D=10m m	D=12m m	D=12m m
11	Cu	+	D= 3m m	D=5mm	D=10m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Al	+	T	D=8mm	D=10m m	D=13m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
17	Cu	+	D=5mm	D=10m m	D=13m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Al	+	D=7mm	D=7mm	D=8mm	D=10m m	D=11m m	D=13m m	D=13m m
19	Cu	+	T	T	D=10m m	D=11m m	D=13m m	≥ 25mm	≥ 25mm
	Al	+	T	T	D=8mm	D=10m m	D=11m m	D=13m m	D=15m m
24	Cu	+	T	D=3mm	D=5mm	D=8mm	D=8mm	D=10m m	D=10m m
	Al	+	T	T	D=5mm	D=5mm	D=7mm	D=8mm	D=12m m
26	Cu	+	T	T	D=8mm	D=10m	D=13m	≥ 25mm	≥ 25mm

Résulta Discussions

						m	m		
	Al	+	T	T	T	D=7mm	D=10m m	D=13m m	≥ 25mm
32	Cu	+	T	T	T	D=10m m	D=12m m	D=15m m	≥ 25mm
	Al	+	T	D=8mm	D=8mm	D=10m m	D=10m m	D=14m m	≥ 25mm
37	Cu	+	T	T	D=10m m	D=11m m	≥ 25mm	≥ 25mm	≥ 25mm
	Al	+	T	D=9mm	D=10m m	D=10m m	D=12m m	D=15m m	≥ 25mm
39	Cu	+	T	T	D=5mm	D=7mm	D=10m m	D=11m m	D=13m m
	Al	+	T	T	D=7mm	D=9mm	D=10m m	D=10m m	D=13m m
43	Cu	+	T	T	D=5mm	D=10m m	D=10m m	D=13m m	D=15m m
	Al	+	T	T	D=5mm	D=9mm	D=10m m	D=10m m	D=15m m

D : diamètre, T : complètement tolérante

Tableau 09 : Diamètres d'inhibition des souches sélectionnées suite au toxicité des cations métalliques (suite)

			Les concentrations (mM)						
Souche	Métal	Témoin	1	2	3	4	5	6	7
6	Co	T	D=5mm	D=7mm	D=10mm	D=11mm	D=12mm	D=13mm	D=15mm
11	Co	T	D=7mm	D=7mm	D=10mm	D=10mm	D=12mm	D=14mm	≥ 25mm
17	Co	T	T	D=5mm	D=7mm	D=9mm	D=10mm	D=12mm	D=13mm
19	Co	T	T	T	D=5mm	D=10mm	D=13mm	D=15mm	≥ 25mm
24	Co	T	T	T	D=10mm	D=11mm	D=15mm	D=15mm	≥ 25mm
26	Co	T	T	T	T	T	T	T	T
32	Co	T	T	T	D=10mm	D=13mm	D=15mm	≥ 25mm	≥ 25mm

Résulta Discussions

37	Co	T	T	T	D=10mm	D=12mm	D=15mm	≥ 25mm	≥ 25mm
39	Co	T	T	T	T	D=7mm	D=8mm	D=10mm	D=10mm
43	Co	T	T	T	T	D=10mm	D=13mm	D=15m	≥ 25mm

D : diamètre, T : complètement tolérante

8). Test de sensibilité

Le test de sensibilité des souches bactériennes, nous a permis de déterminer la concentration inhibitrice des cations métalliques révélée par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques.

Les résultats montrés dans les figures 1,2 et les tableaux 1,2,3 présentent les concentrations inhibitrices de chaque cation métallique avec la souche performante (19-26-37-39) :

Pour le cobalt; la concentration inhibitrice était 1,5 mM avec la souche 39

Pour le Ni; la concentration inhibitrice était 3 mM avec la souche 19

Pour le Al; la concentration inhibitrice était 1,5 mM avec la souche 26

Pour le Cr; la concentration inhibitrice était 1 mM avec la souche 37

Pour le Cu; la concentration inhibitrice était 2 mM avec la souche 43

Et pour le Pb il n'a pas affecté la croissance des bactéries

D'autre part, le test de sensibilité a été utilisé pour classer les bactéries comme :

(A) Sensible, si la croissance bactérienne a été inhibée par la concentration testée, qui se caractérise par une zone inhibitrice supérieure à 18 mm,

(B) Résistant, si la croissance bactérienne persiste en présence d'ions de métaux lourds ; c'est-à-dire : s'ils présentaient une zone inhibitrice inférieure à 13 mm,

Intermédiaire, si la bactérie présente une zone inhibitrice entre 13 et 18 mm, ce qui indique la tolérance bactérienne aux métaux,

(C) Sensible Dose-Dependent (SDD), ce terme est lié aux bactéries sans zone inhibitrice ; cela signifie qu'une concentration plus élevée d'une solution de métaux lourds est nécessaire pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), comme indiqué dans les tableaux 08

Résulta Discussions

La concentration de métal la plus faible, qui inhibe complètement la croissance bactérienne (la présence d'une zone inhibitrice). La plupart des bactéries étaient résistantes au Cr et Ni et Pb et Cu et Co et Al (Figure 30).

il est possible que certaines traces de ce métal migrent vers les eaux naturelles et deviennent une partie du micro biome normal de l'eau.

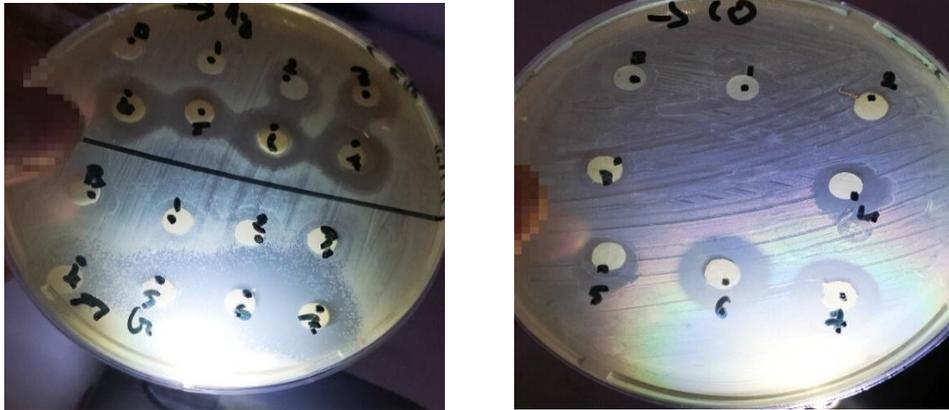
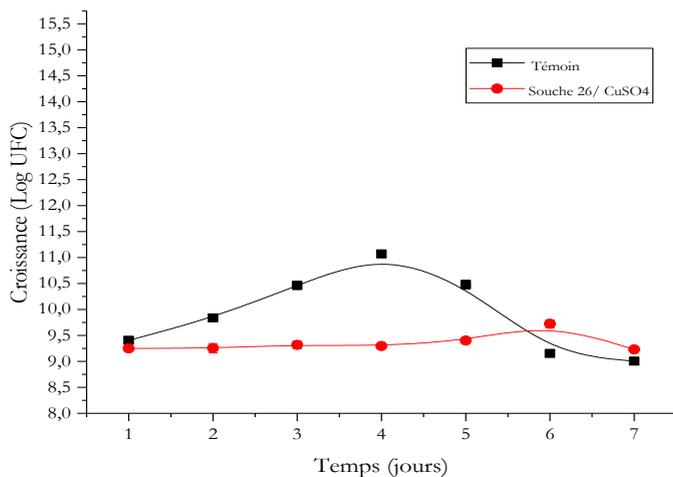


Figure 30: Image montrant la résistance des souches aux différentes concentrations de cations métalliques.

9). Résistance multi-métal (MMR):

Après la diffusion des cations métalliques teste sur la gélose il a été observé que toutes les souches sélectionnée croissent en présence des métal testés avec un indice de multirésistance MMR= 0,857

Cinétique de croissance des souches tolérantes en présence de cations métalliques testées :



Résultats Discussions

Figure 31 : Suivie cinétique de la souche la souche 26 en co-culture avec CuSO_4

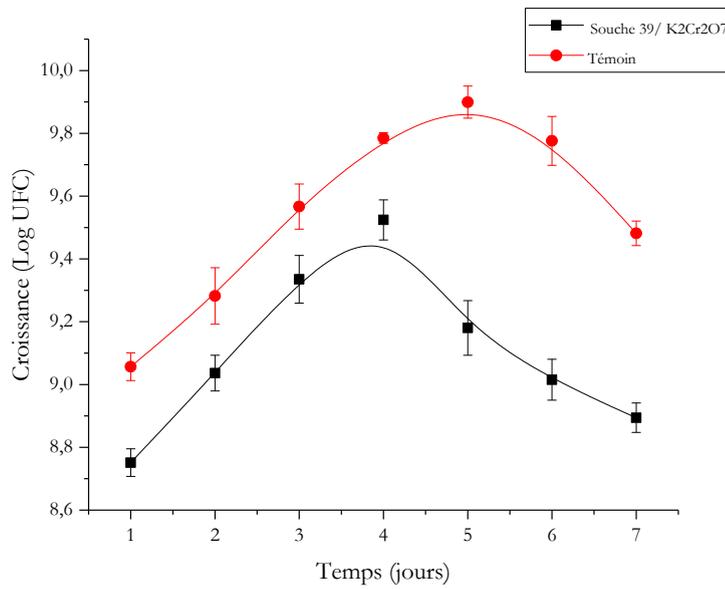


Figure 32: Suivie cinétique de la souche la souche 39 en co-culture avec $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

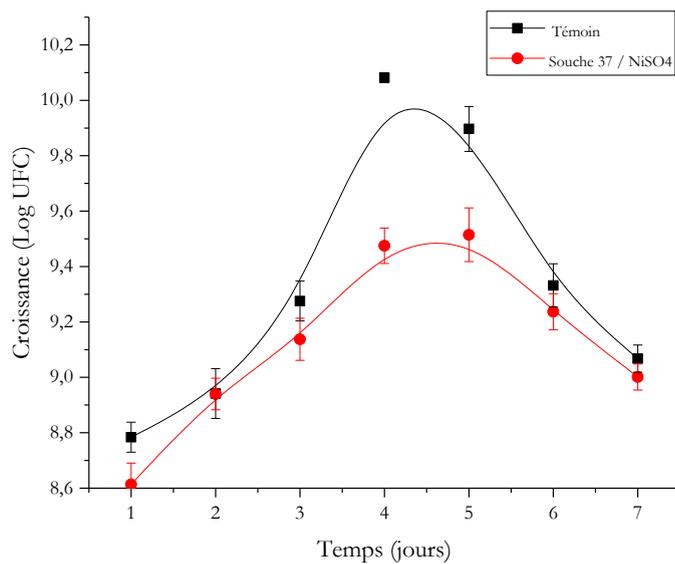


Figure 33 : Suivie cinétique de la souche la souche 37 en co-culture avec NiSO_4

Résulta Discussions

Les métaux lourds sont des éléments tels que le plomb, le mercure, le cadmium, l'arsenic, le cuivre, le zinc, et d'autres, qui peuvent être toxiques pour les organismes vivants, y compris les humains. Les activités industrielles et les pratiques agricoles sont souvent responsables de la présence de métaux lourds dans les eaux usées, ce qui constitue un problème environnemental majeur.

Les bactéries tolérantes aux métaux lourds sont des micro-organismes capables de survivre et de se développer dans des environnements contenant des concentrations élevées de métaux lourds. Elles ont développé des mécanismes de résistance qui leur permettent de détoxifier ces métaux ou de les accumuler sans subir de dommages importants. Ces bactéries peuvent jouer un rôle important dans la bioremédiation des eaux usées contaminées par des métaux lourds.

Plusieurs études récentes ont mis en évidence l'utilisation potentielle de bactéries tolérantes aux métaux lourds dans le traitement des eaux usées. Par exemple, une étude publiée en 2021 par Chai et al. dans la revue *Environmental Pollution* a montré que l'utilisation de bactéries tolérantes aux métaux lourds était efficace pour éliminer les contaminants métalliques des eaux usées industrielles. Les chercheurs ont isolé et identifié des souches bactériennes capables de résister à des concentrations élevées de métaux lourds et ont démontré leur capacité à réduire la toxicité des eaux usées en les détoxifiant.

Une autre étude intéressante a été réalisée par Chen et al. en 2020 et publiée dans la revue *Water Research*. Les chercheurs ont étudié l'utilisation de bactéries tolérantes aux métaux lourds dans un système de bioréacteur pour le traitement des eaux usées contaminées par des métaux. Ils ont constaté que ces bactéries étaient capables d'accumuler les métaux lourds présents dans les eaux usées, réduisant ainsi efficacement leur concentration et leur toxicité.

Ces études démontrent le potentiel des bactéries tolérantes aux métaux lourds dans le traitement des eaux usées contaminées. Leur capacité à détoxifier ou à accumuler les métaux lourds offre des avantages pour la réduction de la pollution environnementale et la protection de la santé publique. Cependant, il convient de souligner que des recherches supplémentaires sont nécessaires pour optimiser les procédés de bioremédiation et pour évaluer les éventuels effets indésirables liés à l'utilisation de ces bactéries.

De nombreuses études récentes ont examiné les différentes stratégies utilisées par ces bactéries pour survivre dans de telles conditions. Par exemple, une étude publiée en 2020 par Li et al. dans la revue *Environmental Microbiology Reports* a identifié une bactérie tolérante au cadmium

Résultats Discussions

isolée à partir d'eaux usées industrielles en Chine. Les chercheurs ont caractérisé les mécanismes moléculaires impliqués dans la tolérance au cadmium de cette bactérie, mettant en évidence l'expression de gènes spécifiques et l'accumulation intracellulaire de cadmium.

Une autre étude intéressante, réalisée par Reis et al. et publiée en 2021 dans la revue *Science of the Total Environment*, s'est concentrée sur les bactéries tolérantes au mercure dans les eaux usées. Les chercheurs ont identifié des communautés bactériennes spécifiques capables de méthyler le mercure, ce qui est une étape clé dans la transformation du mercure inorganique en une forme hautement toxique, le méthylmercure. Cette étude souligne l'importance de comprendre les interactions complexes entre les bactéries tolérantes aux métaux lourds et les métaux eux-mêmes.

En outre, des recherches récentes ont également exploré l'utilisation potentielle de ces bactéries dans des applications de bioremédiation. Par exemple, une étude menée par Wang et al. en 2022 et publiée dans la revue *Frontiers in Microbiology* a examiné l'utilisation de bactéries tolérantes aux métaux lourds pour décontaminer les eaux usées industrielles contenant du cuivre. Les chercheurs ont identifié une souche bactérienne spécifique capable de résister aux niveaux élevés de cuivre et de l'accumuler à l'intérieur de la cellule. Ils ont également étudié les voies métaboliques impliquées dans la dégradation du cuivre par cette bactérie.

Ces études et bien d'autres démontrent l'importance des bactéries tolérantes aux métaux lourds dans les eaux usées et leur potentiel pour la dépollution environnementale. En comprenant les mécanismes de tolérance et les interactions avec les métaux lourds, nous pouvons développer des stratégies efficaces de bioremédiation pour réduire les risques liés à la pollution des eaux usées par ces contaminants.

Le dernier volet de la partie pratique de ce présent travail fut consacré au test descriptif qui a été utilisé pour déterminer la survie des cultures les plus performantes (19, 26, 37, 39), potentiellement tolérantes aux métaux lourds, par un suivi cinétique de la croissance en présence des cations métalliques, une telle détermination semblait nécessaire pour des informations quantitatives sur les mécanismes de résistance des isolats retenus sur la dynamique de survie des souches en question.

Les phases de croissance peuvent être décrites quantitativement par : le temps de latence, le taux de croissance spécifique maximum « μ_{max} », et l'asymptote « y_{max} » définit comme étant la charge microbienne maximale atteinte lors d'une croissance bactérienne (Zwietering et al., 1990 ;

Résulta Discussions

Brown, 2007). Le cas de cette étude, le paramètre μ_{max} fut retenu, étant suffisant pour apprécier les réponses de la population microbienne des souches résistantes à la présence des cations métalliques.

Les taux de croissance spécifique maximum « μ_{max} » ont été estimés par le modèle de Baranyi & Roberts (1994) enregistrant des rendements de croissance (en pourcentage par rapport au control) de la charge, observée après 96 H d'addition des cations métalliques de l'ordre de 30.75% par la souche 26. La plus grande progression bactérienne a été attribué à la souche 39 de l'ordre de 58.39%

De plus, lors des dénombrements des colonies bactériennes viables, nous avons constaté une diminution significative du nombre de colonies avec l'augmentation du temps d'exposition avec chaque métal lourd.

Il est important de souligner que chaque métal lourd a montré une sensibilité différente vis-à-vis des

bactéries. Certains métaux peuvent être plus toxiques que d'autres en fonction de leur nature et de leur concentration (Guan et al., 2020).

Les résultats sont cohérents avec les connaissances antérieures sur la toxicité des métaux lourds pour les microorganismes (Zhu et al., 2019 ; Luo et al., 2020 ; Wawrzyniak et al., 2020). Nos données contribuent à une meilleure compréhension des effets néfastes de ces métaux sur la croissance bactérienne et pourraient avoir des implications environnementales et sanitaires.

Suite à l'étude de la cinétique de croissance, les cultures testées montrent une croissance assez lente, une qualité qui les favorisent comme souches tolérantes pour l'absorption et l'accumulation des cations métalliques du fait que ceci aboutie à une latence longue de croissance de ces derniers.

Les bactéries du genre *Bacillus* peuvent développer des mécanismes de tolérance et de résistance pour survivre en présence de métaux lourds. Cela peut inclure l'activation de voies de détoxification, la séquestration des métaux à l'intérieur des cellules ou la production de protéines de liaison aux métaux.

Résulta Discussions

Cette approche s'explique par la différence du comportement des cellules de *Bacillus*. Il est important de noter que les mécanismes de réponse et de tolérance des bactéries du genre *Bacillus* peuvent varier en fonction de l'espèce spécifique et du type de métal lourd présent dans l'environnement.

Chélation et biosorption : Les bactéries *Bacillus* peuvent produire des métabolites tels que les exopolysaccharides, les acides aminés ou les peptides qui ont la capacité de chélater les ions métalliques, réduisant ainsi leur toxicité et facilitant leur élimination.

Métabolisme de réduction : Certains *Bacillus* peuvent utiliser les métaux lourds comme accepteurs d'électrons dans leur métabolisme, les réduisant ainsi à des formes moins toxiques. Par exemple, certaines espèces de *Bacillus* sont connues pour leur capacité à réduire le chrome hexavalent (Cr(VI)) en chrome trivalent (Cr(III)), qui est moins toxique et moins soluble (Chai et al., 2020).

Biominéralisation : Les bactéries du genre *Bacillus* peuvent être impliquées dans la formation de minéraux insolubles, tels que les sulfures métalliques ou les oxydes, qui immobilisent les métaux lourds et réduisent leur biodisponibilité (Li et al., 2021).

Échanges d'ions et pompes d'efflux : Les bactéries *Bacillus* peuvent utiliser des systèmes d'échange d'ions et des pompes d'efflux pour éliminer activement les ions métalliques toxiques hors de leurs cellules, réduisant ainsi leur accumulation intracellulaire (Luo et al., 2020).

Par l'évaluation de l'impact positif des souches de *Bacillus* sur les cations métalliques testés. Elle constitue pour autant une piste prometteuse pour l'application de telles auxiliaires dans la détoxification des eaux usées et des sols contaminés par les métaux lourds par bioremédiation (Wang et al., 2022). De plus, ces bactéries pourraient également être utilisées dans des processus industriels visant à récupérer les métaux lourds présents dans les rejets et à les recycler (Xu et al.,

Conclusion

Conclusion

Les bactéries tolérantes aux métaux lourds isolées à partir des rejets industriels représentent une source précieuse de connaissances et de solutions potentielles pour faire face à la pollution environnementale. Leur capacité à survivre et à dégrader les métaux lourds constitue une piste prometteuse pour la bioremédiation des sites contaminés, offrant ainsi une alternative plus durable aux méthodes traditionnelles de dépollution.

Au cours de cette étude, nous avons examiné les avancées récentes dans l'isolement et la caractérisation de ces bactéries, mettant en évidence leur diversité et leur adaptation aux conditions extrêmes des rejets industriels.

Les objectifs de cette étude étaient multiples. Tout d'abord, nous cherchions à fournir un aperçu des bactéries tolérantes aux métaux lourds présentes dans les rejets industriels, en mettant l'accent sur leur potentiel de dépollution. Ensuite, nous souhaitions comprendre les mécanismes de résistance et d'adaptation de ces micro-organismes afin de pouvoir exploiter leur utilité dans des applications pratiques. Enfin, nous espérons ouvrir la voie à de nouvelles recherches et à de nouvelles stratégies de dépollution basées sur les bactéries tolérantes aux métaux lourds. Cette recherche vise à fournir des solutions durables pour minimiser les effets néfastes des métaux lourds issus des rejets industriels, contribuant ainsi à la préservation de notre écosystème et de notre santé.

Les perspectives dans ce domaine sont prometteuses. La poursuite des études sur les bactéries tolérantes aux métaux lourds pourrait conduire à l'identification de nouvelles espèces et de nouveaux mécanismes de tolérance. Nous pourrions également explorer les mécanismes de tolérance aux métaux lourds, soulignant l'importance des processus biochimiques et génétiques impliqués. De plus, la manipulation génétique de ces bactéries pourrait permettre d'améliorer leurs performances en matière de dégradation des métaux lourds. Cette approche ouvre également la possibilité de concevoir des bactéries sur mesure, adaptées à des environnements spécifiques ou à des types de métaux lourds particuliers.

De plus, il est nécessaire de développer des approches technologiques permettant d'optimiser l'utilisation de ces bactéries dans des processus de dépollution à grande échelle. Cela inclut l'optimisation des conditions de culture, l'amélioration des mécanismes de biosorption et de bioaccumulation des métaux lourds, ainsi que l'exploration de nouvelles voies métaboliques pour la dégradation des contaminants.

Conclusion

En conclusion, les bactéries tolérantes aux métaux lourds isolées à partir des rejets industriels représentent une ressource prometteuse pour la dépollution environnementale. Leur étude continue permettra de mieux comprendre leur potentiel et d'exploiter leurs capacités dans le développement de technologies de dépollution plus efficaces et respectueuses de l'environnement. Ces micro-organismes offrent un espoir tangible pour préserver la santé de notre écosystème et assurer un avenir durable.

Référence Bibliographique

Référence Bibliographique

Référence bibliographie

: L'agression toxique. Bureau sur les substances toxiques, Ministère de l'Environnement, 2021, Vol 296, 126589, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126589>.

33:1059-1066.

51:730-750.

Achard, J., 2005. Etudes biochimiques et génétiques de la réponse adaptative de mollusques face aux contaminations métalliques et au stress oxydant. Thèse de doctorat. Option : Eco toxicologie. Université Bordeaux I. France. p: 254.

Allen D. A., B. Austin, and R. R. Colwell. 1977. Antibiotic Resistance Patterns of Metal-Analysis of Transcriptional Profiles by Gene-Array Technology. *Microb.* 146: 2277–2282.

and plasmid profile of coliforms isolated from nosocomial infections in a hospital in Isfahan, ANSES. AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés aux dépassements de la limite de qualité du chrome dans les eaux destinées à la consommation humaine 2012.

Babich H., and G. Stotzky , 1977b. Effect of Cadmium on Fungi and on Interactions

Baker, A. J. M., Walker, P. L., 1989. Ecophysiology of metaluptake by tolerant plants. In: Heavy metal tolerance in plants - Evolutionary aspects. Shaw, A. (Eds). CRC. New York 1: 7-17.

Baker-Austin C., M. S. Wright, R. Stepanauskas, and J. V. McArthur. 2006. Co-selection

Bendjama, A., 2007. Niveaux de contamination par les métaux lourds du complexe lacustre «Tonga, Oubeira, El-Mellah » du parc national d'El-Kala. Mémoire de magister. Option :

Between Fungi and Bacteria in Soil: Influence of Clay Minerals. *Appl. Environ. Microbiol.*,

Biologie marine. Université Badji Mokhtar. Annaba. p:100. Disponible sur : www.jsac.arn.dz/Vol21%20N1/E261010G2%20bendjama%20Art5.pdf

Brocklehurst K. R and A. P. Morby. 2000. Metal-Ion Tolerance in *Escherichia coli*:

Bruins M. R., S. Kapil, and F. W. Oehme, 2000. Microbial resistance to metals in the

Bruins, M., Kapil, M., Oehme, F.W., 2000. Microbial Resistance to Metals in the Environment. *Ecotoxicol. Envir.Safety*. 45:198-207.

Cheng S. Effects of Heavy Metals on Plants and Resistance Mechanisms 2003.

Référence Bibliographique

Chennouf, F., Siradj, F., 2008. Isolement des bactéries métallo-résistant partir de Chott Ain El-Baidha et lac Temaçine . Mémoire de magister . Option : Microbiologie, Université de Kasdi-Merbah Ouargla. p: 56. Disponible sur : www.memoireonline.com.

Choe S-Y, Kim S-J, Kim H-G, Lee JH, Choi Y, Lee H, Kim Y. Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. *Sci Total Environ* 2003 ; 312 :15–21.

Clark LC, Dalkin B, Krongrad A, Combs GF, Turnbull BW, Slate EH, Witherington R, Herlong JH, Janosko E, Carpenter D, Borosso C, Falk S, et al. Decreased incidence of prostate cancer with selenium supplementation : results of a double-blind cancer prevention trial. *Br J Urol* 1998 ; 81 :730–734.

Combs GF, Clark LC, Turnbull BW. Reduction of cancer mortality and incidence by selenium supplementation. *Med Klin Munich Ger* 1983 1997 ; 92 Suppl 3 :42–45.

Composition and Heavy Metal Tolerance of Soil Microbial Communities Along Two Heavy-Davey JC, Bodwell JE, Gosse JA, Hamilton JW. Arsenic as an endocrine disruptor : effects of arsenic on estrogen receptor-mediated gene expression in vivo and in cell culture. *Toxicol Sci Off J Soc Toxicol* 2007 ; 98 :75–86.

Elmsley J. (2001). *Nature's Building Blocks. A-Z guide to the elements*. Oxford University Press, Oxford, UK.

environment. *Ecotoxicol and Environ Safety*, 45:198-207

Environmental Pollution and Control » par P. Arne Vesilind, Susan M. Morgan, et Lauren G.

Environmental Pollution : Health and Toxicology » par Michael D. Waters. 1988

Environmental Pollution: Health and Toxicology » par Michael D. Waters.

Faria C., I. Vaz-Moreira , E. Serapicos, O. C. Nunes ,and C. M. Manaia. 2009. Antibiotic Giller, K. E., Witter, E., McGrath, S. P., 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biol. Biochem.* 30 :1389–1414.

Gouvernement du Québec, p 46.

Hammel W, Debus R, Steubing L. Mobility of antimony in soil and its availability to plants. *Chemosphere* 2000 ; 41 :1791–1798.

Référence Bibliographique

Heine.2005

Hobman J. L., K. Yamamoto, T. Oshima. 2007. Transcriptomic Responses of Bacterial Cells

Holland MK, White IG. Heavy metals and spermatozoa. 1. Inhibition of the motility and metabolism of spermatozoa by metals related to copper. Fertil Steril 1980 ; 34 :483–489.

Iran. Af. J.of Biotechn. 2:379-383.

Karbasizaed V., N. Badami and G. Emtiazi, 2003. Antimicrobial, heavy metal resistance

Kimiran-Erdem, A. ; Arslan-Aydo ğdu, E.Ö. ; Gürün, S. ; Altun, Ö. Determination of multiple antibiotic and heavy metal resistance Of the bacteria isolated from the Küçükçekmece Lagoon, Turkey. Polish J. Environ. Stud. 2015, 24, 1077–10

Koller E. (2004) .Traitement des pollutions industrielles, Ed. Dunod, Paris, pp 424.

Kozdrój, J., Van Elsas, J.D., 2001. Structural diversity of microorganisms in chemically perturbed soil assessed by molecular and cytochemical approaches. J. Microb. Methods. 43:197-212.

Krumperman, P.H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of faecal contamination Of foods. Appl. Environ. Microbiol. 1983, 46, 165–170. [C

Latendre, J., Chouquet, B., Manduzio, H., Marin, M., Bultelle, F., Leboulenger, F., Durand, F., 2009. Tidal height influences the levels of enzymatic antioxidant defences in *Mytilus edulis*. Mar. Envir. Res. 67: 69-74.

Ledin, M., 2000. Accumulation of metals by microorganisms . Processes and importance for soil systems. Earth-Sci. Rev. 51:1-31.

Li Z, Dong T, Pröschel C, Noble M. Chemically diverse toxicants converge on Fyn and c-Cbl to disrupt precursor cell function. PLoS Biol 2007 ; 5 :e35.

Li, Z. S., Lu, Y. P., Zhen, R. G., Szczypka, M., Thiele, D. J., Rea, P.A., 1997. A new pathway for vacuolar cadmium sequestration in *Saccharomyces cerevisiae*: YCF1- catalyzed transport of bis (glutathionato) cadmium. Proc. Nat. Acad. Sci. U S A. 94: 42-7.

Li, Zhanming, Yi, Liang, Hangwei, Hu, Sabry M. Shaheen, Huan, Zhong, Filip M.G. Tack, Mengjie, Wu, Yu-Feng, Li, Yuxi, Gao, Jörg, Rinklebe, Jiating, Zhao. (2021). Speciation, transportation, and pathways of cadmium in soil-rice systems: A review on the

Référence Bibliographique

environmental implications and remediation approaches for food safety, Environment International, Vol 156, 106749, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106749>.

Majeed, Fawzi Banat, Shih-Hsin Ho, Pau Loke Show. A review on conventional and novel materials

Marouf A et Reynaud J., 2007 – La botanique de A à Z. 1662 définitions. Ed Dunod:P 286.

Matyar, F. ; Kaya, A. ; Dinçer, S. Antibacterial agents and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, Shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. Sci. Total Environ. 2008, 407, 279–285. [CrossRef]

Metal-Polluted Gradients in Coniferous Forests. Appl. Environ. Microb., 62:420-428.

Microbiol. 14:32-141.

Morozzi, G., Cienci, G., Caldini, G., 1982. The tolerance of an Environmental Strain of *Escherichia coli* to Some Heavy Metals. Hyg. Orig. 176:189: 55-62.

Nies D. H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. Applied Microbiology and Biotechnology.

Nies, D. H. (2019). Microbial heavy-metal resistance. Applied microbiology and biotechnology, 103(23-24), 9339-9349.

Nies, D.H., 1999. Microbiologie heavy métal résistance. Appl microbial. 51 :730-750.

Nweke, C.O., Alisi, C.S., Okolo, J.C., Nwanyanwu, C.E., 2007. Toxicity of Zinc to Heterotrophic Bacteria from a Tropical River Sediment. Appl. Environ. Res. 5: 23-132.

Nzengue, Y., 2008. Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallothionéines. Thèse de doctorat. : Université Joseph Fourier. Grenoble. P: 297.

Odermatt, A., Suter, H.K., Rapf, R., Solioz, M., 1993. Primary structure of twop –type ATPases involved in copper homeostasis in *Enterococcus*. J. Biol. chem. 268: 12775-12779.

of Antibiotic and Metal Resistance. Trends in Microbiol. 14:176-182.

Pennanen T., Á. Frostegård, H. Fritze, and E. Bååth. 1996. Phospholipid fatty acid

Peralta JR, Gardea-Torresdey JL, Tiemann KJ, Gomez E, Arteaga S, Rascon E, Parsons JG. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Bull Environ Contam Toxicol 2001 ; 66 :727–734.

Référence Bibliographique

Perez DS, Armstrong-Lea L, Fox MH, Yang RSH, Campain JA. Arsenic and benzo[a]pyrene differentially alter the capacity for differentiation and growth properties of primary human epidermal keratinocytes. *Toxicol Sci Off J Soc Toxicol* 2003 ; 76 :280–290.

Picard, R., Temblay, B., Myrand, B., 2010. Revue de littérature et fiches descriptives des différents indicateurs de stress et de vitalité utilisés pour caractériser les mollusques bivalves. Les Publications de la Direction de l'innovation et des technologies. Rapport de R-D n° 188. P: 26.

Press. pp.274-280.

Rajapaksha, R. M. C. P., Tobor-Kaplon, M. A., & Baek, K. (2020). Molecular mechanisms of heavy metal tolerance and accumulation in plants: Special focus on arbuscular mycorrhizal fungi-mediated phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(33), 41330-41349.

Raskin I., Kumar P.B.A.N., Dushenkov S., Salt D.E. (1994). Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 5: 285-90.

resistance in coagulase negative *staphylococci* isolated from wastewater and drinking water.

Rouch D. A., Lee, B. T. D., and Morby, A. P. 1995. Understanding cellular Responses to

Rouch, D. A., Lee, B. T., Morby, A. P., 1995. Understanding cellular responses to toxicagents : A model for mechanism-choice in bacterial metal resistance. *J. Ind. Microbiol.* 14: 132- 141.

Ruggieri F, Majorani C, Domanico F, Alimonti A. Mercury in Children : Current State on Exposure through Human Biomonitoring Studies. *Int J Environ Res Public Health* 2017 ; 14.

Sandaa, R. A. , Enger, Ø., Torsvik, V., 1999. Abundance and Diversity of *Archaea* in Heavy-Metal-Contaminated Soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 3293–3297.

Sasseville J. L. 1980. La problématique des substances toxiques dans l'environnement, tome 1 *Sc. Tot. Environ.* 407:3876–3882.

Sen A, Heredia N, Senut M-C, Land S, Hollocher K, Lu X, Dereski MO, Ruden DM. Multigenerational epigenetic inheritance in humans : DNA methylation changes associated with maternal exposure to lead can be transmitted to the grandchildren. *Sci Rep* 2015 ; 5 :14466.

Senez , J., 1968. Microbiologie générale. Edition : Doin. Paris. P: 592.

Shotyk W, Krachler M, Chen B. Contamination of Canadian and European bottled waters with antimony from PET containers. *J Environ Monit JEM* 2006 ; 8 :288–292.

Référence Bibliographique

Silver, S., 1996. Bacterial Resistances to Toxic Metal Ions – a review. *Gene*.179:9-19.

Silver:Editors. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Stranges S, Marshall JR, Natarajan R, Donahue RP, Trevisan M, Combs GF, Cappuccio FP, Ceriello A, Reid ME. Effects of long-term selenium supplementation on the incidence of type 2 diabetes : a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007 ; 147 :217–223.

to Sublethal Metal Ion Stress. In: *Molecular Microbiology of Heavy Metals*. D.H. Nies, S. Tolerant Bacteria Isolated from an Estuary. *Antimicrob.Ag.Chemother.*, 12:545-547.

towards heavy metal adsorption in wastewater treatment application, *Journal of Cleaner Production*,

Toxic Agents: A Model for Mechanism Choice in Bacterial Metal Resistance. *J. Ind.*

Wang, Z.; Luo, P.; Zha, X.; Xu, C.; Kang, S.; Zhou, M.; Nover, D.; Wang, Y. Overview Assessment of Risk Evaluation and Treatment Technologies for Heavy Metal Pollution of Water and Soil. *J. Clean. Prod.* 2022, 379, 134043.

Wright D. A.,and P. Welbourn. 2002. *Environmental toxicology*. Cambridge University

Wuana, R. A., & Okieimen, F. E. (2011). Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Ecology*, 2011.

Xu, Y., Li, X., Yang, Y., Li, M., & Sun, G. (2022). Isolation and characterization of heavy metal-tolerant bacteria from industrial wastewater. *Journal of Environmental Sciences*, 120, 30-40.

Zhang, L., Luo, S., Zhang, X., Xu, J., & Ren, B. (2021). Isolation and characterization of heavy metal-tolerant bacteria from industrial wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(6), 7442-7451.

Coloration de grame :

- 1) Frotti
- 2) Colorer avec Violet de gentien 30seconde - 60seconde
- 3) Rinçage avec l'eau distillée
- 4) Lugole pendant 30seconde -60seconde + rinçage
- 5) Alcool 5s-10s
- 6) Fushin 30seconde-60seconde
- 7) Rinçage avec l'eau distillée
- 8) Séchage

□ Composition des milieux :

- 1) Lauria bertani : dans 1L de l'eau distillé

Trypton 10gr

Extrait de levure 5 gr

Chlorure de na 10gr

- 2) Lauria bertani solide : dans 1L de l'eau distillé

Trypton 10gr

Extrait de levure 5 gr

Chlorure de na 10gr

Agar 20gr

- 3) Bouillon nutritif : dans 1L de l'eau distillé

Pepton 10gr

Extrait de viande 1gr

Extrait de levure 2gr

Chlorure de na 5gr