

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

DEPARTEMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATOIRE D'HYDROBIOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

LABORATORY OF HYDROBIOLOGY AND ENVIRONMENT

**Effet du pesticide SAVAHALER sur quelques
protéobactéries en microcosme aquatique : impact de la
température d'incubation**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie des Organismes
Animaux

Option : **Hydrobiologie et Environnement**

Par :

NDAMBETH MBAKEMI Jessica Ulrich

Matricule: **12Q0217**

Licenciée ès-Sciences

Sous la Direction de

MOUNGANG Luciane Marlyse

Chargée de Cours



Année 2022

SOMMAIRE

DEDICACE.....	iii
REMERCIEMENTS.....	iv
LISTE DES TABLEAUX	v
LISTE DES FIGURES.....	vi
LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES	vii
RESUME	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	3
I.1. Généralités sur les pesticides	3
I.1.1. Définition et caractéristiques	3
I.1.2. Classification	3
I.1.3. Devenir des pesticides dans l'environnement et leurs impacts Eco toxicologiques	6
I.1.4. Impact des pesticides sur la santé humaine	7
I.2. Biodégradation des pesticides.....	8
I.3. Généralités sur les protéobactéries	8
I.3.1. Généralités sur <i>Escherichia coli</i>	8
I.3.2. Généralités sur <i>Salmonella typhi</i>	10
I.3.3. Généralités sur <i>Vibrio cholerae</i>	12
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	14
II.1. Matériel.....	14
II.1.1. Description du site d'étude.....	14
II.1.2. Choix du matériel	14
II.2. Méthodes	15
II.2.1. Isolement et identification des microorganismes	15
II.2.2. Préparation des suspensions bactériennes	15
II.2.3. Préparation des solutions de pesticide.....	16
II.2.4. Inoculation des suspensions bactériennes	18
II.2.5. Analyses bactériologiques	19
II.2.6. Analyse des données.....	19

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	20
III.1. Résultats	20
III.1.1. Vérification de matériels et méthodes.....	20
III.1.2. Effet du pesticide sur les densités bactériennes	21
III.1.3. Pourcentages d'inhibition (PI) des cellules bactériennes.....	25
III.1.4. Vitesses de régression des densités cellulaires en contact avec le pesticide et les Coefficients de détermination (R2).....	27
III.1.5. Corrélations entre les paramètres évalués	29
III.1.6. Comparaisons entre les variables analysées.....	30
III.2. Discussion	32
CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES	35
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUESCONCLUSION, RECOMMANDATION ET PERSPECTIVE.....	35
CONCLUSION.....	35
RECOMMANDATIONS.....	35
PERSPECTIVES.....	35
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	36

DEDICACE

Je dédie ce travail à ma maman **MVOMBO Beatrice**

REMERCIEMENTS

Je rends grâce à DIEU qui m'a donné la chance, le courage, la santé et la patience de suivre le chemin de la science. La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à la collaboration de nombreuses personnes auxquelles je tiens à exprimer ma gratitude.

Je tiens à remercier le **Pr NOLA Moïse** pour la confiance qu'il a placée en moi en m'acceptant au sein du Laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I.

Mes sincères remerciements au **Dr MOUNGANG Luciane Marlyse** qui m'a accueilli au sein de son équipe de recherche. Son encadrement, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa rigueur scientifique ont permis la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont également à l'endroit de tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales, en particulier ceux du Laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement, pour les connaissances scientifiques et les conseils acquis auprès d'eux.

J'exprime toute ma reconnaissance à l'équipe de recherche du laboratoire, particulièrement au **Dr NOAH EWOTI Olive**, au **Dr TAMSA ARFAO Antoine** et au **Dr METSOPKENG Claire** pour leur assistance et leur aide durant la réalisation de ce travail.

J'adresse toute ma gratitude aux aînés du laboratoire en particulier aux doctorants **MOUAFO Edith**, **MANOUORE NJOYA Awawou**, **POUTOUM Yves**, **MOUHAMA Adams**, **BALENG Samuel**, **DZENGA Aurélie**, **LADIBE Pélagie**, **ZAME Golda**, **KOUGOUM Danielle** pour leurs conseils et leur assistance durant les manipulations et la rédaction de ce travail.

Mes remerciements multiformes à tous mes camarades de laboratoire, en particulier à **DJOUFFO Belviane**, **TALLA Rolande**, **KADJI Ornel**, **SINGO Nelly**, **KEGNE Loraine**, **BIKITBE Fils**, **LACTIO Larry**, **NGANDJUI Noel**, **NGUEMETIA Paul** et **TAYA James** pour leurs assistances et encouragements constants.

Je remercie également mes parents papa **MVOMBO Vincent**, papa **MTAKEMI Serge** et maman **MTAKEMI Nathalie** pour leur soutien et pour la sollicitude portée à mon égard dans les moments de détresse.

J'exprime toute ma reconnaissance à mon époux **DJANKEP Romual**, à mes frères et sœurs **OUAMBO Achille**, **NGOAKAM Pierre**, **MVOMBO Guy**, **NYA Andrea** et **NGANWOUE Rosane**, pour leur soutien et leurs encouragements.

Que tous ceux qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Mode d'action des herbicides, fongicides et insecticides.....	6
Tableau II : Résultats des tests biochimiques.....	21
Tableau III : Vitesses de régression des densités bactériennes sous l'action du pesticide.....	28
Tableau IV : Coefficient de corrélation « r » de Spearman entre les densités bactériennes et les durées d'incubation	29
Tableau V : Coefficient de corrélation « r » de Spearman entre les densités bactériennes et les différentes températures d'incubation.....	30
Tableau VI : Coefficient de corrélation « r » de Spearman entre les densités bactériennes et les différentes concentrations de pesticide	30
Tableau VII : Comparaison entre les densités des cellules bactériennes évaluées en fonction de la durée de contact.....	30
Tableau VIII : Comparaison entre les densités des cellules bactériennes évaluées en fonction de la température de contact.....	31

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Classification des pesticides	4
Figure 2 : Cellules d' <i>E. coli</i> observées au microscope électronique à balayage.....	9
Figure 3 : Cellules de <i>S. typhi</i> observées au microscope électronique à balayage.....	11
Figure 4 : Image de la bactérie <i>Vibrio cholerae</i> au microscope optique.....	12
Figure 5 : Photographie du sachet de pesticide	14
Figure 6 : Structure chimique du méthomyl.....	15
Figure 7 : Photographie des différentes solutions de pesticides.....	17
Figure 8 : Photographie des solutions de pesticide réparties dans les flacons d'inoculation...	18
Figure 9 : Photographie des colonies bactériennes sur milieu de culture	20
Figure 10 : Variation des densités d' <i>E. coli</i> en fonction du temps et de la température.....	22
Figure 11 : Variation des densités de <i>S. typhi</i> en fonction du temps et de la température	23
Figure 12 : Variation des densités de <i>V. cholerae</i> en fonction du temps et de la température	24
Figure 13 : Variation des pourcentages d'inhibition des cellules bactériennes à 7°C.	25
Figure 14 : Variation des pourcentages d'inhibition des cellules bactériennes à température ambiante.....	26
Figure 15 : Variation des pourcentages d'inhibition des cellules bactériennes à 44°C	27

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

ACA	: <i>African Center for Advocacy</i>
AFNOR	: Association Française de Normalisation
CHU-PS	: Centre Hospitalier Universitaire Pitié – Salpêtrière
EHEC	: <i>Entero-Hemorrhagic Escherichia coli</i>
EIEC	: <i>Entero-Invasive Escherichia coli</i>
EPEC	: <i>Entero-Pathogen Escherichia coli</i>
DDT	DichloroDiphénylTrichloroéthane
ETEC	: <i>Entero-Toxinogen Escherichia coli</i>
LDC	: Lysine Décarboxylase
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
ONG	: Organisation Non Gouvernementale
PCA	: <i>Plate count agar</i>
pH	: Potentiel d'Hydrogène
UC	: Unité Conventionnelle
UFC	: Unité Formant Colonie

RESUME

L'étude a été réalisée en microcosme aquatique, au laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement de la Faculté des Sciences, de l'Université de Yaoundé 1 durant la période de janvier à juin 2021, avec pour but d'évaluer l'effet du pesticide SAVAHALER sur quelques bactéries aquatiques d'importance sanitaire et de déterminer l'impact de la température. Les solutions bactériennes de chaque espèce considérée ont été mises en contact avec 5 solutions de pesticide de concentrations croissantes ($C_1 = 0,94$ g/L, $C_2 = 1,87$ g/L, $C_3 = 3,75$ g/L, $C_4 = 7,5$ g/L et $C_5 = 15$ g/L) et incubés à température 7°C , ambiante et 44°C , pendant 3h, 6h, 9h et 24h.

En présence du pesticide, les densités d'*Escherichia coli*, de *Salmonella typhi* et de *Vibrio cholerae* ont diminué progressivement au fur et à mesure que la durée de contact a augmenté. A température ambiante et suivant les différentes concentrations, les densités de *E. coli*, *S. typhi* et *V. cholerae* ont respectivement varié entre 8,285 et 5,549 log (UFC/100 mL), entre 8,301 et 4,959 log (UFC/100 mL) et entre 8,300 et 2,221 log (UFC/100 mL).

A 7°C et suivant les différentes concentrations, les densités de *E. coli* ont varié entre 8,287 et 5,23 log (UFC/100 mL) tandis que celles de *S. typhi* ont varié entre 8,301 et 4,560. Pour ce qui est des densités cellulaires de *V. cholerae* elles ont diminué de 8,300 à 2,074 log (UFC/100 mL).

A 44°C et suivant les différentes concentrations, les densités de *E. coli*, *S. typhi* et *V. cholerae* ont respectivement varié entre 8,287 et 5,028 log (UFC/100 mL), entre 8,301 et 2,151 log (UFC/100 mL) et entre 8,300 et 8,221 log (UFC/100 mL).

Les vitesses de régression des densités bactériennes ont varié en fonction de la température d'incubation, de la concentration du pesticide de l'espèce bactérienne et de la durée d'incubation. La plus grande vitesse de régression ($-0,2526$ UFC/100 mL/h) a été obtenue chez *V. cholerae* et la plus petite vitesse de régression ($-1,442$ UFC/100 mL/h) a été notée chez *S. typhi*.

La température d'incubation influencerait les abondances d'*E. coli* et de *S. typhi* en présence du pesticide. Par contre, la variation des concentrations de pesticides influencerait uniquement sur les abondances de *V. cholerae*.

Mots clés : pesticide, durée d'incubation, température d'incubation, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The study was carried out in an aquatic microcosm, at the Hydrobiology and Environment Laboratory of the Faculty of Sciences, University of Yaoundé 1 during the period from January to June 2021, with the aim of evaluating the effect of the pesticide SAVAHALER on some aquatic bacteria of health importance and to determine the impact of temperature. The bacterial solutions of each species considered were brought into contact with 5 pesticide solutions of increasing concentrations ($C_1=0.94$ g/L, $C_2=1.87$ g/L, $C_3=3.75$ g/L, $C_4=7.5$ g /L and $C_5=15$ g/L) and incubated at 7°C, room temperature and 44°C, for 3h, 6h, 9h and 24h.

In the presence of the pesticide, the densities of *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Vibrio cholerae* gradually decreased as the duration of contact increased. At room temperature and according to the different concentrations, the densities of *E. coli*, *S. typhi* and *V. cholerae* respectively varied between 8.285 and 5.549 log (CFU/100 mL), between 8.301 and 4.959 log (CFU/100 mL) and between 8.300 and 2.221 log (CFU/100 mL).

At 7°C and according to the different concentrations, the densities of *E. coli* varied between 8.287 and 5.23 log (CFU/100 mL) while those of *S. typhi* varied between 8.301 and 4.560. As for the cell densities of *V. cholerae*, they decreased ranging from 8,300 to 2,074 log (UFC/100 mL).

At 44°C and according to the different concentrations, the densities of *E. coli*, *S. typhi* and *V. cholerae* respectively varied between 8.287 and 5.028 log (UFC/100 mL), between 8.301 and 2.151 log (UFC/100 mL) and between 8.300 and 8.221 log (CFU/100 mL).

The regression rates of bacterial densities varied according to the incubation temperature, the concentration of the pesticide of the bacterial species and the duration of incubation. The greatest regression rate (-0.2526 CFU/100 mL/h) was obtained in *V. cholerae* and the smallest regression rate (-1.442 CFU/100 mL/h) was noted in *S. typhi*.

The incubation temperature would influence the abundances of *E. coli* and *S. typhi* in the presence of the pesticide. On the other hand, the variation in the concentrations of pesticides would influence only the abundances of *V. cholerae*.

Keywords: pesticide, contact time, incubation temperature, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*.

INTRODUCTION

L'utilisation des pesticides à travers le monde a augmenté de façon spectaculaire au cours des deux dernières décennies, coïncidant avec les changements dans les pratiques agricoles (Bettiche *et al.*, 2017). Étymologiquement « tueurs de fléaux » ils sont aussi appelés dans la réglementation nationale française et européenne « produits phytosanitaires » (Girault et Sauvé, 2008). En effet, une multitude de produits chimiques synthétiques se sont retrouvés dans l'écosystème à la suite des activités industrielles variées, des applications agricoles et des utilisations à des fins domestiques.

En effet, l'usage des produits phytosanitaires, représentent un cas typique de pollution multiple et généralisée de tous les compartiments de l'environnement (Nawel *et al.*, 2018). Par ailleurs, ces produits phytosanitaires, font partie des rares substances qui sont à la fois toxiques et délibérément rejetées dans l'environnement (Awatef Berrah, 2011). Ainsi, l'utilisation de ces composés xénobiotiques a généré un certain nombre de problèmes environnementaux tels que la contamination des écosystèmes. Ainsi la qualité des sols, des eaux souterraines, des eaux côtières, et de l'air sont tous affectés par cette contamination (Benslama Ouided, 2017).

En agriculture, l'utilisation des pesticides représente deux aspects aux conséquences diamétralement opposées : d'une part, la diminution des dégâts causés par les organismes nuisibles pour les cultures et, d'autre part, la pollution de l'environnement presque toujours effective (Gravrilesu Maria, 2005). Les difficultés rencontrées pour décrire et prévoir le devenir de ces composés dans les sols ainsi que leur biodégradation sont en rapport avec leurs compositions et leurs structures très variées, en plus de leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques complexes. A côté de ces facteurs, s'ajoute également le climat, la structure du sol et le mode d'application qui influenceraient la dégradation des pesticides (Queyrel Wilfried, 2014).

De plus, en raison de leur toxicité inhérente, les pesticides constituent une menace sérieuse pour la santé publique, en particulier pour les nourrissons et les enfants. Au Cameroun, comme ailleurs, les agriculteurs utilisent abondamment les pesticides. Par conséquent, le risque de pollution des ressources en eau par les résidus de ces produits phytosanitaires est élevé. Même si l'activité agricole s'efforce maintenant de présenter une image de qualité et de préservation de l'environnement, plusieurs gammes de pesticides hautement toxiques sont encore utilisés (Ngom *et al.*, 2013). En effet, une utilisation incontrôlée et abusive des pesticides sur les légumes entraînerait une pollution accrue (Traoré *et al.*, 2017). De plus, il a été démontré qu'il existe une toxicité des pesticides sur le système immunitaire, car une fois au contact de ce

pesticide, il provoque plusieurs maladies dues aux faiblesses des éléments de défense de l'organisme (Peillex et Pelletier., 2020).

De ce fait, il est indispensable de mettre en place des mesures permettant de réduire le transfert dans l'environnement des pesticides en instaurant des bonnes pratiques agricoles et, de développer des techniques de traitement adaptées pour éliminer ces résidus phytosanitaires dans des conditions contrôlées. C'est ainsi que des méthodes d'oxydation, d'incinération et d'adsorption microbienne ont été mises au point pour éliminer les résidus de pesticides du sol et des eaux. De plus, les procédés de biodégradation sont connus pour être l'un des principaux moteurs de l'atténuation naturelle des résidus de pesticides (Vandermaesen *et al.*, 2016). Ces procédés sont assurés par des microorganismes via de nombreuses réactions enzymatiques (Motte Jean, 2013). Les bactéries, présentes dans presque tous les types de biotopes rencontrés sur terre, sont les organismes les plus ubiquitaires de notre planète (Faugier Aurelie, 2010). Elles peuvent être isolées du sol, des eaux douces, marines et saumâtres, de l'air, des profondeurs océaniques, sur la peau et dans l'intestin des animaux mais également des déchets radioactifs (Fredrickson *et al.*, 2004).

Des informations portant sur les mécanismes impliqués dans les biotransformations des pesticides sont peu connues (Siegwart M., 2021). C'est dans cette lancée que s'inscrit le sujet de cette étude dont la problématique est de rechercher des bactéries efficaces à la biodégradation des pesticides. Ainsi, le présent travail vise à évaluer l'effet du pesticide Savahaler sur quelques protéobactéries en microcosme aquatique. Il s'agit plus spécifiquement de :

- Évaluer l'effet du pesticide Savahaler sur la cultivabilité de *Escherichia coli*, de *Salmonella typhi* et de *Vibrio cholerae* en microcosme aquatique ;
- Déterminer l'influence de la température du milieu et la durée d'incubation (temps de contact pesticide-bactérie) sur la survie des cellules bactériennes en présence du pesticide.

Le présent mémoire comporte trois parties présentées sous forme de chapitre. Le premier chapitre traite de la revue de littérature. Le second chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail. La présentation des principaux résultats, leur interprétation et leur discussion font l'objet du troisième chapitre. Une conclusion suivie de quelques recommandations et perspectives achève ce document.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Généralités sur les pesticides

I.1.1. Définition et caractéristiques

Étymologiquement, pesticide est formé du mot français « peste » (fléau, maladie) et du suffixe « -cide » provenant du latin *caedere* (tuer). Littéralement, un pesticide est donc un « tueur de fléaux ». L'origine de certains de ces produits remonte à l'antiquité, à sa genèse, il s'agissait d'un « tueur » chimique (arsenic, soufre) utilisé pour lutter contre les « fléaux » (insectes ravageurs) des cultures agricoles (Imen et houdna, 2015). Au cours du XXème siècle, le nombre de pesticides a augmenté significativement avec l'apparition de molécules synthétiques, dont le fameux dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) et leur application s'est diversifiée (Pflieger Maryline, 2009). Actuellement, le terme « pesticide » est une appellation générique désignant toutes substances naturelles ou synthétiques utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes (micro-organismes, animaux ou végétaux) jugés indésirables ou nuisibles pour l'agriculture, mais également pour d'autres applications (hygiène et santé publiques, soins vétérinaires, traitements de surfaces non-agricoles...) (Yousra et Sabrina, 2021).

Les pesticides représentent un large groupe de produits chimiques hétérogènes du fait de leurs compositions. Ils augmentent la productivité en diminuant les pertes dues à des attaques fongiques, microbiennes dans le secteur agricole (Weiss *et al.*, 2004). Ils sont communément associés à des adjuvants dans les formulations commerciales. Ces adjuvants permettent de solubiliser et de stabiliser sur de longues périodes la substance active mais aussi d'augmenter son efficacité, notamment en favorisant sa pénétration et sa diffusion dans l'organisme cible (Bernard Marion, 2018). Les adjuvants les plus répandus sont les surfactants, les huiles végétales et minérales, les sels organiques, les solutions tampons et les solvants (Carles Louis, 2016).

I.1.2. Classification

L'hétérogénéité de ce vaste ensemble de produits rend difficile toute classification. Cependant, les pesticides peuvent être classifiés en fonction de la cible, de la famille chimique, du type de formulation (liquide, granulé...), du degré de toxicité et de leurs origines (Muskan *et al.*, 2021) (figure 1).

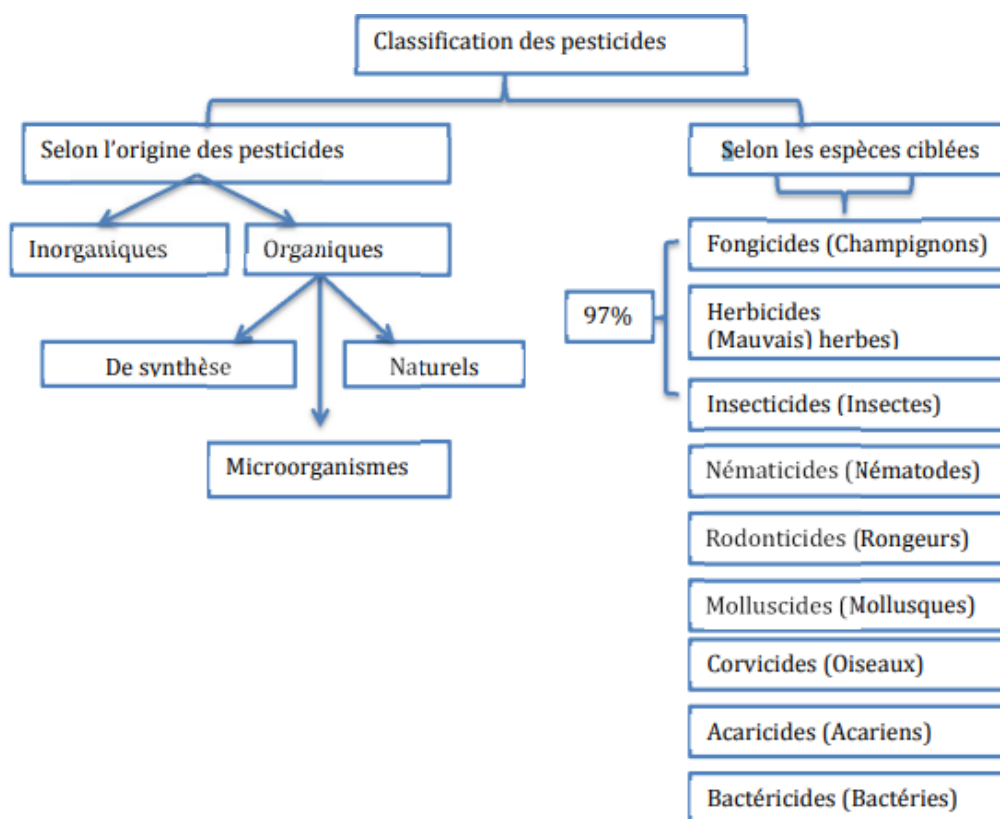


Figure 1 : Classification des pesticides (Muskan *et al.*, 2021).

I.1.2.1. Classification en fonction de la structure chimique

La diversité des structures chimiques caractérisant les pesticides en fait des composés complexes et difficilement classifiables. La classification suivant la structure chimique met en œuvre 4 principales familles chimiques (George et shukla, 2011):

- Les organophosphorés : incluent tous les insecticides contenant du phosphore. Ils sont généralement les plus toxiques de tous les pesticides. Ces composés constituent une famille de pesticides agissant sur l'enzyme acétylcholinestérase. Ils opèrent en bloquant irréversiblement l'acétylcholinestérase essentielle aux transferts de l'influx nerveux chez les insectes, les humains et la plupart des animaux (George et shukla, 2011) ;

- Les organochlorés : sont des composés qui contiennent du carbone, du chlore et un atome d'hydrogène. Ils représentent les insecticides les plus puissants et les plus efficaces. Grâce à la liaison chlore-carbone, les organochlorés ne se décomposent pas facilement et peuvent rester longtemps dans l'environnement après leurs applications et dans l'organisme longtemps après l'exposition. Beaucoup de composés de cette famille sont interdits en raison de leur neurotoxicité (George et shukla, 2011) ;

- Les carbamates : sont des esters de N-méthyl carbamate, un groupe de pesticide qui agit également sur l'enzyme acétylcholinestérase par inhibition. Les carbamates présentent les mêmes caractéristiques que les organophosphorés, mais une toxicité moins importante (Ramesh *et al.*, 2017).

- Les trazines : couvrent un grand champ d'utilisation. La plupart des trazines sont utilisés comme herbicides sélectifs pouvant être combiné avec d'autres composés afin d'augmenter leur efficacité. Ils représentent les plus anciens herbicides.

I.1.2.2. Classification en fonction de la formulation

Les pesticides sont disponibles en différentes formulations. Ils peuvent se présenter sous forme solide, liquide ou gazeuse afin de rendre leur application la plus efficace possible (Moeys julien, 2007).

- Les formulations liquides incluent les suspensions (suspensions concentrées), les solutions, les concentrés émulsifiables, les suspensions en microcapsules et les aérosols ;
- Les préparations solides comprennent les poussières, les particules, les granulés, les pastilles, les granules solubles, les poudres solubles, les appâts, les tablettes, les comprimés, les pâtes granulées et les poudres mouillables ;
- Les pesticides gazeux sont généralement des fumigants (ils peuvent être vendus sous forme de liquide ou de gaz) (Batsch Dorothée, 2011).

I.1.2.3. Classification en fonction de mode d'action

Il s'agit ici d'une classification étroitement liée au type de cible, le tableau I ci-dessous reporte quelques exemples de pesticides liés à la cible.

Tableau I : Mode d'action des herbicides, fongicides et insecticides (Batsch Dorothée, 2011)

		Mode d'action
Herbicides	De contact	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact
	Systémique	Absorbé par les stomates de la plante et se déplace à l'intérieur de celle-ci
	Sélectif	Ne contrôle que certaines plantes parmi celles qui sont traitées
	De prélevée	Agit sur la graine pour empêcher sa germination
	De post-levée	Agit sur la plante émergée
	Non- sélectif	Contrôle toutes les plantes traitées
	Résiduaire	Se dégrade lentement et contrôle les plantes pour une longue période
	Non résiduaire	Est rapidement inactif après son application et ne contrôle les plantes que sur une courte période
Fongicides	Préventif	Protège la plante en empêchant que la maladie se développe
	Curatif	Réprime une maladie qui est déjà développée
Insecticides	De contact	Agit lorsque l'insecte entre en contact avec le produit
	D'inhalation	Agit lorsque l'insecte respire le produit
	D'ingestion	Agit lorsque l'insecte se nourrit du produit

Il est à noter que le mode d'action, la composition chimique ou encore la formulation, visent à améliorer l'efficacité du produit phytosanitaire dans les secteurs d'intérêt, mais aussi sur leur durée de vie dans la nature et enfin leur impact sur la santé (Guy Yves, 2007).

I.1.3. Devenir des pesticides dans l'environnement et leurs impacts Écotoxicologiques

I.1.3.1. Contamination des sols

Ils existent deux voies principales d'entrée des pesticides dans le sol : la voie directe, correspondant à la fraction de pesticide non interceptée par la couverture végétale lors de l'épandage, et la voie indirecte, via les plantes (Kim *et al.*, 2017). Une fois sur le sol, les pesticides subissent différents processus influençant leur devenir en occurrence le transport (adsorption, volatilisation, lixiviation et lessivage sur la surface du sol) et leur persistance (transformations/dégradations biotique et abiotique) (Carles Louis, 2016).

En effet, une fois que les pesticides ont atteint le sol, ils commencent à disparaître, et sont généralement soumis à de nombreux processus qui vont conditionner leur devenir (Meryem et Mehassoul, 2019). Cependant, il est important de noter que le devenir des pesticides dépend, des propriétés physico-chimiques propres de chaque molécule, des propriétés du sol et des conditions climatiques (Ueji *et al.*, 2001). De même, la persistance et la biodisponibilité des

pesticides peuvent être influencées par des adjuvants (Aartsen *et al.*, 2016). La présence d'autres pesticides peut également influencer la mobilité d'un composé, en modifiant notamment ses capacités d'adsorption aux particules du sol (Nabiha Aloui, 2020).

I.1.3.2. Contamination des eaux

Une des conséquences environnementales majeures de l'agriculture intensive actuelle est la dégradation de la qualité des eaux. En effet, les résidus de pesticides sont présents sous forme de mélanges dans l'environnement (Narbonne Jean, 2002). Ils peuvent subir des effets synergiques ou antagonistes additifs qui peuvent altérer l'équilibre des écosystèmes (Yasser Ei-Nqhhah, 2015). L'infiltration des pesticides, peut contaminer les cours d'eau et toute source d'eau douce ou potable, et aussi contaminer les personnes habitant dans les zones de dépôts. En outre, les mollusques, les algues, les insectes, les petits crustacés, les plantes aquatiques ou tout organisme vivant dans une eau au voisinage des champs traités peuvent aussi être endommagé.

Dans les eaux souterraines, 55% des points de mesure montrent la présence de pesticide et 25% nécessitent un traitement spécifique d'élimination des pesticides afin d'être utilisés pour la production d'eau potable (Schrack *et al.*, 2009). La contamination par les pesticides est le plus souvent un phénomène irrégulier. Il est à noter que des pics de concentrations sont fréquemment observés dans les quelques heures qui suivent les épisodes pluviaux (Schulz Ralf, 2001) et que la contamination des eaux de surface est d'autant plus élevée que la surface des bassins versants est faible (Schulz Ralf, 2004).

I.1.4. Impact des pesticides sur la santé humaine

L'utilisation intensive des pesticides contribue à la morbidité et à la mortalité des travailleurs agricoles et de leurs familles par le biais des maladies aiguës ou chroniques liées à ces derniers (Batsch Dorothee, 2011). Ainsi, selon l'agent et l'exposition, ces maladies peuvent être grave ou non. En effet, l'exposition aux pesticides affecte négativement le système cardiovasculaire, le système nerveux, les organes de sens, le système respiratoire et la fonction pulmonaire est réduite. Plusieurs maladies de la peau, notamment des dermatites ont été rapportées (Scheen André, 2021). Certains pesticides peuvent être cancérogènes, initiateurs de tumeurs, tandis que d'autres peuvent être mutagènes. De plus, beaucoup d'entre eux sont apparus comme étant des immunosuppresseurs puissants (Gdoura Mériem, 2013).

L'impact des pesticides sur la santé est étroitement lié à la dose d'exposition de contact. En effet, les pesticides sont des composés dont la toxicité est généralement exprimée en dose létale 50 (DL₅₀), qui représente le poids de substance nécessaire pour tuer 50% des animaux en expérience. Des électroencéphalogrammes anormaux ont été observés dans certaines études sur

des travailleurs agricoles exposés aux insecticides organochlorés, organophosphorés et aux carbamates (Blanc-Lapierre, 2012).

I.2. Biodégradation des pesticides

La dégradation biotique des pesticides dans le sol et dans les eaux, est réalisée par la microflore présente dans ces milieux et consiste en des transformations chimiques dues à leurs systèmes enzymatiques (Faugier Aurelie, 2010). Le principe de biodégradation s'explique par la dégradation des composés à base de carbone par les micro-organismes. Ces micro-organismes dégradant les pesticides sont en majorité des bactéries (Abdelli *et al.*, 2016). Leur activité dans le processus de dégradation dépend de leur patrimoine enzymatique qui détermine la nature des réactions chimiques. Ces bactéries impliquées dans la biodégradation des pesticides agissent suivant quatre mécanismes d'action :

- Le métabolisme direct qui fait des pesticides une source d'énergie utilisée pour la croissance des micro-organismes ;
- Le métabolisme gratuit, il s'agit d'une transformation chimique des pesticides mais ils ne sont pas une source d'énergie pour les microorganismes ;
- La conjugaison : réaction chimique, catalysée par des enzymes exocellulaires, entre les pesticides et d'autres pesticides ou d'autres molécules présentes dans la solution ;
- L'accumulation : les pesticides ou leurs métabolites sont stockés dans leur corps microbien (Goudoum et Tinkeu, 2016).

Les trois premiers mécanismes aboutissent à des modifications de la composition et de la structure chimique des pesticides. Ils sont directement liés à la dégradation des pesticides. En effet, les microorganismes ont besoin d'éléments nutritifs (C, N, P....) d'eau et d'énergie pour leur croissance et le maintien de leur activité (Gdoura Mériem, 2013).

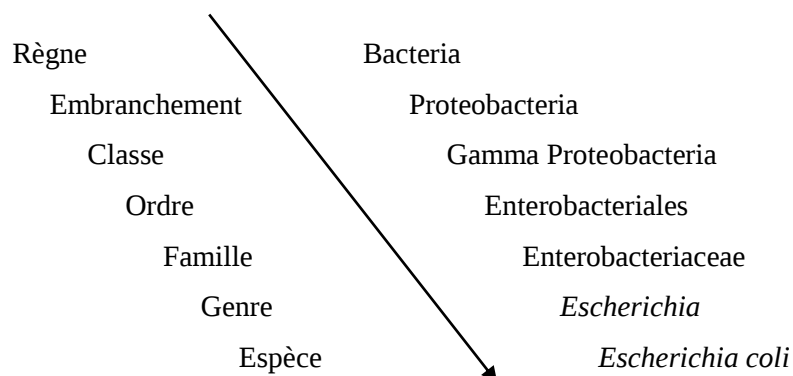
I.3. Généralités sur les protéobactéries

I.3.1. Généralités sur *Escherichia coli*

I.3.1.1. Caractéristiques et taxonomie

Escherichia coli (*E. coli*) est un bacille Gram négatif aérobie, asporulé, mesurant 2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. C'est une bactérie fine et allongée aux extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche. La bactérie possède à sa surface des appendices filiformes très courts, rigides et cassants propres aux bactéries Gram négatifs. Ces pili ou fimbriae lui confèrent des propriétés hémagglutinantes. Ce germe non exigeant, sur

gélose ordinaire donne des colonies lisses, brillantes et homogènes (Nawel *et al.*, 2017). La plupart des *Escherichia coli* se multiplient rapidement (18 à 24 h) sur les milieux habituels (Endo). Les colonies ont en moyenne 2 mm de diamètre. Elles sont rondes, plates et à bords réguliers (Pradel *et al.*, 2002). *E. coli* est une bactérie mésophile, son optimum de croissance est proche de la température des animaux homéothermes ou à sang chaud (35-43°C). Par ailleurs, parmi les coliformes fécaux, cette espèce est la seule qui soit sans équivoque toujours d'origine fécale et à ce titre, elle est de plus en plus considérée comme l'organisme indicateur spécifique d'une pollution fécale (Edberg *et al.*, 2000). La plupart des souches d'*Escherichia coli* (environ 70%), ont des flagelles, mais leur mobilité est nettement moindre que celle de *Salmonella* (le Minor et Richard, 1993). *Escherichia* est ainsi classé par Garrity *et al.* (2005) comme suit :



E. coli a une taille qui varie entre 0,5 et 3 μm (0,5 μm de diamètre en moyenne), comprend une grande variété de formes, est ubiquiste, et vit surtout dans l'intestin de l'Homme et des animaux. La figure 2 représente des cellules d'*E. coli*.



Figure 2 : Cellules d'*E. coli* observées au microscope électronique à balayage (Jubelin, 2005).

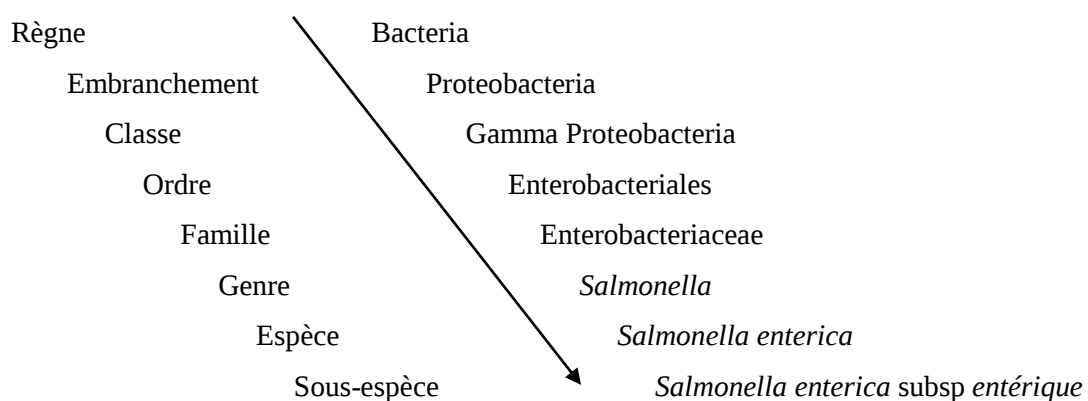
I.3.1.2. Habitat et distribution dans l'environnement

Escherichia coli est une bactérie qui vit dans le tube digestif (partie distale de l'iléon et du côlon) de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud (OMS, 2018). Elle colonise le tube digestif dès les premières heures de vie (Kouamé René, 2019). Elle constitue dès lors l'espèce bactérienne dominante de la microflore anaérobie facultative de l'intestin (Grimont *et al.*, 2003). Ainsi, à partir des années 1950, de nombreuses souches d'*E. coli* appartenant à des sérotypes particuliers ont été répertoriées, chez l'Homme comme chez l'animal, comme étant des souches pathogènes responsables des affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques sévères voire mortelles (Kaper *et al.*, 2004). Sa présence dans l'environnement et dans l'eau est un indice de contamination fécale (Santé Canada, 2006). Cette dernière amène à penser à la présence d'autres microorganismes pathogènes.

I.3.2. Généralités sur *Salmonella typhi*

I.3.2.1. Caractéristiques et taxonomie

Salmonella typhi est un serovar de la sous espèce *salmonella enterica* subsp *enterique* et du genre *Salmonella*. Il s'agit d'un bacille Gram négatif et mobiles pour la plupart. Ces bactéries ont pour caractères essentiels la non fermentation du lactose et l'absence de production d'uréase. Le genre *Salmonella* appartient au règne des Bacteria (taille varie entre 0,7 et 1,5 µm de diamètre, forme de bâtonnet), à l'embranchement des Proteobacteria (grande variété de formes, bactéries pathogènes, fixation biologique de l'azote, production de l'acide acétique, aéro-anaérobies facultative), à la classe des Gammaproteobacteria (bactérie ubiquiste), à l'ordre des Enterobacterales (bactérie à Gram négatif), à la famille des Enterobacteriaceae (vit surtout dans l'intestin) et au genre *Salmonella* (bacille droit, Gram négatif, mobile grâce à une ciliature péritriche, aéro-anaérobie facultative).



On peut reconnaître quatre étapes dans l'évolution de la taxonomie de *Salmonella* : l'évidence clinique, la spécificité des antigènes, les propriétés biochimiques et l'hybridation de l'ADN (Bergeron Nadia, 2010). Aucune de ces propositions n'a fait l'unanimité dans la communauté scientifique. La distance génétique mesurée par l'analyse des isoenzymes (multilocus enzyme electrophoresis) et l'hybridation ADN/ADN ont permis de reconnaître deux espèces dans le genre *Salmonella* (Reeves *et al.*,1989). La première est *Salmonella enterica* qui se divise en six sous-espèces : *S. enterica subsp. enterica* (sous-espèce I), *S. enterica subsp. salamae* (sous-espèce II), *S. enterica subsp. arizonae* (sous-espèce IIIa), *S. enterica subsp. diarizonae* (sous-espèce IIIb), *S. enterica subsp. houtenae* (sous-espèce IV) et *S. enterica subsp. indica* (sous-espèce V). La deuxième espèce est *Salmonella bongori* (anciennement sous-espèce V) (Reeves *et al.* ;1989). Le principal mode de contamination chez l'Homme est l'ingestion à partir de l'eau ou des aliments contaminés. La figure 3 présente des cellules de *Salmonella typhi*.



Figure 3 : Cellules de *S. typhi* observées au microscope électronique à balayage (Jubelin, 2005)

Salmonella enterica serovar typhi (*S. typhi*) est la cause de la fièvre typhoïde, une maladie systémique affectant environ 20 millions de personnes par an dans le monde (Diaz-Guevara *et al.*, 2020). Elles traversent la paroi intestinale et gagnent les ganglions mésentériques satellites de l'Homme où elles vont se multiplier. La dose infectante serait de l'ordre de 10^5 bactéries. Bien qu'il s'agisse d'une maladie courante, on en sait encore très peu sur les mécanismes moléculaires sous-jacents à la fièvre typhoïde et à la pathogenèse de *S. typhi*. De plus Contrairement aux autres salmonelles, *S. typhi* ne peut infecter que les humains (Spanò Stéphanie, 2016).

I.3.2.2. Habitat et distribution dans l'environnement

Les *Salmonella* sont des parasites de l'Homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (Poïkilothermes ou pœcilothermes). Elles peuvent survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans les milieux aquatiques. Elles se retrouvent dans les aliments crus, ou insuffisamment cuits : la volaille, la viande, les fruits de mer et les œufs (Harich Medhi, 2017). Les salmonelles sont non sporulantes, non encapsulées et poussent facilement sur des milieux usuels et en anaérobiose. Les colonies ont généralement 7 mm un diamètre de 2 à 4 mm et *Salmonella* a une croissance optimale à 37°C : c'est un pathogène intracellulaire facultatif qui infecte l'hôte par voie orale (Bergeron Nadia, 2010). L'habitat des salmonelles est le tractus intestinal humain et de la plupart des espèces animales. *Salmonella* a souvent été nommée pathogène universel. Les signes cliniques d'une infection par des salmonelles peuvent varier d'une entérite à une infection septicémique pouvant être fatale. *Salmonella* est aussi incriminée dans des cas de toxi-infections alimentaires chez l'humain

I.3.3. Généralités sur *Vibrio cholerae*

I.3.3.1. Caractéristiques et taxonomie

Ce bacille fût initialement observé par Pacini en 1854 puis isolé en 1883 par Robert Koch en Inde (Benhalima Lamia, 2018). *Vibrio cholerae* est un bacille Gram négatif en forme de bâtonnet incurvé vivant dans l'eau et ayant une grande capacité de survie environnementale. Elle tolère très bien la salinité mais ne se retrouve pas vraiment en mer mais plutôt dans les estuaires, les rivières et les nappes phréatiques et toutes les sources d'eau contaminées par des déjections humaines. La figure 4 représente des cellules de *Vibrio cholerae*.

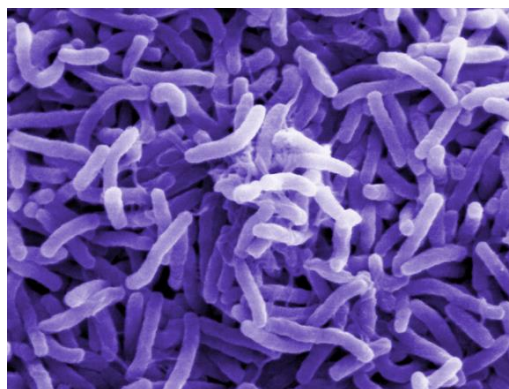
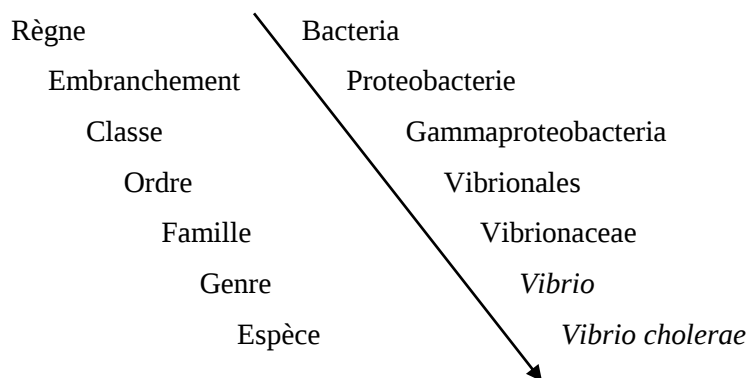


Figure 4 : Image de la bactérie *Vibrio cholerae* au microscope optique (Kim *et al.*, 2000)

Le choléra est une maladie diarrhéique épidémique, strictement humaine, due à des bactéries appartenant aux sérogroupes O1 et O139 de l'espèce *Vibrio cholerae* (Isabelle

Burgun, 2012). L'émergence du choléra a été un problème de santé publique important dans le monde et la bataille pour contrôler complètement cette maladie mortelle se poursuit. La prévalence des micro-organismes *Vibrio cholerae* dans l'environnement a été considérée comme le facteur le plus important à cet égard (Soomro et Junejo, 2004). *Vibrio cholerae* peut ainsi décrit comme suit :



I.3.3.2. Habitat et distribution dans l'environnement

V. cholerae est une bactérie saprophyte retrouvée dans l'environnement, particulièrement dans les eaux saumâtres des estuaires, les lits des fleuves et au contact du zooplancton, des algues marines et des plantes aquatiques dans la plupart des zones côtières des régions tempérées ou tropicales du monde (Beaupoil *et al.*, 2010). Le vibrion cholérique est une bactérie très mobile, aux exigences nutritionnelles modestes dont l'Homme essentiellement et, dans certains cas, l'environnement est le réservoir. La maladie résulte de l'absorption par la bouche d'eau ou d'aliments contaminés. Une fois dans l'intestin, les vibrions sécrètent notamment la toxine cholérique, principale responsable de l'importante déshydratation qui caractérise l'infection : les pertes d'eau et d'électrolytes peuvent atteindre 15 litres par jour (Batumbo Boloweti, 2021). L'Homme joue à la fois le rôle de milieu de culture et de moyen de transport pour le vibrion cholérique (Benhalima Lamia, 2018). Le choléra sévit dans le monde avec des vagues de maladie endémique, en Afrique subsaharienne ou en Asie, ou sous forme de vastes épidémies, comme celle qui a atteint Haïti fin octobre 2010 ou le Yémen en 2017 (Balmond Louis, 2018), illustrant la menace bien actuelle que constitue ce fléau pour la santé publique.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Description du site d'étude

L'étude a été réalisée en microcosme aquatique au Laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I. Elle a eu lieu à la période allant de décembre 2020 à mai 2021.

II.1.2. Choix du matériel

II.1.2.1. Choix des espèces bactériennes

L'étude a porté sur trois espèces bactériennes notamment *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Vibrio cholerae* appartenant respectivement aux genres *Escherichia*, *Salmonella* et *Vibrio*. Celles-ci ont été choisies en raison de leur importance en hygiène et en santé publique, ainsi que pour leur capacité à indiquer la qualité microbiologique des eaux destinées à la consommation (Baggesen *et al.*, 2000 ; Edberg *et al.*, 2000).

II.1.2.2. Choix du pesticide

Le pesticide SAVAHALER est le pesticide retenu pour cette étude. Il s'agit d'un insecticide à large spectre dirigé contre divers insectes pour protéger une grande variété de cultures comme celle des fruits, des légumes, des plantes ornementales et autres. Ce dernier a été choisi en raison de son usage courant en agriculture. Il fait partie des produits phytosanitaires homologués au Cameroun le 18 Avril 2019. La figure 5 représente une photographie du pesticide SAVAHALER.



Figure 5 : Photographie du sachet de pesticide (A : face avant B : face arrière)

Le principe actif de ce pesticide est le méthomyl, qui est présenté comme un produit très dangereux selon la classification de l’OMS (2019) des pesticides en fonction des dangers qu’ils représentent. Il s’agit d’un carbamate d’oxime à large spectre couramment utilisé pour lutter contre les arthropodes, les nématodes et les mouches (Hadjar et Ouahab, 2015). Le méthomyl agit par inhibition de l’enzyme acétylcholinestérase, tuant ainsi les insectes ciblés par contact direct et indirect (George et Shukla, 2011). La figure 6 représente la structure chimique du méthomyl.

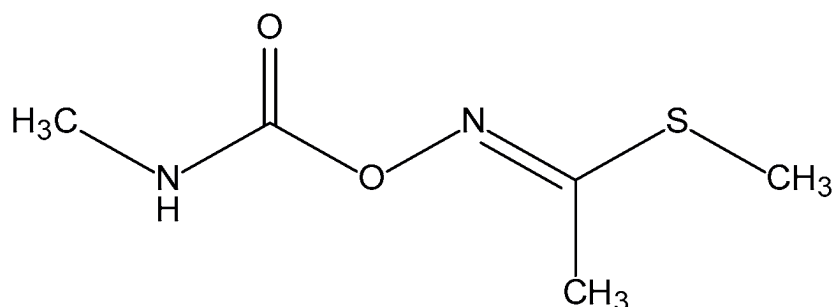


Figure 6 : Structure chimique du méthomyl

II.2. Méthodes

II.2.1. Isolement et identification des microorganismes

Les espèces bactériennes ont été isolées par les techniques standards dans les eaux de surface (cours d’eau Olézoa) de la ville de Yaoundé, en utilisant les milieux de cultures spécifiques pour chacune d’elles. L’échantillon d’eau a été prélevé dans des flacons en verre stériles et transporté au laboratoire dans une enceinte réfrigérée. Au laboratoire, 100 µL de l’échantillon prélevé ont été ensemencés sur les géloses spécifiques. Il s’agit notamment de la gélose Endo, la gélose WB (Wilson-blair) et la gélose TCBS (Thiosulfate-Citrate-sels Biliaires-Saccharose), respectivement pour *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Vibrio cholerae*. Après subculture sur gélose ordinaire coulée en pente dans les tubes à essais, l’examen à l’état frais, suivi de l’examen au frottis coloré par la méthode de Gram ont été effectués sur les cellules bactériennes isolées. Les tests d’identification ont ensuite été effectués sur tous les germes par les méthodes biochimiques standards (Holt *et al.*, 2000). Ces tests consistent en la révélation de certains caractères significatifs et stables du métabolisme des espèces bactériennes utilisées.

II.2.2. Préparation des suspensions bactériennes

Pour chaque souche bactérienne, une préculture a été préparée par ensemencement bactérien sur la gélose ordinaire (PCA) coulée en pente dans les tubes à essai, suivie d’une

incubation à l'étuve pendant 24 heures à 37°C. Les colonies pures ainsi formées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et introduites dans de l'eau physiologique (NaCl 0,85 %) stérile. La suspension bactérienne homogène obtenue après agitation au vortex a été préparée à une densité optique (DO) de 600 nm comprise entre 0,08 et 0,1 (correspondant au Mac Farland). Une DO de (0,08 – 0,1) correspond à 10^8 UFC/mL (Haddouchi *et al.*, 2009). Cette suspension bactérienne a été diluée à 10^{-4} .

II.2.3. Préparation des solutions de pesticide

II.2.3.1. Précaution d'emploi

SAVAHALER est un insecticide systémique à effet de choc pour la protection des cultures maraîchères contre les attaques de noctuelles défoliatrices, insectes broyeurs et piqueurs suceurs (œufs et larves).

Ce pesticide est conditionné en sachets-dose hydrosolubles de 60g. Le sachet-dose doit directement être déposé dans le réservoir du pulvérisateur préalablement rempli d'eau à moitié ; bien agiter et poursuivre le remplissage du réservoir en continuant l'agitation. Les règles de sécurité suivantes devront être observées :

- Ne pas manger, boire ou fumer dans toute zone susceptible d'être contaminée par le produit ;
- Ne pas respirer les vapeurs du produit ;
- Éviter le contact avec les yeux et la peau ;
- Ne pas appliquer sur de l'aluminium, ni des surfaces cirées, laquées ou peintes ;
- Porter des gants et des masques ;
- Tenir hors de la portée des enfants ;
- Conserver le produit dans son emballage d'origine ;

II.2.3.2. Détermination des masses du pesticide

Il est question de déterminer les différentes masses du pesticide à utiliser lors de cette étude ceci en rapport avec la masse prescrite par le fabricant. De ce fait, 5 masses différentes ont été prises en compte pour cette étude.

- La masse m_3 représente la quantité de pesticide de base utilisée par les agriculteurs.

Si pour 60g $\longrightarrow$ 16 L soit 16000 mL

x $\longrightarrow$ 1000 mL

$$x = \frac{60 \times 1000}{16000} = 3,75 \text{ g}$$

de ce fait $m_3 = 3,75 \text{ g}$

- La masse m_1 qui représente le quart de la masse mère m_3 .

$$m_1 = \frac{3,75}{4} = 0,94 \text{ g}$$

$$m_1 = 0,94 \text{ g}$$

- La masse m_2 qui représente la moitié de la masse mère m_3

$$m_2 = \frac{3,75}{2} = 1,87 \text{ g}$$

$$m_2 = 1,87 \text{ g}$$

- La masse m_4 qui représente le double de la masse mère m_3

$$m_4 = 3,75 \times 2 = 7,5 \text{ g}$$

$$m_4 = 7,5 \text{ g}$$

- La masse m_5 qui représente le quadruple de la masse mère m_3

$$m_5 = 3,75 \times 4 = 15 \text{ g}$$

$$m_5 = 15 \text{ g}$$

II.2.3.3 Préparation des différentes solutions de pesticide

Cinq masses m_1 , m_2 , m_3 , m_4 et m_5 ont été pesées à l'aide d'une balance électrique. Puis ces masses ont été introduites dans 5 flacons stériles contenant 1000 mL d'eau distillée stérile chacun. Ces flacons ont été agités afin que le pesticide puisse totalement se dissoudre dans l'eau.

. La figure 7 représente la photographie des solutions de pesticide à différentes concentrations.



Figure 7 : Photographie des différentes solutions de pesticides. (Ndambeth, 2021)

Le contenu de chacun de ces flacons a été réparti après filtration (en condition de stérilité absolue) dans 78 autres flacons de 350 mL soit 10 mL par flacon. C'est dans ces derniers que

l'on a introduit 1 mL de suspension bactérienne. La figure 8 présente une photographie des différentes solutions de pesticide réparties dans les flacons d'inoculation.



Figure 8 : Photographie des solutions de pesticide réparties dans les flacons d'inoculation (Ndambeth, 2021)

II.2.4. Inoculation des suspensions bactériennes

Pour chaque espèce bactérienne, les microcosmes aquatiques ont été représentés par 78 flacons de 350 mL répartis en trois lots A, B, et C. Les lots A et B étant constitués de 24 flacons et le lot C constitué de 30 flacons car ce dernier regroupe les flacons du temps initial. Un volume de 10 mL d'eau physiologique (NaCl 0,85%) stérile a été introduit dans 13 flacons qui ont servi de témoin et 10 mL de la solution pesticide ont été introduits dans les 65 autres flacons. Les densités cellulaires des microorganismes dans chaque solution mère ont été diluées à 10^{-4} . Puis, l'une des trois suspensions bactériennes a été introduite à l'aide des pipettes stériles dans chacun des flacons des lots A, B, et C, respectivement (1 mL par flacon). Ce processus a été identique pour les 2 autres suspensions.

Les flacons des lots A et B ont été incubés à 44°C et à 7°C tandis que le lot C a été incubé à température ambiante ($23 \pm 2^\circ\text{C}$).

Les analyses bactériologiques ont été effectuées au temps initial t_0 uniquement pour le lot C et après 3h, 6h, 9h et 24h de contact pour les lots A, B et C. Ces expériences ont été effectuées en 6 campagnes et ce pour chaque espèce dans des conditions de stérilité absolue procurées par la flamme bleue du bec-Bunsen.

NB : 78 flacons correspondent à une campagne pour une espèce bactérienne ; par conséquent pour une campagne générale 234 flacons ont été utilisés.

II.2.5. Analyses bactériologiques

Les analyses bactériologiques ont porté sur l'aspect quantitatif et ont été effectuées sur des milieux gélosés sélectifs. Les milieux de culture utilisés ont été les géloses Endo, Wilson-blair et TCBS respectivement pour *E. coli*, *S. typhi* et *V. cholerae*. Les températures d'incubation ont été de 37°C pour *V. cholerae* et *S. typhi* et 44°C pour *E. coli* pendant 24 à 48 h. Les résultats obtenus ont été exprimés en Unités Formant Colonies par unités par mL (UFC/mL), puis rapportés en UFC/100 mL.

II.2.6. Analyse des données

- Les variations des abondances bactériennes en fonction des concentrations du pesticide, de la température et la durée d'incubation ont été illustrées par des histogrammes à l'aide du programme Microsoft Excel 2016.
- Les pourcentages d'inhibition ont été réalisés l'aide de la formule proposée par Garcia-Ripoll *et al.*(2009).
- A l'aide du logiciel SPSS version 25.0, les degrés de liaison et les comparaisons entre les paramètres analysés ont été évalués à l'aide du test de corrélation « r » de Spearman et du test « H » de Kruskal-Wallis respectivement, à chaque condition d'expérience. Ceci dans l'optique d'établir des relations entre les variables analysées.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Vérification de matériels et méthodes

III.1.1.1. Examen macroscopique des colonies bactériennes

Les bactéries *E. coli*, *V. cholerae* et *S. typhi* ont été isolées respectivement sur les milieux de culture Endo, TCBS (Thiosulfate-Citrate-sels Biliaires-Saccharose), et WB (Wilson-blair).

Les colonies d'*E. coli* observées sur la gélose Endo sont de taille variable (diamètre compris entre 1,2 et 1,8 µm), à contours réguliers et de couleur rouge à reflet métallique doré (Figure 9A).

Sur la gélose Wilson blair, les colonies de *S. typhi* sont de taille moyenne (diamètre compris entre 0,7 et 1,5 µm), à contours irréguliers et à centre noir (Figure 9B).

Les colonies de *V. cholerae* observées sur gélose TCBS sont de 3 µm par 0,5 à 0,8 µm (Figure 9C).

La figure 9 ci-dessous présente les différentes colonies et les caractères cultureux des colonies bactériennes sur les différents milieux de culture.

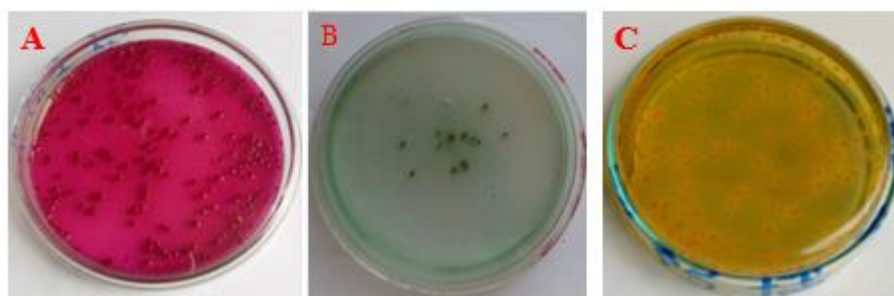


Figure 9 : Photographie des colonies bactériennes sur milieu de culture (A: *E. coli*, B : *S. typhi* et C : *V. cholerae*). (Ndambeth,2021).

III.1.1.2. Examen microscopique

L'examen microscopique des cellules à l'état frais et du frottis coloré a permis de déterminer la mobilité ou l'immobilité, la forme et la flagellation ainsi que l'appartenance Gram des bactéries isolées. Il en ressort que :

- *E. coli* est un bacille Gram négatif, mobile grâce à une ciliature péritriche.
- *S. typhi* est une bactérie Gram négatif en forme de bâtonnet, mobile grâce à une ciliature péritriche.

- *V. cholerae* est un bacille Gram négatif en forme de bâtonnet incurvé et oxydase-positif. Il est doté d'une grande motilité et d'un seul flagelle polaire

III.1.1.3. Tests biochimiques effectués sur les différentes souches

Les colonies d'*E. coli*, *S. typhi* et *V. cholerae* ont fait l'objet des réactions enzymatiques et biochimiques. Les réactions consistent à rechercher soit une enzyme, soit un produit rejeté après dégradation d'un substrat donné dans les conditions expérimentales.

La prise en compte de tous les résultats des tests d'identification conduit à affirmer que les espèces bactériennes analysées sont bel et bien celles recherchées. Le Tableau II ci-dessous présente les résultats des différents tests d'identification biochimiques réalisés.

Tableau II : Résultats des tests biochimiques

	Espèces bactériennes		
Tests d'identification effectués	<i>E. coli</i>	<i>S.typhi</i>	<i>V.cholerae</i>
Coloration de Gram	-	-	-
Motilité	+	+	+
Mannitol	+	+	+
Fermentation du glucose	+	-	-
Fermentation du lactose	+	-	-
Citrate de Simmons	-	-	+
Uréase	-	-	-
H ₂ S	-	+	-
Indole	+	-	+

+ : réponse positive au test ; - : réponse négative au test

III.1.2. Effet du pesticide sur les densités bactériennes

Les figures 10,11, et 12 illustrent en fonction du temps, de la température d'incubation et pour chaque concentration de pesticides les variations des densités bactériennes. Ces graphes montrent une diminution considérable des densités d'*E. coli*, de *S. typhi* et de *V. cholerae* après 3h de contact et ceci quelle que soit la température d'incubation et la concentration du pesticide.

III.1.2.1. Effet du pesticide SAVAHALER sur la variation temporelle des densités cellulaires d'*E. coli*

En présence des différentes concentrations de pesticides, les densités cellulaires d'*E. coli* cultivables ont oscillé entre 8,287 et 5,23 unités (log UFC/100 mL) à la température 7°C, entre 8,285 et 5,549 unités (log UFC/ 100 mL) à la température ambiante (23°C) et entre 8,287 et 5,028 pour 44°C. Les concentrations cellulaires les plus élevées ont été observées chez les témoins au temps t_0 correspondant au temps initial ; cependant, la plus petite concentration a été observée au temps t_1 (après 3h) à 44°C, à la concentration 0,94 g/L. On constate donc qu'après 3h les concentrations ont tendance à diminuer avant d'augmenter à t_2 (après 6h de contact) et de décroître à nouveau à t_4 (24h) pour les températures 7°C et 44°C. La figure 10 présente les variations des densités bactériennes d'*E. coli* après 3h, 6h, 9h et 24h de contact avec le pesticide SAVAHALER aux températures 7°C, 44°C et à température ambiante

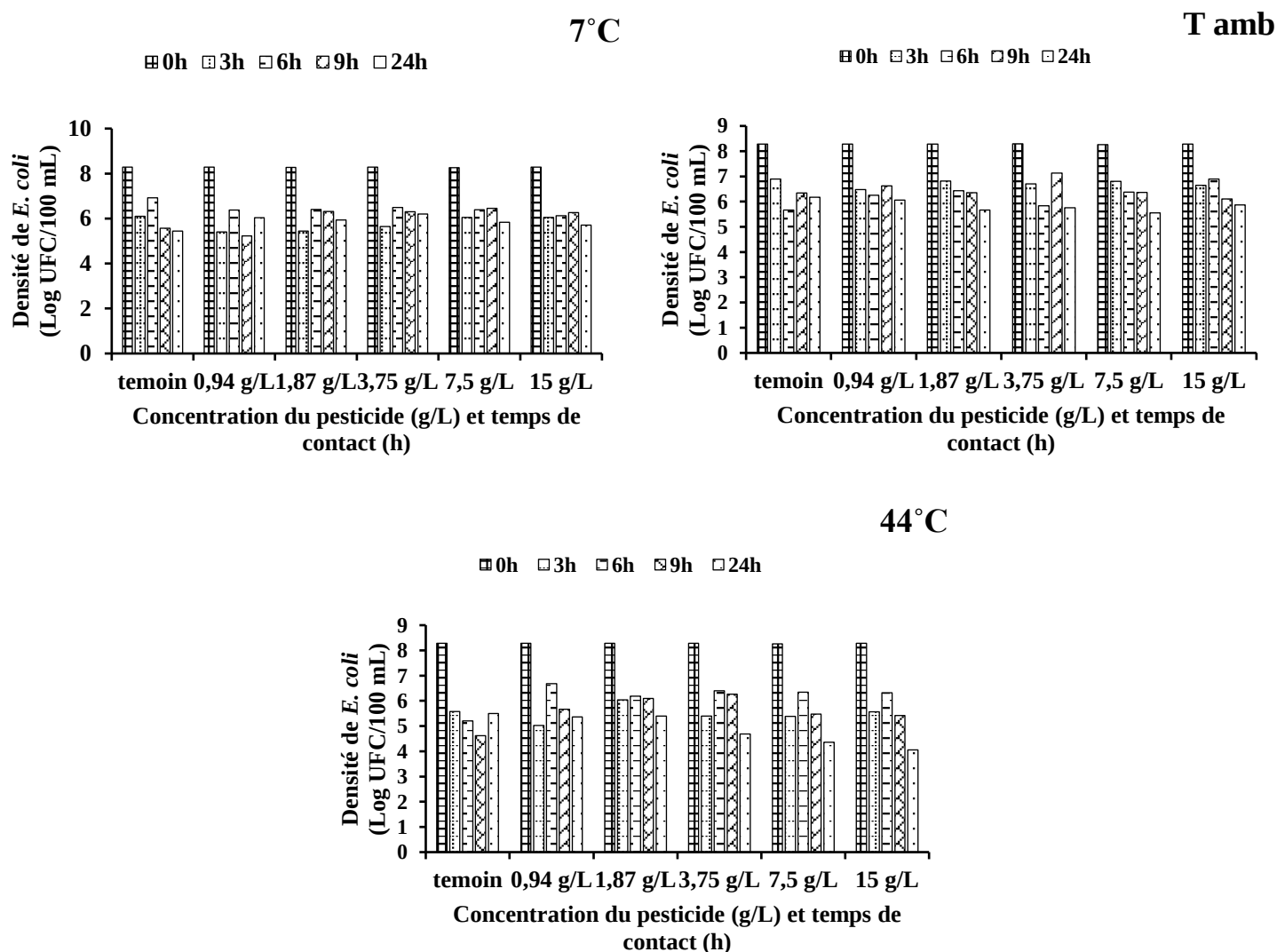


Figure 10 : Variation des densités d'*E. coli* en fonction du temps et de la température

III.1.2.2. Effet du pesticide SAVAHALER sur la variation temporelle des densités cellulaires de *S. typhi*

En présence des différentes concentrations de pesticides, les densités cellulaires de *S. typhi* cultivables ont oscillé entre 8,301 et 4,560 unités (log UFC/100 mL) à la température 7°C, entre 8,301 et 4,959 unités (log UFC/100 mL) à la température ambiante et entre 8,301 et 2,151 unités (log UFC/100 mL) pour 44° C. Les densités cellulaires les plus élevées ont été observées dans les témoins au temps t_0 correspondant au temps initial ; cependant la plus petite densité cellulaire a été observée au temps t_4 (après 24h de contact), à 44°C à la concentration 15 g/L. On constate donc qu'à partir de 3h de contact les densités sont sensiblement stables à 7°C et à température ambiante ; tandis qu'à 44°C, les densités cellulaires décroissent considérablement après 24h de contact. La figure 11 présente les variations des densités bactériennes de *S. typhi* après 3h, 6h, 9h et 24h de contact avec le pesticide SAVAHALER aux températures 7°C, 44°C et à température ambiante.

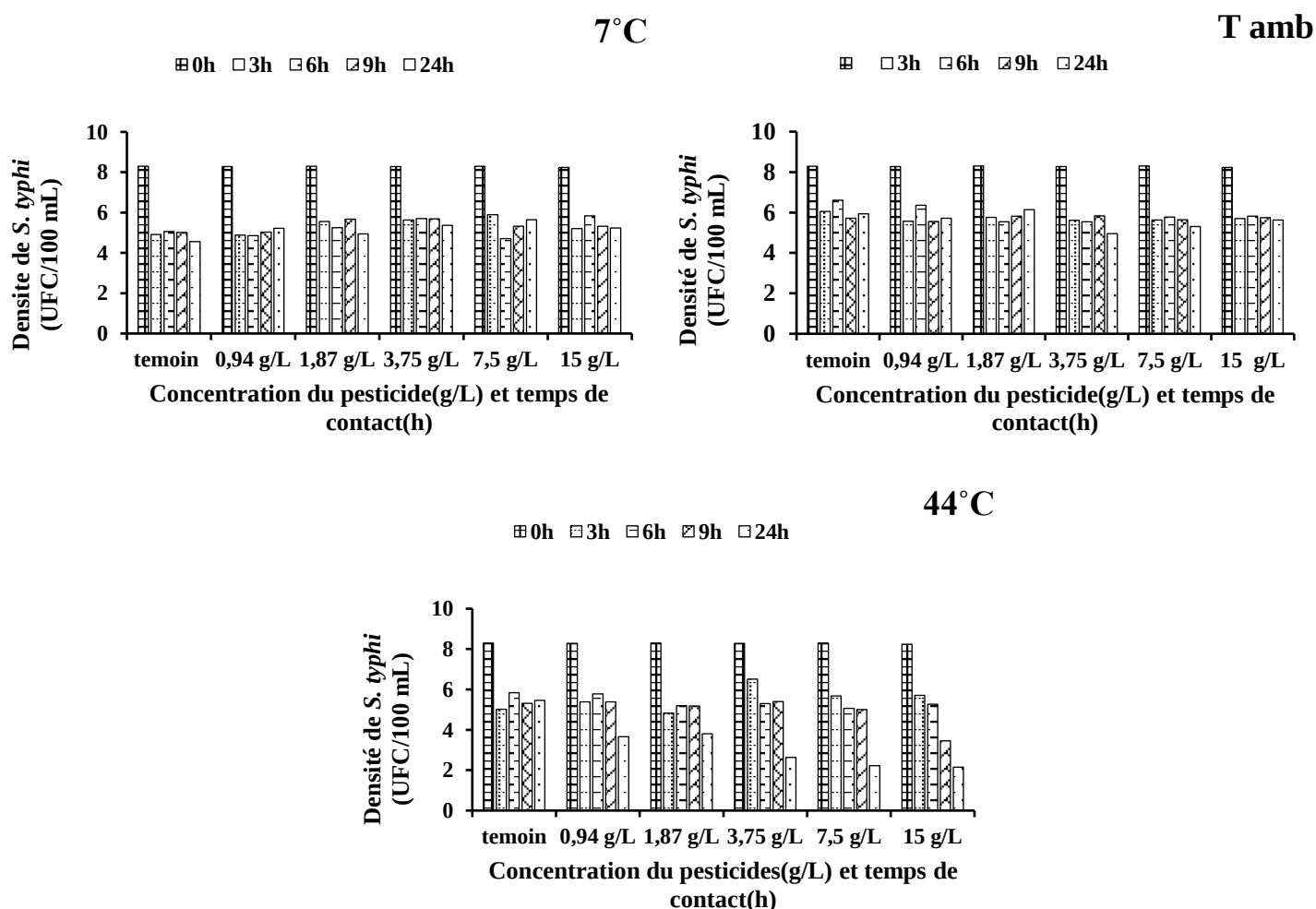


Figure 11 : Variation des densités de *S. typhi* en fonction du temps et de la température

III.1.2.3. Effet du pesticide SAVAHALER sur la variation temporelle des densités cellulaires de *V. cholerae*

En présence des différentes concentrations de pesticides, les densités cellulaires de *V. Cholerae* cultivables ont oscillé entre 8,300 et 2,074 unités (log UFC/100 mL) à la température 7°C, entre 8,300 et 2,221 unités (log UFC/100 mL) à la température ambiante et entre 8,300 et 2,221 pour 44°C (figure 11). Les concentrations cellulaires les plus élevées ont été observées chez les témoins au temps t_0 correspondant au temps initial ; cependant les plus petites concentrations ont été observées à 7°C et à 44°C. On constate donc qu'après 3h de contact les densités cellulaires diminuent à 7°C et à température ambiante pour croître par la suite entre 6 et 9 heures de contact. A 44°C, les densités cellulaires décroissent au fur et à mesure que le temps de contact augmente. La figure 12 présente les variations des densités bactériennes de *V. cholerae* après 3h, 6h, 9h et 24h de contact avec le pesticide SAVAHALER aux températures 7°C, 44°C et à température ambiante.

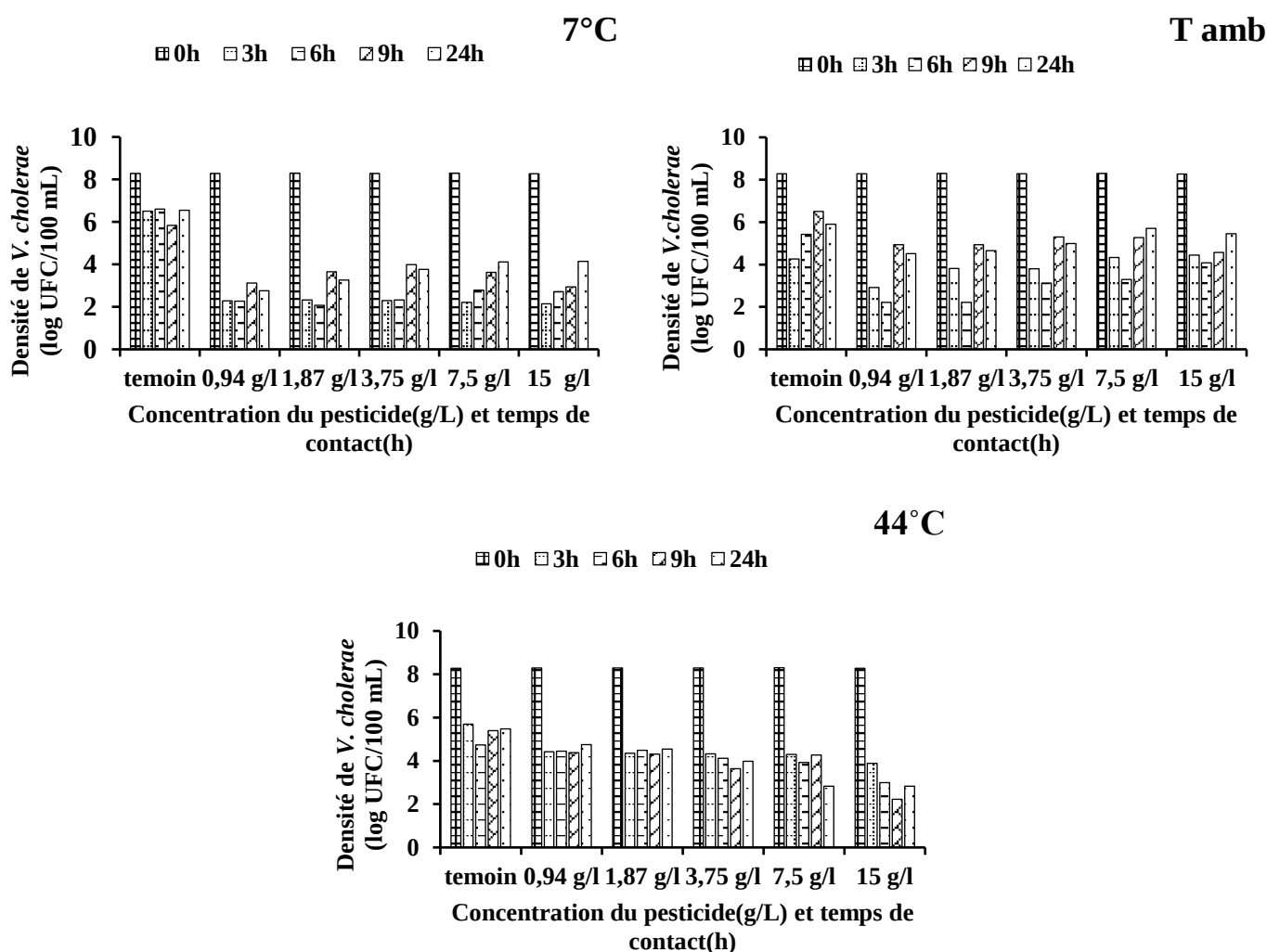


Figure 12 : Variation des densités de *V. cholerae* en fonction du temps et de la température

III.1.3. Pourcentages d'inhibition (PI) des cellules bactériennes

Le calcul des pourcentages d'inhibition a été effectué à l'aide de la formule proposée par Garcia-Ripoll et *al.*, 2009.

III.1.3.1. Pourcentages d'inhibition (PI) des cellules bactériennes à 7°C

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est de 75%, il a été obtenu après 6h de contact de la bactérie *V. cholerae* avec une solution de pesticide de concentration 1,87g/L à 7°C. Par contre le pourcentage le plus faible obtenu chez *E. coli* après 6h d'incubation avec la solution témoin est de 16,36%. La figure 13 représente la variation des pourcentages d'inhibition des cellules bactériennes à 7°C.

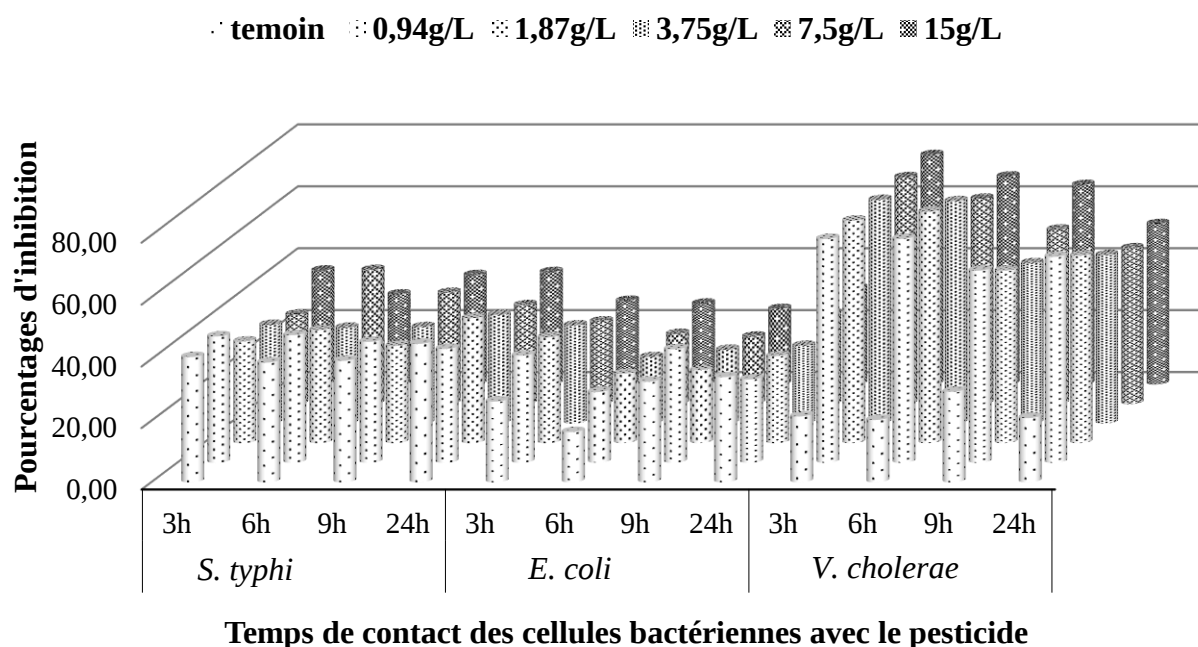


Figure 13 : Variation des pourcentages d'inhibition des cellules bactériennes à 7°C.

III.1.3.2. Pourcentages d'inhibition (PI) des cellules bactériennes à température ambiante

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est de 73,22%, il a été obtenu après 6h de contact de la bactérie *V. cholerae* avec une solution de pesticide de concentration 1,87g/L à température ambiante. Par contre le pourcentage le plus faible obtenu chez *E. coli* après 9h d'incubation avec la solution de pesticide de concentration 3,75 g/L est de 13,97%. La figure 14 représente la variation des pourcentages d'inhibition des cellules bactériennes à température ambiante.

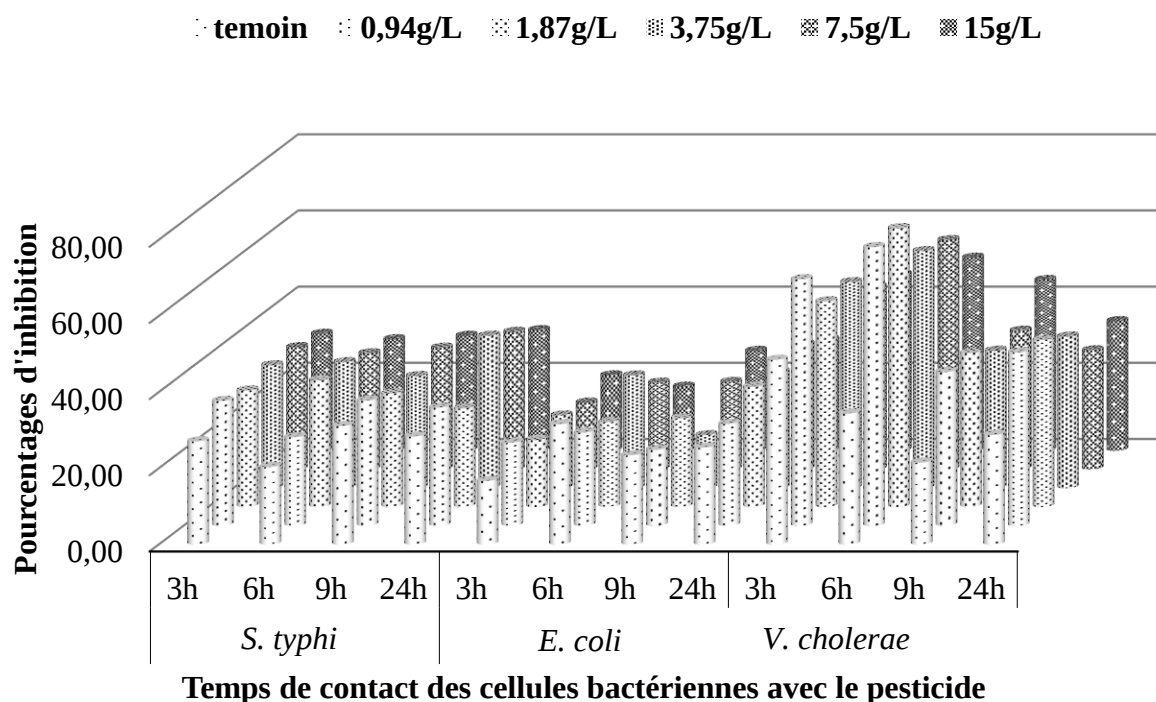


Figure 14 : Variation des pourcentages d'inhibition des cellules bactériennes à température ambiante.

III.I.3.3. Pourcentages d'inhibition (PI) des cellules bactériennes à 44°C

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est de 73,87%, il a été obtenu après 24h de contact de la bactérie *S. typhi* avec une solution de pesticide de concentration 15g/L. Par contre le pourcentage le plus faible obtenu chez *E. coli* après 6h d'incubation avec la solution de pesticide de concentration 0,94 g/L est de 19,33%. La figure 15 représente la variation des pourcentages d'inhibition des cellules bactériennes à 44°C.

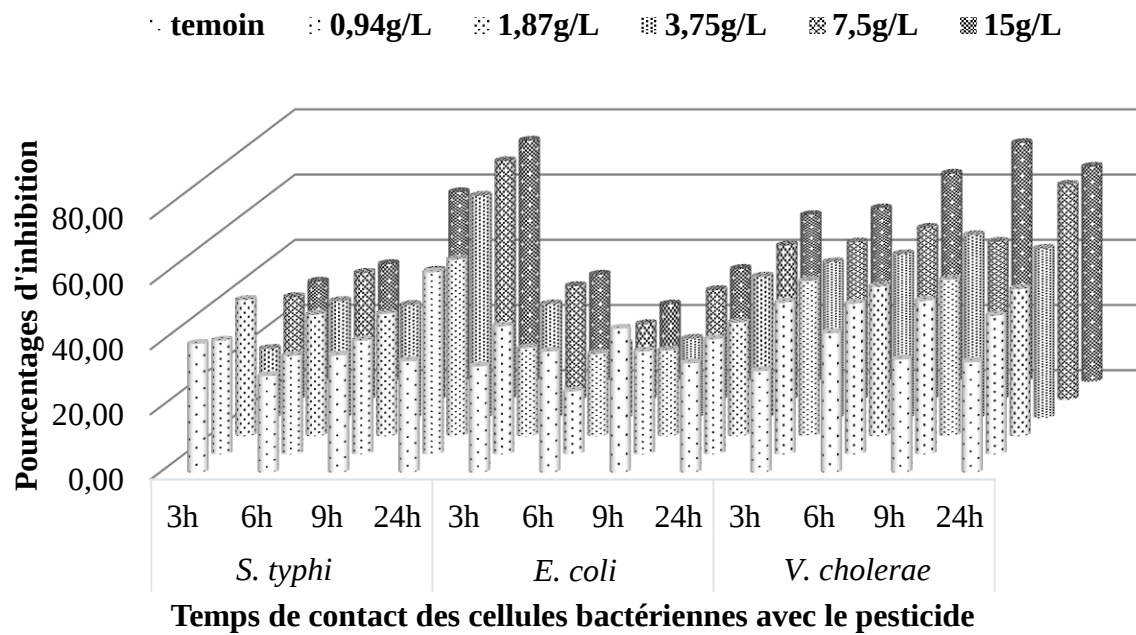


Figure 15 : Variation des pourcentages d’inhibition des cellules bactériennes à 44°C

III.1.4. Vitesses de régression des densités cellulaires en contact avec le pesticide et les Coefficients de détermination (R²)

Les vitesses de régression des densités bactériennes ont varié en fonction de la température d’incubation, de la concentration du pesticide et de l’espèce bactérienne. La plus grande vitesse de régression (-0,2526 UFC/100 mL/h) a été obtenu chez *V. cholerae* et la plus petite vitesse de régression (-1,442 UFC/100 mL/h) a été notée chez *S. typhi*. Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau III ci-après.

Tableau III : Vitesses de régression des densités bactériennes sous l'action du pesticide

Espèces	Température	Vitesses de régression (UFC/100 mL/h) et Coefficients de détermination (R ²)					
		Tem	C1	C2	C3	C4	C5
<i>S. typhi</i>	7°C	-0,7362	-0,5978	-0,6611	-0,5772	-0,5895	-0,5862
		0,5752	0,4097	0,6015	0,571	0,4583	0,5147
	Température ambiante	-0,5038	-0,5148	-0,4242	-0,6409	-0,5988	-0,517
		0,5818	0,4942	0,3517	0,6161	0,5964	0,5292
	44°C	-0,5384	-0,9254	-0,8638	-1,2412	-1,283	-1,442
		0,4121	0,7753	0,6565	0,9083	0,8777	0,966
<i>E. coli</i>	7°C	-0,6201	-0,4663	-0,3815	-0,35533	-0,4456	-0,4945
		0,7024	0,3647	0,3124	0,3107	0,534	0,5788
	Température ambiante	-0,4774	-0,4289	-0,5687	-0,4627	-0,5873	-0,5361
		0,569	0,5826	0,8594	0,4942	0,8641	0,8056
	44°C	-0,6525	-0,522	-0,5718	-0,6321	-0,7716	-0,8603
		0,5297	0,3919	0,6789	0,5447	0,6929	0,711
<i>V. cholerae</i>	7°C	-0,4126	-1,0211	-0,8741	-0,7349	-0,6954	-0,777
		0,5174	0,3965	0,298	0,2242	0,2093	0,2469
	Température ambiante	-0,2526	-0,5526	-0,6163	-0,5118	-0,4249	-0,5521
		0,0728	0,1378	0,191	0,1658	0,1283	0,2627
	44°C	-0,5912	-0,7106	-0,7533	-0,9303	-1,097	-1,2559
		0,4671	0,4372	0,4713	0,5826	0,6902	0,6622

III.1.4.1. Vitesses de régression de *S. typhi*

Il ressort que, les densités de *S. typhi* ont varié avec une vitesse de régression comprise entre -1,442 et -0,4242 UFC/100 mL/h. La plus grande vitesse de régression (-0,4242 UFC/100 mL/h) a été observée à température ambiante dans la solution de concentration 1,87g/L. La plus petite vitesse de régression (-1,442 UFC/100 mL/h) a été observée à 44°C dans les solutions contenant de concentration 15g/L (Tableau III).

III.1.4.2. Vitesses de régression d'*E. coli*

Dans l'ensemble, les densités d'*E. coli* ont varié avec une vitesse comprise entre -0,8603 et -0,35533 UFC/100 mL/h. La plus grande vitesse de régression (-0,35533 UFC/100 mL/h) a été observée à 7°C dans les solutions contenant le pesticide de concentration C3 (3,75g/L).

La plus petite vitesse de régression (-0,8603 UFC/100 mL/h) a été observée à 44°C dans les solutions pesticides de concentration 15 g/L (Tableau III).

III.1.4.3. Vitesses de régression de *V. cholerae*

Il ressort que, les densités de *V. cholerae* ont varié avec une vitesse comprise entre -1,2559 et -0,2526 UFC/100 mL/h. La plus grande vitesse de régression (-0,2526 UFC/100 mL/h) a été observée à température ambiante dans les solutions témoins. La plus petite vitesse de régression (-1,2559 UFC/100 mL/h) a été observée à 44°C dans les solutions de pesticide de concentration 15 g/L (Tableau III).

III.1.5. Corrélations entre les paramètres évalués

Le test de corrélation « r » de Spearman a été utilisé pour évaluer le degré de liaison entre les densités bactériennes obtenues en présence du pesticide à diverses concentrations et à divers temps d'incubation.

III.1.5.1. Corrélations entre les densités cellulaires et les différentes durées de contact

Le tableau IV ci-dessous montre qu'il existe une corrélation très significative et négative entre les densités bactériennes moyennes et les durées d'incubation ($p < 0,01$). Une augmentation de la durée de contact entre solution pesticide - solution bactérienne entraînerait une diminution des densités bactériennes.

Tableau IV : Coefficient de corrélation « r » de Spearman entre les densités bactériennes et les durées d'incubation

	<i>V. cholerae</i>	<i>S. typhi</i>	<i>E. coli</i>
Durées d'incubation	-0,360**	-0,709**	-0,636**

**= Corrélation significative à $p < 0,01$

ddl = 90

III.1.5.2. Corrélations entre les densités cellulaires et les différentes températures d'incubation

Les coefficients de corrélation « r » de Spearman ont été calculés et sont présentés dans le tableau V. Il en ressort que, les densités cellulaires de *E. coli* et *S. typhi* diminuent significativement lorsque la température d'incubation augmente ($p < 0,05$ et $p < 0,01$).

Tableau V : Coefficient de corrélation « r » de Spearman entre les densités bactériennes et les différentes températures d'incubation

	<i>S. typhi</i>	<i>E. coli</i>
Températures de Contact	-0,238*	-0,282**

**=Corrélation significative à $p < 0,01$ *=Corrélation significative à $P < 0,05$ ddl = 90

III.1.5.3. Corrélation entre les densités cellulaires et les différentes concentrations de pesticide

Le Tableau VI ci-dessous montre qu'il existe une corrélation très significative et négative entre les densités bactériennes moyennes de *V. cholerae* et les concentrations du pesticide ($p < 0,05$). Une augmentation de la concentration du pesticide entraînerait une diminution des densités de *V. cholerae*.

Tableau VI : Coefficient de corrélation « r » de Spearman entre les densités bactériennes et les différentes concentrations de pesticide

	<i>V. cholerae</i>
Concentrations de pesticide	-0,255*

**=Corrélation significative à $p < 0,01$ *=Corrélation significative à $p < 0,05$ ddl = 90

III.1.6. Comparaisons entre les variables analysées

III.1.6.1. Comparaisons entre les densités des cellules bactériennes évaluées aux différentes durées de contact

Le test de comparaison « H » de Kruskal-Wallis révèle une différence très significative entre les densités moyennes de *V. cholerae*, de *S. typhi* et d'*E. coli* évaluées en fonction de la durée de contact. Ainsi, le nombre de bactéries obtenues en présence du pesticide diffère en fonction de la durée d'incubation. Ce nombre diminuerait au fur et à mesure que la durée d'incubation augmente. Le Tableau VII ci-dessous présente les résultats obtenus.

Tableau VII : Comparaison entre les densités des cellules bactériennes évaluées en fonction de la durée de contact.

	<i>V. cholerae</i>	<i>S. typhi</i>	<i>E. coli</i>
Durée de contact	$p = 0,0001$	$p = 0,00002$	$p = 0,00001$

Différence significative à $p < 0,05$

ddl = 90

III.1.6.2. Comparaison entre les densités cellulaires évaluées aux différentes températures d'incubation

Le test de comparaison « H » de Kruskal Wallis n'a révélé aucune différence significative entre les densités moyennes des cellules de *V. cholerae* incubées aux différentes températures d'incubation ; ainsi la température de contact n'influencerait pas sur les abondances de *V. cholerae* en présence du pesticide. Les abondances d'*E. coli* et de *S. typhi* obtenues aux différentes températures d'incubation sont différentes car le test de Kruskal Wallis a révélé une différence significative entre ces abondances cellulaires aux différentes températures. Donc la température de contact influencerait sur les distributions d'*E. coli* et de *S. typhi*. Le Tableau VIII ci-dessous présente les résultats obtenus.

Tableau VIII : Comparaison entre les densités des cellules bactériennes évaluées en fonction de la température de contact.

	<i>S. typhi</i>	<i>E. coli</i>
Température de contact	p=0,007	p=0,005
Différence significative à $p < 0,05$		ddl = 90

III.1.6.3. Comparaison entre les densités cellulaires évaluées aux différentes concentrations de pesticide

Le test de comparaison « H » de Kruskal Wallis a révélé une différence significative entre les densités moyennes des cellules de *V. cholerae* évaluées dans les solutions dépourvues de pesticide et celles contenant le pesticide. Ainsi le pesticide influencerait sur les abondances de *V. cholerae*. Les abondances d'*E. coli* et de *S. typhi* obtenues aux différentes concentrations de pesticide sont identiques car le test de Kruskal Wallis n'a révélé aucune différence significative entre ces abondances cellulaires obtenues en présence et en absence de pesticide. Donc la présence et la variation de la concentration de pesticide influencerait sur les distributions de *V. cholerae*. Le Tableau IX ci-dessous présente les résultats obtenus

Tableau IX : Comparaison entre les densités des cellules bactériennes évaluées aux différentes concentrations de pesticide.

<i>V.cholerae</i>	
Température de contact	p=0,0025
Différence significative à p< 0,05	
ddl = 90	

III.2. Discussion

Au cours de l'étude, une variation temporelle des densités cellulaires a été observée. Cette variation est dépendante non seulement de la concentration du pesticide, mais aussi de la température d'incubation, du temps de contact ainsi que de la bactérie considérée. L'analyse quantitative des densités bactériennes dans les solutions témoins, après chaque période d'incubation et celle des densités des cellules bactériennes après contact avec les solutions de pesticide ont permis de montrer que, la variation des densités cellulaires pourrait être liée à l'action du pesticide SAVAHALER sur la cultivabilité des bactéries *E. coli*, *S. typhi* et *V. cholerae*. Ainsi, selon Pesce Stephane (2006) la contamination régulière de la rivière par les pesticides engendre des perturbations au niveau des communautés microbiennes.

Après 3h de contact, les densités cellulaires d'*E. coli* et de *S. typhi* ont diminué légèrement et graduellement jusqu'à une valeur sensiblement stable aux températures 7°C et ambiante (environ 23°C). A 44°C par contre cette diminution effective est véritablement perceptible pour ces deux bactéries. Les densités bactériennes de *V. cholerae* diminuent considérablement à 7°C et à température ambiante quittant de 8 UFC/100 mL à 2 UFC /100mL pour la solution de pesticide diluée à 7,5 g/L après 3h de contact. A partir de 6h de contact le taux des cellules bactériennes de *V. cholerae* augmente et atteint une valeur de 4UFC/100 mL. Ainsi, cette variation bactérienne pourrait également se traduire par un temps d'acclimatation au milieu (Kempf et Zeitouni, 2012). En effet, suite à l'introduction de nouvelle substance dans un milieu, les densités microbiennes diminuent à cause du stress causé ; cependant, ces microorganismes après adaptation sont susceptibles de dégrader cette substance à la recherche de nutriment (Besse Alison, 2016). Par contre il a été démontré que le locus de résistance à la chaleur (LRC) présent chez *E. coli* et *S. typhi* leur confère une capacité accrue de résistance à l'augmentation de la température (Mercer *et al.*, 2017). De ce fait, ce gène de résistance a pu être inhibé par la présence du pesticide. D'où la corrélation fortement négative entre ces deux espèces bactériennes et la température.

Par contre, à 44°C la densité bactérienne de *V. cholerae* diminue considérablement. En effet, il a été démontré qu'il existait une corrélation positive entre l'augmentation des températures et l'écotoxicité (Noyes *et al.*, 2009). Ceci expliquerait donc la variation de l'abondance bactérienne. En effet, selon Stachowski Haberkorn (2008) une augmentation de la température accentuerait l'effet de certaines substances chimiques présentes dans les eaux douces. D'autant plus que selon Abioye *et al.* (2021), la température influence la variation des abondances de *V. cholerae*. Par ailleurs, ces constats sont en désaccord avec ceux faits par

Asmaa (2018), dont l'étude portait sur l'effet des pesticides sur la diversité bactérienne des champs agricoles et la capacité des bactéries à les dégrader. Il a démontré que le pourcentage des bactéries appartenant à la classe BetaProteobacteria, et à la classe GammaProtéobacteria, du groupe Protéobacteria augmentent significativement au contact des pesticides ; cependant, une fois que l'exposition aux pesticides s'est arrêtée pendant la période hivernale, la biodiversité des bactéries suscitées avait tendance à revenir à la normale. Il est à noter que, ses travaux ont été effectués au Canada qui est un pays dont les températures les plus élevées varient entre 30°C et 35°C. De plus, selon Lavorel *et al.* (2017) la température est un facteur limitant pour la plupart des organismes vivants.

De manière générale, les pourcentages d'inhibition les plus élevés ont été observés chez *V. cholerae* tandis que les plus faibles chez *E. coli*. Si on considère les enzymes présentes chez les bactéries, leur activité augmente avec la température jusqu'à une limite de température optimale, au-delà de laquelle apparaissent des processus de dénaturation qui vont baisser par la suite le taux de croissance (Raby Karine, 2014). Ainsi ce processus de dénaturation couplé à l'action des pesticides peut être à l'origine de la diminution de la densité de *V. Cholerae*.

Les vitesses de régression des bactéries *E. coli*, *S. typhi* et *V. cholerae* ont varié en fonction de la température d'incubation, des concentrations du pesticide et de l'espèce bactérienne considérée. De manière générale elles sont relativement faibles, la plus grande vitesse étant de -0,2526 UFC/100 mL/h, obtenue avec *V. cholerae*. Ceci pourrait se traduire par le fait que les bactéries suscitées résistent à l'action du pesticide utilisé. Cette résistance serait liée aux mécanismes de résistance intrinsèque ou naturelle de chaque bactérie. Ces mécanismes de résistance sont liés aux facteurs environnementaux naturels mais aussi à une pollution accrue (via les substances chimiques déversées dans l'environnement) (De Oliveira, 2019). Ainsi, l'efficacité d'un grand nombre de biocide est aujourd'hui compromise par l'apparition de phénomènes de résistance correspondant à la capacité des organismes à survivre (Ullmann Andrew, 2007).

Le test de corrélation « r » de Spearman effectué entre les densités cellulaires de *V. cholerae* et les différentes concentrations a révélé que la corrélation était très significative et négative. De plus, d'après le test de comparaison « H » de Kruskal la bactérie *V. cholerae* semble être sensible aux variations de concentration du pesticide. Ainsi plus la concentration du pesticide est élevée plus les densités cellulaires ont tendance à diminuer. En effet l'impact des pesticides sur le compartiment bactérien au niveau quantitatif et qualitatif est plus perceptible dans les dispositifs expérimentaux où les bactéries ne peuvent pas bénéficier d'apports organiques allochtones (Pesce Stephane, 2006)

En outre le test de corrélation « r » de Spearman a révélé des liaisons significatives ($P < 0,05$ et $P < 0,01$) entre les densités moyennes des bactéries utilisées, les durées et les températures d'incubation. De même, le test de comparaison « H » de Kruskal-Wallis a montré une différence très significative entre les densités moyennes des bactéries évaluées à différentes périodes (durée d'incubation). Ainsi les abondances d'*E. coli*, de *V. cholerae* et de *S. typhi* obtenues sont différentes aux différents temps de contact mais aussi aux différentes températures d'incubation ; en effet la distribution des bactéries dans les milieux aquatiques est influencée par les facteurs environnementaux (Nola *et al.*, 2001). Cependant selon Antolin *et al.* (2002) l'ajout de matière organique et de nutriments peut principalement affecter l'adsorption, le mouvement et la biodégradation des pesticides. Ce qui pourrait stipuler que la croissance bactérienne ou probablement la dégradation bactérienne serait accentuée par la présence de nutriment.

CONCLUSION, RECOMMENDATIONS ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

La présente étude a eu pour objectif d'évaluer en microcosme aquatique, l'effet du pesticide SAVAHALER sur quelques protéobactéries et d'en ressortir l'impact de la température d'incubation. La concentration du pesticide, le temps de séjour des bactéries dans les solutions de pesticide et la température d'incubation sont les facteurs qui ont été considérés dans cette étude.

Les résultats obtenus permettent de mieux comprendre le processus de biodégradation des pesticides par les bactéries. Les bactéries *E. coli*, *S. typhi* et *V. cholerae* sont, de manière générale résistantes au pesticide SAVAHALER et par conséquent sont susceptibles de dégrader ce dernier. La température d'incubation influence sur les abondances d'*E. coli* et de *S. typhi* en présence du pesticide. Par contre la variation des concentrations du pesticide influence uniquement sur les abondances de *V. cholerae*.

De plus, la durée de contact a une influence sur l'effet du pesticide sur les trois espèces bactériennes prises en compte dans cette étude car le test de comparaison « H » de Kruskal-Wallis révèle une différence significative entre les densités bactériennes évaluées aux différentes durées d'incubation. De même, des corrélations négatives et significatives ont été notées entre les densités cellulaires d'*E. coli*, *S. typhi* et *V. cholerae* et les durées de contact. Cependant, l'augmentation de la durée de séjour de ces bactéries dans le pesticide pourrait révéler une résistance des bactéries au pesticide.

RECOMMANDATIONS

Au regard des résultats obtenus et vu l'importance croissante des risques sanitaires liés à l'utilisation d'une eau souillée par des polluants chimiques, nous pouvons recommander aux pouvoirs publics, de tester l'efficacité du traitement des eaux chimiquement polluées par les bactéries afin de déterminer quelles catégories de bactéries pourraient intervenir dans le traitement des eaux contaminées par les pesticides usuels; aux populations : de privilégier l'utilisation des pesticides biologiques aux détriments de ceux chimiques ; aux chercheurs, d'approfondir les recherches dans ce domaine afin d'apporter d'amples explications sur les mécanismes de traitement des polluants chimiques par les bactéries.

PERSPECTIVES

Dans les travaux futurs, nous envisagerons principalement de :

- Etendre cette étude aux autres microorganismes en mettant en évidence l'influence de la forme flagellaires et de la ciliature ;

- Identifier les gènes responsables de la biodégradation des pesticides tout en quantifiant les enzymes surabondantes en présence des pesticides ;
- Varier davantage les températures d'incubation afin de mieux mettre en évidence l'influence de la température sur le processus étudié ;
- Réaliser une étude sur plusieurs gammes variées de pesticides

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aartsen M.G., Abraham K., Ackerman M. et Adams J., (2016).** Searches for Sterile Neutrinos with the IceCube Detector. *Physical Review Letters* 117(7), 071801. P. 5.
- Abdelli M., MERIBAI N., et SIFOUR M., (2016).** Recherche des bactéries tolérant ou dégradant les pesticides. Thèse de doctorat. *Faculté des Sciences de la Nature et de la Département : Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires. Université de Jijel.* P. 56.
- Abioye O., Osunla A. et Okoh A., (2021).** Molecular of six medically important *Vibrio* spp in selected freshwater and Brackish water resources in Easten cape province, SOUTH AFRICA. *Frontiers in microbiology*, 12, 617703. P. 18. Doi,103389/fmicb.2021.617703.
- Anne Kersante, (2003).** Rôle régulateur de la macrofaune lombricienne dans la dynamique de l'herbicide atrazine en sol cultivé tempéré. *Ecologie, Environnement. Université Rennes 1, Français.* P. 202.
- Antolin G., Tinaut F.V., Briceno Y., Castano V., Perez C., et Ramires A. I., (2002).** Optimisation of biodiesel production by sunflower oil transesterification. *Bioresource technology*, 83(2). P. 111-114.
- Antoun Mandi (2015).** Etude de la diversité des bactéries du sol et caractérisation de nouvelles souches de *Bacillus thuringiensis* actives sur les diptères. *Thèse de doctorat, Université Montpellier ; Université Saint-Joseph (Beyrouth). Faculté des Sciences.* P. 303.
- APHA, (2012).** Standard Methods for the examinations of water & wastewater. 22nd Edition Washington DC. *American Public Health Association.* P. 33.
- Ashraf S., Chaudhry U., Raza A., Ghosh D. et Zhao X., (2018)** In vitro activity of ivermectin against *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 20;7:27. P. 6. doi: 10.1186/s13756-018-0314-4. PMID: 29468054; PMCID: PMC5819080..
- Asmaâ AGOUSSAR, (2017).** Effet des pesticides sur la diversité bactérienne des champs agricoles et la capacité des bactéries à les dégrader. Maîtrise en Microbiologie. *Département de Microbiologie Immunologie et Infectiologie. Faculté de médecine.* P. 98.

- Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Savini I. et Voltz M., (éditeurs), (2005).** Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. *Rapport d'expertise scientifique collective, INRA et Cemagref (France)*. P. 120.
- Awatef Berrah, (2011).** Sciences Étude sur les pesticides. Master 2 en toxicologie appliquée. *Université de Tébessa Algérie*. P. 76.
- Azizullah A., Khattak N., Richter P. et Häder DP., (2011).** Water pollution in Pakistan and its impact on public health--a review. *Environnement International*, 37(2): P. 479-497. doi: 10.1016/j.envint.2010.10.007. Epub 2010 Nov 18. PMID: 21087795.
- Baggesen D. L., Sandvang D. et Aarestrup F., (2000).** Characterization of Salmonella enterica serovar Typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 38:1581-1586. P. 6.
- Balmond Louis, (2018).** Grandes épidémies, catastrophes, victimes. *Paix et sécurité européenne et internationale*. 10. {halshs-03157325}. P. 60.
- Baraduc R., Darfeuille-Michaud A., Forestier C., Jallat C., Joly B. et Livrelli V., (2000).** *Escherichia coli* et autres *Escherichia*, *Shigella*. *Précis de Bactériologie Clinique*, 59: P. 1115-1129.
- Bartholomew J. W. et Mittwer T., (1952).** The Gram stain. *Bacteriological Reviews*, 16(1), P.1-29.
- Batsch Dorothée, (2011).** L'impact des pesticides sur la santé humaine. *Sciences pharmaceutiques*. P. 185.
- Batsch Dorothée, (2011).** L'impact des pesticides sur la santé humaine. Doctoral dissertation. *Université Henri Poincaré*. P. 159.
- Batumbo Boloweti D., (2021).** Analyse écologique des points chauds de choléra en Afrique. Thèse de doctorat. *Université de Bourgogne Franche-Comté*. P. 194.
- Beupoil A., Le borgne C., Mucig C., et Roux A. (2010).** Risques sanitaires liés à la réutilisation d'eaux usées traitées pour l'aéroaspersion des espaces verts. Ingénieur du génie sanitaire PERSAN ; *Université des hautes études en santé publique*. P. 63.
- Benhalima Lamia (2018).** Maladies à transmission hydrique. Master Microbiologie Appliquée. *Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la terre*

et de l'Univers Département d'Écologie et Génie de l'Environnement. Université 8 Mai 1945 Guelma. P. 151.

- Benslama Ouided, (2017).** Isolement et caractérisation des bactéries capables de dégrader l'herbicide Glyphosate et optimisation des conditions de culture pour une dégradation plus efficace. Thèse de Doctorat. *Faculté des Sciences de la Nature et de Vie Département de Microbiologie*. P. 175.
- Benzine Mohamed, (2012).** Les pesticides : Toxicité, résidus et analyse. *Les technologies de laboratoire, [S.l.], v. 1, ISSN 1114-9981*. P. 6.
- Bergan T. (1984).** 1 Classification des Entérobactéries. *Dans Méthodes en microbiologie 14, Presse académique*. P. 1-41.
- Bergeron Nadia, (2010).** Caractérisation phénotypique et génotypique d'isolats de Salmonella Typhimurium provenant de porcs sains ou septicémiques. *Université de Montreal. Thèse présentée à la Faculté de médecine vétérinaire*. P. 263.
- Bernard Marion, (2018).** Déploiement large échelle du POCIS pour l'évaluation de la contamination par les pesticides dans les eaux de surface : apports et complémentarité dans le cadre des réseaux de surveillance du bassin Adour-Garonne. *Doctoral dissertation, Université de Bordeaux*. P. 205.
- Besse Alison, (2016).** Interactions microbiennes et adaptations en milieu extrême : peptides antimicrobiens d'archées halophiles. Thèse de Doctorat en Microbiologie. *Ecole doctoral Sciences de la nature et de l'Homme-Evolution et écologie*. P. 313.
- Besset-Manzoni Yoann, (2018).** Améliorer les principes de sélection de nouveaux agents de biocontrôle bactérien pour la FHB. *Thèse de doctorat, Université de Lyon*. P. 208.
- Bettelheim Kems, (1994).** Biochemical characteristics of *Escherichia coli* In: Gyles C.L. (Edition), *Escherichia coli in domestic animals and humans*. CAB International: Wallingford. P. 3-30.
- Bettiche F., Grunberger O., et Belhamra M., (2017).** Contamination des eaux par les pesticides sous système de production intensive (serres), cas de Biskra, Algérie. *Courrier du savoir 23*, P. 39-48.
- Blanc-Lapierre Audrey, (2012).** Effets chroniques des pesticides sur le système nerveux central: données épidémiologiques en milieu agricole (*Doctoral dissertation, Bordeaux 2*). P. 273.

- Blanco M.J., Mora A., Alonso M.P., González E., et Bernárdez M.I., (2007).** Gènes de virulence et types d'intimine d'*Escherichia coli* producteur de shigatoxines isolés de bovins et de produits à base de viande bovine en Argentine. *International Microbiology* 7(4):269-76, P. 9.
- Boucher A., Gagnon A., et Chouinard G., (2016).** Analyse des approches et des technologies innovantes en termes de surveillance phytosanitaire dans les grandes cultures et les cultures horticoles au Québec. *CÉROM Centre de recherche sur les grains. IRDA, Institut de recherche et de développement en agroenvironnement.* P. 232.
- Bouskraoui M., Zouhair s., Soraa N., Benaouda A., Zerouali K. et Mahmoud M., (2017).** Guide pratique des bacteries pathogenes. *Societe marocaine d'infectiologie pediatrique et vaccinologie.* P. 97.
- Canoui, E., et Launay, O. (2019).** Histoire et principes de la vaccination. *Revue des maladies respiratoires*, 36(1), P. 74-81.
- Carles Louis, (2016).** Devenir de mélanges de pesticides : étude des voies de biodégradation et développement d'une méthode préventive de bioremédiation. *Sciences agricoles. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II.* P. 297.
- Christopher M., Bonnie L., et Bassler, (2005).** Quorum sensing: Cell- to-cell communication in bacteria. *Annual Review og Cell and Development Biology*, 125, (2), P. 319-346.
- Crini G., Montiel A. et Badot P., (2007).** Traitement et épuration des eaux industrielles polluées : Procédés membranaires, bioadsorption et oxydation chimique. *Presses Universitaires. Franche Comté.* P. 5.
- Cunin Raymond, (1993).** Génétique bactérienne. *ed. Vigot., Paris.* P. 206.
- De Oliveira Tiago, (2019).** Absorption de produits pharmaceutiques par les organoclays: des matériaux polyvalents pour des applications environnementales. *Doctoral dissertation, Université d'Orléans.* P. 349.
- Delhalle L., Daube G., Adolphe Y., Crevecœur S. et Clinquart A., (2012).** Les modèles de croissance en microbiologie prévisionnelle pour la maitrise de la sécurité des aliments (synthèse bibliographique). *Biotechnology and Agronomic Society Environment.* 16 (3). P. 369-381.

- Desgranges Nathalie, (2015).** Développement d'échantillonneurs passifs de type POCIS pour l'évaluation de la contamination en pesticides des eaux de bassins versants languedociens. *Chimie analytique. Université de Bordeaux*. P. 362.
- Diaz-Guevara P., Montañó L.A., Duarte C., Zabaleta G., Maes M., Martinez J.C., Thanh D.P., León-Quevedo W., Castañeda-Orjuela C., Alvarez C.J., Guerrero J., Moroni M., Campos J., Pérez E. et Baker S., (2020).** Surveillance of *Salmonella enterica* serovar *Typhi* in Colombia, 2012-2015. *PLOS Neglected Tropical Disease*. 10;14(3):e0008040. P. 10. doi: 10.1371/journal.pntd.0008040.
- Diop Amadou, (2013).** Diagnostic des pratiques d'utilisation et de quantification des pesticides dans la zone des Niayes de Dakar (Sénégal). P. 241.
- Dumitrescu O., Dauwalder O., Boisset S., Reverdy M., Tristan A. et Vandenesch F., (2010).** Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*: les points-clés en 2010 [*Staphylococcus aureus* resistance to antibiotics: key points in 2010]. *Medecine Sciences (Paris)*. P. 943-949. doi: 10.1051.
- Edberg S., Rice E., Karlin R. et Allen M., (2000).** *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*. P. 88.
- Escherich Teodor, (1885).** Les bacteries intestinales du nouveau-ne et du nourrisson. *Medicine avancée*. P. 515-522.
- Even I., Berta J. et Volatier, (2002).** Évaluation de l'exposition théorique des nourrissons et des enfants en bas âge aux résidus de pesticides apportés par les aliments courants et infantiles. *Agence française de sécurité sanitaire des aliments*. P. 116.
- Faugier Aurelie, (2010).** Diversité bactérienne des sols : accès aux populations à effectifs minoritaires « the rare biosphere ». *L'école centrale de lyon, Thèse de doctorat, Institut Pasteur-Paris*. P. 174.
- Filloux A. et Vallet I., (2003).** Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Institut de Caroline. Communiqué Cordis. Medecine /Sciences (Paris)*. P. 19.
- Flayou Majda, (2016).** Étude de l'élimination de polluants organiques par adsorption sur des matériaux naturels : Interaction pesticides-phosphate ou schiste bitumineux. *Thèse doctorat, Université Mohamed V*. P. 96.

- Fredrickson K., Zachara M., Balkwill L., Kennedy D., Shu-mei W., Kostandarithes M., Daly J., Romine F., Brockman J. (2004).** Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the hanford site, washington state. *Appl Environ Microbiol.* 70: P. 4230-4241.
- Friedmann Herbert (2006).** Escherich et Escherichia. *Progrès en microbiologie appliquée*, 60, P. 133-196.
- Garrity G., Brenner D.J., Krieg N.R. et Staley J.R., (2005).** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria, part B: The Gammaproteobacteria. 2nd édition, Williams et Wilkins (ED.), XXVIII. P. 1108.
- Gavrilescu Maria, (2005).** Devenir des pesticides dans l'environnement et leur biorestauration. *Engineering in life sciences*, 5(6), P. 497-526.
- Gdoura Mériem, (2013)** Amélioration de la capacité de biodégradation de deux pesticides (méthyl parathion, méthomyl) par irradiation. *Mémoire de Projet de Fin d'Etudes (Mastere). Faculté des Sciences de Tunis, Tunisie (TN) ; 27, P. 72.*
- George J. et Shukla Y., (2011).** Pesticides and cancer: insights into toxico proteomic-based finding. *Journal of proteomic* , 74, P. 2713-2722.
- Ghennam S., Himeur I., et Nafaa H. (2015).** Étude de la génotoxicité du pesticide «Topik 80» in vivo (test Allium cepa). *Mémoire de master. Université 8 mai 1945 guelma.* P. 53.
- Girault Y., et Sauvé L., (2008).** L'éducation scientifique, l'éducation à l'environnement et l'éducation pour le développement durable. Croisements, enjeux et mouvances. Aster: Recherches en didactique des sciences expérimentales, 46(1), P. 7-30.
- Goudoum A. et Tinkeu L., (2016).** Insécurité alimentaire et résilience par la protection des denrées en zone soudano-sahélienne du Cameroun. *Ouvrage honoré du soutien financier de la Faculté des Lettres et Sciences Humaines de l'Université de Maroua*, P. 155-182.
- Goulu Mathilde, (2015).** Développement d'une nouvelle stratégie de protection chimique contre les moustiques vecteurs de maladies : utilisation d'une association répulsif/insecticide afin d'optimiser l'efficacité du traitement tout en pulvérisant les doses utilisées. *Thèse de doctorat, Angers.* P. 256.
- Grimont F. et Bouvet P., (2000).** Taxonomy of the genus Salmonella. In A. Wray, C. Wray (ed.), *Salmonella in domestic animals.* CABI Publishing, New York. P. 1-17.

- Grimont, G., Livrelli V., Mariani-Kurkdjan P., Pradel N. et Oswald E., (2003).** Physiopathologie des maladies dues aux STEC. In AFSSA (ed.), *Bilan des connaissances relatives aux Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC)*. AFSSA, Maisons-Alfort. 159 , P. 41-59.
- Guy Yves, (2007).** Réflexions sur les critères de choix d'indicateurs de pression phytosanitaire. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, 54 (54), P. 113-120.
- Haddouchi F., Lazouni H., Meziane A. & Benmansour A., (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss et Reut. *Afrique Science*, (5) 2, P. 246-259.
- Hadjar H. et Ouahab S., (2015).** Enquête sur l'utilisation des pesticides dans la région de l'Est Algérien (Guelma, Annaba et Skikda). *Mémoire de master. Université 8 mai 1945 guelma*. P. 93.
- Harich Medhi. (2017).** Mise au point de méthodes antimicrobiennes pour application sur des produits prêts à manger. *Thèse de doctorat, Institut National de la Recherche Scientifique (Canada)*. P. 183.
- Holt J., Krieg N., Sneath P., Staley J. et Williams S., (2000).** Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Lipponcott Williams and Wilkins, Philadelphia. 282 pages
- Isabelle B., Cordier S., Coumoul X., Elbaz A. et Gamet L., (2013).** Pesticides : Effets sur la santé. [Rapport de recherche] Institut national de la santé et de la recherche médicale(INSERM). 2013, Paris: Inserm: Éditions EDP Sciences (ISSN: 1264-1782), P. 1014.
- Isabelle Burgun, (2012).** Bactéries: La guerre des mondes, Agence Science-Press. P. 123.
- Jang J., Hur H.G., Sadowsky M.J., Byappanahalli M.N., Yan T. et Ishii S., (2017).** Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. *Journal of Applied Microbiology*;123(3): P. 570-581. doi: 10.1111/jam.13468.
- Jubelin G., (2005).** Formation de biofilms par *Escherichia coli* K-12 : rôle des systèmes à deux composants dans la synthèse des curlis. *Thèse de Doctorat de l'institut National des Sciences Appliquées de Lyon*. P. 66.
- Kampf, G. et Kramer, A. (2004).** Contexte épidémiologique de l'hygiène des mains et évaluation des agents les plus importants pour les gommages et les frictions. *Revue de microbiologie clinique* 17 (4), P. 863-893.

- Kaper J., Nataro J. et Mobley H., (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* 2, P. 123-140.
- Karas P., Baguelin C., Pertile G., Papadopoulou E., Nikolaki S., Storck V., Ferrari F., Trevisan M., Ferrarini A., Fornasier F., Vasileiadis S., Tsiamis G., Martin-Laurent F. et Karpouzas D. (2018).** Assessment of the impact of three pesticides on microbial dynamics and functions in a lab-to-field experimental approach. *Science of the Total Environment*. 1; P. 636-646. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.05.073.
- Kempf I., et Zeitouni S., (2012).** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences. *Pathologie biologique* 60(2), P. 9-14.
- Kim K.H., Kabir E. et Jahan S.A., (2017).** Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of Total Environment*, 1;575: P. 525-535. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.009.
- Kirn T.J., Lafferty M.J., Sandoe C.M. et Taylor R.K., (2000).** Delineation of pilin domains required for bacterial association into microcolonies and intestinal colonization. *Molecular Microbiology* 35(4), P. 896-910.
- Kouamé René Yao, (2019).** Caractérisation phénotypique et moléculaire de *salmonella sp* et *Escherichia coli* isolées chez les bovins dans le district d'Abidjan (côte d'ivoire) : impact biologique de l'utilisation des antibiotiques. Bactériologie. *Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire)*, P. 241.
- Kurenbach B., Marjoshi D., Amáble-Cuevas C.F., Ferguson G.C., Godsoe W., Gibson P. et Heinemann J.A., (2015).** Sublethal exposure to commercial formulations of the herbicides dicamba, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, and glyphosate cause changes in antibiotic susceptibility in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *MicroBiology*. 24;6(2): P. 9. doi: 10.1128/mBio.00009-15. PMID: 2580572.
- Lavorel S., Lebreton J. D. et Le Maho Y., (2017).** Les mécanismes d'adaptation de la biodiversité aux changements climatiques et leurs limites. *Institut de France, Académie des sciences, Paris*. P. 157.
- Le Minor L. et Richard C., (1993).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries. *Edition, Institut Pasteur, Paris*, P. 217.
- Le Minor L. et Véron M., (1989).** Bactériologie médicale. *Flammarion édition, Paris*, P. 1107.

- Le Minor L., Popoff M.Y. et Bockemuhl J., (1990).** Supplement 1989 (n.33) to the Kauffmann-White scheme. *Research in Microbiology* 141, P. 1173-1177.
- Le Minor, L., et Popoff M., (1987).** Designation of *Salmonella enterica* sp. nov. nom. rev., as the type and only species of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 37, P. 465-468.
- Leclerc H. et Oger C., (1975).** Les eaux usées des abattoirs et leur importance épidémiologique [Slaughterhouse waste waters and their influence on epidemiology (author's transl)]. *Revue d'Epidémiologie, Médecine Sociale et Santé Publique* 23(7-8), P. 429-444.
- Lehmann E., Fargues M., Nfon Dibié JJ, Konaté Y. et Alencastro L.F., (2018).** Assessment of water resource contamination by pesticides in vegetable-producing areas in Burkina Faso. *Environmental Science and Pollution Research (International)*, 25(4), P. 3681-3694. doi: 10.1007/s11356-017-0665-z.
- Levine Myron, (1987).** *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *Journal of Infectious Diseases* 155, P. 377-389.
- Leyral G. et Vierling E., (2007).** Croissance des populations bactériennes. *Quatrième, édition. Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire.* Bordeaux, P. 48-50.
- Li H., Qiu Y., Yao T., Ma Y., Zhang H., Yang X. et Li C., (2020).** Evaluation of seven chemical pesticides by mixed microbial culture (PCS-1): Degradation ability, microbial community, and *Medicago sativa* phytotoxicity. *Journal of Hazardous Materials* 5;389, P. 121834. doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.121834. PMID: 31843407.
- Madigan M. et Martinko J., (2007).** Biologie des micro-organismes. 11^e édition: Univresité Carbondale de l'Illinois du Sud. Pearson Education. P. 1047.
- Mainil Jacques, (2003).** Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli* : Franchissement des muqueuses et propriétés invasives. *Annale Médicale and Vétérinaire* 147, P. 159-171.
- Mercer R. G., Walker D., Yang X., MC Mullen L.M. et Gangle G., (2017).** The locus of heast resistance (LHR) mediates heast resistance in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae*. *Food microbiology* 64, P. 96-103.

- Meril M., Picard B. et Denamur E., (2016).** Diversité des populations d'*Escherichia coli* et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal. *Revue Francophone des Laboratoires* 486, P. 35-43.
- Meryem B. et Mehassoual N., (2019).** Evaluation de la croissance de quelques bactéries du sol dans les conditions métabolique et co-métabolique en présence de deux pesticides. *Mémoire de Master. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département : Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires*, P. 75.
- Meyer A. et Deiana J., (1991).** Cours de microbiologie générale. *Dijon éditeurs, paris*, P. 209-234.
- Miller M.B. et Bassler B.L., (2001).** Quorum sensing in bacteria. *Annual Review of Microbiology* 55, P. 165-199.
- Moeys Julien, (2007).** Variabilité spatiale et déterminismes agro-pédologiques du devenir d'un herbicide en horizon de surface - application à l'isoproturon dans un bassin versant agricole de la Beauce chartraine, France. *Thèse de doctorat. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement : sciences du sol*. P. 309.
- Motte Jean Charles, (2013).** Digestion anaérobie par voie sèche de résidus lignocellulosiques : Etude dynamique des relations entre paramètres de procédés, caractéristiques du substrat et écosystème microbien. *Thèse de doctorat. Université Montpellier 2 (Sciences et Techniques)*, P. 174.
- Muskan S., Swapnali V., Swaroop S., et Mahipal S., (2021).** Microalgae based sustainable bioremediation of water contaminated by pesticides. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 12(1), P. 149-169.
- Nabiha Aloui, (2020).** Étude de la biodégradation de quelques pesticides par des bactéries isolées de différentes niches écologiques de la wilaya de Ouargla. *Thèse de doctorat. Université de Ghardaïa*, P. 171.
- Nakhungu M., Margaret N., Deborah A., et Peterson N., (2019).** Types and Classification of Pesticides Used on Tomatoes Grown in Mwea Irrigation Scheme, Kirinyaga County, Kenya. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 11(2), P. 83-97.
<https://doi.org/10.9734/ejnfs/2019/v11i230145>
- Narbonne Jean Francois, (2002).** Risque, expertise Résidus phytosanitaires, PCB, dioxines dans les aliments : nouvelles approches pour la maîtrise du risque. *ocl-journal.org Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 9 (2). P. 101-106.

- Nataro J. et Kaper J., (1998).** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11. P. 142-201.
- Nawel A., Francis M., Gaillard J., Devier MH. et Budzinski H., (2018).** Évaluation des risques de contamination des eaux de surface par les produits phytosanitaires : application à un bassin versant viticole (projet PhytoCOTE). *Contaminations, environnements, santé et société. De l'évaluation des risques à l'action publique*, Toulouse, France. P. 12.
- Nawel L., Dalila S. et Charaf B., (2017).** Etude comparative des souches d'*Escherichia coli* aviaires et humaines. *Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri-Constantine 1*, P. 86.
- Ngom S., Manga A., Diop M., Thiam M.B., Rousseau J., Cissé I. et Traoré S., (2013).** Étude De L'évolution des résidus de pesticides dans Les produits horticoles de grande consommation au Sénégal. *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, 21(22). P. 31-44.
- Noel S. et Billo Bah B., (2009).** Risks assessment of water pollution by pesticides at local scale (PESTEAUX project): *study of polluting pressure. Communication in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 74(1), P. 165-170. PMID: 20218525.
- Nola M., Njine T., Sikati V. et Djuikom E., (2001).** Distribution de *Pseudomonas aeruginosa* et *Aeromonas hydrophila* dans les eaux de la nappe phréatique superficielle en zone équatoriale au Cameroun et relations avec quelques paramètres chimiques du milieu. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 14(1). P. 35-53.
- Noyes P.D., McElwee M.K., Miller H.D., Clark B.W., Van Tiem L.A., Walcott K.C., Erwin K.N. et Levin E.D. (2009).** La toxicologie du changement climatique : les contaminants environnementaux dans un monde qui se réchauffe. *Environnement international*, 35 (6), P. 971-986.
- Nozha C. et Hakim K., (2006).** Risque hygiénique lié à la présence des *Escherichia coli* dans les viandes et les produits carnés : Un réel problème de santé publique. *Les Technologies De Laboratoire - N°1*. P. 6.
- O'Toole G., Heidi B., Kaplan et Kolter R., (2009).** Biofilm Formation as Microbial Development. *Annual Review of Microbiology*, 54, 2. P. 49-79
- OMS, (2018).** Rapport sur les résultats de l'OMS : budget programme 2016-2017 (No. A71/28). P. 84.

- OMS, (2019).** Classification recommandée des pesticides en fonction des dangers qu'ils présentent et lignes directrices pour la classification, édition 2019. P. 104.
- Pascale A. et Laborde A., (2020).** Impact of pesticide exposure in childhood. *Reviews on Environmental Health*, 25; 35 (3). P. 221-227. doi: 10.1515/reveh-2020-0011.
- Peillex C. et Pelletier M., (2020).** The impact and toxicity of glyphosate and glyphosate-based herbicides on health and immunity. *Journal of Immunotoxicology*, 17(1). P. 163-174. doi: 10.1080/1547691X.2020.1804492.
- Pesce Stephane, (2006).** Effets de pesticides sur l'activité et la diversité des communautés microbiennes d'un milieu lotique récepteur. *Études in situ et expérimentales. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II*. P. 272.
- Pflieger Maryline, (2009).** Etude de la dégradation photochimique des pesticides adsorbés à la surface de particules atmosphériques. Océan, Atmosphère. *Université de Provence - Aix-Marseille I*. P. 292.
- Pradel N., Leroy-Setrin S., Joly B. et Livrelli V., (2002).** Soustraction génomique pour identifier et caractériser les séquences d'*Escherichia coli* producteurs de shigatoxines O91 : H21. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 68 (5). P. 2316-2325.
- Queyrel Wilfried., (2014).** Modélisation du devenir des pesticides dans les sols à partir d'un modèle agronomique : évaluation sur le long terme. *Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI*. P. 276.
- Raby Karine, (2014).** Elimination de l'azote contenu dans un lisier de porc synthétique à l'aide d'un biofiltre percolateur. *Mémoire de maitrise. Université de sherbrooke*. P. 93.
- Rahatlfoul M. et Boubekeur A., (2019).** Utilisation et risques des pesticides dans les périmètres de mise en valeur de la wilaya d'Adrar : cas de la région d'Aougrout. *Thèse de doctorat, Université Ahmed Draia-ADRAR*. P. 78.
- Ramesh C., Gupta, Ida R., Miller M., Robin B., Jitendra K., Dejan M., et Malik, (2017).** Organophosphates and Carbamates. *Reproductive and Developmental toxicology (second edition)*. P. 609-631.
- Reeves W., Evins G.M., Heiba A.A., Plikaytis B.D. et Farmer J.J., (1989).** Clonal nature of *Salmonella Typhi* and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. *Journal of Clinical Microbiology*, 27. P. 313-320.

- Russo T. et Johnson J., (2000).** Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: *ExPEC*. *Journal of Infectious Disease*, 181: P. 1753-1754.
- Santé Canada, (2006a).** Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique. Les bactéries pathogènes d'origine hydrique : micro-organismes préoccupants courants et émergents. *Bureau de la qualité de l'eau et de la santé, Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ontario)*. P. 43.
- Scheen André, (2021).** Environnement et cancer : pas facile de disséquer l'exposome. *Revue médicale de Liege*, 76(5-6). P. 337-343.
- Schrack D., Coquil X., Ortat A. et Marc B. (2009).** Rémanence des pesticides dans les eaux issues de parcelles agricoles récemment converties à l'Agriculture Biologique. *Innovations agronomiques* , 4 , P. 259-268.
- Schulz Ralf, (2001).** Rainfall-induced sediment and pesticide input from orchards into the Lourens River, Western cape, South Africa: importance of a single event. *Water Research*, 35(8). P. 1869-1876.
- Schulz Ralf, (2004).** Field studies on exposure, effects, and risk mitigation of aquatic Nonpoint-source insecticide pollution: a review. *Journal of Environmental Quality*, 33(2). P. 419-448.
- Siegwart Myriam., (2021).** Combinaisons, caractéristiques et origines de mécanismes de résistance aux (bio) insecticides chez des insectes ravageurs des cultures. *Thèse de doctorat. Université d'Avignon*. P. 193.
- Silhavy T., Kahne D., et Walker S., (2010).** The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), a000414. P. 17. doi: 10.1101/cshperspect. a000414.
- Soomro A. et Junejo N. (2004).** *Vibrio cholerae* dans l'environnement. Journal du Collège des médecins et chirurgiens--pakistan : JCPSP , 14 (8), P. 509-512.
- Spanò Stéphanie. (2016).** Mécanismes de restriction de l'hôte par *Salmonella Typhi*. *Biophysique de l'infection*, P. 283-294.
- Stachowski-Haberkorn S., (2008).** Méthodes d'évaluation de l'impact des pesticides sur le phytoplancton marin et le naissain d'huître creuse. *Thèse de doctorat. Université de Bretagne occidentale-Brest*. P. 178.

- Stéphane Baup, (2014).** Elimination de pesticides sur lit de charbon actif en grain en présence de matière organique naturelle : Elaboration d'un protocole couplant expériences et calculs numériques afin de simuler les équilibres et les cinétiques compétitifs d'adsorption. *Ingénierie de l'environnement. Université de Poitiers; Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers - ESIP.* P. 190.
- Szalo I., Taminiau B. et Mainil J., (2006).** Le lipopolysaccharide d'*Escherichia coli* : structure, biosynthèse et rôles. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 150, P.108-124.
- Tap, (2004).** Caractérisation moléculaire des *Escherichia coli* O111 et diversité des souches isolées en France. *Rapport de stage, Université Paris.* P. 44.
- Traoré K., Charles P., Aly S., Fatoumata B., Régine K. et Yves T., (2017).** Effet des méthodes de transformation sur le contenu nutritionnel de trois feuilles de légumes traditionnels : l'amarante, la morelle noire et la mauve de jute. *Science des aliments et nutrition*, 5 (6). P. 1139-1144.
- Ueji M., Kobara Y., Shiyomi M. et Koizumi H., (2001).** Environmental fate of pesticides. *Structure and Function in Agroecosystem Design and Management.* P. 275.
- Ullmann Andrew, (2007).** Pasteur-Koch : Façons distinctives de penser les maladies infectieuses. *Société Microbe-Américaine de Microbiologie*, 2 (8), 383. P. 5.
- Vandermaesen J., Horemans B. et Bers K., (2016).** Application de la biodégradation dans l'atténuation et la correction de la contamination par les pesticides des ressources en eau douce: état de l'art et défis d'optimisation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100, P. 7361–7376. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7709-z>
- Weiss B., Amler S. et Amler R.W., (2004).** Pesticides.113 pages.
- Xinying S., Junfeng F., Xiaohui L., Xu P. et Lanming C.,(2021).** Comparative proteomics and secretomics a révélé la virulence et les facteurs liés à la corésistance chez *Vibrio cholerae* non O1/O139 récupérés de 16 espèces d'animaux aquatiques consommables. *Journal of Proteomics*, 10.1016/j.jprot.2021.104408. P. 251.
- Yasser El-Nahhal, (2015).** Toxicity of Diuron, Diquat and Terbutryn to Cyanobacterial Mats. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 10. P. 71–82.
- Yousra B. et Sabrina M., (2021).** Implication du stress oxydatif dans l'efficacité des pesticides. Mémoire de Master. *Centre universitaire abdalhafid boussouf-MILA.* P. 117.