



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : de Biologie et Ecologie Végétale

قسم : بيولوجيا و فيزيولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Gestion durable des Ecosystèmes et protection de l'environnement

Option : Pollution des écosystèmes et écotoxicologie.

Intitulé :

Contribution à l'étude de l'impact des rejets des effluents
pharmaceutiques sur un cladocère *Daphnia magna*.

Présenté et soutenu par : Bouguebina Zineb

Le : 28/06/2015

Jury d'évaluation :

Président du jury : Afri-Mehennaoui F-Z (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : Touati Laid (MCB- UFM Constantine).

Examineurs : Zaimèche Saida (MAT- UFM Constantine).

Année universitaire
2014 – 2015

Remerciements :

Je tiens tout particulièrement à exprimer mes plus vifs remerciements et ma profonde gratitude à monsieur Touati laid (MCB-UFM Constantine), mon enseignant de pollution aquatique et mon encadreur , qui m'a fait l'honneur d'assurer la direction de ce travail, et qui a su faire preuve de patience, d'indulgence et de compréhension tout au long de ce travail, me permettant ainsi de mener à bien cette étude.

Je tiens à remercier vivement Madame Afri-Mehennaoui F-Z Professeur (MCA-UFM Constantine) et mon enseignante d'écotoxicologie. Qu'elle reçoive toute ma gratitude et mon respect.

J'exprime aussi toute ma gratitude à Madame Zaimèche Saida, (MAT-UFM Constantine), pour avoir accepté d'en être l'examineur.

Et je remercie toute personne qui m'a aidé a réalisé ce travail.

Dédicaces

A mes parents à qui je dois tout

A mes trois sœurs Chaima, Ayda et Aya

A mon frère Mohamed

A tous ceux qui croient en moi

Table des matières

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Liste des abréviations.

Introduction	01
--------------------	----

Chapitre 1 : Les effluents Pharmaceutiques.

1. Les effluents pharmaceutiques	03
1.1. Contexte	03
1.2. La problématique des rejets d'effluents pharmaceutiques	03
1.3. Les sources des effluents liquides pharmaceutiques	05
1.3.1. Les sources diffuses	05
1.3.2. Les sources ponctuelles	05
1.4. L'origine des effluents liquides pharmaceutiques	05
1.4.1. Les rejets d'origine domestique	05
1.4.2. Les rejets des établissements de soins	06
1.4.3. Les rejets d'élevages	06
1.4.4. Les rejets d'origine industrielle	07
1.4.4.1. L'industrie chimique fine	07
1.4.4.2. L'industrie pharmaceutique	07
1.5. Substances suspectées d'être à l'origine de l'écotoxicité des effluents liquides pharmaceutiques	08
1.5.1. Les anticancéreux	08
1.5.2. Les antibiotiques	08
1.5.3. Les hormones	09
1.5.4. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	09
1.5.5. Les β -bloquants	11
1.6. Devenir des substances pharmaceutiques dans les systèmes aquatiques	11
1.6.1. Les phénomènes de dégradation en milieux naturels	12
1.6.1.1. La photo dégradation	12

1.6.1.2. La biodégradation	12
1.6.1.3. Distribution des substances pharmaceutiques dans la phase aqueuse	12
1.6.1.4. Phénomènes de sorption	12
1.7. Transferts aux organismes aquatiques	12
1.8. La toxicité chronique	13

Chapitre 2 : Biologie et description de *Daphnia magna*.

2. Biologie et description de <i>Daphnia magna</i>	14
2.1. Description de <i>Daphnia magna</i>	14
2.2. Ecologie générale	14
2.3. Alimentation	15
2.4. Classification	15
2.5. Morphologie	16
2.6. Développement	18
2.7. Cycle de vie	19
2.8. Intérêt écotoxicologique de la daphnie	21

Chapitre 3 : Matériels et méthodes.

3. Matériels et Méthodes	22
3.1. Présentation du site d'étude	22
3.1.1. Aperçu générale sur la zone d'étude	22
3.1.2. Caractéristiques du bassin versant d'oued Rhumel	23
3.1.3. Le réseau hydrographique	23
3.1.4. Description des sites	24
3.2. Matériels	27
3.2.1. Matériel biologique (bio indicateur)	27
3.2.2 Matériels expérimental	27
3.3. Méthodes	27
3.3.2. Culture de <i>Daphnia magna</i>	27
3.3.3. Préparation de l'extrait d'épinard (<i>Beta vulgaris maritima</i>)	28

3.3.4. Prélèvement et transport des échantillons	28
3.3.5. Mode opératoire	28
3.3.6. Analyse statistique	29

Chapitre 4 : Résultat et Discussion.

4.1. L'effet des effluents sur les paramètres de cycle de vie de <i>Daphnia magna</i>	30
4.1.1. La taille des femelles adultes à la 1 ^{ère} reproduction	30
4.1.2. La taille des juvéniles à la première reproduction	30
4.1.3. La longévité	30
4.1.4. L'intervalle de ponte	31
4.1.5. L'âge à la maturation	32
4.1.6. L'âge à la première ponte	33
4.1.7. Grandeur de ponte moyenne	33
4.1.8. Nombre de ponte par femelle	33
4.1.9. Nombre de descendants par femelle	34
4.1.10. Taille des femelles à la deuxième reproduction	35
4.1.11. La taille des juvéniles à la deuxième reproduction	36
4.1.12. Le sexe ratio	38
4.2. Discussion	38
Conclusion	42
Références Bibliographiques.....	43

Résumés.

Liste des tableaux.

Tableaux	Titres	Pages
01	Composés pharmaceutiques les plus fréquents dans l'environnement.	10
02	Embryotoxicité et pourcentage de males présents dans la descendance des daphnies pendant les 21 jours du test dans les différents sites.	34
Annexe	Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'effet de l'effluent de site 1 sur les paramètres de cycle vie de <i>Daphnia magna</i> .	
Annexe	Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'effet de l'effluent de site 2 sur les paramètres de cycle vie de <i>Daphnia magna</i> .	
Annexe	Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'effet de l'effluent de site 3 sur les paramètres de cycle vie de <i>Daphnia magna</i> .	
Annexe	Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'effet de l'effluent de site 4 sur les paramètres de cycle vie de <i>Daphnia magna</i> .	

Liste des figures.

Figures	Titres	Pages
Figure 1	Schéma montrant les sources possibles et les voies de la présence de résidus pharmaceutiques dans l'environnement aquatique.	7
Figure 2	<i>Daphnia magna</i> .	13
Figure 3	Organisation générale d'un cladocère, vue latérale.	15
Figure 4	Femelle de <i>D.magna</i> (A) et mâle de <i>D.magna</i> (B) La différence entre les 2 sexes est visible par la taille de l'antenne primaire (FA:First antennae) qui est grande chez les mâles. Une autre différence réside dans la forme du bord de la carapace (CE : carapace edge) ; les femelles ont des carapaces symétriques par contre, les mâles ont des carapaces asymétriques et terminés par des soies.	17
Figure 5	Différents stades de développement embryonnaire chez <i>Daphnia magna</i> .	18
Figure 6	Cycle de vie de la daphnie.	19
Figure 7	Localisation des sites d'échantillonnages.	23
Figure 8	Photos des sites d'échantillonnages.	24
Figure 9	Variation de la taille des femelles à la 1ere reproduction dans les différents sites.	26
Figure 10	Variation de la taille des juvéniles à la 1ere reproduction dans les différents sites.	27
Figure 11	Variation de la longévité dans les différents sites.	27
Figure 12	L'intervalle de ponte moyen dans les différents sites.	28
Figure 13	L'âge à la maturation de daphnies dans les différents sites.	28
Figure 14	Variation de l'âge à la 1ere ponte dans les différents sites.	29
Figure 15	La variation de la grandeur de ponte moyenne dans les différents sites.	30
Figure 16	Variation du nombre de ponte par femelles dans les différents sites.	30

Figure 17	Variation du nombre de descendants produits par mère dans les différents sites.	31
Figure 18	Variation de la taille des femelles à la deuxième reproduction dans les différents sites.	31
Figure 19	Variation de la taille des femelles à la première et deuxième reproduction dans les différents sites.	32
Figure 20	Variation de la taille des juvéniles à la deuxième reproduction dans les différents sites.	33
Figure 21	Variation de la taille des juvéniles à la première et à la deuxième reproduction dans les différents sites.	33

Liste des abréviations.

A1 : Antennule.

A2 : Antenne.

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

AINS : Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

ANP : Académie Nationale de Pharmacie.

ASTM: American society for testing and material (société américaine pour les essais et les matériaux).

CE : carapace edge.

DDT : Dichloro Diphényl Tri chloroéthane.

FA: First antennae.

ISO : Organisation International de Normalisation.

Kow: coefficient de partage octanol/eau.

OCDE: Organisation for Economic Cooperation and Developpement.

PCB : Poly Chloro Biphényle.

Ph : potentiel hydrogène.

REDOX: Réaction d'Oxydoréduction.

STEP : Station d'Epuration.

Introduction

Introduction

Introduction :

De nos jours, avec l'essor et le développement des activités humaines, diverses substances chimiques sont détectées dans l'environnement dont plusieurs se sont avérées dangereuses et ont révélé des effets toxiques sur les organismes aquatiques, terrestres ainsi que sur l'homme.

Par ailleurs, la dégradation du bon fonctionnement des écosystèmes à laquelle nous assistons est un sujet d'inquiétude pour les chercheurs et tous ceux qui se préoccupent des problèmes d'hygiène publique et de protection de la nature.

Parmi les nombreuses substances chimiques pouvant contaminer les milieux aquatiques et terrestres : les médicaments. Ces derniers font depuis tout récemment l'objet d'une préoccupation majeure (Halling-Sorensen et al, 1998; Daughton et Ternes, 1999; Heberer, 2002).

Parce que les médicaments sont fabriqués et administrés dans le but de provoquer un effet biologique (Zuccato et al, 2000), leur présence dans les eaux n'est pas seulement d'un intérêt scientifique mais aussi d'un intérêt public (Scheytt et al, 2005). Depuis les années 80 et grâce, notamment, aux progrès de l'analyse physico-chimique, de nombreuses molécules pharmaceutiques sont détectées dans l'environnement et leur présence dans les effluents et les boues de stations d'épuration urbaines, le milieu aquatique et les sols, est établie à l'échelle mondiale. (Joss et al, 2005 ; Bernhard et al, 2006 ; De Wever et al, 2007).

La première mise en évidence de la présence de médicaments dans les eaux remonte à 1976 (Hignite et Aznaroff 1977). De nombreux travaux ont depuis lors confirmé l'ubiquité des substances médicamenteuses dans les eaux de surface et les eaux souterraines (Ternes 1998 ; Stumpf et al, 1999 ; Ternes et al, 2001). La raison pour laquelle les substances médicamenteuses constituent un problème environnemental, est liée à leurs effets biologiques spécifiques non seulement sur l'homme, mais aussi sur les organismes aquatiques (Doll et Frimmel, 2003). Des études menées dans plusieurs pays ont permis de montrer la présence de plus de 80 produits pharmaceutiques dans des eaux usées urbaines à des concentrations variant du ng/l au µg /l (Kümmerer, 2001; Heberer. 2002 ; Miège et al., 2006).

La persistance des médicaments dans l'environnement varie en fonction de leurs propriétés physico-chimiques (Metcalfé et al, 2003; Paxeus et al, 2004). L'utilisation croissante et la disposition inadéquate de ces derniers engendrent des apports continus conduisant à leur présence et «persistance» dans les milieux écologiques. (Golet et al, 2003). Pour atteindre le

Introduction

sang et les organes et traverser les membranes cellulaires des organismes, les médicaments doivent nécessairement être absorbables, hydrosolubles et liposolubles (Buser et al, 1999). De plus, ils doivent être assez persistants dans l'organisme afin de produire leurs effets avant d'être éliminés (Jones et al, 2001). Ces caractéristiques sont comparables à celles de nombreuses substances toxiques et xénobiotiques connus (VanCoillie, 2005). En raison de cet usage inadapté et inconsidéré de ces produits, couplé à la capacité d'adaptation des microorganismes et aux possibilités de transferts génétiques (Saye et al, 1990; Ashelford et al, 1997) ces substances constituent un vrai danger écotoxicologique. (Jones et al, 2005)

A cet égard, le cladocère *Daphnia magna* est un organisme test qui occupe une place confirmée pour l'évaluation de la toxicité aiguë et chronique de polluants sur les écosystème d'eau douce . Cette espèce est choisie en raison de son rôle clé dans la chaîne trophique ,sa sensibilité , sa facilité d'élevage et ceci en plus de sa disponibilité en abondance en raison de la simplicité de sa culture et manipulation. L'ensemble de ces données nous a donc amené à choisir *Daphnia magna* comme modèle d'étude.

Le but de cet mémoire est d'étudier les effets des effluents pharmaceutiques sur les différents paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna* (taille des femelles adultes à la première reproduction, taille des juvéniles à la première reproduction , la longévité , intervalle de ponte , âge à la maturation , âge à la première ponte , grandeur de ponte , nombre de ponte moyen par femelle , nombre de descendants produits par femelle , nombre total des individus au cours de ce test).

La structure du mémoire est comme suit :

- ✓ Le premier chapitre présente une étude bibliographique sur les effluents pharmaceutiques.
- ✓ Le deuxième abordera la biologie de *Daphnia magna*.
- ✓ Le troisième chapitre est réservé à la description des sites d'étude, le matériel et les méthodes utilisées dans cette présente étude.
- ✓ Enfin, un quatrième chapitre traite les résultats et leur discussion.

Chapitre 1 :
Les effluents Pharmaceutiques

1. Les effluents pharmaceutiques :**1.1. Contexte :**

Jusqu'à présent les programmes de surveillance des eaux portaient leurs efforts sur des substances rejetées ou produites par l'industrie compte tenu de leur utilisation dans la nature (pesticide) ou de leur accumulation dans les organismes et/ou sédiments (PCB, dioxine, DDT). Or, la quantité de médicaments prescrite au niveau national n'est pas anodine, elle s'élève parfois jusqu'à plusieurs dizaines de milliers de tonnes par an (l'AFSSAPS, 2005), voire plusieurs centaines de milliers de tonne à l'échelle européenne. Lors de recherches analytiques spécifiques, certaines de ces molécules ont été retrouvées jusque dans les eaux potables (Halling-Sorensen et al, 1998). Certaines molécules peu métabolisables sont excrétées sous forme inchangée, elles sont donc potentiellement actives sur le matériel biologique. De plus, selon Thernes (2001), chez les mammifères les métabolites formés après conjugaison dits d'une réaction de phases II sont susceptibles de reformer leurs molécules originelles après traitement des eaux usées et donc retrouver leur forme active. Les métabolites de la phase I peuvent, quant à eux, donner des molécules de toxicité variable (suivant leur nature ou l'espèce considérée).

Les premières études effectuées sur des molécules pharmaceutiques à usage médical portèrent sur les hormones et notamment les oestrogènes. Il a été démontré dans les années soixante dix que ces molécules n'étaient pas facilement biodégradables. Ces substances, que l'on retrouve dans les écosystèmes aquatiques suite à des déversements industriels ou urbains, perturbent la reproduction de nombreuses espèces dont les poissons. Ces composés, de même que les mimétiques oestrogènes, perturbent les processus de régulations endocriniennes et exercent une action féminisante dont l'expression peut être l'induction de vitellogénine, la présence d'ovocyte dans les testicules, une baisse de la fécondité, une modification du sexe ratio, une diminution des caractères secondaires chez les mâles. Il y aurait donc une altération de la reproduction ayant une incidence sur la dynamique de population au sein des écosystèmes exposés et cela entraînerait des conséquences sur la survie des espèces (Garric et al, 2002).

1.2. La problématique des rejets d'effluents pharmaceutiques :

Dans ce contexte, la problématique des rejets d'effluents pharmaceutiques devient de plus en plus importante. En effet les substances pharmaceutiques sont des molécules possédant des

propriétés curatives, préventives ou administrées en vue d'établir un diagnostic. Elles sont classées selon :

- l'effet pour lequel elles sont conçues (antibiotiques, analgésiques...),
- leur structure chimique (parmi les antibiotiques : quinolones, céphalosporine...),
- leur mode d'action (anti-métabolites ou agents alkylants) (Roig, 2008).

Leurs propriétés physicochimiques leur confèrent des capacités de franchissement des membranes biologiques (ANP, 2008). Elles sont généralement considérées comme des polluants émergents compte tenu du récent intérêt dont elles font l'objet, et sont souvent classées dans une catégorie que l'on qualifie de « micropolluants » car les concentrations retrouvées dans les milieux aquatiques sont de l'ordre du nanogramme ou du microgramme par litre (Roig, 2008). Ainsi, depuis les années 1980, de nombreuses molécules pharmaceutiques ont été détectées dans l'environnement : leur présence dans les effluents et les boues de stations d'épuration urbaines, le milieu aquatique et les sols, a été établie à l'échelle mondiale. La première mise en évidence de la présence de médicaments dans les eaux remonte à 1976 (Hignite et Aznaroff, 1977). De nombreux travaux ont, depuis, confirmé l'ubiquité de ces substances dans les rivières et les eaux souterraines (Miège, 2006), au début des années 2000, plus de 80 substances pharmaceutiques avaient ainsi été mesurées dans des effluents de stations d'épuration (STEP) et des eaux de surface (Heberer, 2002).

Dans les STEP, la biodégradation conduit à des transformations très variables selon les molécules. Par exemple, l'ibuprofène est détruit à des taux de 60 à 96 % (Carballa et al., 2004) alors que la carbamazépine l'est à des taux de biodégradation de moins de 10 à 30 % (Joss et al., 2005). L'efficacité des traitements d'épuration est relativement faible pour le clofibrate car elle ne serait que de 6 à 50 % d'après les observations de Stumpf et al. (1999) faites au Brésil. Vieno et al. (2006) ont même observé des concentrations supérieures dans les effluents par rapport aux affluents pour la carbamazépine. Heberer (2002) a observé des valeurs maximales très élevées dans les affluents et effluents de diverses STEP à Berlin pour la caféine (640 et 3 µg/L), pour la carbamazépine (3,80 et 5,00 µg/L), l'acide clofibrique (0,95 et 0,73 µg/L), et le diclofénac (7,10 et 4,70 µg/L). Le calcul du rapport entre les concentrations moyennes des effluents et des affluents montre aussi des différences notoires dans l'efficacité des stations d'épuration : 0 % pour l'acide clofibrique, 8 % pour la carbamazépine, 17 % pour le diclofénac et 99,9 % pour la caféine (quand même présente à 180 ng/L dans les effluents).

Pour avoir une première approche des effluents pharmaceutique il est nécessaire tout d'abord d'identifier les sources des rejets et de connaître ensuite leurs origines

1.3. Les sources des effluents liquides pharmaceutiques :

Selon (ANP, 2008).Il faut en distinguer deux types de sources : les sources diffuses qui intéressent les populations humaines et animales en général et les sources ponctuelles qui sont à l'origine d'émissions beaucoup plus concentrées mais limitées sur le plan géographique (Figure 1).

1.3.1. Les sources diffuses :

Les sources d'émissions diffuses consécutives aux rejets de substances médicamenteuses et de leurs dérivés dans les urines et les fèces de la population humaine et des animaux de compagnie et d'élevage ou aux déchets des usagers.

1.3.2. Les sources ponctuelles :

Les sources d'émissions ponctuelles liées aux rejets de l'industrie chimique fine, de l'industrie pharmaceutique, des établissements de soins, des élevages industriels animaux et piscicoles ou aux épandages des boues de stations d'épuration. Les rejets des établissements de soins représentent une situation particulière en raison du nombre de malades traités, de la quantité et de la diversité des médicaments utilisés notamment des anticancéreux, des anesthésiques, des antibiotiques, des produits de diagnostic, de contraste ou des produits radioactifs.

1.4. L'origine des effluents liquides pharmaceutiques :

1.4.1. Les rejets d'origine domestique :

La consommation des médicaments par la population représente la principale source de rejet : après administration, le médicament est absorbé, métabolisé, excrété, puis rejeté dans les eaux usées. Le résidu gagne ensuite les stations d'épuration urbaines qui n'en dégradent qu'une partie. Le traitement de ces stations est en effet inégalement efficace pour éliminer ces composés. Tous les médicaments font l'objet d'une métabolisation plus ou moins importante puis d'une excrétion chez l'homme. Ainsi, alors que les oestrogènes, notamment l'hormone de la pilule, sont généralement éliminés à plus de 90 % par le traitement des stations d'épuration,

d'autres molécules, comme le propranolol (un bêta-bloquant) ont un taux d'abattement inférieur à 20 % (Gabet-Giraud, 2009).

1.4.2. Les rejets des établissements de soins :

Ce sont les principaux responsables de l'élimination des produits radiopharmaceutiques et anticancéreux. Ces derniers sont peu dégradables comme la bléomycine, le méthotrexate, le 5-fluorouracil, la cytarabine, la gencitabine ou l'épirubicine : ils sont peu dégradés par les stations d'épuration et peuvent persister assez longtemps en gardant un potentiel hautement toxique et migrer dans les eaux de surface et les eaux de consommation. L'augmentation de l'incidence des cancers ne fera qu'amplifier leur présence dans l'environnement avec des risques pour le système immunitaire et génétique de la faune et de la flore. Comme le prédisent Castegnaro et Hansel (2006), Des médicaments anticancéreux excrétés par des malades sont présents dans les effluents de centres hospitaliers universitaires à des concentrations moyennes de 146 et 109 ng /L avec des pointes de 4 500 et 3 000 ng/L respectivement pour le cyclophosphamide et l'ifosfamide ou des pointes de 3 000 ng /L pour le platine (Balaguer et al., 1999 ; Pillon et al., 2005). Des fluoroquinones comme la ciprofloxacine ont été trouvées dans les effluents d'hôpitaux à des concentrations élevées de 5 à 100 µg/L (Alder et al, 1998 ; Hartmann et al, 1998).

1.4.3. Les rejets d'élevages :

Les principales classes de médicaments utilisés dans les élevages sont les antibiotiques, les antiparasitaires et les hormones et certains de ces médicaments comme promoteurs de croissance (tylosine). Les médicaments vétérinaires peuvent être dispersés directement dans l'environnement lorsqu'ils sont utilisés en aquaculture ou en traitement des animaux d'élevage (porcs, volailles, bovidés, caprins, chevaux...) ou indirectement en cas d'épandage des lisiers et purins dans les sols destinés à l'agriculture. Les lisiers et purins peuvent aussi participer à la dégradation de molécules comme l'enrofloxacin sur des périodes assez longues (Pierini et al. 2004) mais peuvent aussi réactiver d'autres molécules.

1.4.4. Les rejets d'origine industrielle :

1.4.4.1. L'industrie chimique fine :

Les entreprises qui synthétisent les molécules médicamenteuses sont susceptibles de rejeter dans l'environnement non seulement ces molécules médicamenteuses mais aussi les produits chimiques utilisés en cours de synthèse et les produits de réactions secondaires.

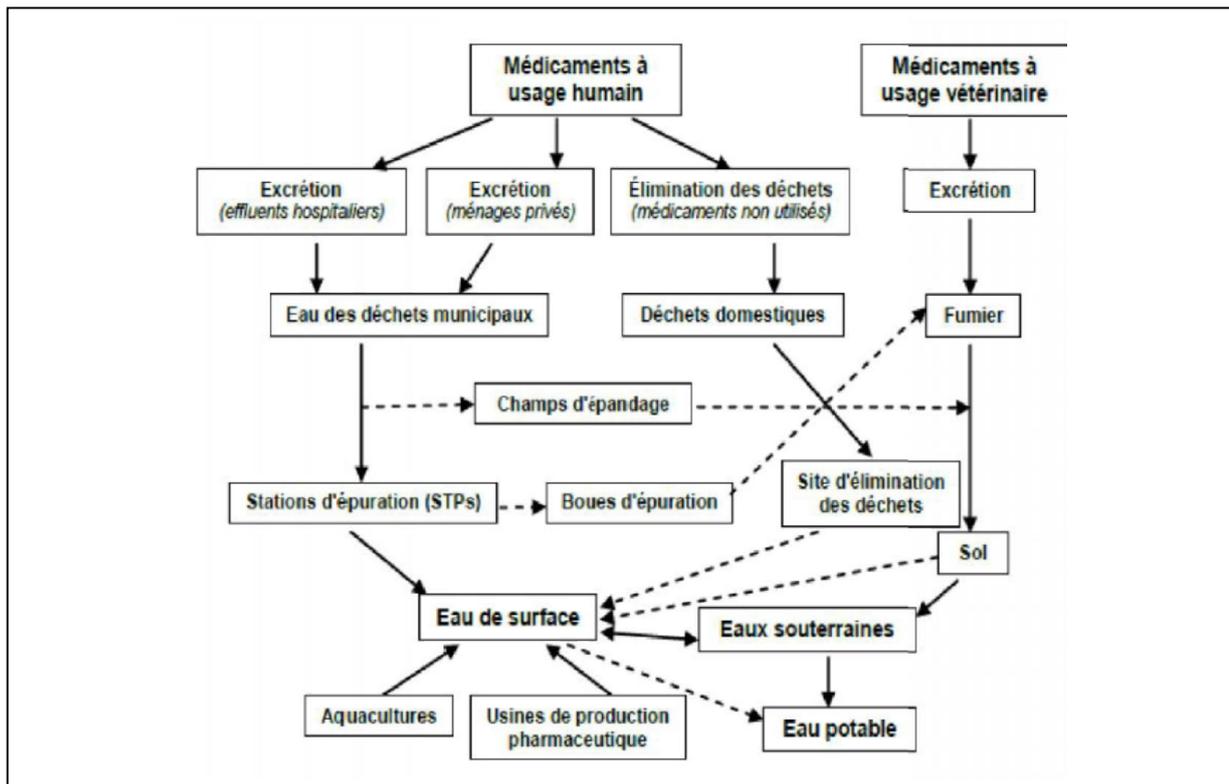


Figure 1 : Schéma montrant les sources possibles et les voies de la présence de résidus pharmaceutiques dans l'environnement aquatique. (Heberer, 2002).

1.4.4.2. L'industrie pharmaceutique :

Ces rejets peuvent entraîner des pics de contamination localisés en cas de pollution accidentelle ou de mauvais traitement des effluents, notamment dans les pays en voie de développement (Besse, 2010). Même si l'industrie pharmaceutique respecte aussi les bonnes pratiques de fabrication, les normes ISO 14000 et la législation sur les installations classées, il n'est pas impossible que des rejets de substances pharmaceutiques puissent se produire. Une étude allemande rapporte des concentrations élevées de phénazone et de

diméthylaminophénazone (jusqu'à 95 µg/L). De même, des rejets de 45 kg/jour de diclofénac ont été évalués dans le Rhin, à Mayence, en relation avec la présence de plusieurs sites de production (Ternes, 2001).

1.5. Substances suspecté d'être à l'origine de l'écotoxicité des effluents liquides pharmaceutiques :

Plus de 150 produits pharmaceutiques de différentes classes thérapeutiques ont été détectés avec des concentrations atteignant le µg/l dans diverses matrices environnementales (Heberer. 2002), incluant une grande variété de composés tels les hormones, les régulateurs de lipides, les antibiotiques, anticancéreux et d'autres cytotoxiques, antiépileptiques, etc. (Gros et al. 2008). Le tableau 01 regroupe quelques composés parmi ceux le plus souvent retrouvés dans l'environnement.

1.5.1. Les anticancéreux :

Les médicaments anticancéreux se retrouvent de façon sporadique dans les effluents des STEP via les eaux d'égouts domestiques car leur demi-vie d'élimination corporelle est assez longue. Un des problèmes à résoudre est qu'ils ne semblent pas bien éliminés par les stations d'épuration. Ces médicaments sont, de plus, très persistants dans l'environnement car très peu biodégradables (Kümmerer et al. 1997 et 2000). Des médicaments anticancéreux excrétés par des malades sont présents dans les effluents de centres hospitalo-universitaires à des concentrations moyennes de 146 et 109 ng/L avec des pointes de 4 500 et 3 000 ng/L respectivement pour le cyclophosphamide et l'ifosfamide ou des pointes de 3 000 ng/L pour le platine (Balaguer et al. 1999 ; Pillon et al. 2005). Le cyclophosphamide et l'ifosfamide ont été détectés dans les affluents de stations d'épuration municipales à des concentrations à peu près identiques à celles d'effluents, ce qui démontre la faible biodégradation de ces composés avec des teneurs maximales de 149 ng/L pour le cyclophosphamide comme l'ont rapporté Steger-Hartmann et al. (1996, 1997) et de 1,91 µg/L pour l'ifosfamide (Kümmerer et al. 1997). Le cyclophosphamide et l'ifosfamide (jusqu'à 2 900 ng/L) mais aussi le cis-platine et la bléomycine (de 10 à 19 ng/L) ont été aussi retrouvés en sortie des stations d'épuration par Aherne et al. (1985).

1.5.2. Les antibiotiques :

Un antibiotique est une substance d'origine naturelle ou synthétique, ayant la capacité d'arrêter la multiplication des bactéries, mais également d'autres agents infectieux. Certains sont également capables de détruire les microbes.

La présence de traces de résidus d'antibiotiques dans les eaux est une réalité. Des antibiotiques ont été détectés dans les effluents d'élevage industriel ce qui n'est pas surprenant car on peut trouver jusqu'à plusieurs mg de tétracyclines par gramme de lisier (Carlson et al. 2004). C'est le cas aussi des fluor quinolones (Golet et al. 2001).

1.5.3. Les hormones :

Les concentrations en estrogènes sont plus élevées dans les effluents domestiques que dans les effluents industriels (Belfroid et al. 1999). Les stéroïdes sont facilement adsorbés sur les sédiments et peuvent, comme de nombreux composés non polaires, s'accumuler dans les organismes des poissons ou d'autres organismes du milieu aquatique ou dans les boues des stations d'épuration (Heberer, 2002). Des composés comme le 17β -estradiol, le 17α -estradiol, l'estrone, le 17α -éthinyloestradiol sont présents dans les effluents des STEP (Ternes et al. 1999 ; Lishman et al. 2006). Plus de 80 % sont éliminés dans les boues activées mais il se produit aussi des transformations d'estrogènes dans les STEP qui permettent de déconjuguer et d'oxyder des métabolites pour revenir aux molécules libres qui sont présentes dans les effluents (Baronti et al. 2000 ; Ternes et al. 1999).

1.5.4. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) :

Les taux de destruction dans les stations d'épuration d'eaux usées varient de 26 % à 92 % respectivement pour le diclofénac et l'ibuprofène d'après leurs mesures en amont et en aval mais ces taux peuvent varier fortement d'une station d'épuration à l'autre (Lindqvist et al. 2005) et aussi en fonction de l'âge des boues activées (Janex-Habibi et al. 2004), ce qui ne facilite pas l'évaluation des risques

Le diclofénac est assez mal éliminé, avec des taux variables de 17 à 70 % dans les stations d'épuration, ce qui explique sa présence assez fréquente dans les eaux de surface (Buser et al. 1998 ; Tixier et al. 2003).

Tableau 1: Composés pharmaceutiques les plus fréquents dans l'environnement. (Hirsch et al. 1999 ; Hernando et al.2006).

Groupe	Produit Pharmaceutiques
Antibiotiques	Oflaxacin, Chlortetracycline, Oxytetracycline, Streptomycin, Flumequine, Ciprofloxacine, Trometoprim, Lincomycin, Azithromycin, Clarithromycin, erythromycin, N4-Acety-Sulfamerthoxazole, Sulfamerthoxazole, Roxithromycin, Sulfamethazin
Antidépresseurs	Mianserin
Tranquillisants	Diazepam
Antiépileptiques	Carbamazepine
Anti-inflammatoires/ Analgésiques	Acide acétylsalicylique(Aspirine), Diclofenac, Ibuprofène, Acétaminophène, Metamizol, Codéine, Indométacine, Naproxen, Phénazone, Fenoprofen, Paracétamol
Agent de contraste	Diatrizoate, Iohexol, Iomeprol, Iopamidol, Iopronide, Acide Iothalamine, Acide Ioxithalamine
Estrogènes et Hormones	17-β-estradiol, 17-α-éthynylestradiol, Diéthylstilbestrol, Estrone, Diéthylstilbestrol acetate
Beta- Bloquants	Metoprolol, Propanolol, Nadolol, Atenolol, Sotalol, Betaxolol
Anticancéreux	Cyclophosphamide, Ifosfamide
Diurétiques	Furosemide
Régulateurs lipidiques	Bézafibrate, acide Clofibrrique, Fénofibrate, Gemfibrozil

L'ibuprofène est le composé type des anti-inflammatoires non stéroïdiens retrouvés dans l'environnement. Il n'est pas entièrement métabolisé chez l'homme et peut donc entrer dans l'environnement sous forme de composé initial ou de métabolites (Buser et al. 1999).

1.5.5. Les β -bloquants :

Les β -bloquants ont en commun la propriété d'occuper les récepteurs bêta-adrénergiques et d'inhiber ainsi les effets bêta-adrénergiques des catécholamines. Les β -bloquants sont tous des antagonistes compétitifs comportant parfois une activité agoniste partielle. Ces médicaments se distinguent les uns des autres par la présence d'effets pharmacologiques s'ajoutant à l'action sur les récepteurs bêta-adrénergiques ou par des particularités de leur pharmacocinétique. La plupart des bêta-bloquants comme le propranolol sont retrouvés dans les effluents des STEP sur le continent européen (Ternes, 1998 ; Sedlak et Pinkston, 2001 ; Andreozzi et al., 2003) et américain (Hugget et al., 2003) voire dans les eaux de surface. Vieno et al. (2006) indiquent des concentrations dans les effluents de trois STEP en Finlande de 910 à 1 070 ng/L pour le métoprolol et de 40 à 440 ng/L pour l'aténolol.

1.6. Devenir des substances pharmaceutiques dans les systèmes aquatiques :

Le devenir des substances pharmaceutiques et de leurs métabolites dans l'environnement demeure encore non élucidé. La faible volatilité des substances pharmaceutiques ainsi que leur polarité indiquent que la distribution dans l'environnement va se faire essentiellement par transport au sein de la voie aqueuse et également au travers des chaînes alimentaires.

1.6.1. Les phénomènes de dégradation en milieux naturels :

1.6.1.1. La photodégradation :

Les études concernant la photodégradation des substances pharmaceutiques se sont largement généralisées (Boreen et al. 2003) La dégradation se fait essentiellement par réaction photochimique directe ou indirecte. Les réactions de photodégradation par photolyse interviennent dans les phénomènes de biodégradation de manière significative pour des composés comme le naproxène et le diclofénac (Lin et Reinhard, 2005) produisant des composés parfois plus toxiques que la molécule mère (Isidori et al.2005). Lam et Mabury (2005) ont mis en évidence des photoproduits issus de défluorination de la fluoxétine par photodégradation.

1.6.1.2. La biodégradation :

Les phénomènes de biodégradation qui ont été initiés au sein des stations d'épuration vont se poursuivre dans le milieu naturel mais dans une moindre mesure. Ces mécanismes ne semblent pas prévalents (ou demeurent encore non élucidés) pour les substances pharmaceutiques à l'exception des oestrogènes. (Carrara et al. 2008), à travers une étude sur les anti-inflammatoires non stéroïdiens (l'ibuprofène, le naproxène), outre la mise en évidence d'une contamination des eaux souterraines à des concentrations aussi élevées que pour les eaux usées, établissent une corrélation entre la persistance des molécules et les conditions REDOX du milieu et concluent que les conditions toxiques sont favorables à la dégradation des molécules.

1.6.1.3. Distribution des substances pharmaceutiques dans la phase aqueuse :

La question de la distribution des substances pharmaceutiques entre les phases dissoutes et colloïdales a récemment été étudiée (Maskaoui et al. 2007). Les résultats mettent en évidence qu'une période courte de 5 min est suffisante pour que les interactions entre les substances pharmaceutiques et les colloïdes atteignent un plateau. Les interactions entre les substances pharmaceutiques et les colloïdes, sous contrôle du caractère hydrophobe des molécules, apparaissent comme prépondérantes pour la compréhension du devenir de ces molécules dans les systèmes aquatiques. Lin et Reinhard (2005).

1.6.1.4. Phénomènes de sorption :

De par leurs propriétés physico-chimiques (valeurs de K_{ow} faibles, solubilité élevée), les études sur les substances pharmaceutiques se sont essentiellement cantonnées à des études en phase dissoute de telle sorte que très peu de données de présence dans les phases solides sont recensées. Ra et al. (2008) ont mis en évidence la faible affinité de l'ibuprofène et du gemfibrozil pour les matières en suspension, seul le diclofénac présente 11 % de sorption (expérience simulée). La présence de substances pharmaceutiques a été rapportée dans les sédiments, principalement celle des anti inflammatoires non stéroïdiens et du gemfibrozil (Hernando et al. 2006 ; Bradley et al. 2007).

1.7. Transferts aux organismes aquatiques :

Pour l'heure le devenir des substances pharmaceutiques (bioconcentration, bioaccumulation et biotransformation) dans les organismes aquatiques est peu étudié, exception faite du contexte

réglementaire lié à l'usage des antibiotiques en aquaculture. Ainsi un certain nombre d'études ont été réalisées dans ce contexte et ont pu mettre en évidence la persistance de certains antibiotiques après administration (Fairgrieve et al. 2006).

1.8. La toxicité chronique :

Assez peu d'études portant sur la toxicité chronique des produits pharmaceutiques chez les organismes aquatiques autres que les algues ont été réalisées ; et seul un petit nombre de composés est concerné par ces études .La toxicité chronique des substances pharmaceutiques est évaluée par des tests sur des organismes de laboratoires tels les algues, le zooplancton et autres invertébrés et les poissons. (Garric et al. 2006).

Chapitre 2 :
Biologie et description de
Daphnia magna

2. Biologie et description de *Daphnia magna* :**2.1. Description de *Daphnia magna* :**

Daphnia magna est un micro crustacé planctonique d'eau douce, de l'ordre des Cladocères, recommandée en tant que modèle biologique de référence dans différents bio essais standardisés pour l'évaluation des effets toxiques potentiels de substances chimiques (ASTM, 2004, ISO, 1996, OCDE, 2004 et 2008). En effet, *D. magna* est facile à manipuler et à étudier en laboratoire du fait de sa petite taille, son cycle de vie court, son mode de reproduction asexuée et sa fécondité élevée. En tant que consommateur primaire, l'espèce occupe une place importante dans les transferts de matière et d'énergie dans les chaînes alimentaires des écosystèmes aquatiques d'eau douce.



Figure 2: *Daphnia magna* (Massarin, 2010).

2.2. Ecologie générale :

Les populations de Daphnie sont généralement rares en hiver et au début du printemps. Mais avec l'augmentation de la température de l'eau (6 à 12°C), les populations augmentent leur abondance et atteignent des densités élevées de 200 à 500 individus/L (Pennak, 1989). Les populations dans les étangs diminuent de façons importantes leurs effectifs en été. Par contre, en automne, il peut y avoir une seconde pulsation de la population avant la diminution en

hiver. Pendant la plupart de l'année, les populations de *Daphnia* sont constituées presque exclusivement de femelles. Les mères donnent naissance à de petites daphnies filles par parthénogenèse (Figure 3). Les mâles deviennent abondants seulement en printemps ou en automne où ils peuvent atteindre jusqu'à 56% de la progéniture de *D.magna* (Barker et Hebert, 1986).

2.3. Alimentation :

Daphnia magna est adaptée à la survie dans les blooms algaux, qui sont riches en protéines et en carbohydrates, où elle se nourrit d'algues et de bactéries malgré sa préférence pour les bactéries (Ganf., 1983 ; Hadas et al. 1983). La qualité et la quantité de la nourriture affectent la sensibilité de Daphnie aux polluants et son taux de reproduction. Keating et Dagbusan., 1986 ont montré que les daphnies nourries par les diatomées sont plus tolérantes aux polluants que celles nourries par les algues vertes seulement. Mais, en général les réserves lipidiques sont un bon indicateur des conditions de nutrition chez les daphnies (Holm et Shapiro, 1984; Tessier et Goulden, 1982).

2.4. Classification :

La classification de la daphnie est résumée ci-après :

Embranchement : Arthropodes.

Classe : Crustacés.

Sous-classe : Branchiopodes.

Super-ordre : Anomopodes.

Ordre : Cladocères.

Famille : Daphniidae.

Genre : *Daphnia*.

Espèce : *Daphnia magna*.

2.5. Morphologie :

La taille de la daphnie adulte varie entre 3 et 5 mm et est subdivisée en deux parties : la tête et le corps (Figure 3). La tête de la daphnie comporte un œil composé, une bouche, deux antennes (A2) qui aident à sa locomotion saccadée, ce qui, d'ailleurs, lui a valu le surnom de « puce d'eau » et deux antennules (A1) qui, chez le mâle, servent de crochets généralement lors de l'accouplement. Les embryons des daphnies possèdent deux ébauches d'œil bien visibles qui fusionnent à la fin de leur développement chez les adultes pour donner un œil unique, composé, mobile et de taille plus importante servant à l'orientation de la daphnie (Amoros, 1984). Le système nerveux est caractérisé par un ganglion cérébral, localisé entre l'œil et le début du tube digestif (Amoros, 1984).

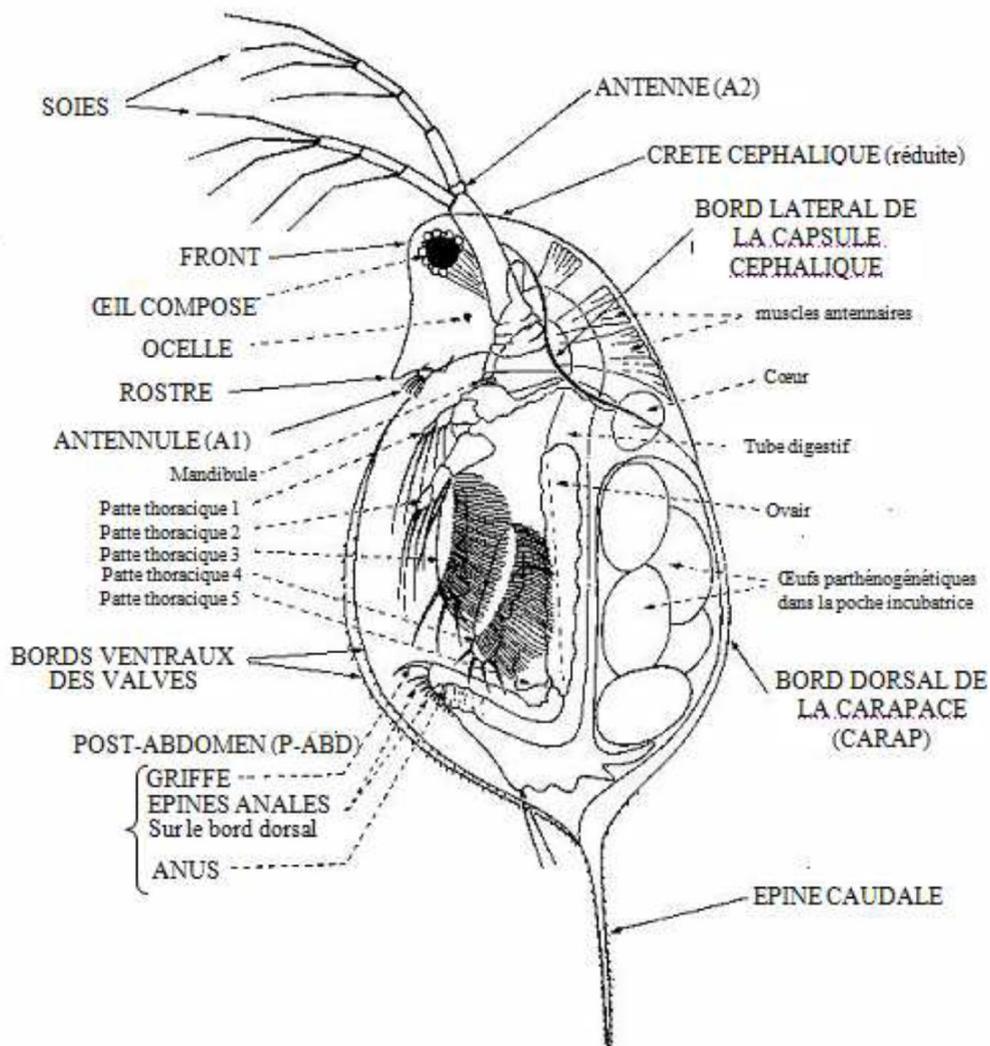


Figure 3: Organisation générale d'un cladocère, vue latérale (Amoros, 1984).

Le corps de la daphnie est recouvert par une carapace transparente qui se renouvelle à chaque mue marquée par un doublement du volume de l'organisme pendant une minute dû essentiellement à une brusque entrée d'eau dans l'animal (Green, 1963). Cette carapace se prolonge par une épine caudale dont la taille est variable en fonction de plusieurs contraintes environnementales. En effet, la morphologie des daphnies peut changer périodiquement au cours des cycles saisonniers et affecter en particulier la forme de la tête et de la carapace, la taille de l'œil composé ainsi que la longueur de l'épine caudale. Ce phénomène nommé cyclomorphose (Amoros, 1984) semble être contrôlé par les conditions du milieu à savoir la température (Yurista, 2000), la turbidité (Jacobs, 1962; Hazelwood, 1966), la lumière (Jacobs, 1962) ainsi que par les kairomones solubles, libérées par certains prédateurs (Tollrian, 1994). Dans ce dernier cas, il a été montré que la cyclomorphose permet de se défendre contre les prédateurs (Dodson, 1974) puisqu'elle permet aux daphnies de changer de morphologie en développant certains organes afin de disperser les prédateurs.

Le tube digestif est simple, de forme tubulaire, visible par transparence et se termine par un anus au niveau de la griffe post-abdominale (Figure 3). Le système circulatoire des daphnies est lacunaire et le transport de l'oxygène se fait à l'aide d'hémoglobine. Ainsi lorsque le milieu est bien aéré, les daphnies sont de couleur pâle, en revanche lorsque la teneur en dioxygène diminue dans le milieu, les daphnies prennent une couleur rouge à la suite de l'augmentation du taux d'hémoglobine dans le sang (Fox, 1957).

Le cœur est en position dorsale et antérieure au-dessus de la poche incubatrice. Les ovaires sont placés de part et d'autre de l'intestin de la daphnie. Il existe un dimorphisme sexuel très net chez les daphnies. En effet, les mâles se distinguent des femelles par i) la forme de la tête, ii) une taille plus petite, iii) la présence d'antennules (A1) plus développées et iv) la partie antérieure du post-abdomen (située avant la griffe post-abdominale) plus proéminente (Figure 4).

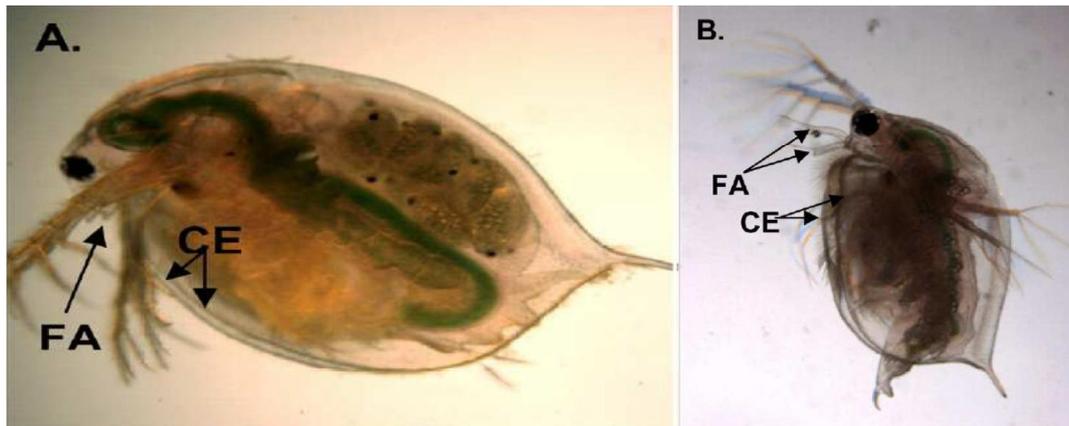


Figure 4: Femelle de *D. magna* (A) et mâle de *D. magna* (B) La différence entre les 2 sexes est visible par la taille de l'antenne primaire (FA:First antennae) qui est grande chez les mâles. Une autre différence réside dans la forme du bord de la carapace (CE : carapace edge) ; les femelles ont des carapaces symétriques par contre, les mâles ont des carapaces asymétriques et terminés par des soies (d'après Olmstead et LeBlanc., 2007).

2.6. Développement :

L'embryon de la daphnie, déposé dans la poche incubatrice dorsale, passe par 6 stades de développement (Kast-Hutcheson et al, 2001) (Figure 5).

- Le stade 1 ou stade de division dure entre 0 et 15h : l'embryon est sphérique.
- Le stade 2 correspond au stade de gastrulation et se déroule entre 15 et 25h. L'embryon devient asymétrique avec présence d'un blastopore en raison du début de la différenciation cellulaire.
- Le stade 3 est nommé stade de maturation embryonnaire précoce, il se déroule entre 25 et 35h et présente une différenciation de la tête et des antennes A2.
- Le stade 4 ou encore stade de maturation embryonnaire moyenne, se déroule entre 35 et 45h et correspond à la mise en place de l'œil pigmenté ainsi qu'au développement des antennes qui restent encore confinées dans la membrane embryonnaire
- Le stade 5 est le stade de maturation embryonnaire tardive et se déroule entre 45 et 50h. Il y a rupture de la seconde membrane embryonnaire et par suite extension partielle des antennes A2 alors que l'épine caudale reste encore pliée contre la carapace.
- Le stade 6 est le dernier stade. Il correspond au développement complet de l'embryon et se déroule de 50 à 72h. A ce niveau, il y a développement complet des antennes et libération de l'épine caudale, de sorte que le nouveau-né est prêt à se déplacer.

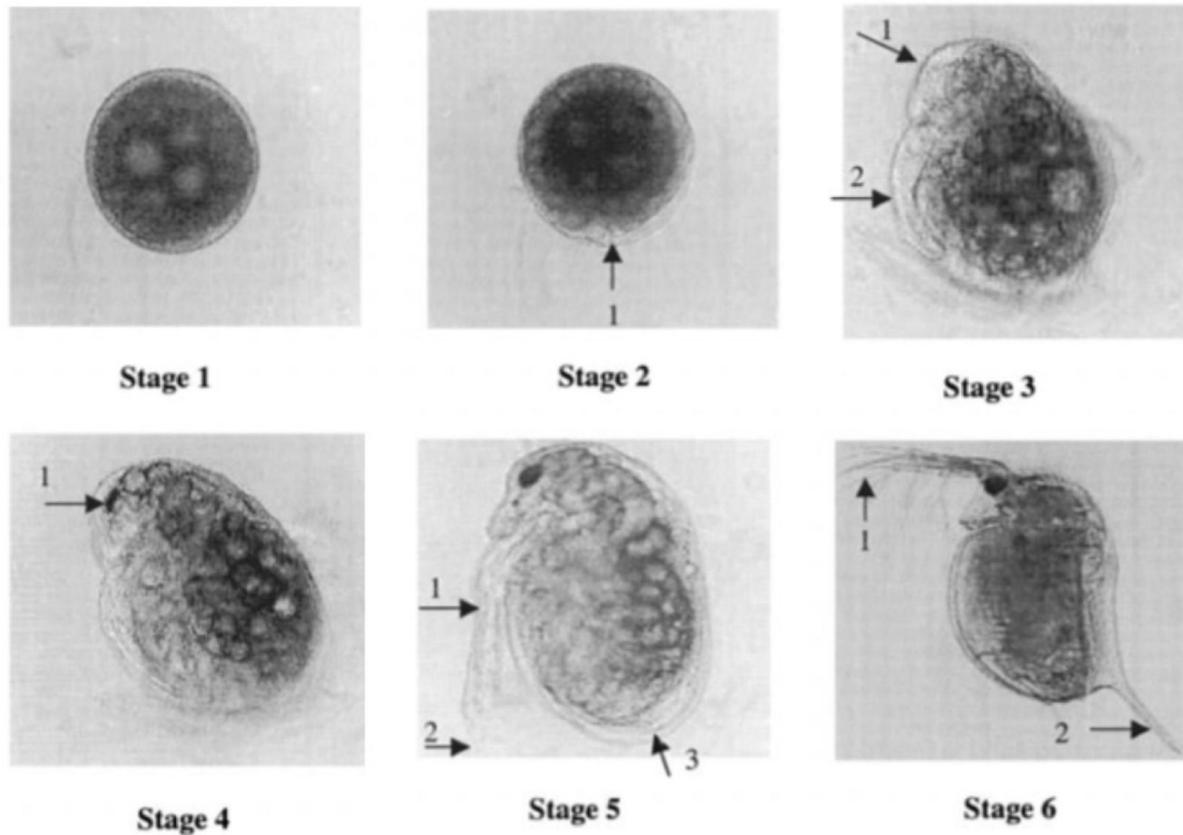


Figure 5: Différents stades de développement embryonnaire chez *Daphnia magna* (Kast-Hutchesonet al. 2001).

La durée de vie moyenne d'une daphnie est généralement de 40 jours à 25°C et de 56 jours à 20°C ; elle se divise en 3 phases. La première phase est la période embryonnaire qui est généralement brève (3 jours). Elle est suivie par la période juvénile caractérisée par une croissance maximale des jeunes daphnies : cette période dure, lorsque les conditions sont favorables, entre 7 et 10 jours durant lesquels sont observées entre 5 et 6 mues (Soares, 1989). Durant la période adulte, la daphnie va effectuer plusieurs pontes tous les 3 jours (la période inter-mue) lorsque les conditions sont favorables.

2.7. Cycle de vie :

Selon les conditions environnementales, la daphnie peut se reproduire de façon sexuée ou asexuée (Figure 6).

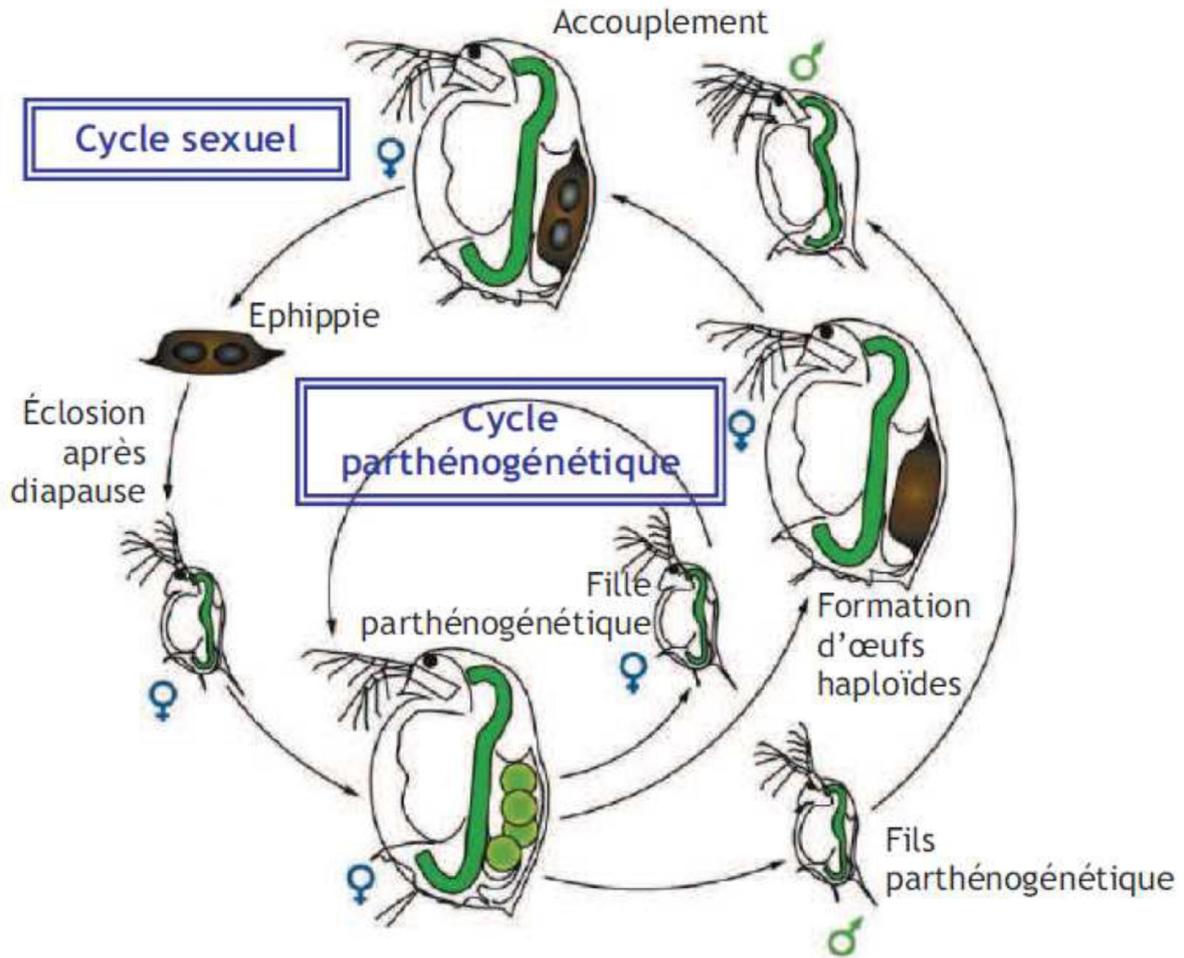


Figure 6: Cycle de vie de la daphnie (Ebert, 2005).

Lorsque les conditions environnementales sont favorables cycle parthénogénétique (Figure 6), les daphnies se reproduisent par reproduction asexuée ou parthénogénétique. Dans ce cas, les femelles adultes produisent à partir d'ovules non fécondés d'autres jeunes daphnies femelles (diploïdes) qui leur sont génétiquement identiques. Après 3 jours, les jeunes daphnies bien développées sont prêtes à être expulsées de la poche incubatrice par des flexions ventrales des femelles adultes. Juste avant la ponte, les daphnies adultes subissent une mue puis déposent à nouveau une nouvelle ponte dans leur poche incubatrice. Les générations parthénogénétiques se succèdent tant qu'il n'y a pas apparition de conditions défavorables (manque de dioxygène ou de nourriture, diminution de la température, effet de masse de daphnies, accumulation de déchets,...).

Lorsque les conditions deviennent défavorables cycle sexuel (Figure 6), les daphnies femelles adultes produisent des œufs diploïdes asexués qui se développent en mâles. En outre, les daphnies femelles peuvent aussi produire des œufs haploïdes qui nécessitent la fécondation par les mâles. Les œufs fécondés sont placés dans une coquille de protection ou éphippie, qui contient deux œufs de résistance de couleur noire (Figure 6) et doivent subir une diapause (Ebert, 2005). Lorsque les conditions redeviennent favorables, ces œufs de résistance éclosent mais donnent toutefois naissance à une population génétiquement différente des daphnies mères (Chèvre, 2000).

2.8. Intérêt écotoxicologique de la daphnie :

Les daphnies, tout comme les autres cladocères, jouent un rôle clé - key species selon Nilssen et Waervagen (2002) ou Key stone species selon Sperfeld et Wacker (2009) - au sein des écosystèmes dulçaquicoles vu leur nombreux et divers prédateurs à savoir les poissons (juvéniles et adultes), les larves d'insectes (ex. *Chaoborus*) et les copépodes (ex. *Mesocyclops*).

Les daphnies ont été largement utilisées en écotoxicologie et *D. magna* est l'un des trois modèles biologiques les plus utilisés, avec les algues et les poissons, dans le cadre de l'évaluation des risques écotoxiques des substances chimiques (Pereira et al. 2010). C'est ainsi que les données expérimentales relatives aux daphnies représentent 8% de l'ensemble des données expérimentales aquatiques trouvées dans les bases de données (Denslow et al. 2007). En réalité, cette espèce a été choisie pour diverses raisons, à savoir : 1- visible à l'œil nu, 2- reproduction parthénogénétique et donc faible variabilité génétique, 3- pontes abondantes, 4- manipulation et élevage faciles à réaliser au laboratoire suite à sa taille relativement petite, 5- cycle de vie court, ce qui permet de suivre l'effet des polluants sur plusieurs générations ,6- sensibilité à une large gamme de produits chimiques (Colbourne et al. 2011).

Chapitre 3 :
Matériels et méthodes

3. Matériels et Méthodes :**3.1. Présentation du site d'étude :****3.1.1. Aperçu générale sur la zone d'étude :**

Constantine se situe entre latitude 36° 17' et la longitude 6° 37' en plein centre de l'Est algérien, précisément à 245 km des frontières Algéro-tunisiennes, à 431 km de la capitale Alger vers l'Ouest, à 89 km de Skikda vers le Nord et à 235 km de Biskra vers le Sud. Elle est bâtie sur un majestueux Rocher situé sur les deux côtés de Oued Rhumel, elle est ainsi cernée par de véritables obstacles naturels; les repères géographiques montrent que la région n'est pas homogène par rapport à sa position et par rapport au niveau de la mer. Elle se situe entre les deux lignes Kentour 400 et 800 m et 1200 m vers le Sud. Elle s'étend sur une superficie de l'ordre de 2297,20 Km².

La wilaya de Constantine se situe à l'est du pays et limitée de:

- au nord par la wilaya de Skikda ;
- à l'est par la wilaya de Guelma ;
- à l'ouest par la wilaya de Mila ;
- au Sud par la wilaya d'Oum el Bouaghi (Figure 7).

- **Le climat :**

La wilaya de Constantine se caractérise par un climat continental, et enregistre une température variant entre 25 à 40°C en été et de 0 à 12°C en hiver. La moyenne pluviométrique varie de 500mm à 700mm durant 20 jours par année.

- **Relief :**

La ville s'étend sur un plateau rocheux à 649 mètres d'altitudes .Elle est coupée des régions qui l'entourent par des gorges profondes ou coule Oued Rhumel, de tous les côtés sauf à l'ouest .le choix de cet emplacement est avant tout une stratégie de défense .Aux alentours, les régions est dotée de terres fertiles, a fait de Constantine le grenier du pays à l'époque romaine (Zouaidia, 2006).

- **Population :**

La wilaya de Constantine est très peuplée, environ 987.774 habitants (Recensement Mars 2007) et une densité de 431.72 habitants au km². La majeure partie de la population est concentrée au niveau de la couronne qui constitue Constantine en l'occurrence les communes limitrophes (ElKhroub, Ain Smara, Hamma Bouziane et Didouche Mourad) (Zouaidia, 2006)

3.1.2. Caractéristiques du bassin versant d'oued Rhumel :

Le bassin du Rhumel couvre une superficie de 5300 km² et constitue la partie amont du bassin versant Kébir-rhumel (8800 km²). Le bassin du Rhumel est limité à l'est par le bassin de l'Oued Cherf (affluent de l'oued Seybouse, au sud et sud-ouest par le bassin des Hauts Plateaux Constantinois (bassin des lacs salés), au nord et nord-ouest par la partie aval du bassin Kébir-Rhumel (Afri-Mehennaoui, 2006).

3.1.3. Le réseau hydrographique :

Le réseau hydrographique du bassin du Rhumel comprend deux principaux cours d'eau :

En amont le Rhumel traverse les hautes plaines constantinoises selon une orientation SW-NE jusqu'au confluent avec l'oued Boumerzoug à Constantine. Ensuite il creuse les célèbres gorges de Constantine, longue de 2800 mètres, dans d'épaisses couches de calcaires gris ou noir. A l'entrée de ces gorges, la profondeur du ravin n'est que 37 mètres. A la sortie du ravin, le Rhumel descend dans la plaine du Hamma par trois cascades. La hauteur totale de la chute est de 80 mètres. Le point culminant du rocher de Constantine est à 203 mètres du niveau supérieur de ces cascades. Au pont d'El Ménia, le Rhumel reçoit à gauche l'oued El Melah. Dans le Tell méridional, le Rhumel change de direction et coule vers le Nord-Ouest pour confluer, à l'exutoire de son bassin, avec l'oued Endja et donner naissance à l'oued EL Kébir. Le long de son parcours, le Rhumel, le long de plus de 123 km, reçoit successivement de l'amont à l'aval les oueds Dekri, Seguin, Boumerzoug, Smendou et l'oued El Ktone. L'oued Boumerzoug (32 km de long) naît de la confluence d'oued El Kleb et oued Melah à environ 25 km au sud de Constantine. Il reçoit, sur son parcours, l'oued Hamimime à 9 km de Constantine et à l'entrée de la ville l'oued Chiens qui draine les eaux ruisselant sur le versant sud de Djebel El Ouahch ainsi que celles du méridj (Afri-Mehennaoui, 2006).

3.1.4. Description des sites :**✓ Le site 1 (36°20'33.2''N ; 6°36'45.2''E) :**

Point de rencontre de la sortie des rejets pharmaceutiques d'usine de médicaments (Biogalimique) avec l'eau de l'Oued el Rhumel situé dans la zone industrielle PALMA.

✓ Le site 2 (36°20'38''N ; 6°36'48.2''E) :

Distant de 300 m du premier site aussi caractérisé par le contact direct avec l'effluent d'une autre industrie pharmaceutique (Néomidique).

✓ Le site 3 (36°20'55''N ; 6°36'56.2''E) :

Distant de 400m du deuxième site et en contact avec les effluents domestiques et industriels.

✓ Le site 4 (36°20'51.8''N ; 6°36'46.3''E) :

Distant de 300m du troisième site près de la gare des voyageurs orientale (Sahraoui Taher).

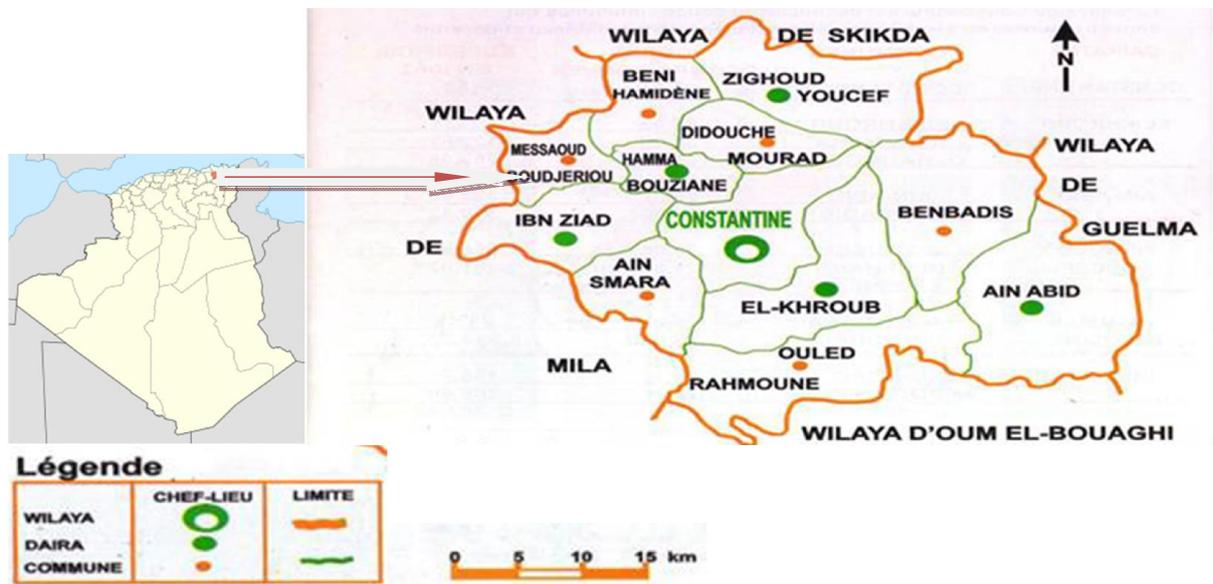


Figure 7: Localisation des sites d'échantillonnages.



a. Le site 01.



b. Le site 02.



c. Le site 03



d. Le site 04.

Figure 8: Photos des sites d'échantillonnages.

3.2. Matériels :**3.2.1. Matériel biologique (bio indicateur) :**

La daphnie est un petit crustacé cladocère, l'espèce la plus utilisée est *Daphnia magna* qui fait l'objet d'un test normalisé par l'AFNOR. Dans les conditions favorables, il n'y a pas de mâles et les femelles se reproduisent par parthénogenèse et par voie sexuée lorsque les conditions sont défavorables.

3.2.2. Matériels expérimental :

- ✓ Aquarium en verre.
- ✓ Pompe et diffuseur d'oxygène.
- ✓ Loupe binoculaire.
- ✓ Micromètre
- ✓ Tube à essais de 30 ml.
- ✓ Lames
- ✓ Bêchers (100 ml ,200ml).
- ✓ Boîtes de pétri.
- ✓ Pipette pasteur.
- ✓ Pipette en verre.
- ✓ Porte tube.

3.3. Méthodes :

Cette étude a été réalisée au laboratoire du département de Biologie-Ecologie. Elle consiste à tester l'effet des effluents pharmaceutiques sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*. Pour cela, nous avons procédé d'abord à un élevage du matériel biologique puis aux expérimentations.

3.3.2. Culture de *Daphnia magna* :

L'élevage population a été initié par des prélevées à partir de la mare Boukhadra (Annaba) mises dans un aquarium remplis au 2/3 de leur hauteur avec une eau de canalisation déchlorinée et oxygénée. La nourriture est l'élément fondamental de la réussite de la culture. Ce dernier doit être distribué avec parcimonie très régulièrement (chaque deux jours). Nous avons utilisé la levure (*Saccharomyces cerevisiae*) qui présente une taille facilement absorbable par les daphnies et l'extrait de l'épinard (*Beta vulgaris maritima*).

3.3.3. Préparation de l'extrait d'épinard (*Beta vulgaris maritima*) :

1Kg de *Beta vulgaris maritima* est lavé, haché puis bouillit dans un litre d'eau de robinet. Le contenu est mixé, homogénéisé puis filtré. L'homogénat est conservé dans le réfrigérateur à 4°C et utilisé ultérieurement.

3.3.4. Prélèvement et transport des échantillons :

Des précautions particulières concernant le prélèvement et le transport des échantillons doivent être prises en compte afin de conserver l'intégrité des prélèvements qui sont effectués dans des bouteilles en verre de 1 litre et conservés dans une glacière < Ice box > durant l'acheminement vers le laboratoire.

3.3.5. Mode opératoire :

Le but de ce présent travail est d'étudier l'effet des effluents pharmaceutiques sur un cladocère (*Daphnia magna*) durant 21 jours. Des juvéniles *D. magna* âgées de moins de 24h sont exposées à l'eau prélevée des différents sites pendant la période du test. Les juvéniles sont placés individuellement dans des tubes à essais contenant de la nourriture.

Cependant, on utilise 10 répliquas et les juvéniles sont cultivés dans de l'eau du robinet déchlorinée pour le témoin. Le milieu est renouvelé chaque deux jour pendant la durée du test. Les daphnies sont soumises aux mêmes conditions que celles pour les cultures mères.

Les daphnies obtenues pendant le test sont mesurées par un micromètre (de sa tête jusqu'à la base de son épine apicale). Les juvéniles sont enlevés et comptés chaque jour.

Les paramètres suivis au cours de cette étude sont :

- Taille des femelles adultes à la 1^{ère} reproduction (les mères) en mm,
- Taille des juvéniles à la 1^{ère} reproduction (nouveau-nés) en mm,
- La longévité (la moyenne en nombre des jours pendant lesquels les mères sont restées en vie sur la durée du test),
- L'intervalle de ponte (moyen) en jours,
- Age à la maturité,
- Age à la 1^{ère} ponte (Age du nouveau-né à la première ponte),
- La grandeur ou taille de ponte (nombre moyen des petits cumulé par mère à la fin du test).

- Le nombre de ponte par mère durant le test du 21 jours.
- Le nombre total des descendants produit par animal parent (moyenne des petits cumulé par mère à la fin du test).
- Le sexe ratio.

3.3.6. Analyse statistique :

Pour chaque paramètre, nous avons calculé la moyenne et l'écart type .nous avons utilisé l'analyse de la variance à un facteur pour tester l'impact des différents effluents pharmaceutiques sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*. La différence significative est établit à $p < 0.05$.

Chapitre 4 :
Résultats et Discussion

4.1. L'effet des effluents sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna* :

4.1.1. La taille des femelles adultes à la 1^{ère} reproduction :

Les résultats montrent que la taille des femelles adultes à la première reproduction est affectée légèrement dans les sites 1, 3 et 4 par rapport au témoin (Figure 9). Alors que les valeurs minimales sont enregistrées dans le site 2. Les résultats de l'analyse statistique ne dévoilent aucun effet significatifs ($P > 0,05$).

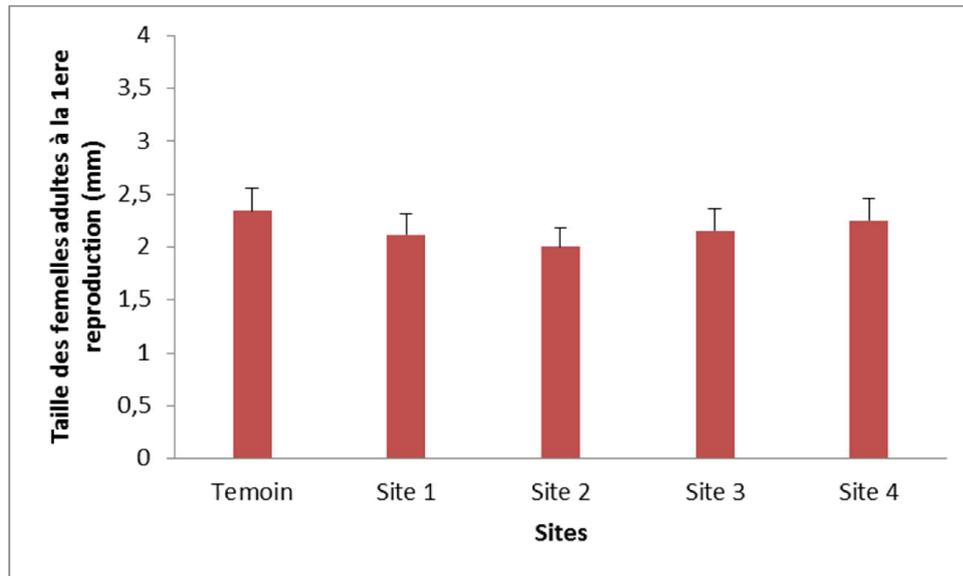


Figure 9: Variation de la taille des femelles à la 1^{ère} reproduction dans les différents sites.

4.1.2. La taille des juvéniles à la première reproduction :

D'après les résultats recueillis sur la figure 10 nous constatons qu'à première vue les effluents n'affectent pas la taille des juvéniles des différents sites, car ces derniers ont une taille voisine de celle des témoins, et on remarque que la taille des juvéniles minimales est enregistrée dans le site 2. Mais la différence est non significatives ($P > 0,05$).

4.1.3. La longévité :

Les résultats lustrés dans la figure 11 montrent une réduction de la longévité dans les 4 sites par rapport au témoin et attend son minimum au premier site avec une durée de vie qui avoisine les 15 jours. Les analyses statistiques révèlent une différence significative au niveau du site 1.

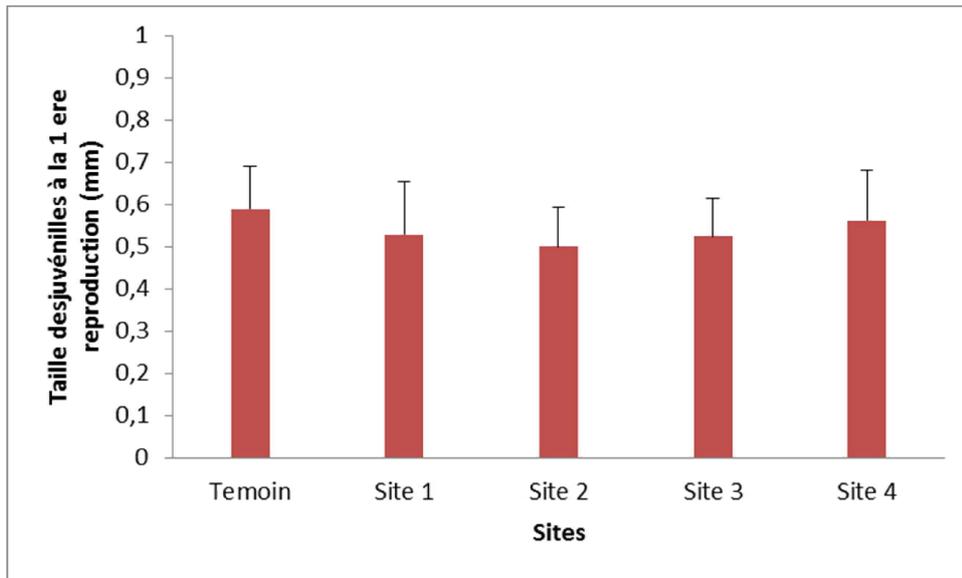


Figure 10: Variation de la taille des juvéniles à la 1^{ère} reproduction dans les différents sites.

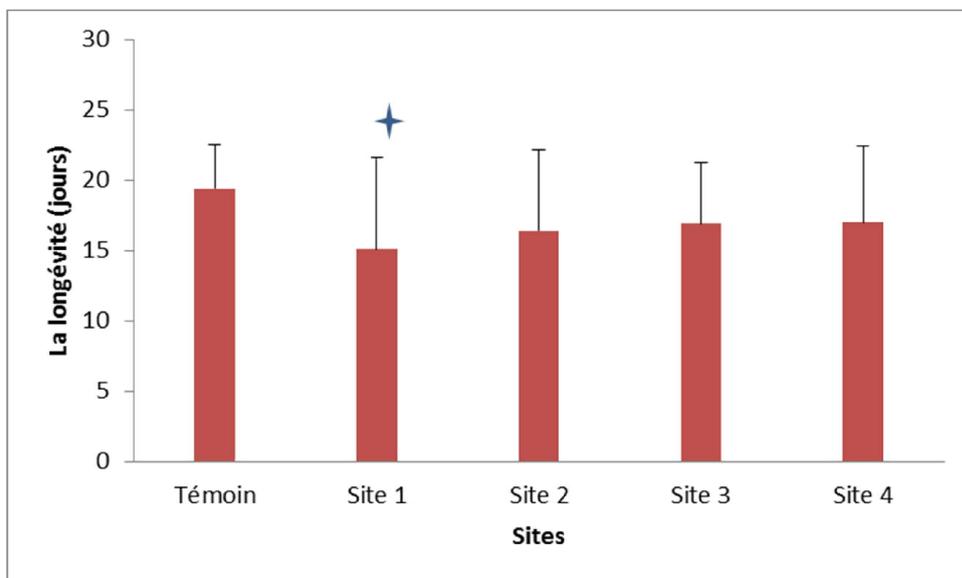


Figure 11: Variation de la longévité dans les différents sites ($\dagger P < 0,05$).

4.1.4. L'intervalle de ponte :

Les résultats obtenus signalent que l'intervalle de ponte figure 12, dans les différents sites sont réduits par rapport au témoin. Cependant, il est de 7 jours pour le témoin et de 5 à 6 jours pour les autres sites durant la période du test. Mais cette différence est également non significative ($P > 0,05$).

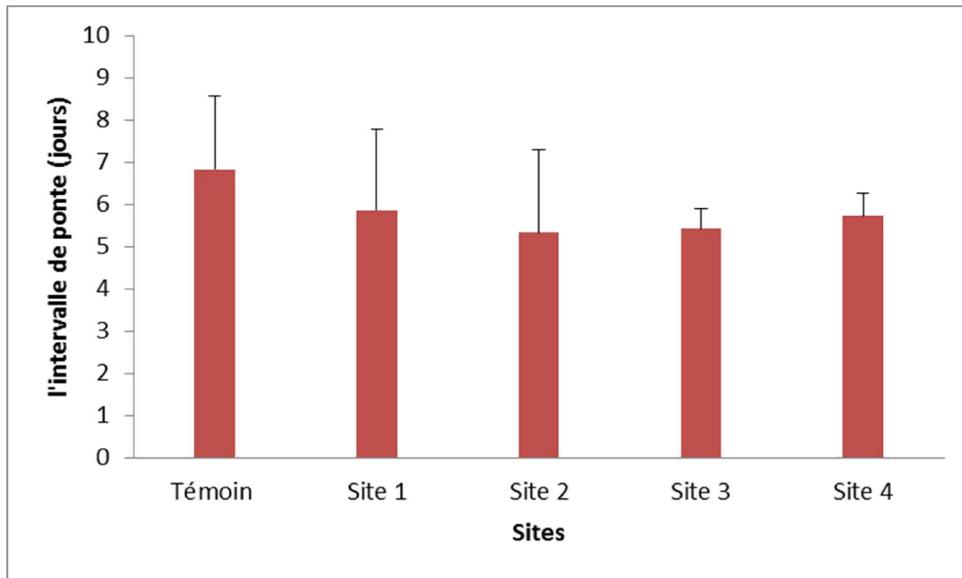


Figure 12: L'intervalle de ponte moyen dans les différents sites.

4.1.5. L'âge à la maturation :

La figure 13 montre que l'âge à la maturité moyen dans le témoin est de 08 jours. Alors que les individus des différents sites mettent 6 à 7 jours pour que les juvéniles arrivent à la maturation. Les analyses statistiques ne révèlent aucune différence significative ($P > 0,05$).

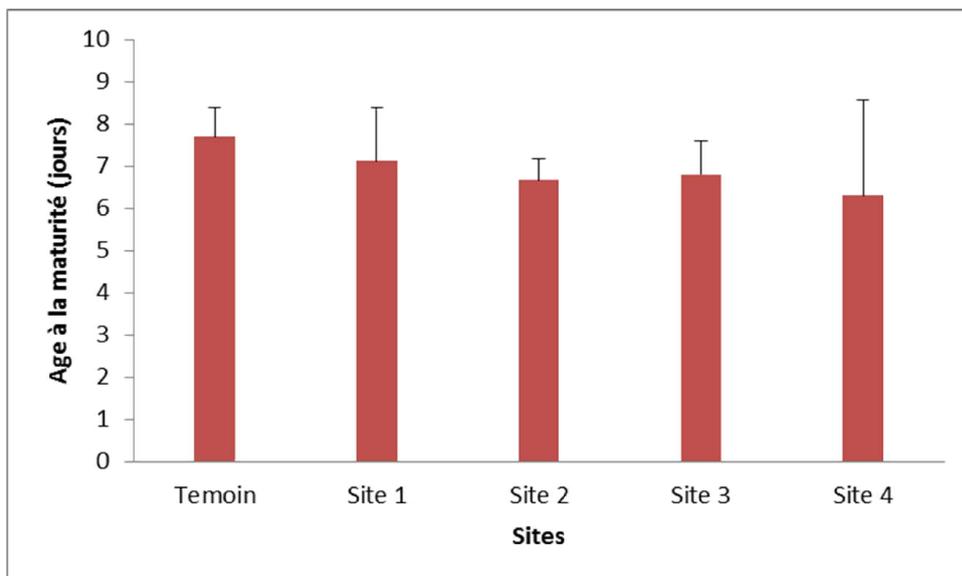


Figure 13: L'âge à la maturation de daphnies dans les différents sites.

4.1.6. L'âge à la première ponte :

La figure 14 représente l'âge à la première ponte des juvéniles dans les différents sites. Notons que l'âge à la première ponte dans les différents sites est légèrement réduit par rapport à celui du témoin. Les différences ne sont pas significatives ($P > 0,05$).

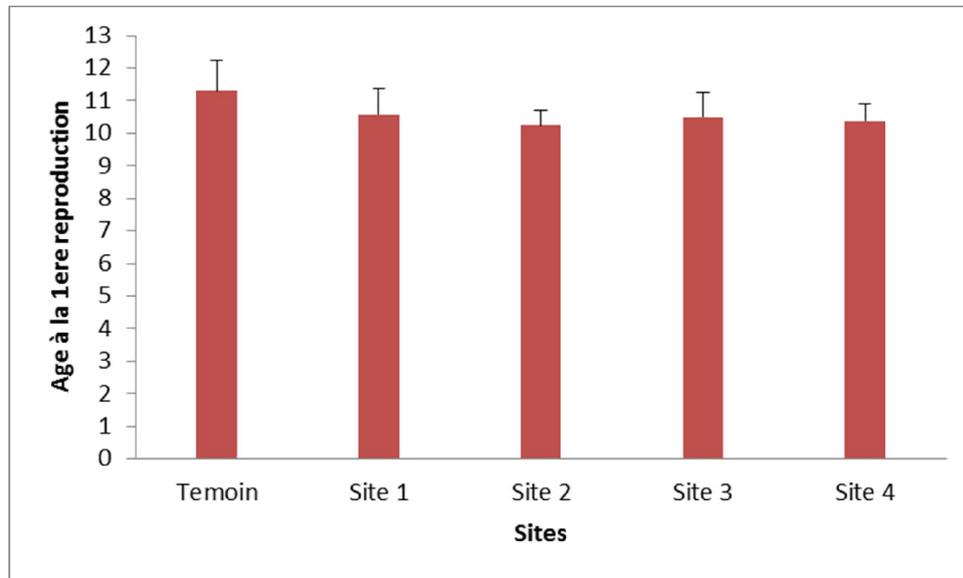


Figure 14: Variation de l'âge à la 1^{ère} ponte dans les différents sites.

4.1.7. Grandeur de ponte moyenne :

Les résultats recueillis figure 15, révèlent la réduction de la grandeur de ponte chez les daphnie traitées par l'eau d'effluents comparativement avec le témoin. Quoique le résultat du site 4 reste le plus proche de celui du témoin. Les différences restent non significatives ($P > 0,05$).

4.1.8. Nombre de ponte par femelle :

Les résultats recueillis Figure 16, ont montré que le nombre de ponte moyen par femelle est assez élevé chez les daphnies traitées avec l'eau d'effluents comparativement avec le témoin, les individus du site 2 montrent des valeurs maximales. Cependant les analyses statistiques ne montrent aucune différence significative ($P > 0,05$).

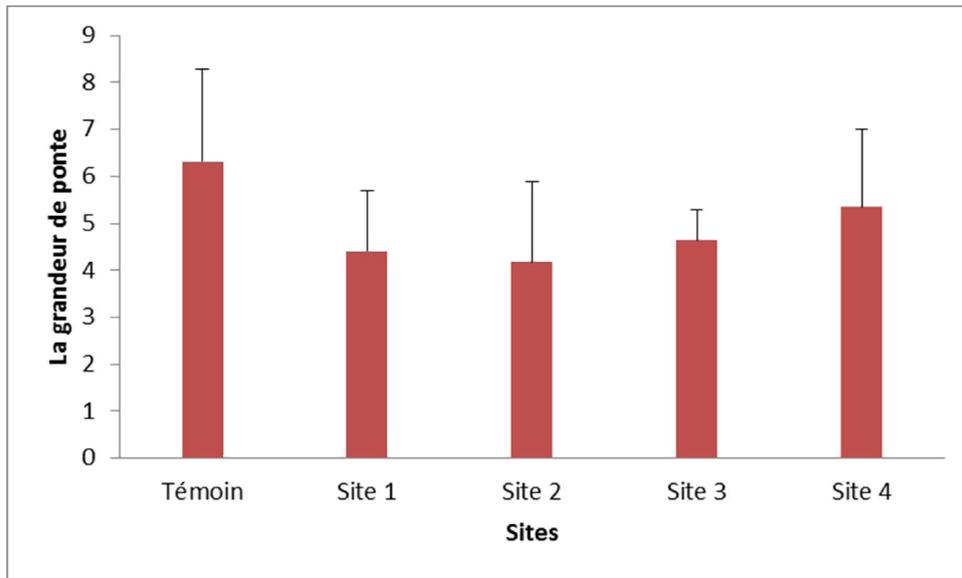


Figure 15: La variation de la grandeur de ponte moyenne dans les différents sites.

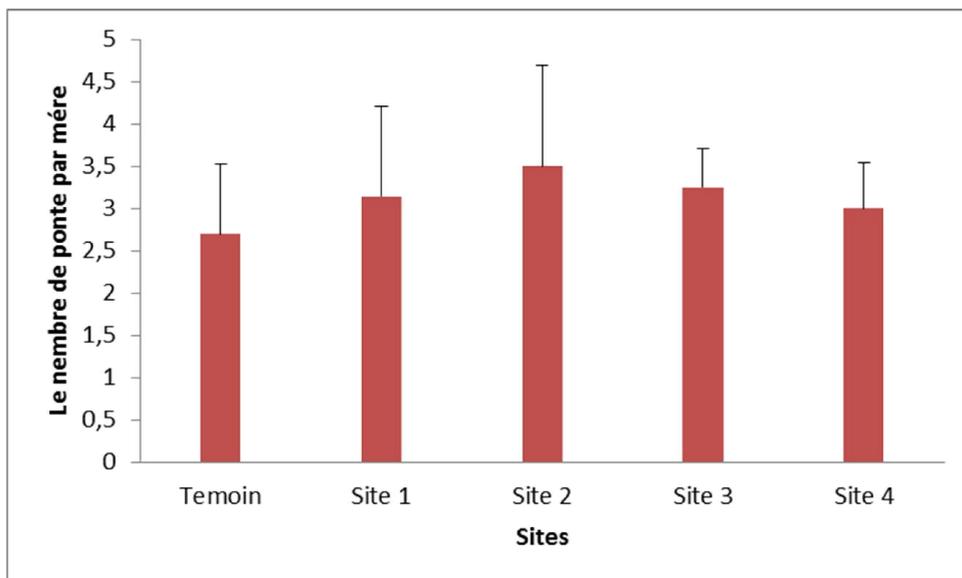


Figure 16: Variation du nombre de ponte par femelles dans les différents sites.

4.1.9. Nombre de descendants par femelle :

Les résultats obtenue Figure 17 montrent que le nombre de descendant par mère est réduit chez les daphnies traités avec les effluents par rapport au témoin. Les sites 1 et 2 montrent des valeurs minimales. Mais cette différence est également non significative ($P > 0,05$).

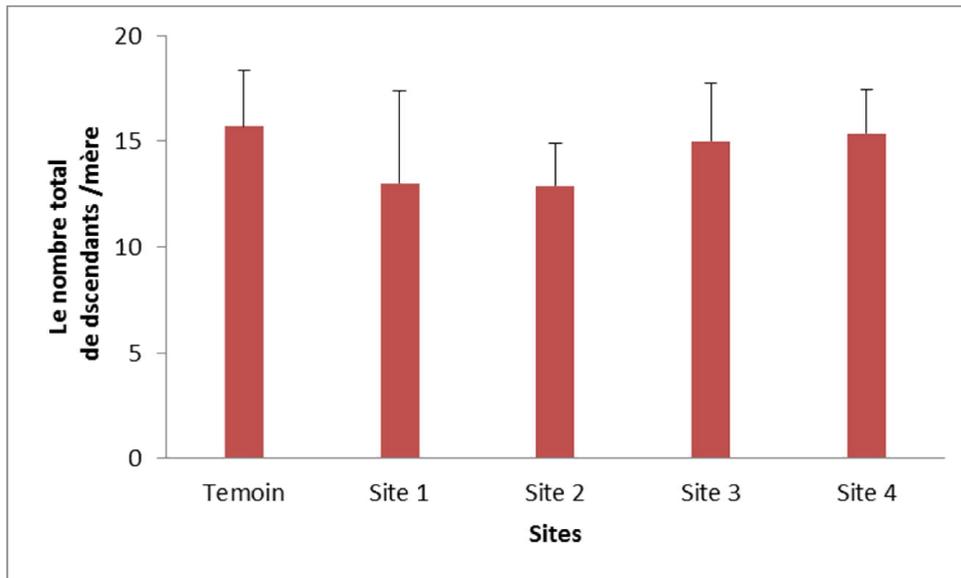


Figure 17: Variation du nombre de descendants produits par mère dans les différents sites.

4.1.10. Taille des femelles à la deuxième reproduction :

La figure 18 montre que dans le site 2 la taille des femelles est toujours inférieure à celle des témoins et à celle des autres sites étudiés. Les analyses statistiques ne montre aucune différence significative ($P > 0,05$).

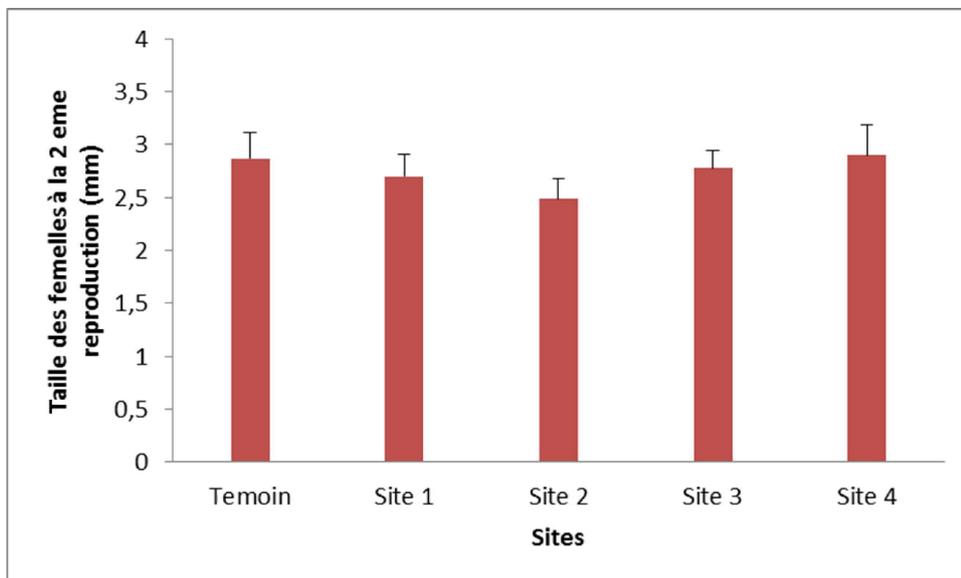


Figure 18: Variation de la taille des femelles à la deuxième reproduction dans les différents sites .

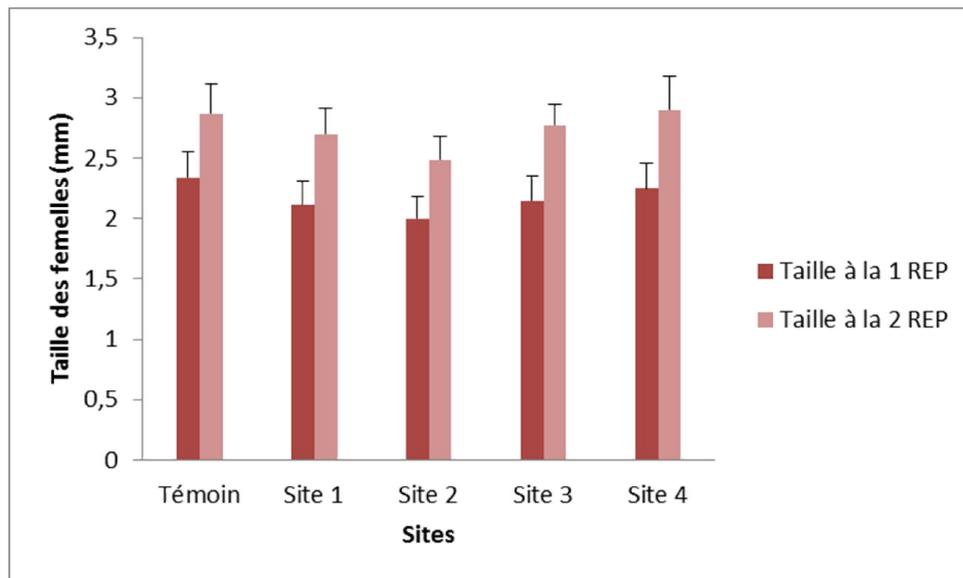


Figure 19: Variation de la taille des femelles à la première et deuxième reproduction dans les différents sites.

La figure 19 montre que la taille des femelles à la deuxième reproduction est supérieure celle de la première reproduction .

4.1.11. La taille des juvéniles à la deuxième reproduction :

La figure 20 montre que la taille des juvéniles est presque uniforme dans les différents sites ,ainsi que pour le témoin. Mais le site 4 présente une valeur maximale par rapport au autre site et au témoin. Cependant, les analyses statistiques ne révèlent aucune différence significative ($P > 0,05$).

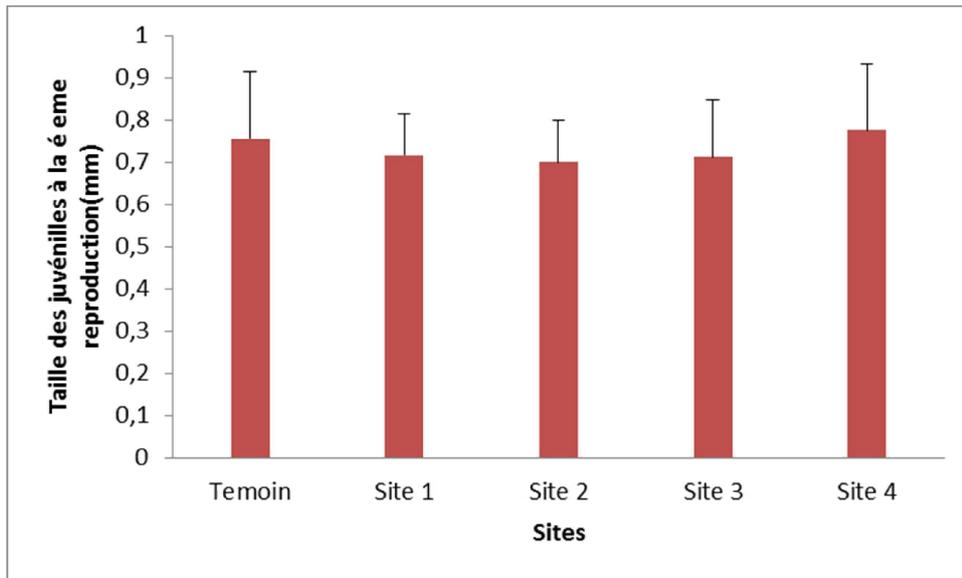


Figure 20: Variation de la taille des juvéniles à la deuxième reproduction dans les différents sites .

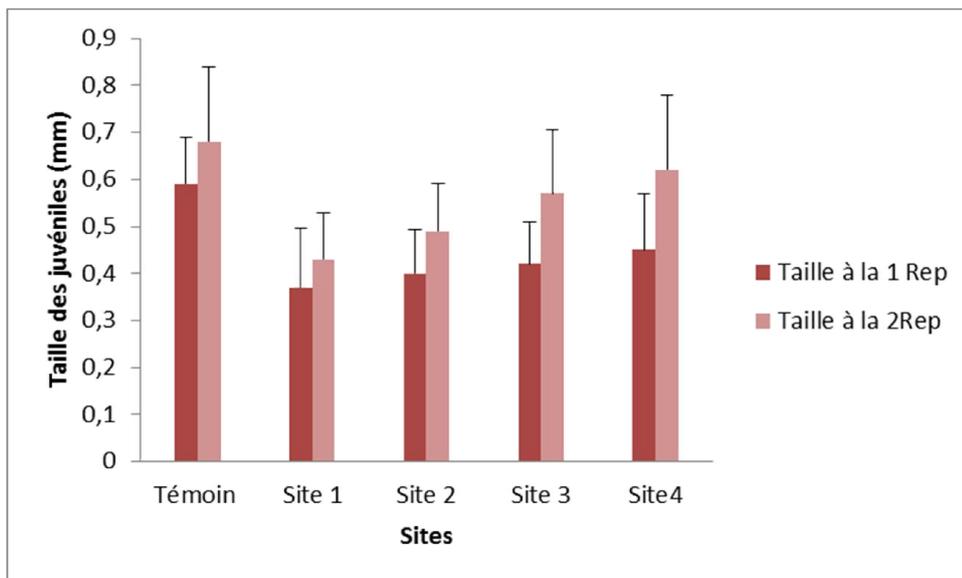


Figure 21: Variation de la taille des juvéniles à la première et à la deuxième reproduction dans les différents sites.

La taille des juvéniles dans la deuxième reproduction est supérieure à celle de la première dans les différents sites.

4.1.12. Le sexe ratio :

Tableau 2: Embryotoxicité et pourcentage de males présent dans la descendance des daphnies pendant les 21 jours du test dans les différents sites.

	Malformation %	Male %
Témoin	00	00
Site 1	1	2
Site 2	00	1,94
Site 3	00	00
Site 4	00	00

D'après les résultats du tableau 2 on constate la présence de malformation de 1% du nombre total de descendants dans le site 1 qui consistent en un courbement de l'épine apicale et un sous-développement des antennes. Aucune malformation n'est observée pour le témoin et les autres sites. Il y'a présence de mâles dans les sites 1 et 2. Le pourcentage des mâles atteint 2% dans la descendance. Cependant, chez les témoins et le site 3 et 4, seulement les femelles sont produites.

4.2. Discussion :

Lorsque des organismes vivants sont soumis à des fluctuations dans leur environnement, ils subissent un stress intense, provoquant une batterie de réponses, via l'activation d'une cascade de mécanismes de détoxification, afin de survivre ou de s'acclimater a ce changement (Lagadic et al, 1997). L'utilisation de bio marqueurs pertinents peut s'avérer très utile pour déterminer des réponses biologiques à des expositions proches des concentrations environnementales.

Tel est le cas pour cette étude qui vise à la détermination de la toxicité des effluents pharmaceutiques sur les traits d'histoire de vie chez la daphnie. Les résultats obtenus dans les différents bio-essais en utilisant *Daphnia magna*, montre que :

La taille des femelles à la 1^{ère} reproduction est légèrement affectée dans les sites 1, 3 et 4, alors que la réduction est effectivement observable dans le site 2, la diminution de la taille est la conséquence de l'accélération de la maturité. Ceci rejoint les travaux de Lampert et Wolf (1986), Touati et Samraoui (2002), Chakri (2007) et Manar (2008).

La taille des juvéniles à la 1^{er} reproduction est réduite dans les différents sites. Sous l'effet de la pression exercée sur les individus, l'accélération de la maturité tout en diminuant la taille devient un avantage pour *Daphnia* qui se reproduit alors avant d'atteindre la taille ou elle devient plus vulnérable aussi pour les prédateurs. Donc la diminution de la taille est une réponse adaptative de l'histoire de vie de *Daphnia magna* lui permettant la survie en présence de substances toxiques dans les effluents pharmaceutiques. Aussi on note que la taille des juvéniles dans la deuxième reproduction est supérieure à celle de la première dans les différents sites.

La longévité ou la durée de vie est sensiblement réduite dans les sites 2, 3 et 4 alors que la réduction est effectivement observable dans le site 1 par rapport au témoin. Cela est due à la toxicité des effluents pharmaceutiques de plus la pollution de ces eaux par les contaminants d'origine domestiques et industrielles. (Bougueffa et Boutalbi, 2008 ; Kortez et al, 2008 ; Benghorieb et Siline, 2012).

L'intervalle de ponte se situe entre 6 à 7 jours. Cet intervalle est élevé par rapport aux travaux de Touati et Samraoui (2002) et Chakri (2007) où il n'est que de l'ordre de 2-4 jours. Cette augmentation de l'intervalle pourrait être due soit à :

- La toxicité intrinsèque de l'effluent sur la fonction de reproduction en tant que perturbateur endocrinien.
- L'épuisement de l'organisme dans les mécanismes de détoxification suite aux quels les daphnies se focalisent plutôt sur la conservation de leur intégrité que sur la fonction de reproduction.

Dés résultats portant sur l'effet des effluents hospitaliers sur *Daphnia magna* et dont l'ensemble de ces eaux est rejeté dans l'Oued Rhumel a montré un intervalle de ponte proche du notre (6-7jours) (Bouras,2014).

L'âge à la maturité moyen est réduit au niveau différents sites étudiés par rapport au témoin. Ces résultats sont entièrement similaires à ceux de Touati & Samraoui (2002), Chakri (2007), Bougueffa & Boutalbi (2008), Benghorieb & Siline (2012).

L'âge moyen des juvéniles à la première ponte est légèrement réduit dans les différents sites étudiés par rapport à celui du témoin. Les individus arrivent rapidement à la maturation et

donne aussi leur première descendance. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Touati & Samraoui (2002), Chakri(2007).

La grandeur de ponte moyenne est faible au niveau des différents sites par rapport au témoin Ceci pourrait être du à l'eutrophisation des effluents par des matières organiques.

Le nombre de ponte moyen par femelle est un peu élevée chez les daphnies traitées avec de l'eau des effluents comparativement avec le témoin. Cela s'expliquerait par le fait que les daphnies semblent trouver un milieu meilleur pour leur croissance et développement. Ceci rejoint les travaux de Touati & Samraoui (2002) et Chakri (2007) sur l'écologie de *Daphnia chevreuxi* et Chakri (2007) sur *Daphnia magna*.

La taille des femelles et des juvéniles à la deuxième reproduction est supérieure à celle de la première (Touati & Samraoui, 2002 ; Chakri, 2007).

La diminution du nombre des descendants dans les sites 1, 2,3 et 4 par rapport au témoin, peut être liée à la contamination de ces sites (effluents pharmaceutiques, domestique et industriel ...).

Des malformations ont été observées chez les nouveaux nés au premier site. Elles consistent en un courbement plus au moins important de l'épine apicale et un sous-développement des antennes. Elles concernent 1% du nombre total de juvéniles. Chez le témoin et les autres sites, aucune malformation n'a été observée. Les effluents pharmaceutiques induit également la présence de mâles dans le site 1 et 2. Le pourcentage des mâles atteint 2% dans la descendance. Cependant, chez les témoins et le site 3 et 4, seulement les femelles sont produites.

Nos observations sur les malformations des nouveaux nés et l'apparition des mâles lors de l'exposition des daphnies au eaux d'effluents pendant la reproduction, laisse suspecter un mécanisme de perturbation endocrinienne des effluents pharmaceutique qui reste à vérifier.

Enfin, nous pouvons dire que l'utilisation d'un bio indicateur comme *Daphnia magna*, nous a permis la mise en évidence de l'effet des effluents sur les paramètres de cycle de vie cités au préalable, afin de connaitre les perturbation survenus enregistrées par ce bio marqueur sentinelle et qui ouvre les perspectives dans la gestion et la bio surveillance des zones humides en déclenchant le signal d'alarme .

Ce présent travail mérite d'être approfondi et un suivi à long terme dans le but d'évaluer ces marqueurs biologiques de nos zones humides et la conservation de la biodiversité.

Conclusion

Conclusion :

Très peu de données sont disponibles actuellement sur l'impact des résidus de médicaments ou de leurs métabolites sur l'environnement. Une multitude de préparations chimiques sont rejetées dans l'environnement et se déversent ainsi dans les eaux de surface ou la mer. Certaines de ces molécules seraient suspectées d'exercer des effets sur l'équilibre des écosystèmes aquatique par une exposition prolongée à de faibles concentrations.

Les résultats obtenus à travers les bio-essais sur *D. magna* (bio indicateur) ; révèlent l'effet des effluents pharmaceutiques sur les traits de son cycle de vie. La réduction de la taille des femelles adultes à la première reproduction a été enregistrée dans le site 2, la taille des juvéniles est affectée dans les différents sites d'étude, L'âge à la maturité et à la première reproduction est réduit, l'élévation du nombre de ponte et la réduction consécutive de la grandeur de ponte et le nombre de descendants, l'intervalle de ponte qui est raccourci. Aussi que la réduction significative de la longévité observée dans le site 1.

Egalement, on peut signaler que la taille des femelles et des juvéniles à la deuxième reproduction est respectivement supérieure à celle de la première ponte. Notons aussi la présence de males et de malformations dans le site 1 et 2. Ces éléments nous ont permis d'identifier le mode d'action des effluents pharmaceutiques sur les paramètres de cycles de vie de *Daphnia magna*.

Enfin, au terme de cette étude, nous fixons les perspectives suivantes :

- Il serait intéressant de cibler ces substances.
- D'étudier l'effet de ces xénobiotiques in vitro et suivre le devenir de ces molécules dans les écosystèmes aquatiques.

Références Bibliographiques

Référence bibliographique :

Afri-Mehennaoui, F.Z., 2006. Evaluation de la contamination par métaux lourds de différent compartiment d'un écosystème aquatique (eau, sédiments, faune macro invertébrée, macrophyte) de l'Oued Rhumel et son affluent l'Oued Boumerzoug en zone urbaine (Constantine). Université Mentouri, Constantine.

Amoros, C., 1984. Crustacés cladocères. Associations Française de Limnologie.

Andreozzi, R., Raffaele, M., Nicklas, P., 2003. Pharmaceuticals in STP effluents and their Solar photo degradation in aquatic environment. Chemosphere 50, 1319-1330.

ANP (Académie nationale de pharmacie), 2008. Médicaments et Environnement. Paris.

ASTM (American Society for Testing and Materials), 2004. Standard guide for conducting *Daphnia magna* Life Cycle Toxicity Tests, p.1193-1197.

BOCALY, M., 2010. Impacts des substances pharmaceutiques sur l'eau et les milieux aquatiques. Synthèse documentaire.

Boreen, A. L., Arnold, W. A., ET McNeill, K., 2003. Photo degradation of pharmaceuticals in the aquatic environment : A review. Aquatic Sciences 65, 320-341.

Bougueffa, F., et Boutalbi, K., 2008. Etude écologique de l'effet des effluents hospitaliers sur *Daphnia magna*. Mémoire d'ingénieur. Université 08 Mai 1945 de Guelma.

Boulassel, A., 2014. Evaluation de la toxicité de deux médicaments : le Paracétamol et l'Ibuprofène, sur un modèle cellulaire : *Paramecium tetraurelia*. Essai à l'échelle subcellulaire. Thèse de Doctorat LMD en toxicologie. Université Badji Mokhtar- Annaba.

Bouras, A., 2014. Contribution à l'étude de l'effet des effluents hospitaliers sur les paramètres de cycles de *Daphnia magna*. Mémoire Master en Pollution et éco toxicologie. Université Constantine 1.

Bradley, P. M., Barber L. B., Kolpin, D. W., McMahon, P. B., ET Chapelle, F. H., 2007. Biotransformation of caffeine, cotinine, and nicotine in stream sediments: Implications for use as wastewater indicators. Journal Article, Environmental Toxicology and Chemistry 26, 1116-1121.

BREGAND, M.C., JAMES, A., MUNSHY, C., BOCQUENÉ, G., 2009. Contamination des milieux aquatiques par les substances pharmaceutiques et cosmétiques.

Buser, H.R., Poiger, T., Muller, M., 1999. Occurrence and environmental behavior of chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and wastewater. *Environmental Science & Technology*. 33(15), 2529-2535.

Carrara, C., Ptacek, C. J., Robertson, W. D., Blowes, D. W., Moncur, M. C., Sverko, E., ET Backus, S., 2008. Fate of pharmaceutical and trace organic compounds in three septic system plumes. *Environmental Science and Technology, Ontario, Canada* 42, 2805-2811.

Chakri, K., 2007. Contribution à l'étude écologie de *Daphnia magna* (Branchiopoda : Anomopoda) dans la Numidie, et inventaire des grands Branchiopodes en Algérie. Thèse de doctorat d'état en Biologie animale. Université Badji Mokhtar- Annaba.

Daughton, C.G., Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment : agents of subtle change *Environ* 107, 907-938.

Ebert, D., 1993. The trade-off between offspring size and number in *Daphnia magna* : the influence of genetic, environmental and maternal effects, *Archiv für Hydrobiologie*, 90, p.453-473.

Ebert, D., 2005. Ecology, Epidemiology and Evolution of Parasitism in *Daphnia*. National Center for Biotechnology Information.

Fairgrieve, W. T., Masada, C. L., Peterson, and M. E., McAuley, W. C., McDowell, G. C., ET Strom, M. S., 2006. Concentrations of erythromycin and azithromycin in mature Chinook Salmon *Oncorhynchus tshawytscha* after intraperitoneal injection, and in their progeny. *Revue, Diseases of Aquatic Organisms* 68, 227-234.

Garric, J., et Ferrari, B., 2005. Les substances pharmaceutiques dans les milieux aquatiques.

Garric, J., Ferrari, B., Fraysse, B., Mons, R., et Vollat, B., 2006. Impact de médicaments à usage humain sur les Organismes aquatiques d'eau douce. *Environnements, Risques et Santé* 5 (4):290-295.

Gros, M., Pizzolato, T.M., Petrović, M., de Alda, M.J.L., Barceló, D., 2008. Trace level determination of β -blockers in waste waters by highly selective molecularly imprinted polymers extraction followed by liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap

massspectrometry. Journal of Chromatography A1189 (1-2):374-384. Toxicology Letters, vol. 131, no 1-2, p. 5-179.

Heberer, T., 2002. Occurrence, fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment.

Hignite, C., ET Aznaroff, D.L., 1977. Drugs and drugs metabolites as environmental contaminants : chlorophenoxyisobutirate and salicylic acid in sewage effluent. Life Sciences.

Hirsch, R. Ternes, T. Haberer, K., ET Kratz, K.L., 1999. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. The Science of the Total Environment, vol. 225, no 1-2, p. 109-118.

Isidori, M. Lavorgna, M. Nardelli, A. Pascarella, L., et Parrella, A., 2005. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. Science of the Total Environment346, 87-98.

ISO (International Organisation for Standardization), 1996. Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Strauss (Cladocera, Crutacea), NF EN ISO 6341.

Joss, A. Keller, E. Alder, A., C Göbel, A. McArdell, C.S Ternes, T., et Siegrist, H., 2005. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment.

Kast-Hutcheson, K Rider, C.V LeBlanc, G. A., 2001. The fungicide propiconazole interferences with embryonic development of the crustacean *Daphnia magna*.

Korzet, W. Guebailia, W. Et Bedboudi, N., 2008. L'utilisation de *Daphnia magna* comme bio indicateur de la qualité d'Oued Seybouse. Mémoire d'ingénieur en Ecologie et Environnement. Université 08 Mai 1945-Guelma, Guelma.

Lam, M.W., Mabury, S.A., 2005. Photo degradation of the pharmaceuticals atorvastatin, carbamazepine, levofloxacin, and sulfamethoxazole in natural waters. Aquatic Sciences - Research A cross Boundaries.

Lampert, W., 1987. Feeding nutrition in *Daphnia*.

Lin, A.Y.C., ET Reinhard, M., 2005. Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water. Environmental Toxicology and Chemistry24, 1303-1309.

- Manar, R., 2008.** Effets populationnels du chlordane sur les microorganismes crustacés cladocères *Daphnia* sp dans une perspective d'évaluation des risqué Thèse de doctorat en Toxicologie de l'environnement. Université Hassan II, Mohammedia, Maroc.
- Maskaoui, K., Hibberd, A., et al., 2007.** Assessment of the interaction between aquatic colloids and pharmaceuticals facilitated by cross-flow ultrafiltration.
- Massarin, S., 2010.** Etude des effets de l'uranium sur le budget énergétique et la dynamique de population de *Daphnia magna*. Thèse de doctorat en Océanographie. Université d'Aix-Marseille II, Marseille.
- Miège, C., Favier, M., Brosse, C., Canler, J.P., Coquery, and M., 2006.** Occurrence of beta blockers in effluents of wastewater treatment plants from the Lyon area and risk assessment for the downstream rivers. Talanta.
- OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques), 2004.** *Daphnia* sp. Acute immobilisation test. Guide lines for testing for chemicals.
- OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques), 2008.** *Daphnia magna* acute immobilization test and reproduction test. Guidelines for testing for chemicals.
- OIE, 2000.** Les substances médicamenteuses rejetées dans les eaux usées urbains. Synthèse bibliographique.
- Pépin, J.M., 2006.** Impacts éco toxicologiques de certains médicaments dans l'environnement.
- Ra, J.S., Oh, S.Y., Lee, B.C., ET Kim, S.D., 2008.** the effect of suspended particles coated by humic acid on the toxicity of pharmaceuticals, estrogens, and phenolic compounds. Environment International34, 184-192.
- Roig, B., 2008.** Knappe: présentation andsynthesis. Bruxelles. Commission Européenne, 45 p.
- Steger-Hartmann, T., Kümmerer, K., ET Hartmann, A., 1997.** Biological degradation of cyclophosphamide and its occurrence in sewage Water. Ecotoxicology and environmental safety.

Ternes, T.A., 1998. Occurrence of drugs I german sewage treatment plants and river. Water Research 32, 3245-3260.

Ternes, T., Bonerz, M., ET Schmidt, T., 2001. Determination of neutral pharmaceuticals in Waste water and rivers by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A 938(1/2):175–185.

Tixier, C., Singer, H., Oellers, S., ET Muller, S., 2003. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen and naproxen in surface waters. Environment Science Technology.

Touati, L., & Samraoui, B., 2002. The ecologie of *Daphnia chevreuxi* Richard in Bortheast Algeria (Custacea: Anomopoda).

Touati, L., 2008. Distribution spatio-temporelle des Genres *Daphnia* et *Simocephalus* dans les mares temporaires de la Numidie. Mémoire de Magister en Ecologie et Génie de l’environnement. Université 8 Mai 1945-Guelma, Guelma.

Toumi, H., 2013. Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) : apport de la protéomique dans la recherche de nouvelles cibles cellulaires. Thèse de Doctorat en Eco toxicologie, Biodiversité, Ecosystèmes. Université de Carthage, Tunis.

Zouaidia, H., 2006. Bilan des incendies de forets dans l’est Algérien. Thèse de Magister en Ecologie végétale. Université Mentouri-Constantine, Constantine.

Zuccato, E., Calamari, D., Natangelo, M., ET Fanelli, R., 2000. Presence of therapeutic drugs in the environment.

Résumé :

Les substances chimiques rejetées par l'industrie pharmaceutique, sont pour une part importante retrouvées dans les effluents liquides .Ce type d'évacuation présente un éventuel risque pour les espèces et leur écosystème.

Cette étude a permis de montrer qu'il est possible d'évaluer les risques écotoxicologique du rejet des effluents pharmaceutiques à l'aide de bio-essais normalisés, l'utilisation de *Daphnia magna* comme bio-indicateur pour évaluer l'effet des effluents sur les paramètres de cycle de vie. Les résultats ont montré une réduction dans la taille des femelles à la première ponte, la longévité, l'âge à la maturité et la grandeur de ponte. Cependant, la taille des femelles et des juvéniles à la deuxième reproduction et respectivement supérieur à celle de la 1ere ponte.

On note aussi la présence de malformation et de males dans la descendance.

Mots clés : Effluents pharmaceutiques, *Daphnia magna*, bio-indicateur, risque éco toxicologique, paramètres de cycle de vie.

ملخص :

ان المواد الكيميائية الناتجة عن الصناعات الصيدلانية، توجد بكمية معتبرة في مجاري الصرف الصحي. وتمثل هذه الصناعات الصيدلانية خطرا كبيرا بالنسبة للكائنات الحية والمحيط.

ومن خلال هذه الدراسة، تم تقييم مخاطر التسمم البيئي للمواد الصيدلانية بواسطة تجارب مخبرية نظامية و باستعمال برغوت الماء كمؤشر حيوي. أفضت التجارب الى تناقص في طول الاناث في الولادة الاولى، طول العمر، عمر النضوج وحجم التفريغ. كما لاحظنا ان طول الاناث والصغار عند الولادة الثانية على التوالي اكبر من الاولى .

كما تم ملاحظة وجود الذكور وتشوهات عند الصغار.

الكلمات المفتاحية : المجاري الصيدلانية، برغوت الماء، مؤشر حيوي، مخاطر التسمم البيئي، دورة الحياة.

Abstract:

The chemicals released by pharmaceutical industry are for an important part found in liquid effluents. This type of disposal presents a potential risk to the species and their ecosystems.

This study has shown that it is possible to roughly assess the ecotoxicological risks of pharmaceutical effluents using standardized bioassays using *Daphnia magna* as a bio-indicator to assess the effect of effluent on the parameters of their life cycle. The results showed a reduction in the size of females at first reproduction, longevity, age of maturity and brood size. However, female size and neonates in the second brood and respectively higher than the first reproduction.

Also we observed the presence of males and developmentally abnormal in the neonates.

Key words: Pharmaceutical effluents, *Daphnia magna*, bio-indicator, ecotoxicological risks, life cycle.

Annexe

Tableau 1: Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'effet de l'effluent de site 1 sur les paramètres de cycle vie de *Daphnia magna*.

Les paramètres	DDI	Fobs	Pr>F
Taille des femelles à la première ponte	4	2,5375	>0,05
Taille des juvéniles à la première ponte	3	1,5600	>0,05
Longévité	6	36,5286	<0,05
Intervalle de ponte	5	0,3997	>0,05
Age à la maturité	2	0,6250	>0,05
Age à la première ponte	3	1,2400	>0,05
Grandeur de ponte	7	0,0629	>0,05
Nombre de ponte/femelle	3	0,6143	>0,05
Nombre de descendants par mère	6	5,7032	>0,05
Taille des femelles à la deuxième ponte	4	0,5799	>0,05
Taille des juvéniles à la deuxième ponte	3	0,3316	>0,05

P= probabilité que l'hypothèse nulle égale à zéro ; DDL : degré de liberté ; Fobs=Cma/Cmr

Tableau 2: Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'effet de l'effluent de site 2 sur les paramètres de cycle vie de *Daphnia magna*.

Les paramètres	DDI	Fobs	Pr>F
Taille des femelles à la première ponte	3	0,3308	>0,05
Taille des juvéniles à la première ponte	3	0,9667	>0,05
Longévité	6	0,2121	>0,05
Intervalle de ponte	6	0,1047	>0,05
Age à la maturité	1	0,0000	>0,05
Age à la première ponte	2	0,8615	>0,05
Grandeur de ponte	5	0,1454	>0,05
Nombre de ponte/femelle	4	0,1364	>0,05
Nombre de descendants par mère	3	0,8809	>0,05
Taille des femelles à la deuxième ponte	4	0,6931	>0,05
Taille des juvéniles à la deuxième ponte	3	1,8357	>0,05

P= probabilité que l'hypothèse nulle égale à zéro ; DDL : degré de liberté ; Fobs=Cma/Cmr

Tableau 3: Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'effet de l'effluent de site 3 sur les paramètres de cycle vie de *Daphnia magna*.

Les paramètres	DDI	Fobs	Pr>F
Taille des femelles à la première ponte	4	0,9779	>0,05
Taille des juvéniles à la première ponte	3	3,0857	>0,05
Longévité	5	0,4343	>0,05
Intervalle de ponte	5	4,5239	>0,05
Age à la maturité	3	0,8700	>0,05
Age à la première ponte	3	0,3824	>0,05
Grandeur de ponte	7	2,4554	>0,05
Nombre de ponte/femelle	2	2,0696	>0,05
Nombre de descendants par mère	6	0,4290	>0,05
Taille des femelles à la deuxième ponte	3	1,1844	>0,05
Taille des juvéniles à la deuxième ponte	4	3,9636	>0,05

P= probabilité que l'hypothèse nulle égale à zéro ; DDL : degré de liberté ; Fobs=Cma/Cmr

Tableau 4: Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'effet de l'effluent de site 4 sur les paramètres de cycle vie de *Daphnia magna*.

Les paramètres	DDI	Fobs	Pr>F
Taille des femelles à la première ponte	4	1,1935	>0,05
Taille des juvéniles à la première ponte	4	0,9032	>0,05
Longévité	5	0,1701	>0,05
Intervalle de ponte	6	0,1901	>0,05
Age à la maturité	3	0,3917	>0,05
Age à la première ponte	2	0,2969	>0,05
Grandeur de ponte	6	0,1167	>0,05
Nombre de ponte/femelle	3	0,2875	>0,05
Nombre de descendants par mère	5	1,2931	>0,05
Taille des femelles à la deuxième ponte	5	0,4652	>0,05
Taille des juvéniles à la deuxième ponte	4	1,0449	>0,05

P= probabilité que l'hypothèse nulle égale à zéro ; DDL : degré de liberté ; Fobs=Cma/Cmr

Nom : Bouguebina et Prénom : Zineb

Mémoire pour l'obtention du diplôme de : Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Ecologie Végétale

Option : Pollution des écosystèmes et Eco toxicologie

Thème : Contribution à l'étude de l'impact des rejets des effluents pharmaceutiques sur un cladocère *Daphnia magna*.

Résumé :

Les substances chimiques rejetées par l'industrie pharmaceutique, sont pour une part importante retrouvées dans les effluents liquides. Ce type d'évacuation présente un éventuel risque pour les espèces et leur écosystème.

Cette étude a permis de montrer qu'il est possible d'évaluer les risques éco toxicologiques du rejet des effluents pharmaceutiques à l'aide de bio-essais normalisés, l'utilisation de *Daphnia magna* comme bio-indicateur pour évaluer l'effet des effluents sur les paramètres de cycle de vie. Les résultats ont montré une réduction dans la taille des femelles à la première ponte, la longévité, l'âge à la maturité et la grandeur de ponte. Cependant, la taille des femelles et des juvéniles à la deuxième reproduction et respectivement supérieur à celle de la 1ere ponte.

On note aussi la présence de malformation et de males dans la descendance.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Afri-Mehennaoui F-Z (MCA - UFM Constantine).

Rapporteur : Touati Laid (MCB - UFM Constantine).

Examineurs : Zaimèche Saida (MAT- UFM Constantine).

Année universitaire : 2014/2015

