



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 العلوم الطبيعية و الحياة

Département : Biologie et écologie végétale.

قسم : بيولوجيا و ايكولوجيا 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 écosystèmes et protection de l'environnement

Option : Pollution des écosystèmes et Ecotoxicologie

Intitulé :

**Écotoxicité d'un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien,
ibuprofène, sur un organisme aquatique *Daphnia magna*.**

Présenté et soutenu par : BENMATI Hadjer

Le : 28/06/2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : AFRI-MEHENNAOUI Fatima Zohra (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : TOUATI Laïd (MCA - UFM Constantine).

Examineurs : ZAIMECHE Saïda (MCB - UFM Constantine).

*Année universitaire
2016 - 2017*

Dédicaces

A mes parents à qui je dois tout.

A mes frères et sœurs.

A mes copines et ami(e)s.

A ceux qui m'ont aidé.

A mes professeurs au cours de ces années d'études.

A tous ceux qui croient en moi.

A tous les collègues de ma promotion avec lesquelles j'ai passé d'agréables moments.

Enfin merci à tous mes proches de m'avoir soutenue et encouragée tout au long de ce travail.

Remerciements

A l'issue de ce travail, Je tiens en premier lieu à remercier les membres du jury. Je remercie particulièrement Monsieur Touati Laid, (MCA-UFM Constantine). Pour avoir dirigé avec beaucoup d'attention et de soin ce mémoire, je lui suis très reconnaissante pour son soutien permanent, et d'avoir prêté un intérêt constant au sujet du mémoire.

Je tiens également à adresser mes remerciements à Madame Afri-Mehennaoui F.Z, (MCA-UFM Constantine). Qui m'a honoré de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie également Madame Zaimèche Saida, (MCB-UFM Constantine), pour avoir accepté d'examiner avec beaucoup d'intérêts ce travail et participer au jury du mémoire.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taux d'excrétion humaine et animale des médicaments considérés (Pépin, 2007)	4
Tableau 2 : Pourcentage d'élimination des composés pharmaceutiques sélectionnés dans les stations d'épuration(Bazard, 2011)	6
Tableau 3 : Demi-vie des trois médicaments dans l'environnement(Bazard, 2011)	7
Tableau 4 : Consommation annuelle des médicaments considérés dans divers pays (Pépin, 2007)	7
Tableau 5 : Liste des matériels et les produits chimiques utilisés dans la préparation du milieu de culture	18
Tableau 6 : Liste des verreries et les produits utilisés dans les essais	20
Annexe : Tableau 1 : Test d'ANOVA à un facteur	
Annexe : Tableau 2 : Tests post hoc	

Liste des figures

Figure 1 : Principale source de rejets des médicaments concernés dans l'environnement. (Diaz-Cruz et al., 2003)	4
Figure 2 : <i>Daphnia magna</i> . (Massarin, 2010)	10
Figure 3 : a. Photo de <i>Daphnia magna</i> , femelle adulte. b. Anatomie de <i>Daphnia</i> . (D'après Ebert D, 2005)	11
Figure 4 : Photos des différents stades de développement embryonnaire chez <i>Daphnia magna</i> . (d'après Kast Hutchesonet al., 2001)	13
Figure 5 : Cycle de vie de <i>Daphnia magna</i> . (d'après Ebert D, 2005)	14
Figure 6 : Femelle de <i>D.magna</i> (A) et mâle de <i>D.magna</i> (B). (d'après Olmstead et LeBlanc, 2003)	14
Figure 7 : Un œuf de résistance (Ehippia) (Manar, 2008)	15
Figure 8 : Préparation du milieu de culture	19
Figure 9 : Ajustement de pH du milieu de culture	19
Figure 10 : Préparation des tubes pour l'utilisation	21
Figure 11 : L'alimentation des individus par les gouttes de spinard	21
Figure 12: Variation de la longévité dans les différentes concentrations ($P>0,05$)	23
Figure 13: Variation de la taille chez les femelles adultes à la première reproduction dans les différentes concentrations ($P<0,01$)	24
Figure 14: Variation dans l'âge de maturation ($p>0.05$) et l'âge de la première ponte ($p<0.05$) et la deuxième ponte ($p>0.05$)	24
Figure 15 : Nombre de descendants par femelles aux différentes concentrations ($P<0,001$).....	25
Figure 16 : Nombre de ponte par femelle ($P<0,01$)	25
Figure 17: Intervalle de ponte par femelle aux différentes concentrations ($p >0.05$)..	26
Figure 18 : Variation de taux de croissance spécifique dans les différentes concentrations ($P<0,05$)	26
Figure 19 : Taux de survie des femelles adultes durant le test	27
Figure 20 : Variation de l'indice PRG aux différentes concentrations	27
Figure 21 : Taux de mortalité aux différentes concentrations ($p<0.05$)	28

Liste des abréviations

ADME : Un sigle désignant quatre processus en pharmacocinétique : absorption, distribution, métabolisme et excrétion.

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

AINS : Un anti-inflammatoire non stéroïdien qui ne contient pas de dérivé corticoïdien (cortisone).

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

BIAM : Banque d'informations automatisées sur les médicaments.

CaSO₄ : Sulfate de calcium ou de gypse calciné.

CE : Carapace edge.

CIRSEE : Centre International de Recherche Sur l'Eau et l'Environnement.

CL50 : Concentration létale qui affect 50% de la population exposé au polluant.

CMEO : Concentration minimale avec effet observé.

FA : First Antennae.

IB : Ibuprofène.

ISO : Organisation International de Normalisation.

KCl : Chlorure de potassium.

Kow : Coefficient de partage octanol/eau.

mg : Milligramme.

mg/l : Milligramme par litre.

MgSO₄ : Sulfate de magnésium.

NaHCO₃ : Bicarbonate de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

ng : Nano gramme.

OCDE : Organisation for Economic Cooperation and Developpement.

PGR : Population growth rate.

pH : Potentiel hydrogène.

pKa : L'indication de la « constante d'acidité.

PPCPs : Pharmaceuticals and Personal Care Products.

q.s.p : Quantité suffisante pour.

TCS : Taux de croissance spécifique.

ug : Microgramme.

US EPA : United States Environmental Protection Agency.

Table des matières

Dédicaces	i
Remerciements	ii
Liste des tableaux	iii
Liste des figures	iv
Liste des abréviations	v
Introduction	1
Chapitre I. Synthèse bibliographique	
1. les rejets médicamenteux	3
1.1. Les sources de rejet dans l'environnement	3
1.1.1. Sources municipales	4
1.1.2. Sources agricoles	5
1.1.3. Sources aquacoles	5
1.2. L'élimination des composés pharmaceutiques	5
1.3. Devenir et dégradation dans l'environnement	6
1.4. L'ibuprofène	7
1.4.1. Pharmacocinétique	8
1.4.1.1. Absorption	8
1.4.1.2. Distribution	8
1.4.1.3. Métabolisation	8
1.4.1.4. Élimination	8
1.4.2. Devenir et dégradation de l'ibuprofène dans l'environnement	9
1.4.2.1. Devenir et dégradation dans l'eau	9
1.4.2.2. Devenir et dégradation dans les sols	9
1.4.3. La toxicité chez les organismes	9
1.4.3.1. Toxicités létales	9
1.4.3.2. Toxicités sublétales	10
2. La biologie de la <i>Daphnia magna</i>	10
2.1. Description de <i>Daphnia magna</i>	10
2.2. Classification	11
2.3. Morphologie	11
2.4. Développement	12
2.5. Alimentation	13

2.6. Ecologie générale	13
2.7. Intérêt écotoxicologique	15
Chapitre II. Matériel et méthodes	
3.1. Substance d'essai	17
3.1.1. Composition par comprimé pelliculé de XYDOL 200	17
3.2. Matériel biologique	17
3.3. Principe de l'essai	17
3.4. Elevage et culture	18
3.4.1. Préparation de nourriture	18
3.4.1.1. L'eau de pignard	18
3.4.1.2. La levure	18
3.5. Préparation de milieu de culture	18
3.6. Mode opératoire ou les essais	20
3.6.1. Les paramètres suivis au cours de cette étude	21
3.7. Les analyses statistiques	22
Chapitre III. Résultats et discussion	
4.1. L'effet de différentes concentrations de Ibuprofène sur la survie, la croissance et la reproduction de <i>Daphnia magna</i>	23
4.1.1. La longévité	23
4.1.2. La taille des femelles adultes à la première reproduction	23
4.1.3. Variation d'âge de maturation et d'âge de la première et la deuxième ponte.	24
4.1.4. Nombre de descendants par femelles	25
4.1.5. Nombre de ponte par femelle	25
4.1.6. L'intervalle de ponte par femelle	26
4.1.7. Taux de croissance spécifique (TCS)	26
4.1.8. La survie	27
4.1.9. La PRG (taux de croissance de la population)	27
4.1.10. Effet d'Ibuprofène sur la mortalité des daphnies	28
4.2. Discussion	28
Conclusion	32
Références Bibliographiques	34
Annexe	
Résumé	

Abstract

Introduction

Introduction

L'Algérie comme d'autres pays connaît un développement dans le monde pharmaceutique et par conséquent une augmentation de la consommation des médicaments. Ainsi, l'utilisation croissante et la disposition inadéquate de ces derniers engendrent des apports continus conduisant à leur présence et persistance dans les milieux écologiques terrestres et aquatiques (Golet et *al.*, 2003), plusieurs questions se posent quant à un possible impact environnemental sur la faune et la flore surtout qu'ils sont fabriqués et administrés dans le but de provoquer un effet biologique (Zuccato et *al.*, 2000), et leurs caractéristiques sont comparables à celles de nombreuses substances toxiques et xénobiotiques (Van Coillie, 2005). Ceci fait tout récemment l'objet d'une préoccupation majeure et a mené vers des études dans plusieurs pays qui 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). D'où l'importance de ce travail présent qui vise à évaluer la toxicité de l'ibuprofène sur le cycle de vie et la reproduction de *Daphnia magna* suite à une expérience de 14 jours.

L'anti-inflammatoire non stéroïdien IB est un médicament qui appartient à une catégorie de produits très largement utilisés et disponibles sans ordonnance ou sous conseil du pharmacien mais également présent sur de nombreuses prescriptions médicales et caractérisé par une demi-vie qui a été estimée à 32 jours dans l'environnement (Tixier et *al.*, 2003). Cependant, il n'existe pas assez de données publiées sur les effets chroniques de l'ibuprofène sur la *D.magna* ou d'autres espèces d'arthropodes, les quelques études aiguës qui ont été publiées rapportent que la CE50 pour l'immobilité est dans la région de 10-100mg/l (Cleuvers, 2003, 2004; Heckmann et *al.*, 2005; Han et *al.*, 2006).

Toutefois, le but de mon travail consiste à prouver que la présence de ces molécules médicamenteuses précisément l'ibuprofène dans l'environnement peut affecter le cycle de vie des organismes vivants et ainsi perturber les chaînes trophiques voire tout l'écosystème d'où l'importance d'utiliser des daphnies comme un bio-indicateur de cette pollution.

Introduction

La structure du mémoire est comme suit :

- Introduction
- Le premier chapitre présente une étude bibliographique sur les rejets médicamenteux, l'ibuprofène et aussi sur la biologie de *Daphnia magna*
- Le deuxième chapitre est réservé pour la partie matériel et méthodes utilisé dans cette présente étude.
- Un troisième chapitre traite les résultats et leur discussion.
- Enfin une conclusion

Chapitre I
Synthèse bibliographique

1. Les rejets médicamenteux

La présence des composés pharmaceutiques dans l'environnement, sous la forme des principes actifs non modifiés, est connue depuis les premières études sur quelques composés dans les effluents des stations de dépuración (Hignite & Azarnoff, 1977) ou les milieux aquatiques (Richardson & Bowron, 1985). La première étude ciblant une grande variété de composés pharmaceutiques fut celle de Ternes (1998).

En effet ces composés sont nécessairement absorbables, hydrosolubles ou liposolubles et plus ou moins persistantes dans l'organisme afin de produire un effet (Halling-Sorensen et al., 1998). Elles peuvent être éliminées via les urines à plus de 80 % sans transformation (Dorosz, 2008).

Les médicaments sont regroupés sous le sigle PPCPs (ou Pharmaceuticals and Personal Care Products). Ce sigle se réfère à tout produit utilisé par les particuliers pour la santé, pour des raisons cosmétiques ou par l'agro-industrie pour stimuler la croissance ou la santé du bétail. Les PPCPs comprennent une collection variée de milliers de substances chimiques, y compris les médicaments sur ordonnance et en vente libre. Parmi ces produits, les médicaments constituent un groupe important et diversifié de composés organiques utilisés en grande quantité à travers le monde (Kummerer, 2001).

1.1. Les sources de rejet dans l'environnement

La présence de buprofène, de tétracyclines et d'hormones strogènes synthétiques et d'autres médicaments dans l'environnement est occasionnée par les rejets de nombreuses sources diffuses et ponctuelles. Les principales sources environnementales de produits pharmaceutiques sont les effluents d'eaux usées municipales, le lessivage et le ruissellement des terres agricoles ainsi que les activités aquacoles (Brain et al., 2004 ; Thomas et Hilton, 2004).

Ces sources de rejets sont difficiles à quantifier du fait qu'une bonne proportion est diffuse et que peu d'études ont été réalisées à ce sujet. Les études les plus complètes réalisées dans ce domaine concernent les effluents d'eaux usées municipales rejetés dans le milieu aquatique. Les différentes sources ponctuelles et diffuses des médicaments concernés sont schématisées dans la figure 1.

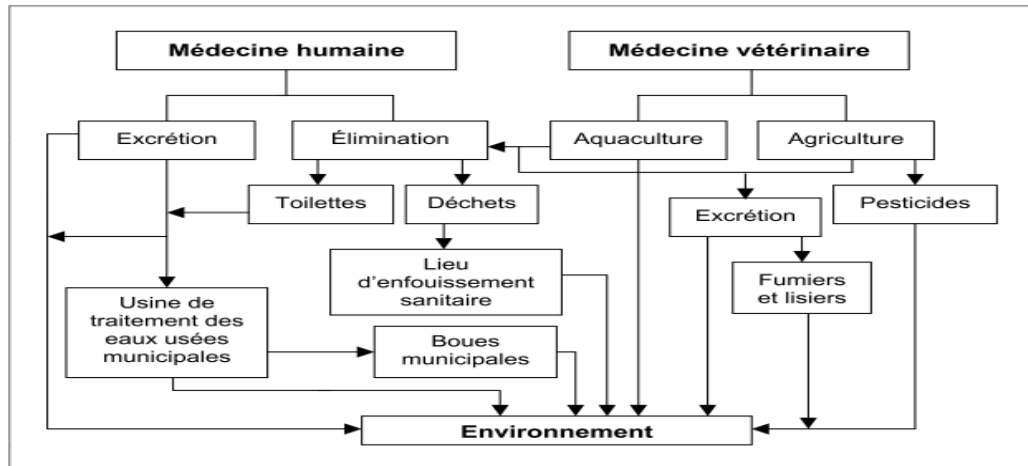


Figure 1 : Principales sources de rejets des médicaments concernés dans l'environnement.(Diaz-Cruz et al., 2003)

1.1.1. Sources municipales

À la suite de leur consommation ou de leur application, les médicaments concernés sont totalement, partiellement ou aucunement métabolisés par l'organisme humain avant d'être excrétés, via l'urine et les fèces, dans un réseau sanitaire municipal (Daughton et Jones-Lepp, 2001). Le tableau 1 présente les données disponibles concernant les taux d'excrétion des médicaments considérés chez l'humain. Les produits médicaux consommés sont évacués avec les eaux usées résidentielles et hospitalières sous forme de métabolites et/ou de produits intacts (Daughton et Jones-Lepp, 2001).

Tableau 1 : Taux d'excrétion humaine et animale des médicaments considérés (Pépin, 2007)

Médicaments		Taux d'excrétion	Références
Ibuprofène		1-8 % (h)	Ternes, 1998 et Jjemba, 2002
		10 % (h)	Calamari et al., 2003 et Zuccato et al., 2005
		15 % (h)	Wiegel et al., 2004
Tétracyclines	Tétracycline	80-90 % (h)	Hirsch et al., 1999
		> 70 % (h)	Jjemba, 2006
	Oxytétracycline	> 80 % (h)	Jjemba, 2002
		20 % (ag)	Delépée et al., 2004 et Rigos et al., 2004
	Chlorotétracycline	> 70 % (h)	Jjemba, 2002
		17-75 % (ag)	Delépée et al., 2004 et Rigos et al., 2004
Hormones oestrogènes	17β-Oestradiol	60-96 % (h)	Huschek et al., 2004
		90% (ag)	Riis et Suresh, 1976
	17α-Éthinyl oestradiol	70-80 % (h)	Okkerman et Groshart, 2001
		50-60 % (h)	Jjemba, 2006
		85 % (h)	Huschek et al., 2004
(h) humaine	(ag) élevages agricoles	(aq) élevages aquacoles	

Une disposition inadéquate des médicaments périmés occasionne également le rejet de ces derniers dans l'environnement. De façon générale, 40 % de ces produits sont éliminés dans les toilettes et lavabos et 70 % sont inclus dans des déchets conventionnels (Bound et *al.*, 2006).

1.1.2. Sources agricoles

En médecine vétérinaire, les antibiotiques tétracyclines et les hormones à strogènes synthétiques sont administrés aux animaux d'élevage agricole sous forme de vaccins ou de nourriture. Tout comme chez l'humain, les animaux excrètent une partie de ces médicaments métabolisés ou non via leurs urines et fèces (Daughton et Ternes, 1999).

1.1.3. Sources aquacoles

Les antibiotiques tétracyclines et les hormones à strogènes synthétiques sont administrés aux élevages aquacoles (algues, poissons, crustacés ou mollusques) sous forme de nutriments alimentaires (Okkerman et Groshart, 2001). La nourriture non consommée, l'excrétion des différents élevages et les effluents aquacoles constituent d'importantes sources diffuses et ponctuelles des médicaments concernés dans l'eau et les sédiments.

1.2. L'élimination des composés pharmaceutiques

Elle dépend des installations des stations de purification. Par exemple entre 14 et 44 % de l'ibuprofène est éliminé lors de la filtration biologique des eaux usées (Tableau 2), alors qu'avec le procédé des boues activées l'élimination se situe entre 80 et 100 % (Kanda et *al.*, 2003). Le devenir de certains composés pharmaceutiques dans les procédés de traitement des eaux urbaines a été examiné dans le projet européen POSEIDON (2001-2004). Il s'agit d'un programme de recherches mené par le CIRSEE (Centre International de Recherche Sur l'Eau et l'Environnement) concernant l'évaluation des technologies de traitement des composés pharmaceutiques et produits d'hygiène dans les eaux usées et potables, car plusieurs facteurs entrent en jeu dans l'efficacité du traitement de dépollution comme le temps de séjour, la biomasse et le type de coulement à l'intérieur de l'installation (Alighardashi et *al.*, 2008). Le temps moyen de transport de l'eau usée depuis les égouts jusqu'aux stations peut intervenir, ainsi que l'activité des bactéries (Johnson et *al.*, 2000), le volume de pluie et la température

aussi (Ternes, 2001). Ainsi, les effluents sortants peuvent contenir des résidus médicamenteux (Daughton et Ternes, 1999).

Tableau 2 : Pourcentage d'élimination des composés pharmaceutiques sélectionnés dans les stations d'épuration (Bazard, 2011)

Médicament	Pourcentage d'élimination par la station d'épuration	Procédé	Source
Ibuprofène	99	Boues activées	Kreuzinger <i>et al.</i> , 2004
	90	Boues activées	Ternes 1998
	80-100	Boues activées	Kenda <i>et al.</i> , 2003
	60-70	Boues activées	Carballa <i>et al.</i> , 2004
	65	Filtre biologique	Rodriguez <i>et al.</i> , 2003
	14-44	Filtre biologique	Kanda <i>et al.</i> , 2003
Carbamazépine	10	Boues activées	Kreuzinger <i>et al.</i> , 2004
	7	Boues activées	Ternes 1998
Ethinyl-estradiol	78	Boues activées	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	64	Filtre biologique	Ternes <i>et al.</i> , 1999

1.3. Devenir et dégradation dans l'environnement

Le devenir des médicaments dans l'eau est en fonction d'une part des caractéristiques physico-chimiques de chaque molécule, comme la solubilité dans l'eau, la constante d'acidité de l'équilibre acido-basique (pKa), la constante de la loi de Henry et le coefficient de partage octanol-eau (Kow). D'autre part le devenir des médicaments est fonction des conditions du milieu. Dans l'eau la température, le pH, la présence de cations, le potentiel d'oxydoréduction, la présence de matières en suspension et de matières organiques entrent en jeu. Notons que les caractéristiques des molécules sont fixes tandis que celles du milieu sont variables. Tout ceci gouverne la stabilité des molécules dans l'environnement (Bazard, 2011).

Le tableau 3 rapporte les demi-vies des médicaments dans l'eau de surface, les sols et les sédiments.

Tableau 3 : Demi-vie des trois médicaments dans l'environnement(Bazard, 2011)

Milieux	Temps de demi-vie		
	Ibuprofène	Carbamazépine	Ethinyl-estradiol
Eaux de surface	1 jour	75 jours	46 jours
	15 jours	63 jours	60 jours
	20 jours	> 100 jours	81 jours
	50 jours		
Sols	30 jours	/	4,5 jours
			60 jours
			120 jours
Sédiments	135 jours	/	240 jours
			540 jours

1.4. Ibuprofène

L'ibuprofène est un produit analgésique et anti-inflammatoire non stéroïdien ou AINS utilisé en médecine humaine pour fluidiser le sang et pour traiter des maux de tête, des douleurs musculaires et menstruelles douloureuses, la fièvre et l'arthrite. L'action de ce médicament provoque l'inhibition de la cyclo-oxygénase et de la synthèse des prostaglandines; ces deux produits de l'organisme humain sont responsables de la douleur et de l'inflammation (BIAM, 2001). Le tableau 4 : présente les données disponibles concernant la consommation annuelle totale d'ibuprofène dans divers pays. Ces données indiquent des consommations variant entre 1,9 et 2 400 tonnes annuellement (Pépin, 2007).

Tableau 4 : Consommation annuelle des médicaments considérés dans divers pays (Pépin, 2007)

Pays	Consommations annuelles (tonnes / an)			
	Ibuprofène	Tétracyclines	Hormones oestrogènes	
			17 α -Éthinyl oestradiol	17 β -Oestradiol
Allemagne (2001)	344,89 ⁽¹⁾	82,36 ⁽⁶⁾	0,05 ⁽⁸⁾ (1997)	---
Australie (1998)	14,2 ⁽¹⁾	---	---	---
Autriche (1997)	6,7 ⁽¹⁾	3,84 ⁽⁶⁾	---	---
Canada (2001)	250 ⁽²⁾	---	0,08 ⁽²⁾	---
Danemark (1997)	33,79 ⁽³⁾	13 ⁽⁷⁾	0,0038 ⁽¹⁾	0,119 ⁽³⁾
États-Unis (2000)	2 300 ⁽⁴⁾	2575 ⁽⁷⁾	---	---
France (1998)	166 ⁽⁵⁾	63,25 ⁽⁶⁾	---	---
Italie (2001)	1,9 ⁽¹⁾	10,87 ⁽⁶⁾	---	---
Royaume-Uni (2000)	162,2 ⁽¹⁾	228 ⁽⁷⁾	0,029 ⁽⁹⁾	---
Suisse (2004)	25,0 ⁽¹⁾	1,0 ⁽⁷⁾ (1997)	---	---

(1) Fent *et al.* (2006) (5) Beausse (2004) (9) Webb (2001)
(2) Metcalfe *et al.* (2004) (6) ESAC (2005)
(3) Stuer-Lauridsen *et al.* (2000) (7) Thiele-Bruhn (2003)
(4) Schwab *et al.* (2005) (8) Ternes (2001)

1.4.1. Pharmacocinétique

La pharmacocinétique d'une molécule renseigne sur son devenir dans l'organisme. On peut distinguer schématiquement quatre étapes dans la pharmacocinétique d'un médicament : l'absorption qui est le passage dans la circulation systémique ; la distribution, fixation plus ou moins forte de la molécule aux protéines plasmatiques ; la métabolisation, transformation du médicament par le système enzymatique de l'organisme et enfin l'élimination. En pharmacocinétique descriptive, on note ce processus « ADME » (Absorption-Distribution-Métabolisation-Elimination). Ces quatre étapes sont précisées ci-dessous (source le site de la BIAM ; Banque d'Informations Automatisée sur les Médicaments).

1.4.1.1. Absorption

Après administration par voie orale d'un comprimé contenant de l'ibuprofène, la concentration sérique maximale est atteinte en 90 minutes environ. L'alimentation peut retarder cette absorption.

1.4.1.2. Distribution

La fixation de l'ibuprofène aux protéines plasmatiques est de 99 %. Cette molécule possède un faible volume de distribution.

1.4.1.3. Métabolisation

L'ibuprofène subit une importante bioconversion. Il est largement métabolisé (90 % de la dose) au niveau hépatique en composés inactifs par hydroxylation ou oxydation puis il y a formation de dérivés conjugués.

1.4.1.4. Elimination

L'élimination est essentiellement urinaire. Elle est totale en 24 heures, à raison de 10% sous forme inchangée et de 90 % sous forme de métabolites inactifs, essentiellement glucuroconjugués (Doros, 2008).

1.4.2. Devenir et dégradation de l'ibuprofène dans l'environnement

1.4.2.1. Devenir et dégradation dans l'eau

L'ibuprofène a une faible solubilité dans l'eau (21 mg/L) (Yalkowsky et Dannenfelser, 1992). Son coefficient de partage octanol-eau est élevé ($K_{ow}=3,97$) (Avdeef et al., 1998). Ainsi il est lipophile. Son pKa est de 4,52 (Rafols et al., 1997), par conséquent dans une eau de pH supérieur à 5 il est sous forme ionique chargé négativement. Il s'agit d'un acide faible.

Malgré son potentiel d'adsorption aux particules solides (Scheytt et al., 2005), la fonction carboxylique de l'ibuprofène limite grandement son adsorption aux matières en suspension dans les eaux naturelles. Ainsi l'adsorption joue un rôle mineur dans l'élimination de l'ibuprofène des eaux naturelles. C'est la biodégradation aérobie et anaérobie par des microorganismes qui semble le principal facteur d'élimination du médicament dans le milieu aquatique (Fent et al., 2006).

1.4.2.2. Devenir et dégradation dans le sol

Le principal facteur de dégradation de l'ibuprofène est la biodégradation par les microorganismes (Boxall et al., 2004).

1.4.3. La toxicité chez les organismes

La toxicité constitue la mesure des effets nocifs d'une substance chez un organisme exposé pendant une période de temps à cette dernière. Dans l'environnement, le caractère toxique d'un médicament est généralement de trois types; il peut causer la mort (toxicité létale), altérer le comportement et la productivité biologique (toxicité sublétale) ou troubler les fonctions génétiques d'un organisme (toxicité chronique).

1.4.3.1. Toxicités létales

Les données concernant la létalité de l'ibuprofène chez les organismes aquatiques et terrestres demeurent fragmentaires. Selon les données disponibles, la crevette mysidé (*Mysidopsis bahia*) est l'espèce aquatique la plus sensible à l'ibuprofène; une CL50 de 2,55 mg/l a été déterminée pour cette espèce à la suite d'une exposition à l'ibuprofène pendant 96 heures (USEPA, 2000). Lorsque la puce d'eau (*Daphnia magna*) et le crapet arlequin (*Lepomis macrochirus*) sont exposés à l'ibuprofène pendant 48 heures et 96 heures

respectivement, les CL50 de ce médicament correspondent à 38 et 173 mg/l (Han et *al.*, 2006). La seule espèce terrestre pour laquelle une concentration létale d'ibuprofène a été mesurée est un vers de terre non spécifié; la CL50 de cette substance est de 3 566 mg/kg de sol lors d'une exposition de 14 jours (USEPA, 2000)

1.4.3.2. Toxicités sublétales

La littérature consultée indique que le gammare (*Gammarus pulex*) est l'espèce aquatique la plus sensible; une CMEO de 10 ng/l en ibuprofène réduit l'activité biologique de cette espèce à la suite d'une exposition pendant 1,5 heure (De Lange et *al.*, 2006). Pamonti et *al.*, (2004) ont mesuré des CMEO de 1 g/l en ibuprofène pour la lentille mineure (*Lemna minor*) et la cyanobactérie *Synechocystis sp.* Exposées pendant 5 jours à ce médicament. Une stimulation de la croissance a été observée chez la cyanobactérie alors que l'effet inverse est survenu chez la lentille d'eau. Aucune mesure de toxicité sublétale chez des organismes terrestres n'a été trouvée dans la littérature consultée.

2. La biologie de la *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 (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 (Figure 2), son cycle de vie court, son mode de reproduction asexué 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. (Bouguebina, 2015).



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

2.2. Classification

La classification de la daphnie d'après plusieurs travaux ont été consacrés au crustacé cladocère (Pacaud.1939, Anderson et *al.*, 1942)

La systématique de *Daphnia magna* est la suivante :

Embranchement : Arthropodes.

Classe : Crustacés.

Sous-classe : Brachiopodes.

Ordre : Cladocera.

Famille : Daphnidae.

Genre : *Daphnia*.

Espèce : *Daphnia magna*.

2.3. Morphologie

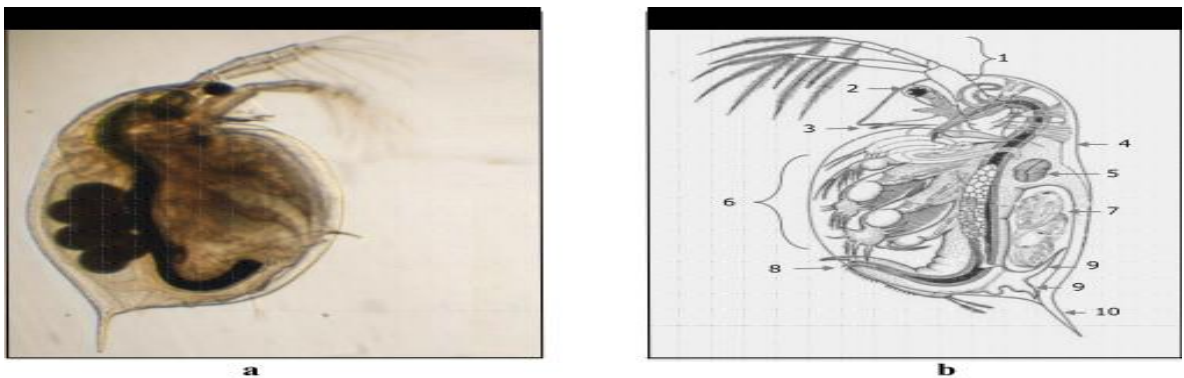


Figure 3 : a. Photo de *Daphnia magna*, femelle adulte. b. Anatomie de *Daphnia* : Antennes (1) ; œil (2) ; Antennules (3) ; Carapace (4) ; Cœur (5) ; Appendices Thoraciques (6) ; Poche incubatrice (7) ; Anus (8) ; Appendices caudaux (9) ; Epine apicale (10) (d'après Ebert D, 2005)

La taille de l'espèce *daphnia magna* varie entre 3 et 5 mm à l'âge adulte. La figure 3 présente un schéma d'une daphnie. Elle est subdivisée en 2 parties : la tête et le corps :

- La tête comporte les yeux, la bouche et 2 antennes qui servent à la locomotion.
- Le corps est protégé par une carapace transparente qui est changée lors des mues. Cette carapace est terminée par une épine apicale. Le tube digestif traverse tout le corps de la daphnie et se termine au niveau de la griffe post-abdominale. La partie ventrale est équipée d'appendices qui filtrent le phytoplancton. La partie dorsale est constituée d'une cavité qui joue le rôle d'une chambre de maturation pour les œufs.

Le cœur est situé au dessus de la chambre de maturation. Quant aux ovaires, ils sont placés de part et d'autre de l'intestin (Manar, 2008).

2.4. Développement

Les étapes du développement d'un embryon normal chez les *daphnies* sont divisées en 6 stades distincts (Kast-Hutcheson et al., 2001)(figure 4).

Stade 1 : clivage, l'embryon est parfaitement sphérique, pas de différenciation cellulaire, ce stade se déroule entre 0 et 15 heures.

Stade 2 : gastrulation, début de la différenciation cellulaire, présence du blastopore et l'embryon devient asymétrique, ce stade se déroule entre 15 et 25 heures.

Stade 3 : maturation embryonnaire précoce, la tête et l'antenne secondaire sont différenciés, ce stade se déroule entre 25 et 35 heures.

Stade 4 : maturation embryonnaire moyenne, présence de l'œil pigmentée et développement des antennes qui restent collés à la seconde membrane embryonnaire, ce stade se déroule entre 35 et 45 heures.

Stade 5 : maturation embryonnaire tardive, rupture de la seconde membrane embryonnaire, extension partielle de l'antenne secondaire et l'épine est pliée sous la carapace, ce stade se déroule entre 45 et 50 heures.

Stade 6 : développement complet du nouveau né, développement des antennules et l'épine est bien décollée de la carapace. L'organisme commence à nager.

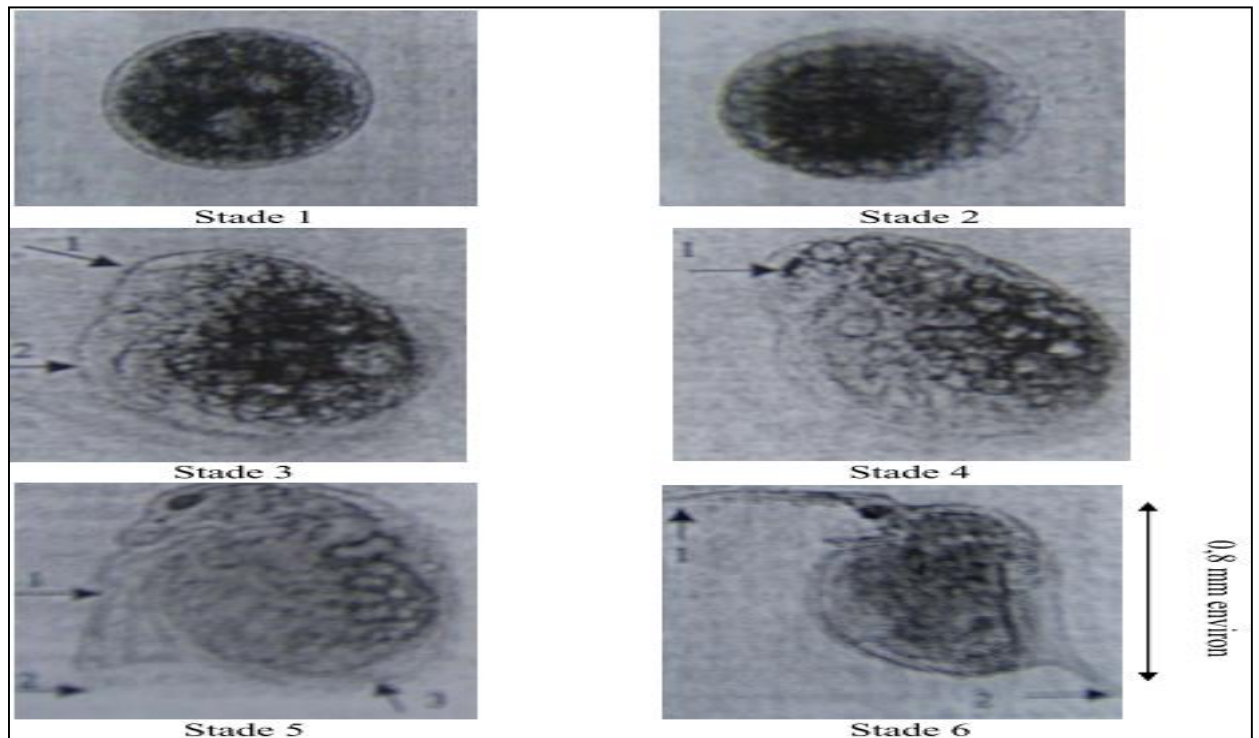


Figure 4: Photos des différents stades de développement embryonnaire chez *Daphnia magna* (d'après Kast Hutchesonet *al.*, 2001)

2.5. Alimentation

D.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 *Daphnia* 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).

2.6. Ecologie générale

Les populations de *Daphnia* 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).

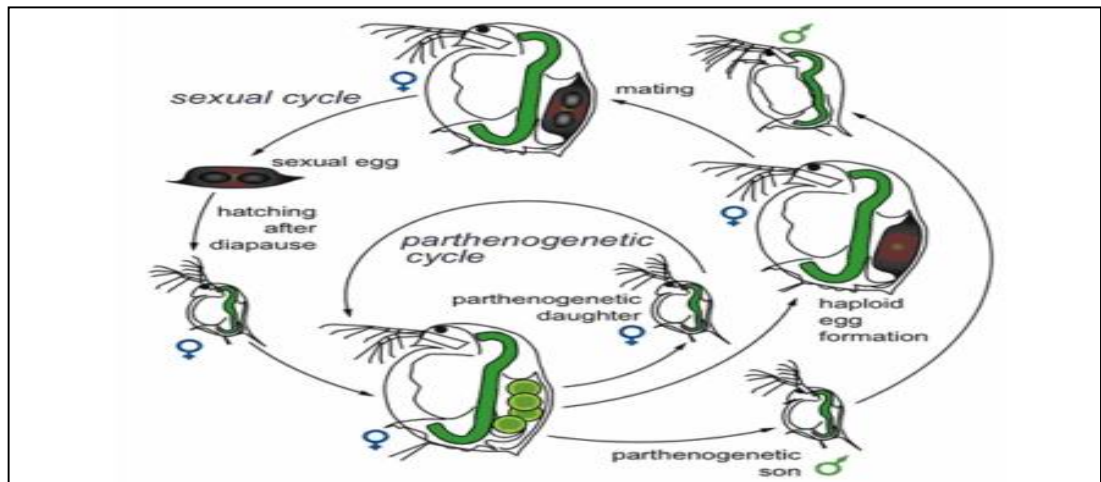


Figure 5 : Cycle de vie de *Daphnia magna*: (d'après Ebert D, 2005).

Ce diagramme montre le cycle asexuel (parthénogénèse) et sexuel de la vie de *Daphnia*. Durant la phase asexuelle, les femelles produisent des œufs diploïdes qui se développent directement en filles. Ces mêmes femelles peuvent produire des œufs asexuels diploïdes qui se développent en mâles. Cette production de mâles est contrôlée par des facteurs environnementaux (la baisse des températures, la haute densité, et/ou la diminution de la nourriture disponible). Cependant, ces mêmes femelles peuvent produire des œufs haploïdes qui requièrent des mâles pour être fertilisés. Ces œufs sont alors enfermés dans une carapace protectrice (ephippia) et restent en phase de latence avant d'éclore de nouveau (d'après Ebert D, 2005).

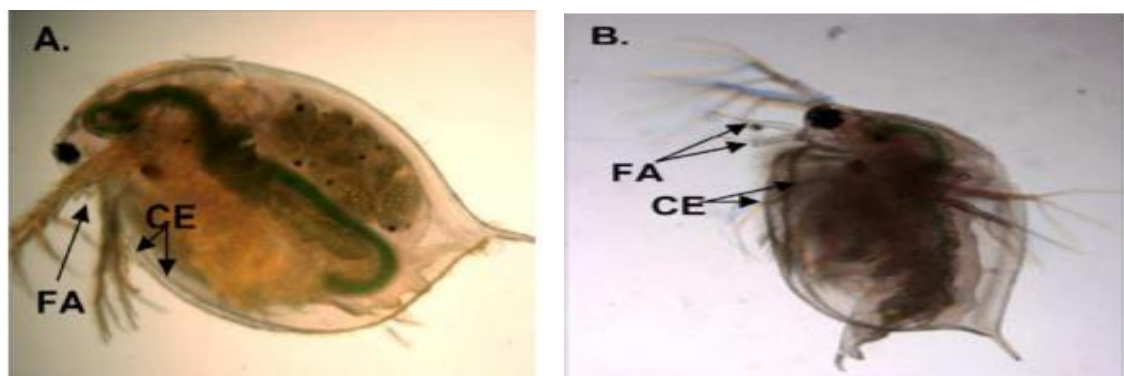


Figure 6: Femelle de *D.magna* (A) et mâle de *D.magna* (B) (d'après Olmstead et LeBlanc, 2003)

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, 2003).

Les éhippies (figure 7) sont petites, légères et peuvent être séchées et conservées pendant de longues périodes dans l'environnement, ce qui facilite leur transport d'une zone à une autre. Les œufs peuvent être transportés dans les enveloppes comme des graines. À l'arrivée au nouvel emplacement, les éhippies peuvent être écloses en quelques jours après qu'elles soient dans l'eau à la température adéquate (Schwartz et Hebert, 1984).



Figure 7: Un œuf de résistance (Ehippia) (Manar R, 2008)

2.7. Intérêt écotoxicologique

L'utilisation d'un organisme dans les tests d'écotoxicologie pour l'évaluation de la qualité de l'environnement suppose qu'il répond à certains critères ; la pertinence écologique, la sensibilité aux contaminants, la facilité de manipulation au laboratoire, la description détaillée de sa taxonomie, la durée du cycle de reproduction qui doit être courte et le potentiel de développer des biomarqueurs. Les cladocères, et spécialement les daphnéidées, ont été largement utilisés dans la toxicologie aquatique. La sélection des daphnies dans les tests de toxicité a été favorisée par leur sensibilité pour une large gamme de toxiques (Persoone et Janssen, 1993). De même, ces espèces présentent un grand intérêt écologique pour les milieux dulçaquicoles à en juger par leur large distribution et leur rôle dans la chaîne trophique. En effet, le genre *Daphnia* est largement répandu dans les eaux douces stagnantes de l'arctique aux tropiques (Fernando et al., 1987; Haney et Buchanan, 1987). La présence de ce genre est rapportée dans les différents états trophiques des cours d'eau et dans les différentes tailles et morphologies des habitats aquatiques en allant des étangs ou des lacs peu profonds à la zone pélagique des grands lacs et des réservoirs (Horn, 2003; Jeppesen et al., 2004). Dans la majorité de ces systèmes, les daphnies dominent la communauté des zooplanctons en termes

d'abondance et de biomasse durant certains intervalles de temps. Etant donné que les daphnies jouent un rôle important dans la chaîne trophique des lacs, les scientifiques les ont désignées comme espèces clés dans les systèmes pélagiques (Carpenter et Kitchell, 1993). En comparaison avec les autres zooplanctons, les daphnies peuvent atteindre des taux de filtration élevés (Muck et Lampert, 1984; Reynolds, 1984) et un potentiel de consommation de particules dans une gamme de 0.5 à 50 μm (Reynolds, 1984).

Son utilisation a largement augmenté dans les tests réglementaires pour l'évaluation des risques des substances nouvellement mises sur le marché (Liu et al., 2006). Plusieurs travaux ont utilisé cette espèce dans l'évaluation de l'impact des polluants (effluents domestiques, rejets industriels, stations d'épuration) sur l'environnement. Ainsi, Maarouf et al., 1994 ont comparé la toxicité d'extraits aqueux des sédiments par deux crustacés : *Gammarus gauthieri* et *Daphnia magna*. Les effets toxiques ont été associés à la concentration élevée en métaux lourds. Yatribi et Nejmeddine, 2000 ont évalué l'impact écotoxicologique du traitement chimique des eaux usées des tanneries par le test aigu chez *Daphnia*. Barata et al., 2001; ont proposé d'étudier la toxicité des polluants par l'utilisation des biomarqueurs de stress chez *D.magna*. Et récemment, Rodriguez et al., 2006 ont évalué la toxicité de plusieurs effluents de la région Basque par le test aigu et chronique.

Chapitre II
Matériel et méthodes

3.1. Substance d'essai

L'ibuprofène est un produit analgésique et anti-inflammatoire non stéroïdien utilisé en médecine humaine pour fluidiser le sang et pour traiter des maux de tête, des douleurs musculaires et menstruelles douloureuses, la fièvre et l'arthrite (BIAM, 2001).

3.1.1. Composition par comprimé pelliculé de XYDOL 200

Pour les essais on a utilisé XYDOL^R 200 (ibuprofène), laboratoire MERINAL

- Ibuprofène : 200 mg
- Excipients : lactose monohydraté, cellulose microcristalline, amidon de maïs, croscarmellose sodique, silice colloïdale anhydre, stéarate de magnésium, hypromellose, tri-acétate de glycéryle, mastercote FA 0419, q.s.p un comprimé pelliculé.

3.2. Matériel biologique

La daphnie est un petit crustacé cladocère, l'espèce la plus utilisée est *Daphnia magna* qui fait l'objet d'un test normalisé par AFNOR, Ce modèle biologique a été choisi car les daphnies sont des organismes dont la manipulation et l'élevage sont rendus aisés par leur taille relativement petite, leur fécondité élevée et leur mode de reproduction par parthénogenèse en conditions favorables (Chakri et Samraoui, 2015).

3.3. Principe de l'essai

Le principal objectif de l'essai consiste à évaluer l'effet de produits chimiques (ibuprofène) sur la reproduction de *Daphnia magna*. Pendant l'essai, des daphnies femelles âgées de moins de 24 heures sont exposées pendant 14 à 16 jours, dans les conditions définies par la norme ISO 10706, à une gamme de concentrations ou de dilutions de la substance ou de l'échantillon. Le nombre de parents survivants ainsi que le nombre de descendants vivants issus de parents vivants à la fin de l'essai sont consignés. La survie est notée et la capacité reproductrice des parents mis en expérimentation, vivants en fin d'essai (exprimée en nombre d'individus) est comparée à celle des parents témoins. La relation concentration-effet est déterminée par analyse statistique. L'eau de dilution sert de milieu témoin. (E-V- 6 - Détermination de la toxicité chronique par *Daphnia magna* Straus ó Méthode simplifiée (14 ó 16 j.) 2004).

3.4. Elevage et culture

L'élevage de la *daphnia magna* a été initié par des daphnies cultivés au laboratoire de l'université de Guelma, mises dans deux aquariums remplies avec quelques litres d'eau de robinet déchlorer ; il suffit d'y faire barboter de l'air pendant une journée environ.

La température des élevages doit être contrôlée à $20 \pm 2^{\circ} \text{C}$ (Buikema et al., 1980).

Pour la nourriture on a utilisé l'eau d'épinard et la levure et cela a été distribué le plus régulièrement possible (deux fois par semaine ; chaque dimanche et mercredi) à l'aide d'une seringue pour bien préciser les quantités (entre 1 et 2 ml).

3.4.1. Préparation de nourriture

3.4.1.1. L'eau d'épinard

On a pris quelques feuilles d'épinard (*Beta vulgaris maritima*) bien lavées et porter à l'ébullition dans un litre d'eau puis on a laissé refroidir pour récupérer l'extrait en gardant juste l'eau, cette eau est gardée au frais et renouveler tous les 10 jours.

3.4.1.2. La levure

10 milligramme de levure sèche ou de bière (*Saccharomyces cerevisiae*) est dilué dans un litre d'eau et garder au frais utilisé ultérieurement et renouveler tous les 10 jours.

3.5. Préparation de milieu de culture

Tableau 5 : Liste du matériel et des produits chimiques utilisés dans la préparation du milieu de culture

Matériels et verreries	Produits chimiques
Fiole jaugée	48 mg de NaHCO_3 .
Erlenmeyer	30 mg de CaSO_4 .
Une balance	30 mg de MgSO_4 .
Agitateur chauffant	2 mg de KCl .
pH mètre (Hanna instrument)	1 litre d'eau distillé.
Compte goutte	NaOH une fois normal (pour neutraliser le pH).

- 1- On a pris une fiole jaugée remplis avec 500 ml d'eau distillé mélangée à l'aide d'un agitateur chauffant (à 50°C) avec 48 mg NaHCO_3 , 30 mg de CaSO_4 , 30 mg de MgSO_4 et de 2 mg de KCl (ASTM Standarts, 1986) (figure 8).
- 2- Ensuite on a rajouté les 500ml d'eau restant pour compléter a 1l.
- 3- A l'aide d'un pH mètre on a mesuré le pH de la solution obtenue qui est de 6.3.
- 4- On a ajusté le pH jusqu'à la neutralisation avec la solution de NaOH une fois normal (4gr de NaOH par 100ml d'eau distillée).
- 5- On a pris un erlenmeyer d'un litre, rempli de la solution préparé précédemment et placé sur un agitateur.
- 6- On a ajouté NaOH goutte à goutte tout en mesurant le changement de pH a l'aide du pH mètre jusqu'à l'obtention du pH voulu, pour notre solution on a ajouté 4 gouttes a l'aide d'un compte goutte pour avoir un pH de 7.5 (figure 9).

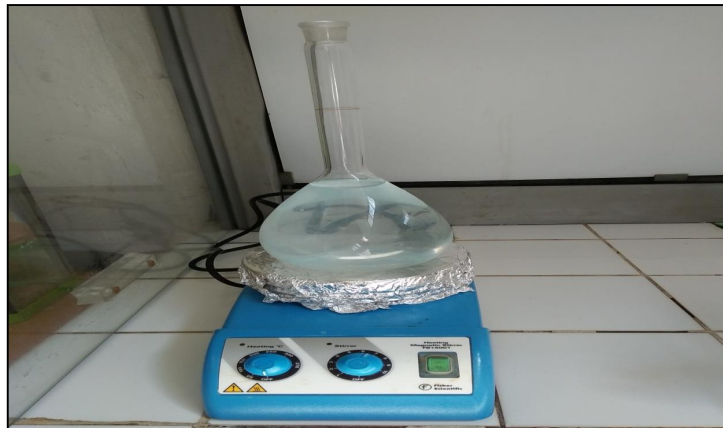


Figure 8 : Préparation du milieu de culture



Figure 9 : Ajustement de pH du milieu de culture

3.6. Mode opératoire

Les jeunes femelles de *Daphnia magna* âgées de moins 24 heures et issues de la troisième ponte sont exposées à une gamme de concentration d'ibuprofène XEDOL 200.

On a choisi une gamme de concentration 10, 20, 40 et 80mg IB l⁻¹ en plus du témoin en se référant à des travaux déjà faits (Heckmann et al., 2007).

Tableau 6 : liste des verreries et les produits utilisés dans les essais

Verreries	Produits
50 tubes à essais de 30 ml bien lavés et stérilisés (figure 10)	Les différentes concentrations d'ibuprofène (Heckmann et al., 2007)
Compte goutte	Le milieu de culture déjà préparé (ASTM Standarts, 1986)
Pipette graduée	Nourriture (l'eau d'épinard et la levure)

- Chaque tube a été rempli de 15 ml de milieu de culture (ASTM Standarts, 1986), une goutte d'eau d'épinard et de levure, et on a mis dans chaque tube un néonate de 24h.
- Les concentrations d'ibuprofène ont été diluées dans de l'eau distillée et ajoutée dans les tubes qui ont été divisé en 4 groupes (concentration 1, concentration 2, concentration 3 et concentration 4) plus le témoin.
- On a utilisé dix répliquas par concentration et aussi pour le témoin.
- La nourriture est administrée tous les deux jours (figure 11).
- Le milieu n'a pas été renouvelé.
- Les daphnies obtenues pendant le test sont observées et mesurés.
- La longueur des daphnies (du haut de la tête jusqu'à la base de son épine apicale) est mesurée par un micromètre.
- Le taux de mortalité a été observé chaque jour et à la fin du test (après les 14 jours).



Figure 10: Préparation des tubes pour l'utilisation

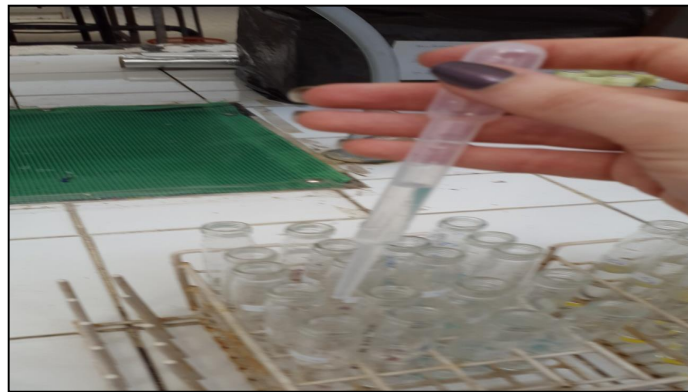


Figure 11 : L'alimentation des individus par les gouttes de pinard

3.6.1. Les paramètres suivis au cours de cette étude

- Age à la maturité.
- Taille des femelles adultes à la première reproduction (les mères) en mm.
- Age des femelles adultes à la première ponte
- Age des femelles adultes à la deuxième ponte
- La longévité (la moyenne en nombre des jours pendant lesquels les mères sont restées en vie).
- La survie
- Taux de mortalité (le pourcentage des femelles mères morts a la fin du test)
- Nombre de descendants par femelle a la fin du test
- Le nombre de ponte durant le test du 14 jours.
- L'intervalle de ponte (moyen) en jours.
- Calcule de PGR (taux de croissance de la population) (Sibly and Hone, 2002).

$$PGR = \log_e \frac{(N_t/N_0)}{t}$$

N_t = Nombre final des individus après 14 jour du test

N_0 = Nombre initial des individus à 0 temps

t = la durée du test (14 jour)

- Taux de croissance spécifique (TCS) (El-Dakar et *al.*, 2007).

$$TCS = \frac{\ln Tf - \ln Ti}{\Delta t}$$

Tf = La taille des femelles à la fin de test.

Ti = La taille initiale des femelle au début de test.

t = la durée de test (14 jours).

3.7. Les analyses statistiques

Pour chaque paramètre, nous avons calculé la moyenne et l'écart type, et utilisé l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA) pour tester l'impact des différents concentrations d'ibuprofène sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna* avec un taux de signification 0.05% (A l'aide de Excel et IBM SPSS Statistics 20).

Chapitre III
Résultats et discussion

4. Résultats et discussion

4.1. L'effet de différentes concentrations de buprofène sur la survie, la croissance et la reproduction de *Daphnia magna*.

4.1.1. La longévité

Les résultats (Figure 12) montrent que la longévité moyenne durant le test diminue avec l'augmentation des concentrations, avec une valeur maximale chez les témoins (13.5 jours) et une valeur minimale chez les individus de la quatrième concentration (IB= 80 mg/l avec 9.5 jours). L'analyse de l'ANOVA à un facteur est jugée non significative ($P > 0,05$).

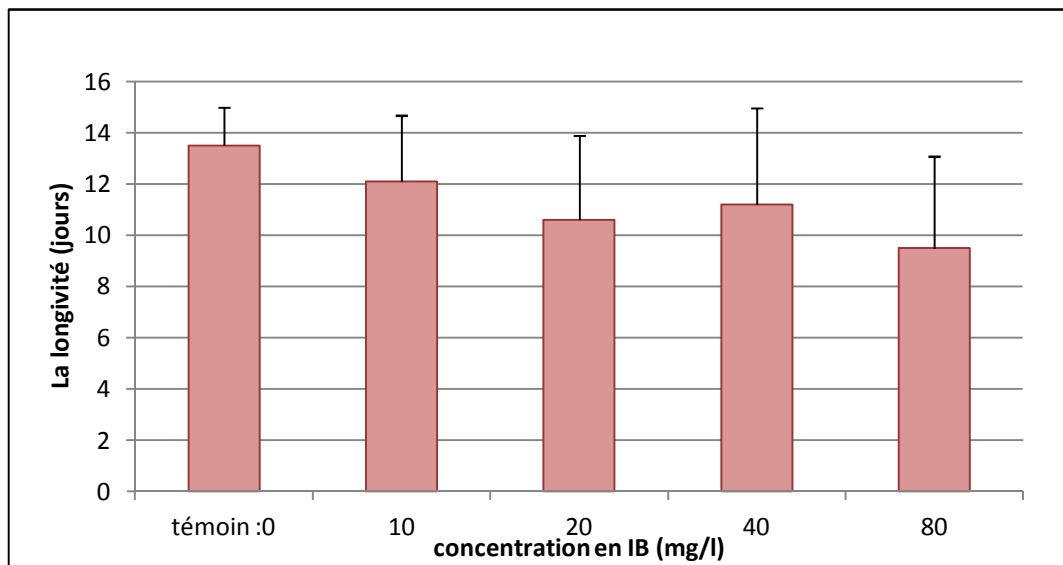


Figure 12: Variation de la longévité dans les différentes concentrations ($P > 0,05$).

4.1.2. La taille des femelles adultes à la première reproduction

Les résultats montrent que la taille des femelles adultes à la première reproduction diminue avec l'augmentation des concentrations (Figure 13) et on remarque aussi qu'il n'y avait pas de reproduction chez les individus de la quatrième concentration (80 mg/l d'IB). Les résultats de l'analyse de l'ANOVA à un facteur sont très significatifs ($P < 0,01$).

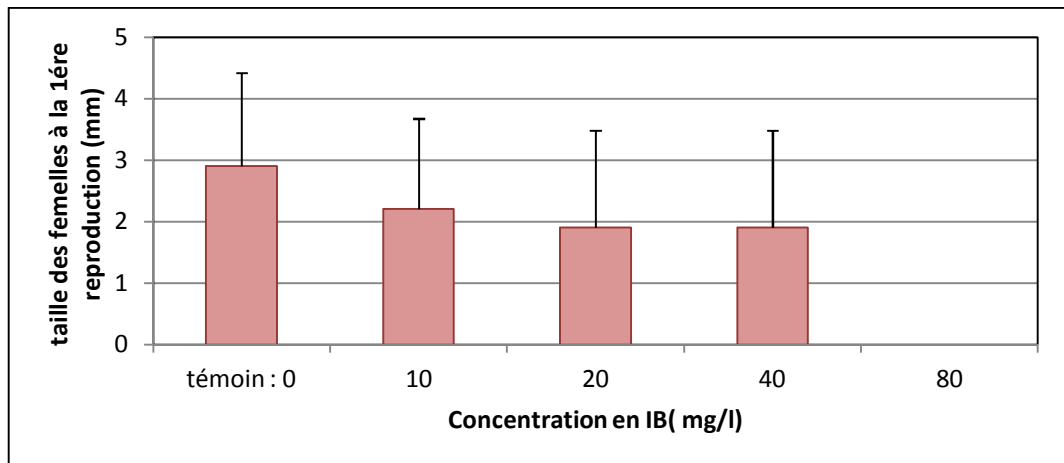


Figure 13: Variation de la taille chez les femelles adultes à la première reproduction dans les différentes concentrations ($P < 0,01$).

4.1.3. Variation de l'âge de maturation et de l'âge de la première et la deuxième ponte

Dans la figure 14, on remarque une augmentation légère à l'âge de maturation aux différentes concentrations et aux témoins avec un minimum chez les témoins de 7.26 jours et un maximum chez les individus de la troisième concentration de 10.5 jours. Aussi à l'âge de la première ponte on a observé une augmentation par rapport aux témoins pour les individus des concentrations 10, 20 et 40 mg/l d'IB et pareil pour la deuxième ponte ou on a eu des résultats remarquablement différents. L'analyse de l'ANOVA à un facteur pour l'âge de maturation et aussi pour l'âge de la deuxième ponte n'a aucune signification ($p > 0.05$), par contre elle est significative pour l'âge de la première ponte ($p < 0.05$).

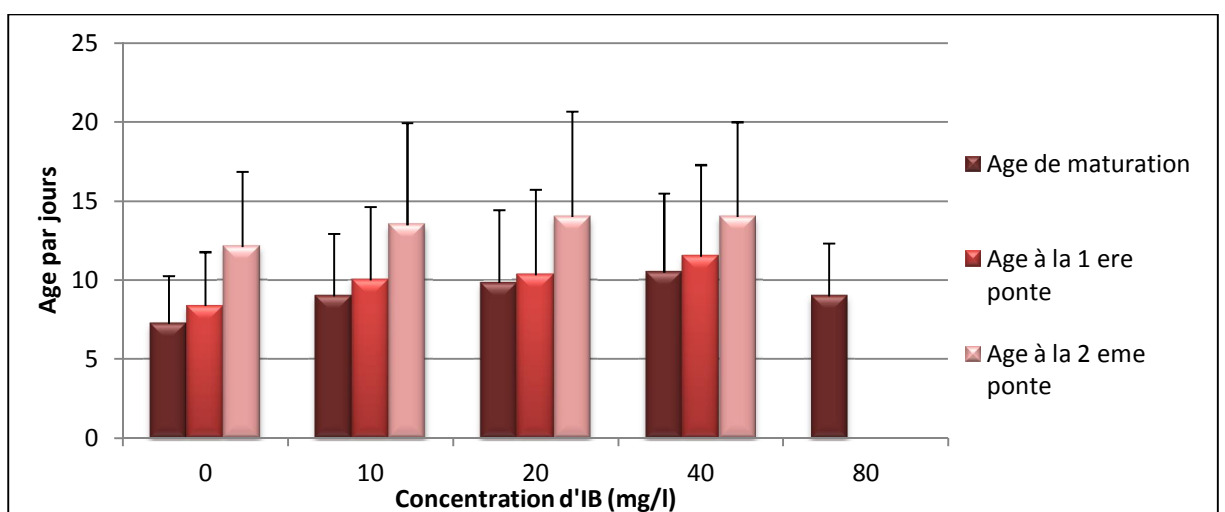


Figure 14: Variation dans l'âge de maturation ($p > 0.05$) et l'âge de la première ponte ($p < 0.05$) et la deuxième ponte ($p > 0.05$)

4.1.4. Nombre de descendants par femelle

Les résultats recueillis pour le nombre de descendants par femelle (Figure 15), ont montré que le nombre de descendants moyen par femelle est assez élevé chez les daphnies témoins comparativement avec les daphnies exposées aux différentes concentrations, les individus de la quatrième concentration montrent une valeur nulle. L'analyse de l'ANOVA à un facteur montre un résultat hautement significatif ($P < 0,001$).

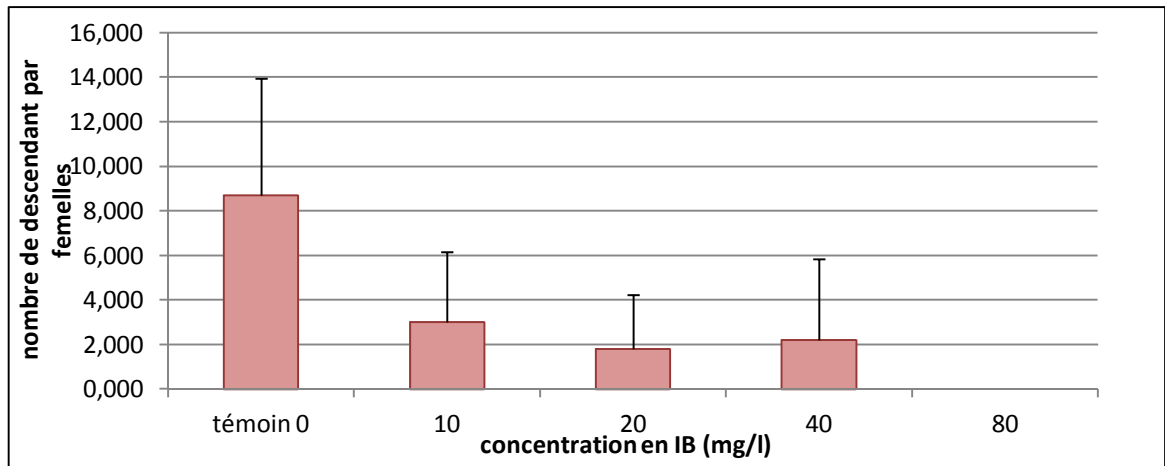


Figure 15: Nombre de descendants par femelle aux différentes concentrations ($P < 0,001$).

4.1.5. Nombre de ponte par femelle

Les résultats (Figure 16) montrent que le nombre moyen de ponte par femelle dans le témoin est de 1.6 pontes qui est important en comparant avec le nombre des pontes dans les autres concentrations de IB, IB = 10 mg/l (1.1 pontes), IB = 20 mg/l (1 ponte), IB = 40 mg/l (0.8 ponte), IB = 80 mg/l (0 ponte). L'analyse de l'ANOVA à un facteur est très significative ($P < 0,01$).

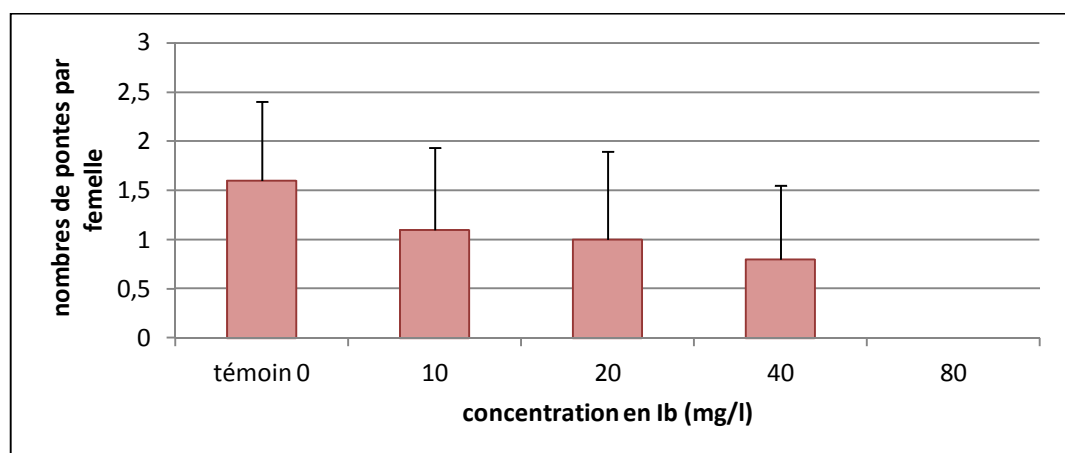


Figure 16: Nombre de pontes par femelle ($P < 0,01$).

4.1.6. L'intervalle de ponte par femelle

La figure 17 montre que l'intervalle de ponte est légèrement affecté par les différentes concentrations par rapport au témoin, on a eu une valeur minimale chez les témoins avec 1.75 jours et une valeur maximale chez les individus de la troisième concentration (IB= 40 mg/l) avec 2.25. L'analyse de l'ANOVA à un facteur n'a aucune signification ($p > 0.05$).

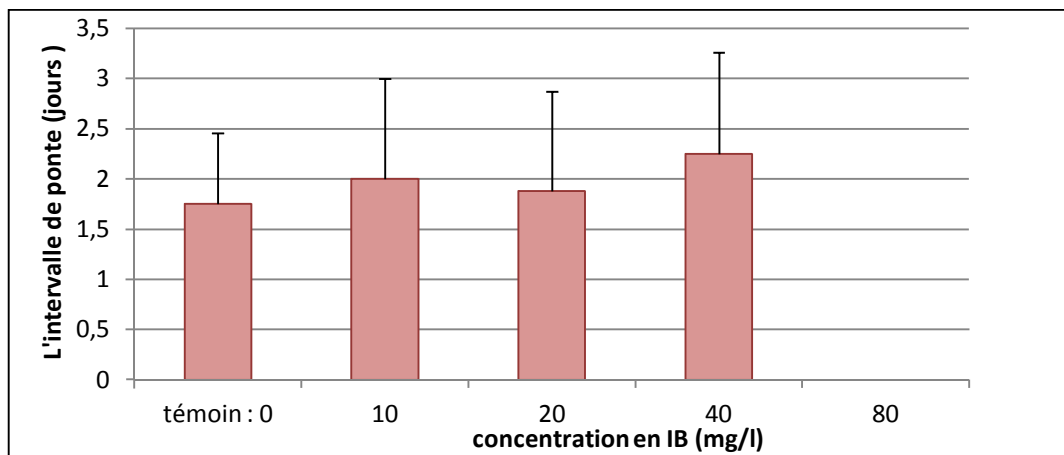


Figure 17: Intervalle de ponte par femelle aux différentes concentrations ($p > 0.05$).

4.1.7. Taux de croissance spécifique (TCS)

La figure 18 montre l'effet de l'IB sur le taux de croissance spécifique chez *D. magna*. On remarque une diminution progressive avec l'augmentation des concentrations de l'IB. L'analyse de l'ANOVA à un facteur est significative ($P < 0,05$).

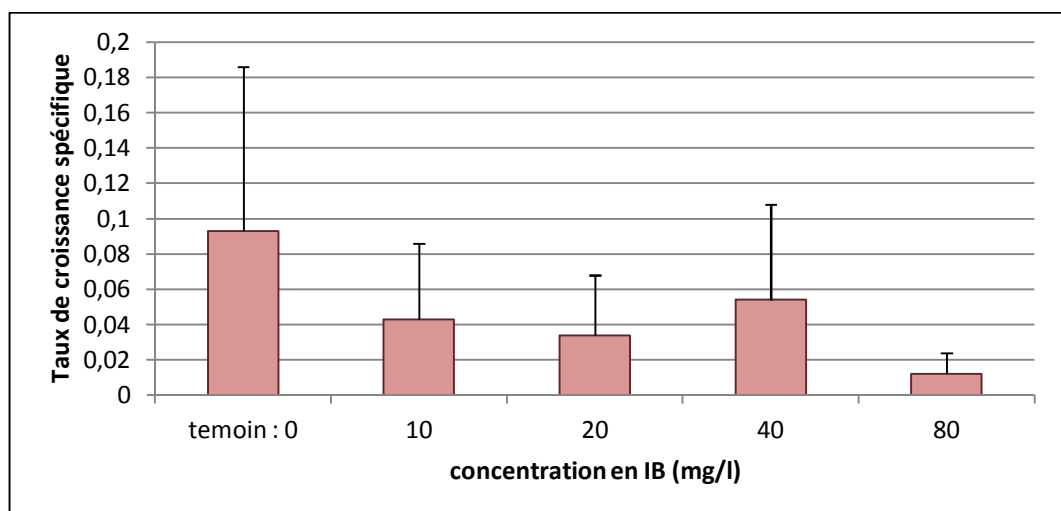


Figure 18: Variation de taux de croissance spécifique dans les différentes concentrations ($P < 0,05$).

4.1.8. La survie

Dans la figure 19 on remarque que le taux de survie est relativement affecté avec les variations des concentrations et ceci est par rapport aussi aux témoins avec un taux maximal de 90% et un taux minimal de 10% chez les individus de la quatrième concentration (IB= 80 mg/l)

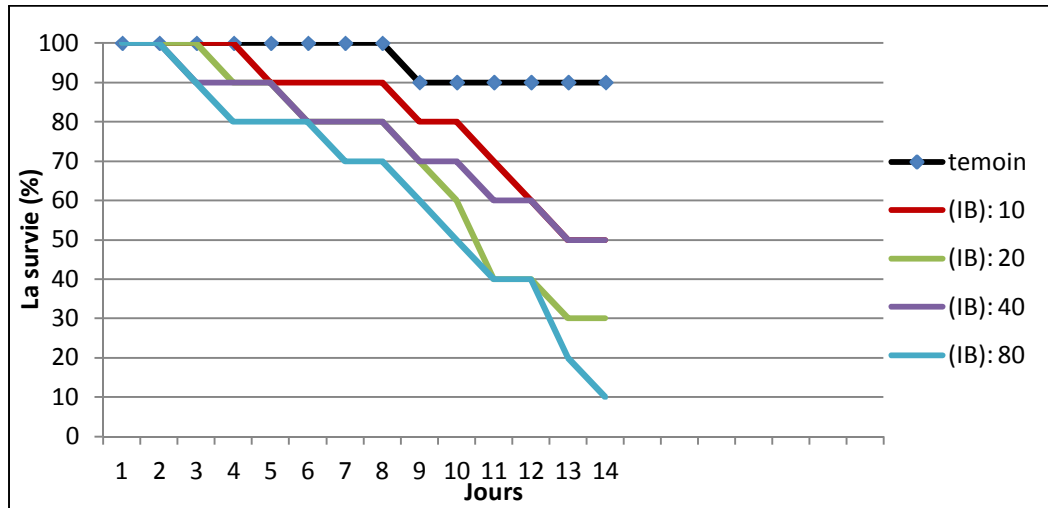


Figure 19: Taux de survie des femelles adultes durant le test

4.1.9. La PRG (taux de croissance de la population)

La figure 20 représente l'accroissement de nombre des individus durant le test. On sait que lorsque PGR = 0 notre population est stable et lorsque PGR<0 cela désigne que la population est en déclin. Pour nos résultats on a remarqué que la valeur maximale a été observée pour les individus témoins alors que la valeur minimale a été observée pour les individus de la quatrième concentration (IB=80 mg/l).

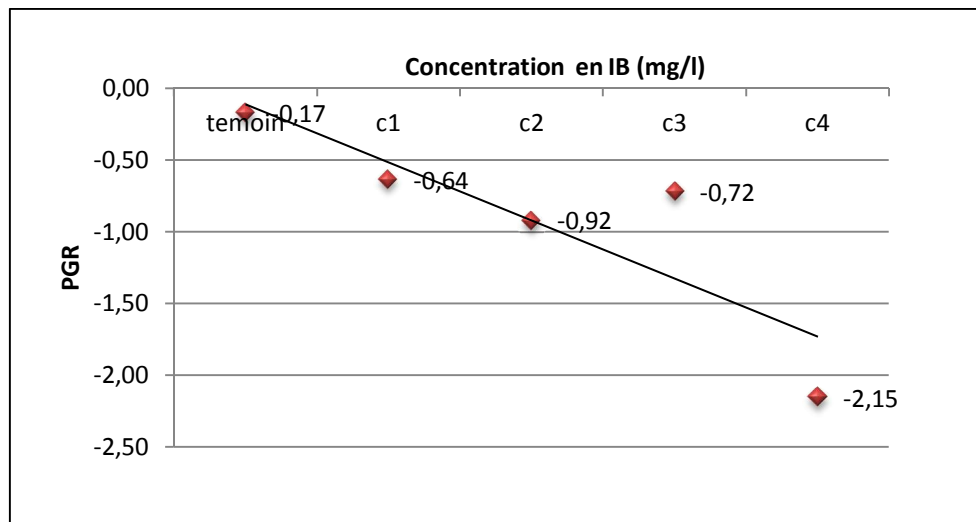


Figure 20: Variation de l'indice PRG aux différentes concentrations

4.1.10. Effet de l'ibuprofène sur la mortalité des daphnies

Dans la figure 21 on remarque une augmentation de la mortalité avec l'augmentation des concentrations, la valeur minimale a été observée pour les individus témoins avec 10% de mortalité cependant la valeur maximale a été observée pour les individus de la quatrième concentration (IB = 80 mg/l) avec 90% de mortalité.

L'analyse de l'ANOVA à un facteur est significative ($p < 0.05$).

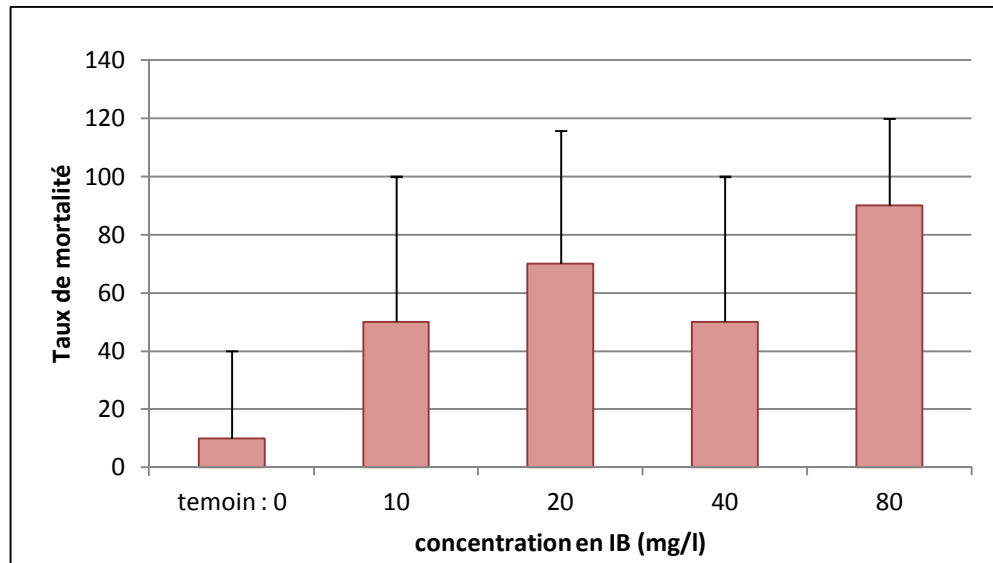


Figure 21: Taux de mortalité aux différentes concentrations ($p < 0.05$).

4.2. Discussion

Lorsque des organismes vivants sont exposés à des toxiques ou des polluants ils subissent un stress et cela affecte leur cycle de vie (Lagadic et al., 1997).

C'est le cas de notre étude qui vise à déterminer la toxicité de différentes concentrations d'un anti-inflammatoire (ibuprofène) sur la reproduction, la croissance et la survie de l'espèce *Daphnia magna* sur une durée moyenne de 14 jours.

Les résultats obtenus sur les différents paramètres observés et mesurés sur les daphnies montrent que :

- La longévité ou la durée de vie est légèrement réduite pour les individus de la première, deuxième et la troisième concentration alors que la réduction est plus observable pour la quatrième concentration par rapport au témoin. Ceci rejoint le

travail de (Walton et *al.*, 1982 ;Muysen et Janssen, 2004 ;Vandegheuchte et *al.*, 2010)

- La taille des femelles adultes à la première reproduction est légèrement affectée pour les individus des concentrations 1, 2 et 3 (10, 20, 40 mg/l d α B) à l'inverse on a remarqué qu'il ne y'avait pas de reproduction pour les individus de la quatrième concentration (80 mg/l) où la reproduction a été inhiber. Ceci rejoint les travaux de (Heckmann et *al.*, 2007)
- Pour ce qui est de la variation dans l'âge de maturation et l'âge de la première et la deuxième ponte on a :
 - L'âge à la maturité moyen est légèrement augmenté au niveau des différentes concentrations d α B par rapport aux témoins.
 - L'âge à la première ponte augmente avec l'augmentation des trois premières concentrations (10, 20 et 40 mg/l d α B) par rapport au témoin en revanche on a remarqué une absence totale de reproduction pour les individus de la quatrième concentration (80 mg/l d α B) a cause d'un développement des ephippium (développement des œufs en conditions défavorables). Ceci rejoint le travail de (Heckmann et *al.*, 2007).
 - Pour l'âge à la deuxième ponte on a eu aussi une augmentation d'âge des individus dans les différentes concentrations par rapport aux témoins.
- Concernant le nombre de descendants par femelle on a remarqué une forte diminution dans le nombre pour les femelles exposées aux différents concentrations par rapport aux témoins durant les bio-essais effectué et ceci est lié principalement à la toxicité du polluant utilisé qui a inhibé la reproduction, ceci rejoint les travaux de (Heckmann et *al.*,2007 ; Bouguebina, 2015 ; Meniai, 2016 ; Sahraoui, 2016).

- Par rapport au nombre de pontes par femelle et l'intervalle de ponte par femelle est expliqué comme suit :
 - Le nombre des pontes est réduit pour les individus des différentes concentrations par rapport au témoin, Cela s'expliquerait par le fait que les daphnies se retrouvent dans un milieu contaminé par l'ibuprofène et donc défavorable pour la reproduction.
 - L'intervalle de ponte est légèrement affecté par rapport au témoin, ceci est similaire aux travaux de Touati et Samraoui (2002) et Chakri (2007).
- Pour le taux de croissance spécifique (TCS) on remarque que le TCS chez les individus témoins est plus important que le TCS des individus dans les différentes concentrations avec un maximal pour les individus témoins de 0.093 et un minimal pour les individus de la quatrième concentration (80 mg/l) de 0.012 ceci nous donne une idée sur la toxicité de ce polluant qui affecté et inhibé la croissance de cette espèce.
- Pour le taux de mortalité on constate qu'il est importants dans les différentes concentrations et surtout la deuxième (20 mg/l) la quatrième concentration (80 mg/l) , cela s'explique par la survie qu'est un critère auquel la population est la plus sensible (Ducrot et *al.*, 2007).
- Pour le paramètre taux de croissance des populations (PGR), qui est un indice qui nous renseigne sur l'accroissement dans le nombre des individus d'une population, le PGR est inversement proportionnel à l'augmentation des concentrations. On a eu un maximum pour les individus témoins avec un taux égal à -0.17 et un minimal avec un taux égal à -2.15, ceci se rapproche des travaux de Heckmann, 2007.

Ces résultats montrent que lorsque *Daphnia magna* subit un stress environnemental sous forme de polluant comme l'ibuprofène ses paramètres biologiques sont visiblement

affectés. Donc on peut utiliser cette espèce comme bio-indicateur de pollution des eaux douces.

Conclusion

Conclusion

Depuis quelques années, plusieurs études conduites par des scientifiques et/ou des écologues ont attiré l'attention du public sur la présence de traces de produits pharmaceutiques et cosmétiques dans l'eau. Cette présence indésirable peut provoquer des effets néfastes sur les écosystèmes et aussi sur les êtres vivants.

Le présent travail a été consacré à l'étude de plusieurs aspects de la toxicité chronique d'un de ces composants médicamenteux « l'anti-inflammatoire Ibuprofène ». Les différentes étapes ont été toutes fidèles à un choix de base qui a consisté d'une part à travailler avec des concentrations mesurées, et aussi choisir *Daphnia Magna* comme modèle biologique puisqu'il nous confère plusieurs avantages, les plus importants étant son rôle dans la chaîne trophique, sa sensibilité et sa facilité d'utilisation pour des essais à court et à long terme au laboratoire. Ces caractéristiques ont permis d'étudier la toxicité de l'ibuprofène sur la survie et la reproduction d'une population de laboratoire. Ce choix stratégique a été fait dans le but d'évaluer avec plus de précision possible la relation dose/réponse de ce polluant sur le profil vital de cette espèce.

Les résultats obtenus à travers les bio-essais sur *D. magna*, révèlent l'effet de ce polluant « l'ibuprofène » sur les traits de son cycle de vie pour les individus exposés aux différentes concentrations par rapport aux témoins, comme :

- la réduction de la taille des femelles adultes à la première reproduction ;
- l'augmentation de l'âge à la maturité et à la première et à la deuxième reproduction ;
- la diminution de nombre des pontes et la réduction consécutive du nombre de descendants, aussi pour l'intervalle de ponte qui est de plus en plus étendu ;
- la réduction significative de la survie observée surtout pour les individus de la deuxième et la quatrième concentration (20 et 80 mg/l d'IB) par rapport aux témoins ;
- également, on peut signaler que le TCS ou le taux de croissance spécifique et le PGR ou le taux de croissance d'une population sont en diminution progressive avec l'augmentation des concentrations ;

Conclusion

D'après ces résultats l'espèce *D. magna* a montré une capacité à révéler des concentrations de ce polluant à partir desquelles des effets néfastes sont observés sur la survie et aussi sur la reproduction ou la croissance, et par suite confirme les soupçons relatifs aux effets toxicologiques de ces molécules médicamenteuses une fois disséminées dans l'environnement.

Enfin, au terme de cette étude, nous fixons des perspectives souhaitant qu'elles soient un jour réalisables :

- ✓ Cibler une autre molécule que l'anti-inflammatoire et faire une batterie de test écotoxicologique sur *Daphnia magna* ou d'une autre espèce sentinelle.
- ✓ La biosurveillance ou suivre la pollution par les médicaments et ses effets sur les écosystèmes et principalement sur la biocénose au niveau *In-Situ*.
- ✓ Il serait possible de concevoir des stations d'épuration capables de traiter la plupart de ces substances, ou de moderniser les stations existantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Alighardashi A., Pons M. N., Potier O. 2008.** Présence et devenir des médicaments dans les eaux usées urbaines, une analyse bibliographique. *Journal Water Science* 21(4), 413-426.
- **Anderson B.J., & Jenkins J.C., 1942.** A time study of events in the life span of *Daphnia magna*. *Biology.Bulletin.*83, 2606272.
- **ASTM Standarts, 1986.** Standard Guide for Information Access Privileges to Health Information (Withdrawn 2017).
- **Avdeef A., Box K.J., Comer J.E.A., Hibbert C., Tam K.Y. 1998.** Determination of liposomal membrane-water partitioning coefficients of ionizable drugs. *Pharmaceut. Res.* 15(2), 2096215.
- **Barata C., Baird D.J., Soares A.M.V.M. & Guilhermino L., 2001.** Biochemical factors contributing to response variation among resistant and sensitive clones of *Daphnia magna Straus* exposed to ethyl parathion. *Ecotox. Environ. Saf.*, 49, 1556-163.
- **Bazard O., 2011.** Les médicaments dans les eaux : présence et impact écotoxicologique. Exemple de trois molécules : Ibuprofène, carbanazepine et ethinyl-estradiol. Université henri poincare - nancy 1
- **BIAM, 2001.** Banque d'information automatisée sur les médicaments. Site Internet officiel de la BIAM, <http://www.biam2.org>. Consulté le 3 mars 2017.
- **Bouguebina, Z., 2015.** Contribution à l'étude de l'impact des rejets des effluents pharmaceutiques sur un cladocère *Daphnia magna*.
- **Bound, J. P., Kitsou, K. et Voulvoulis, N. 2006.** Household disposal of pharmaceuticals and perception of risk to the environment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, sous presse.
- **Boxall, A. B. A., Kay, P., Blackwell, P. A. et Fogg, L. A. 2004.** Fate of veterinary medicines applied to soils. In: Kummerer, K. (Ed.), Second edition, *Pharmaceuticals in the environment. Sources, fate, effects and risks*, Springer-Verlag, Berlin, p. 165-180.
- **Brain, R. A., Johnson, D. J., Richards, S. M., Hanson, M. L., Sanderson, H., Lam, M. W., Young, C., Mabury, S. A., Sibley, P. K. et Solomon, K. R. 2004.** Microcosm evaluation of the effects of an eight pharmaceutical mixture to the aquatic macrophytes *Lemna gibba* and *Myriophyllum sibiricum*. *Aquatic Toxicology*, vol. 70, no 1, p. 23-40.

Références bibliographiques

- **Buikema, A. L. Jr., J. G. Geiger, and D. R. Lee 1980.** *Daphnia* toxicity tests in aquatic invertebrate bioassays, ASTM 715, American Society for Testing and Materials.
- **Carpenter S., Kitchell J., 1993.** The trophic cascade in lakes. University Press, Cambridge. characteristics of *Daphnia magna*, Environmental Toxicology and Chemistry, 19, 2107-2113.
- **Chakri K., et Samraoui B. 2015.** Resource partitioning in two coexisting cladocerans, *Daphnia magna* and *Scapheloberis kingi* (Anomopoda: Daphniidae), in northeastern Algeria, African Journal of Aquatic Science: 1-4.
- **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.
- **Cleuvers, M., 2003.** Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. Toxicology Letters 142, 185-194.
- **Cleuvers, M., 2004.** Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, et acetylsalicylic acid. Ecotoxicology and Environmental Safety 59, 309-315.
- **Daughton, C. G. et Jones-Lepp, T. L. 2001.** Pharmaceuticals and personal care products in the environment. Scientific and regulatory issues. ACS Symposium Series 791, American Chemical Society, Jones-Lepp, T. L. (Ed.), Washington DC, 396 p.
- **Daughton, C. G. et Ternes, T. A. 1999.** Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change Environmental Health Perspectives, vol. 107, no 6, p. 907-938.
- **De Lange, H. J., Noordoven, W., Murk, A. J., Lurling, M. et Peeters, E. T. 2006.** Behavioural responses of *Gammarus pulex* (crustacea, amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals. Aquatic Toxicology.
- **Diaz-Cruz, M. S., Lopez De Alda, M. J. et Barcelo, D. 2003.** Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. Trends in Analytical Chemistry, vol. 22, no 6, p. 340-351.
- **Dorosz P. 2008.** Guide pratique des médicaments, Ed. Maloine.

Références bibliographiques

- **Ducrot V., Pèry A.R.R., Mons R. et al., 2007.** Dynamic energy budgets as a basis to model population-level effects of zinc-spiked sediments in the gastropod *Valvata piscinalis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26, 1774-1783.
- **Ebert D., 2005.** *Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in Daphnia*. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US).
- **El-Dakar, A.Y., S.M. Shalaby and I.P. Saoud, 2007.** Assessing the use of a dietary probiotic/prebiotic as an enhancer of spine foot rabbit fish *Siganus rivulatus* survival and growth. *Aquacult. Nutri.*, 13, 407-412.
- **Fent, K., Weston, A. A. et Caminada, D., 2006.** Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, vol. 76, no 2, p. 122-159.
- **Fernando C., Paggi J., Rajapaska R., 1987.** *Daphnia* in tropical lowlands. In: R. H. Peters & R. De Bernardi (eds.), *Daphnia*, vol. 45, 107-141, Memorie Dell'Istituto Italiano Di Idrobiologia Dott. Marco Di Marchi., Verbania Pallanza.
- **Ganf, G.G., 1983.** An ecological relationship between Aphanizomenon and *Daphnia pulex*. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, (34), 755-773.
- **Golet E.M., Xifra I., Siegriest H, Alder A. and Giger W., 2003.** Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. *Environ. Sci. Technol.* 37, 3243-3249.
- **Hadas O., Bachrach U., Kott Y., Cavari B. Z., 1983.** Assimilation of *E. coli* cells by *Daphnia magna* on the whole organism level, *Hydrobiologia*, 102, 163-169.
- **Halling-Sorensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lutzhoft, H. C. et Jorgensen, S. E. 1998.** Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A review. *Chemosphere*, vol. 36, no 2, p. 357-393.
- **Han, G.H., Hur, H.G., Kim, S.D., 2006.** Ecotoxicological risk of Pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: occurrence and toxicity to *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 2656-271.
- **Haney J., Buchanan C., 1987.** Distribution and biogeography of *Daphnia* in the artic. In: Peters R.H., De Bernardi R., (eds.), *Daphnia*, vol. 45, 77-105, Memorie Dell'Istituto Italiano Di Idrobiologia Dott. Marco Di Marchi., Verbania Pallanza.

Références bibliographiques

- **Heberer, T., 2002.** Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, vol. 131, no 1-2, p. 5-17.
- **Heckmann, L.H., Connon,R., Hooper,H.L., Maund,S.J., Hutchinson, T.H., Sibly, R.M., Callaghan, A., 2005.** Molecular and population stress responses of *Daphnia magna* exposed to ibuprofen. In: SETAC Europe 15th Annual Meeting, Lille, France, 22-26 May 2005, pp. 308-309.
- **Heckmann L-H., Connona R., Hooper, H. L., Maund, S. J., Hutchinson, T.H., Sibly, R.M., Callaghan, A., 2007.** Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics.
- **Hignite, C., ET Aznaroff, D.L., 1977.** Drugs and drugs metabolites as environmental contaminants : chlorophenoxyisobutirate and salicylic acid in sewage effluent. *Life Sciences*.
- **Holm, N. P., AND J. Shapiro. 1984.** An examination of lipid reserves and the nutritional status of *Daphnia pulex* fed *Aphanizomenon* sp. *Limnol. Oceanogr.* 29, 1137-1140.
- **Horn W., 2003.** Long-term development of the crustacean plankton in the Saldenbach Reservoir (Germany) ó changes, causes, consequences, *Hydrobiologia*, 504, 185-192.
- **ISO 10706 : 2000(F).** Qualité de l'eau ó Détermination de la toxicité à long terme de substances vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). RIZA notanr.93.027 (Juli 1993) : Methodebeschrijving voor beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de TRIADE benadering.
- **ISO, 1996.** International Standards Organization. Water quality. Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) Acute toxicity test. ISO 6341, Geneva, Switzerland.
- **Jeppesen E., Jensen J., Sondergaard M., Gron F., Bramm M.E., Sandby K., Moller P., Rasmussen H., 2004.** Impact of fish predation on cladoceran body weight distribution and zooplankton grazing in lakes during winter, *Freshwater Biology*, 49, 432-447.
- **Johnson A.C., Belfroid A., Di Corcia A.D. 2000.** Steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Sci Total Environ* 256,163-173.

Références bibliographiques

- **Kanda R., Griffin P., James H.A., Fothergill J. 2003.** Pharmaceutical and personal care products in sewage treatment works. *J Environ Monit* 5, 823-830.
- **Kast-Hutcheson K., Rider C.V., LeBlanc G.A., 2001,** The fungicide propiconazole interferes with embryonic development of the crustacean *Daphnia magna*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 5026-509.
- **Keating, K. and B. Dagbusan. 1986.** Diatoms in daphnid culture and bioassay. *Environ. Toxicol. Chem.* 5, 299-307.
- **Kummerer, K 2001.** Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. *Chemosphere*, vol. 45, no 6-7, p. 957-969.
- **Lagadic, L. C. T., Amiard JC., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. In : Lagadic L, Caquet T, Amiard JC and Ramade F (Eds.), *Biomarqueurs en Ecotoxicologie. Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, 1-9.
- **Liu H., Ye W., Zhan X., Liu W., 2006.** A comparative study of rac- and S-metolachlor toxicity to *Daphnia magna*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63, 451-455.
- **Maarouf A., Mazlani S., Pihan J.C., Belkhadir E., 1994.** Comparaison de la sensibilité de deux crustacés: *Gammarus gauthieri* et *Daphnia magna*, à la toxicité létale des extraits de sédiments de quatre cours d'eau, *Annales de Limnologie*, 30 (3), 197-207.
- **Manar R., 2008.** Effets populationnels du chlordane sur les microorganismes crustacés cladocères *Daphnia sp* dans une perspective d'évaluation des risques Thèse de doctorat en Toxicologie de l'environnement. Université Hassan II, Mohammedia, Maroc.
- **Massarin S., 2010.** Etude des effets de l'uranium sur le budget énergétique et la dynamique de population de *Daphnia magna*, Thèse de doctorat l'université aix-marseille ii ó universite de la mediterranee.
- **Meniai, I., 2016.** Évaluation de la toxicité des effluents industriels en utilisant *Daphnia magna*.
- **Miège, C., Favier, M., Brosse, C., Canler, J-P, Coquery, M., 2006.** Occurrence of betablockers in effluents of wastewater treatment plants from the Lyon area (France) and risk assessment for the downstream rivers. *Talanta* 70(4), 739-744.

Références bibliographiques

- **Muck P., Lampert W., 1984.** An experimental study on the importance of food conditions for the relative abundance of calanoid copepods and cladocerans, Archives für Hydrobiologie Supplement, 66, 157-179.
- **Muyssen B.T.A. et Janssen C.R., 2004.** Multi-generation cadmium acclimation and tolerance in *Daphnia magna* Straus. Environmental Pollution, 130, 309-316.
- **OCDE, 2004** OCDE, Organisation de Coopération et de Développement Economiques 2004. *Daphnia* sp., Acute immobilisation test. Guidelines for testing for chemicals, Rep. No. 202.
- **OCDE, 2008.** Organisation de Coopération et de Développement Economiques. *Daphnia magna* acute immobilisation test and reproduction test. Guidelines for testing for chemicals, Rep. No. 211.
- **Okkerman P.C., Groshart C.P et Pijnenburg A. 2001.** Chemical study of estrogens. Report no. 2001.028. National Institute for Coastal and Marine Management (RIKZ). The Hague, NL.
- **Olmstead AW, LeBlanc GA. 2003.** Insecticidal juvenile hormone analogs stimulate the production of male offspring in the crustacean *Daphnia magna*. Environmental Health and Perspectives 111: 919-924.
- **Pacaud A., 1939.** Contribution à l'écologie des cladocères. Bull.Biol. France et Belgique, suppl 24, p 260.
- **Pamonti, F., Netting, A. G., Calamari, D. et Neilan, B. A. 2004.** Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*. Aquatic Toxicology, vol. 67, no 3, p. 387-396.
- **Pennak R.W., 1989.** Fresh-water invertebrates of the United States. 3rd ed. Protozoa to Mollusca, John Wiley & Sons, New York, NY.
- **Pépin J. M. 2007.** Impact écotoxicologiques de certains médicaments dans l'environnement centre universitaire Sherbrooke, Québec, Canada.
- **Persoone G., Janssen C.R., 1993.** Freshwater invertebrate toxicity tests. In Handbook of Ecotoxicology, (Edited by P. Calow), Blackwell Scientific Publisher, Ambleside, UK.
- **POSEIDON (2001-2004)** programme de recherches mené par le CIRSEE (Centre International de Recherche Sur l'Eau et l'Environnement).
- **CWEA E-V- 6 2004.** Détermination de la toxicité chronique par *Daphnia magna* Straus ó Méthode simplifiée (14 ó 16 j).

Références bibliographiques

- **Rafols C., Roses M., Bosch E. 1997.** A comparison between different approaches to estimate the aqueous pKa of several non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Anal Chim Acta* 338, 1276134.
- **Reynolds, C., 1984.** *The Ecology of Freshwater Phytoplankton.* Cambridge University Press.
- **Richardson M. L., Bowron J. M 1985.** The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.*, 37, 1-12.
- **Rodriguez P., Martinez M.M., Cid A., 2006.** Ecotoxicological assessment of effluents in the Basque country (Northern Spain) by acute and chronic toxicity tests using *Daphnia magna straus*. *Ecotoxicology*, 15, 5596572.
- **Sahraoui, A.S., 2016.** L'effet de pH sur la survie, la croissance et la reproduction de *Daphnia magna*.
- **Scheytt T., Mersmann P., Lindstadt R., Heberer T. 2005.** Determination of sorption coefficients of pharmaceutically active substances carbamazepine, diclofenac, and ibuprofen, in sandy sediments. *Chemosphere* 60(2), 245-53.
- **Schwartz S.S., Hebert P.D.N., 1984.** Subgeneric distinction in the genus *Daphnia*: A new diagnostic trait, *Transactions of the American Microscopical Society*, 103, 341-346.
- **Sibly, R.M., Hone, J., 2002.** Population growth rate and its determinants: an overview. *Philos. T. Roy. Soc. B* 357, 115361170.
- **Ternes, T. A. 1998.** Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*, vol. 32, no 11, p. 3245-3260.
- **Ternes, T. A. 2001.** Pharmaceuticals and metabolites as contaminants of the aquatic environment. In: Daughton, C. G. and Jones-Lepp, T. L. (Ed.), *Pharmaceuticals and personal care products in the environment. Scientific and regulatory issues*, American Chemical Society, Washington DC, p. 39-54.
- **Thomas, K. V. et Hilton, M. J., 2004.** The occurrence of selected human pharmaceutical compounds in UK estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 49, no 5-6, p. 436-444.

Références bibliographiques

- **Tixier, C., Singer, H., Oellers, S., Muller, S., 2003.** Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen and naproxen in surface waters. *Environ Sci Technol* 37(6), 1061-68.
- **Touati, L., & Samraoui, B., 2002.** The ecology of *Daphnia chevreuxi* Richard in Northeast Algeria (Crustacea: Anomopoda).
- **US EPA, 2000.** Estimation Program Interface (EPI). Suite, V3.12. USEPA, Office of Pollution.
- **Van coilli E, R., 2005.** Analyse de risques écotoxicologiques (ENV-789). Recueil de notes. Cours d'analyse de risques écotoxicologiques, Centre de formation universitaire en environnement, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, 292 p.
- **Vandegheuchte M. B., Vandebrouck T., De Coninck D. et al., 2010.** Gene transcription and higher-level effects of multigenerational Zn exposure in *Daphnia magna*. *Chemosphere*.
- **Walton, W. E., Compton, S. M., Allan, J. D., & Daniels, R. E., 1982.** The effect of acid stress on survivorship and reproduction of *Daphnia pulex* (Crustacea: Cladocera). *Can. J. Zool.* 60, 573-579.
- **Yalkowsky S.H., Dannenfelser R.M. 1992.** Aquasol database of aqueous solubility. Version 5, College of Pharmacy, University of Arizona ; Tucson, AZ.
- **Yatribi A., Nejmeddine A., 2000.** Ecotoxicity impact of chemical treatment of tannery wastewater: technical-economic analysis, *Revue des Sciences de l'Eau*, 13 (2), 107-118.
- **Zuccato, E., Calamari, D., Natangelo, M. Et Fanelli, R., 2000.** Presence of therapeutic drugs in the environment. *The Lancet*, 9217, 1789-1790.

Annexe

Annexe

Tableau 1 : Test d'ANOVA à un facteur

ANOVA à 1 facteur						
		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
longévité	Inter-groupes	91,880	4	22,970	2,209	0,83
	Intra-groupes	467,900	45	10,398		
	Total	559,780	49			
Taille a la première reproduction	Inter-groupes	46,280	4	11,570	5,521	0,01**
	Intra-groupes	94,300	45	2,096		
	Total	140,580	49			
Nombre de descendant par femelle	Inter-groupes	434,720	4	108,680	9,565	0,00***
	Intra-groupes	511,300	45	11,362		
	Total	946,020	49			
Nombre des pontes	Inter-groupes	13,600	4	3,400	5,688	0,01**
	Intra-groupes	26,900	45	,598		
	Total	40,500	49			
Intervalle de pontes	Inter-groupes	10,530	4	2,633	3,606	0,12
	Intra-groupes	32,850	45	,730		
	Total	43,380	49			
TCS	Inter-groupes	,036	4	,009	4,249	0,05*
	Intra-groupes	,095	45	,002		
	Total	,130	49			
Taux de mortalité	Inter-groupes	35200,000	4	8800,000	4,449	0,04*
	Intra-groupes	89000,000	45	1977,778		
	Total	124200,000	49			

Age a la maturation	Inter-groupes	221,600	4	55,400	2,869	0,34
	Intra-groupes	868,900	45	19,309		
	Total	1090,500	49			
Age a la première ponte	Inter-groupes	368,680	4	92,170	4,341	0,05*
	Intra-groupes	955,500	45	21,233		
	Total	1324,180	49			
Age a la deuxième ponte	Inter-groupes	520,000	4	130,000	4,000	0,07
	Intra-groupes	1462,500	45	32,500		
	Total	1982,500	49			

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

** . La différence moyenne est très significative au niveau 0.01.

***. La différence moyenne est hautement significative au niveau 0.001.

**Tableau 2 : Tests post hoc
Comparaisons multiples**

Test de Tukey							
Variable dépendante	(I) index	(J) index	Différence de moyennes (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95%	
						Borne inférieure	Borne supérieure
longévité	1,00	2,00	1,40000	1,44207	,867	-2,6976	5,4976
		3,00	2,90000	1,44207	,277	-1,1976	6,9976
		4,00	2,30000	1,44207	,508	-1,7976	6,3976
		5,00	4,00000	1,44207	,059	-,0976	8,0976
Taille à la 1ere reproduction	1,00	2,00	,70000	,64739	,815	-1,1395	2,5395
		3,00	1,00000	,64739	,540	-,8395	2,8395
		4,00	1,00000	,64739	,540	-,8395	2,8395
		5,00	2,90000*	,64739	,000	1,0605	4,7395
Nombre de descendants par femelle	1,00	2,00	5,70000*	1,50746	,004	1,4166	9,9834
		3,00	6,90000*	1,50746	,000	2,6166	11,1834
		4,00	6,50000*	1,50746	,001	2,2166	10,7834
		5,00	8,70000*	1,50746	,000	4,4166	12,9834
Nombre des pontes	1,00	2,00	,50000	,34577	,602	-,4825	1,4825
		3,00	,60000	,34577	,423	-,3825	1,5825
		4,00	,80000	,34577	,159	-,1825	1,7825
		5,00	1,60000*	,34577	,000	,6175	2,5825
Intervalle de pontes	1,00	2,00	,60000	,38210	,524	-,4857	1,6857
		3,00	,65000	,38210	,444	-,4357	1,7357
		4,00	,95000	,38210	,112	-,1357	2,0357
		5,00	1,40000*	,38210	,006	,3143	2,4857
TCS	1,00	2,00	,05000	,02051	,124	-,0083	,1083
		3,00	,05900*	,02051	,046	,0007	,1173
		4,00	,03900	,02051	,331	-,0193	,0973
		5,00	,08100*	,02051	,002	,0227	,1393
Taux de mortalité	1,00	2,00	40,00000	19,8885	,277	-16,5124	96,5124
		3,00	60,00000*	19,8885	,032	3,4876	116,5124
		4,00	40,00000	19,8885	,277	-16,5124	96,5124
		5,00	80,00000*	19,8885	,002	23,4876	136,5124
Age a la maturation	1,00	2,00	-,20000	1,96514	1,000	-5,7838	5,3838
		3,00	,20000	1,96514	1,000	-5,3838	5,7838
		4,00	-,20000	1,96514	1,000	-5,7838	5,3838
		5,00	5,20000	1,96514	,079	-,3838	10,7838
Age a la première ponte	1,00	2,00	-,30000	2,06074	1,000	-6,1555	5,5555
		3,00	,20000	2,06074	1,000	-5,6555	6,0555
		4,00	-,20000	2,06074	1,000	-6,0555	5,6555
		5,00	6,70000*	2,06074	,018	,8445	12,5555
Age de la	1,00	2,00	4,30000	2,54951	,452	-2,9443	11,5443

deuxième ponte	3,00	4,10000	2,54951	,500	-3,1443	11,3443
	4,00	6,90000	2,54951	,069	-,3443	14,1443
	5,00	9,70000*	2,54951	,004	2,4557	16,9443
*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.						

Index = les concentrations

1 = témoin

2 = la première concentration 10 mg/l

3 = la deuxième concentration 20 mg/l

4 = la troisième concentration 40 mg/l

5 = la quatrième concentration 80 mg/l

Résumé

Daphnia magna est un cladocère qui est utilisé comme espèce bio-indicatrice pour l'évaluation de la qualité environnementale des écosystèmes aquatiques. L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'effet écotoxique d'un anti-inflammatoire « l'ibuprofène » sur cette espèce qui est exposé pendant 14 jours à des concentrations différentes (10, 20, 40, 80 mg/l d'IB). Au cours de ce test, les observations sont menées pour évaluer la survie, la reproduction et le taux de croissance des individus. Les résultats obtenus révèlent une réduction pour les différents traits de l'histoire de vie de *Daphnia magna* (la survie, la croissance, la longévité, nombre de descendant, la taille des femelles adultes, etc.) et d'autres paramètres ont subi un prolongement comme l'intervalle de ponte et l'âge des femelles à la maturation et à la première et la deuxième reproduction. L'ensemble de ces résultats nous a donné une idée sur la toxicité de ce polluant pour l'écologie de cette espèce et ainsi pour tout l'écosystème d'où l'importance d'utiliser *D magna* comme bio-indicateur.

Mots clés : *Daphnia magna*, anti-inflammatoire, écosystème, effet écotoxiques, bio-indicatrice.

Abstract

Daphnia magna is a cladoceran that is used as a bio-indicator to assess the environmental quality of aquatic ecosystems. The aim of this study is to evaluate the ecotoxic effect of an anti-inflammatory "ibuprofen" on this species which is exposed for 14 days at different concentrations (10, 20, 40, 80 mg/l of IB). During this test, observations are carried out at laboratory to assess survival and reproduction and the growth rate of individuals. The results obtained show a decrease for the various traits of life history of *Daphnia magna* (survival, growth, life span, Number of offsprings, size of females, etc.) and other parameters have been extended as the brood interval, the age of the females at maturity and at the first and second reproduction. All these results gave us an idea of the toxicity of this pollutant for the ecology of this species and thus for the whole ecosystem hence the importance of using *D magna* as a bio-indicator

Key words : *Daphnia magna*, anti-inflammatory, ecosystem, ecotoxic effect, bio-indicator.

Daphnia magna او برغوث الماء يستخدم كمؤشر حيوي لتقييم نوعية البيئة و النظم الإيكولوجية المائية. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الآثار السمية البيئية لمضاد الالتهاب "الإيبوبروفين" حيث ان برغوث الماء تعرض لمدة 14 يوما لتركيزات مختلفة (10، 20، 40، 80 ملغ / لتر). من خلال هذا الاختبار تم اخذ بعض الملاحظات لتقييم بقاء وتكاثر الأفراد ومعدل النمو. أظهرت النتائج انخفاض لمعالم دورة حياة لبرغوث الماء (كالبقاء على قيد الحياة والنمو وطول العمر وعدد المواليد، وحجم الإناث). فيما عرف غيرها من المعالم امتدادا واضحا كسن نضوج الإناث والإنجاب الأول والثاني و المدة التي تفصل الولادات. أعطت كل هذه النتائج لنا فكرة عن سمية هذه الملوثات على دورة الحياة لهذه الأنواع وبالتالي على النظام البيئي بأكمله.

كلمات البحث: *Daphnia magna* , المؤشر الحيوي. ، النظام البيئي، الآثار السمية البيئية، مضاد الالتهاب

Ecotoxicité d'un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien, ibuprofène, sur un organisme aquatique *Daphnia Magna*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en pollution des écosystèmes et Ecotoxicologie

Daphnia magna est un cladocère qui est utilisé comme espèce bio-indicatrice pour l'évaluation de la qualité environnementale des écosystèmes aquatiques. L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'effet écotoxique d'un anti-inflammatoire « l'ibuprofène » sur cette espèce qui est exposé pendant 14 jours à des concentrations différentes (10, 20, 40, 80 mg/l d'IB). Au cours de ce test, les observations sont menées pour évaluer la survie, la reproduction et le taux de croissance des individus. Les résultats obtenus révèlent une réduction pour les différents traits de l'histoire de vie de *Daphnia magna* (la survie, la croissance, la longévité, nombre de descendant, la taille des femelles adultes, etc.) et d'autres paramètres ont subi un prolongement comme l'intervalle de ponte et l'âge des femelles à la maturation et à la première et la deuxième reproduction. L'ensemble de ces résultats nous a donné une idée sur la toxicité de ce polluant pour l'écologie de cette espèce et ainsi pour tout l'écosystème où l'importance d'utiliser *D magna* comme bio-indicateur.

Mots clés : *Daphnia magna*, anti-inflammatoire, écosystème, effet écotoxiques, bio-indicatrice.

Laboratoire de recherche : Biologie et Environnement

Jury d'évaluation :

Président du jury : AFRI-MEHENNAOUI Fatima Zohra (MCA- UFM Constantine).
Rapporteur : TOUATI La d (MCA - UFM Constantine).
Examineur : ZAIMECHE Sa da (MCB - UFM Constantine).

Date de soutenance : 28/06/2017