

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE DES SCIENCES DE LA MER ET DE
L'AMÉNAGEMENT DU LITTORAL



En vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur

Option : Biotechnologie Marine

Par : **BENAMER Hanane**

THÈME

**Évaluation de la résistance aux métaux lourds et du
potentiel d'élimination du chrome hexavalent chez des
bactéries d'origines marines : Projet de mise en place d'un
procédé de traitement des effluents riches en chrome**

Soutenue publiquement le : 08/07/2024 devant le jury composé de :

M. DAHMANI A.	MCB, à ENSSMAL	Président
Mme. DJAHNIT N.	MCA, à ENSSMAL	Examinatrice
Mme. ALOUACHE S.	Professeur, à ENSSMAL	Promotrice

Dédicace

À mon père bien-aimé,

Papa, tu es mon héros silencieux. Chaque ligne de ce mémoire porte l'empreinte de ta force et de ta sagesse. Tes mains calleuses m'ont appris la valeur du travail, ton regard bienveillant m'a montré le chemin de l'intégrité. Dans les moments de doute, c'est ton courage qui m'a porté. Tu m'as appris à me relever après chaque chute, à rire face à l'adversité. Papa, ces pages sont le reflet de la femme que tu as façonné, avec patience et amour. Je te dédie ce mémoire, fruit de tes enseignements et de ton amour inconditionnel.

À ma tendre mère,

Maman, tu es la mélodie de mon cœur, la lumière de mes jours les plus sombres. Ce travail est né de tes berceuses, de tes câlins réconfortants, de ton amour infini. Chaque mot est imprégné de ta douceur, chaque page respire ta compassion. Tu m'as appris à voir la beauté dans les petites choses, à aimer sans condition, à rêver sans limites. Tes sacrifices silencieux, tes nuits blanches à mon chevet, tes encouragements incessants ont fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Maman, ce mémoire t'est dédié, comme un bouquet de mots pour exprimer l'inexprimable : mon amour pour toi.

À mes chères tantes Houria et Nadia, mes secondes mamans,

Vous avez été là, toujours présentes, comme des anges gardiens veillant sur moi. Vos petits plats réconfortants, vos mots d'encouragement, vos étreintes apaisantes - chaque geste d'amour a façonné la personne que je suis devenue. Merci d'avoir été ces phares dans ma vie, ces mamans de cœur qui ont su m'aimer, me guider, et croire en moi, même quand je doutais. Votre amour est la plus belle des inspirations.

À ma sœur et mon frère Loubna et Youcef, mes complices de toujours,

Dans le grand livre de ma vie, vous êtes les chapitres les plus précieux, les plus remplis de rires, de larmes partagées et de souvenirs indélébiles. Ensemble, vous avez coloré ma vie de mille nuances. Nos fous rires interminables, nos secrets chuchotés tard dans la nuit, nos batailles d'oreillers et nos réconciliations sincères ont tissé la toile de notre complicité. Merci d'être mes premiers amis, mes alliés de toujours, les gardiens de mes souvenirs les plus chers.

À Saida, ma meilleure amie, ma sœur de cœur,

Cinq années d'école, une éternité d'amitié. Saida, tu es entrée dans ma vie comme un rayon de soleil perce les nuages, illuminant chaque instant de ta présence. Tu as été là, toujours. Dans les fous rires au fond de la classe, dans les larmes essuyées en cachette, dans les rêves partagés sous les étoiles. Tu as tenu ma main dans les moments de doute, porté mes espoirs quand ils étaient trop lourds pour moi seule. Notre amitié a grandi entre les murs de l'école, mais elle a fleuri bien au-delà. Tu es mon miroir, celle qui me connaît mieux que je ne me connais moi-même. Avec toi, j'ai appris la vraie signification de l'amitié : inconditionnelle, sincère, éternelle. Merci d'être toi, merci d'être là, hier, aujourd'hui et demain.

À Khawla, ma confidente, mon havre de paix,

Il y a des rencontres qui changent une vie. La nôtre, bien que récente, a bouleversé mon monde. En seulement une année, tu es devenue l'amie que j'ai toujours rêvé d'avoir, Tu es arrivée dans ma vie comme une brise fraîche un jour d'été, apportant avec toi la promesse d'une amitié vraie et profonde. Avec toi, les mots coulent librement, les pensées s'expriment sans crainte. Tu as créé un espace où je peux être entièrement moi-même, sans masque, sans peur d'être jugée. Merci d'être ce miroir bienveillant qui me renvoie la meilleure version de moi-même. Merci d'accueillir mes pensées les plus folles, mes rêves les plus fous sans jamais les juger. Tu es la preuve vivante que la qualité d'une amitié ne se mesure pas au temps, mais à la profondeur de la connexion.

À toi, mon étoile parmi les étoiles,

Ces mots te sont dédiés, à toi qui as illuminé mon monde de ta présence. À toi qui connais mon cœur mieux que quiconque, qui lit en moi comme dans un livre ouvert, je dédie ces pages. Elles sont le reflet de ce que ton amour a fait fleurir en moi. Merci d'être là, simplement, magnifiquement. Merci pour ton amour qui me porte et me transforme chaque jour.

Remerciements

Ce travail rentre dans le cadre des axes de recherche de l'équipe Microbiologie-Biotechnologie marine du laboratoire conservation et valorisation des ressources marines (LCVRM). Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au **Pr. ALOUACHE Souhila**, ma promotrice, pour son soutien indéfectible, ses conseils avisés et son encadrement précieux tout au long de ce travail. Ses encouragements et sa disponibilité ont été d'une grande aide pour mener à bien ce mémoire.

Je remercie également les membres du jury, et plus particulièrement le président Monsieur KADA M., pour avoir accepté de présider ce jury, et l'examinatrice Madame DJAHNIT N., pour avoir accepté d'examiner mon travail avec attention et rigueur.

Un remerciement tout particulier à **M. DJERRAI Nouredine**. pour son implication exceptionnelle dans ce projet. Sa présence constante, sa patience infinie, et sa bienveillance ont été des sources de motivation et d'inspiration inestimables. Son soutien Incontestable, tant sur le plan technique que moral, a été essentiel pour surmonter les défis rencontrés au cours de ce parcours. Sa persévérance et son enthousiasme contagieux ont été d'un grand réconfort et m'ont permis de garder le cap même dans les moments les plus difficiles. Je lui suis profondément reconnaissante pour tout ce qu'il a apporté à ce projet.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance aux chefs de service des laboratoires de l'ENSSMAL **M. MAATOUK Y.** et **Mme REFES N.** ainsi qu'aux ingénieurs de laboratoires **Mme GUERROUMI H.** et **M. AROUA M.** pour leur soutien technique et leur collaboration.

Enfin, à toutes les personnes qui ont, de près ou de loin, participé à la réalisation de ce travail, je vous remercie chaleureusement.

Sommaire

Dédicace

Remerciements

Liste des Tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction	1
I Synthèse Bibliographique	4
I.1 Les métaux lourds	4
I.1.1 Définition	4
I.1.2 Origine des métaux lourds	4
I.1.3 Toxicité des métaux lourds	5
I.2 Tolérance et résistance des bactéries aux métaux lourds	6
I.3 Antibio-résistance et métallo-résistance	8
I.4 La bioremédiation	8
I.5 Cas du Chrome	10
I.5.1 Propriétés physique du Chrome	10
I.5.2 Propriétés chimiques	11
I.5.3 Les sources du Chrome	12
I.5.3.1 Les sources naturelles	12
I.5.3.2 Les sources anthropiques	12
I.5.4 Toxicité du Chrome	12
I.5.5 Toxicité du Chrome pour l'homme	13
I.5.6 La réglementation	14
I.5.7 Procédés d'élimination du Chrome	15
I.5.7.1 Procédés physico-chimiques	15
I.5.7.2 Procédés biologiques	16

II Matériel et Méthodes	19
II.1 Matériel	19
II.2 Site d'étude et d'échantillonnage	19
II.2.1 Oued El Harrach	20
II.2.2 Oued El Hamiz	20
II.3 Évaluation de la qualité bactériologique des échantillons d'eau	22
II.3.1 Mode opératoire	22
II.3.2 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	22
II.3.3 Dénombrement des coliformes totaux	22
II.3.4 Dénombrement des coliformes fécaux ou thermotolérants	23
II.3.5 Dénombrement des Entérocoques (ex streptocoques fécaux)	23
II.4 Évaluation de la résistance bactérienne aux métaux lourds	25
II.5 Purification et conservation des souches résistantes aux métaux lourds	25
II.5.1 Identification et caractérisation des bactéries résistantes	26
II.5.1.1 La coloration de GRAM	26
II.5.1.2 Identification biochimique	27
II.5.1.3 Identification des cocci à Gram positif	30
II.6 Détermination du profil de résistance aux métaux lourds des souches bactériennes isolées par la méthode de dilution en milieu gélosé	31
II.7 Étude de la résistance associée des bactéries aux antibiotiques	31
II.7.1 Technique de l'antibiogramme	32
II.8 Essai d'élimination du chrome par des souches résistantes aux métaux lourds (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>)	32
II.8.1 Expérimentation réalisée	33
II.8.2 Dosage du Chrome VI par la méthode colorimétrique	33
III Résultats & Discussion	35
III.1 Qualité bactériologique des échantillons d'eau prélevés	35
III.2 Prévalence de la résistance bactérienne aux métaux lourds	37
III.3 Identification et caractérisation des souches résistantes	38
III.3.1 Résultats de la coloration de Gram	38
III.3.2 Résultats de l'identification des bactéries Gram- par Galerie API20E	40
III.3.2.1 Résultats de l'identification des Gram+	43
III.4 Détermination du profil de résistance des bactéries aux métaux lourds	45
III.5 Profil de résistance associée aux antibiotiques des souches résistantes aux métaux lourds	48

III.6	Résultat de l'essai d'élimination du chrome par des souches résistantes aux métaux lourds ; Cas de <i>Klebsiella pneumoniae subsp. Rhinoscleromatis (Hz(4))</i>	51
III.6.1	Effet du pourcentage de l'inoculum et de la concentration initiale du Cr VI sur la croissance bactérienne	51
III.6.2	Effet du pourcentage de l'inoculum et de la concentration initiale de Cr VI sur l'élimination du Cr VI	55
III.6.3	Effet du pH sur la croissance bactérienne	57
III.6.4	Effet du pH sur l'élimination du Cr VI	59
III.7	Résultat de l'essai d'élimination du chrome par des souches résistantes aux métaux lourds ; Cas de <i>Staphylococcus aureus (Hr st)</i>	61
III.7.1	Effet du pourcentage d'inoculum et de la concentration initiale de Cr(VI) sur la croissance bactérienne	61
III.7.2	Effet du pourcentage de l'inoculum et de la concentration initiale de Cr (VI) sur l'élimination du Cr (VI)	66
III.7.3	Effet du pH sur la croissance bactérienne	68
III.7.4	Effet du pH sur l'élimination du Cr(VI)	71
III.8	Résultat de l'essai d'élimination du chrome par des souches résistantes aux métaux lourds ; Cas de <i>Pseudomonas aeruginosa (Hr1)</i>	73
III.8.1	Effet du pourcentage de l'inoculum et la concentration initiale du Cr(VI) sur la croissance bactérienne	73
III.8.2	Effet de l'inoculum et de la concentration initiale du Cr(VI) sur l'élimination du Cr(VI)	77
III.8.3	Effet du pH sur la croissance bactérienne	79
III.8.4	Effet du pH sur l'élimination du Cr(VI)	81
	Conclusion Générale	87
	Références Bibliographiques	90
	Annexes	I
.1	Annexe A	I
.2	Annexe B	II
.3	Annexe C	IV
.4	Annexe D	VI
	Résumé	VII

Liste des tableaux

I.1	Sources anthropogéniques de quelques métaux lourds (Hazrat et al., 2013)	5
I.2	Propriétés physico-chimiques du chrome (Banu and Ramaswamy, 1997)	11
I.3	Effet du Cr(VI) sur la santé de l'Homme.	14
II.1	Matériel utilisé	19
II.2	Formes d'oxydation des métaux utilisés	25
II.3	Les différents antibiotiques testés	32
III.1	Normes Algériennes des eaux de baignades, JORADP,1993	35
III.2	Résultats de la Coloration de GRAM, l'Oxydase et la catalase de 35 souches résistantes aux métaux lourds	39
III.3	Résultat de l'identification de 35 souches résistantes aux métaux lourds	44
III.4	Profil de 15 souches résistantes aux métaux lourds isolées, les concentrations sont en ($\mu\text{g/ml}$)	46
III.5	profil de résistances des 15 souches aux 8 antibiotiques testés	48
6	Concentrations et DO des solutions étalons	I

Liste des figures

I.1	Les voies de contamination des aliments par les métaux (Adriano et al., 2001).	6
I.2	Voies d'exposition et sites potentiels d'accumulation des métaux chez l'homme (Adriano et al., 2001).	7
I.3	Co-sélection de résistance aux métaux lourds et à l'imipinème chez les bactéries à Gram négatif (Baker-Austin et al., 2006)	9
I.4	Schématisation des interactions entre métaux et bactéries (adaptée de Ledin, 2000). S : groupement réactif présent sur la paroi bactérien. Me^{2+} : un cation métallique. Org : un composé organique	9
I.5	Toxicité et mutagénicité du Cr (VI) dans la cellule (Cheung et Gu, 2007).	13
II.1	Situation géographique des points de prélèvement (BENAMER H, 2024)	21
II.2	Système de filtration sur membrane.	22
II.3	Schéma représentatif des étapes de détermination de la flore totale (FMAT) et les germes de contamination fécale par filtration sur membrane.(BENAMER H, 2024)	24
II.4	caractérisation de la paroi des Gram - et Gram +	27
II.5	Observation au microscope optique de bactérie (a) bacille Gram-, (b) cocci Gram+ (BENAMER H, 2024)	27
II.6	Les étapes d'ensemencement d'une Galerie API20E (BENAMER, 2024)	29
II.7	Les étapes de la réalisation du test de la Coagulase (BENAMER, 2024)	31
III.1	Dénombrement de la FMAT dans les échantillons des embouchures de Oued El Harrach et Oued El Hamiz	35
III.2	Dénombrement des coliformes totaux dans les échantillons des embouchures de Oued El Harrach et Oued El Hamiz	35
III.3	Dénombrement des coliformes fécaux dans les embouchures de Oued El Harrach et Oued El Hamiz	35
III.4	Dénombrement des streptocoques fécaux dans les embouchures de Oued El Harrach et Oued EL Hamiz	35
III.5	Taux de résistance aux métaux lourds chez la flore totale des embouchures d'Oued El Harrach et Oued El Hamiz	37
III.6	Répartition des bactéries résistantes aux métaux lourds selon le Gram	38
III.7	Illustration des résultats des galeries API20E	41
III.8	Suite illustration des résultats des galeries API20E	42
III.9	Colonies jaune sur gélose Chapman	43

III.10	Test Catalase (+) en (A), Test Coagulase (+) en (B)	43
III.11	Illustration des résultats de la multirésistance des souches (cas du cadmium)	46
III.12	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH5 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en absence du Chrome . .	51
III.13	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH5 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 100mg/l de Chrome	51
III.14	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH5 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 200mg/l de Chrome	51
III.15	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH7 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en absence du Chrome . .	51
III.16	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH7 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 100mg/l de Chrome	52
III.17	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH7 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 200mg/l de Chrome	52
III.18	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH9 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en absence du Chrome . .	52
III.19	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH9 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 100mg/l de Chrome	52
III.20	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH9 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 200mg/l de Chrome	52
III.21	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH7 pour un inoculum de 1%	53
III.22	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH7 pour un inoculum de 5%	53
III.23	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH7 pour un inoculum de 10%	53
III.24	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH5 pour un inoculum de 1%	53
III.25	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH5 pour un inoculum de 5%	54

III.26	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH5 pour un inoculum de 10%	54
III.27	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH9 pour un inoculum de 1%	54
III.28	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH9 pour un inoculum de 5%	54
III.29	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à DO=600nm à pH9 pour un inoculum de 10%	55
III.30	Suivie de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 100mg/l par <i>Klebsiella pneumoniae</i> à différents pourcentages d'inoculum et à pH 7	55
III.31	Suivie de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 200mg/l par <i>Klebsiella pneumoniae</i> à différents pourcentages d'inoculum et à pH 7	55
III.32	Suivie de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 100mg/l par <i>Klebsiella pneumoniae</i> à différents pourcentages d'inoculum et à pH 5	56
III.33	Suivie de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 200mg/l par <i>Klebsiella pneumoniae</i> à différents pourcentages d'inoculum et à pH 5	56
III.34	Suivie de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 100mg/l par <i>Klebsiella pneumoniae</i> à différents pourcentages d'inoculum et à pH 9	56
III.35	Suivie de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 200mg/l par <i>Klebsiella pneumoniae</i> à différents pourcentages d'inoculum et à pH 9	56
III.36	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> pour un inoculum de 1% et en absence de Cr	57
III.37	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> pour un inoculum de 1% et en présence de 100mg/l de Cr	57
III.38	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> pour un inoculum de 1% et en présence de 200mg/l de Cr	57
III.39	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> pour un inoculum de 5% et absence de Cr	57
III.40	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> pour un inoculum de 5% et présence de 100mg/l de Cr	58
III.41	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> pour un inoculum de 5% et présence de 200mg/l de Cr	58
III.42	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> pour un inoculum de 10% et en absence de Cr	58
III.43	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> pour un inoculum de 10% et en présence de 100mg/l de Cr	58

III.44	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae</i> pour un inoculum de 10% et en présence de 200mg/l de Cr	59
III.45	Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par <i>Klebsiella pneumoniae</i> en présence d'inoculum 1%	60
III.46	Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par <i>Klebsiella pneumoniae</i> en présence d'inoculum 1%	60
III.47	Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par <i>Klebsiella pneumoniae</i> en présence d'inoculum 5%	60
III.48	Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par <i>Klebsiella pneumoniae</i> en présence d'inoculum 5%	60
III.49	Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par <i>Klebsiella pneumoniae</i> en présence d'inoculum 10%	60
III.50	Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par <i>Klebsiella pneumoniae</i> en présence d'inoculum 10%	60
III.51	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence du Cr	61
III.52	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l de Cr	61
III.53	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr	62
III.54	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence du Cr	62
III.55	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l de Cr	62
III.56	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr	62
III.57	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence du Cr	63
III.58	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l de Cr	63
III.59	Suivie de la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr	63
III.60	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 1%	64
III.61	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 5%	64

III.62	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 10%	64
III.63	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 1%	64
III.64	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 5%	65
III.65	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 10%	65
III.66	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 1%	65
III.67	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 5%	65
III.68	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 10%	66
III.69	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par <i>Staphylococcus aureus</i> et à différents pourcentages d'inoculum à pH 5	66
III.70	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par <i>Staphylococcus aureus</i> et à différents pourcentages d'inoculum à pH 5	66
III.71	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par <i>Staphylococcus aureus</i> et à différents pourcentages d'inoculum à pH 7	67
III.72	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par <i>Staphylococcus aureus</i> et à différents pourcentages d'inoculum à pH 7	67
III.73	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par <i>Staphylococcus aureus</i> et à différents pourcentages d'inoculum à pH 9	67
III.74	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par <i>Staphylococcus aureus</i> et à différents pourcentages d'inoculum à pH 9	67
III.75	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> en absence de Cr et un inoculum de 1%	68
III.76	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de 100mg/l de Cr et un inoculum de 1%	68
III.77	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de 200mg/l de Cr et un inoculum de 1%	68
III.78	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> en absence de Cr et un inoculum de 5%	68
III.79	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de 100mg/l de Cr et un inoculum de 5%	69

III.80	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de 200mg/l de Cr et un inoculum de 5%	69
III.81	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> en absence de Cr et un inoculum de 10%	69
III.82	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de 100mg/l de Cr et un inoculum de 10%	69
III.83	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de 200mg/l de Cr et un inoculum de 10%	70
III.84	Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par <i>Staphylococcus aureus</i> en présence d'inoculum 1%	71
III.85	Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par <i>Staphylococcus aureus</i> en présence d'inoculum 1%	71
III.86	Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par <i>Staphylococcus aureus</i> en présence d'inoculum 5%	71
III.87	Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par <i>Staphylococcus aureus</i> en présence d'inoculum 5%	71
III.88	Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par <i>Staphylococcus aureus</i> en présence d'inoculum 10%	72
III.89	Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par <i>Staphylococcus aureus</i> en présence d'inoculum 10%	72
III.90	Suivie de la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence de Cr	73
III.91	Suivie de la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l de Cr	73
III.92	Suivie de la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr	73
III.93	Suivie de la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence de Cr	73
III.94	Suivie de la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l de Cr	74
III.95	Suivie de la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr	74
III.96	Suivie de la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence de Cr	74
III.97	Suivie de la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l deCr	74

III.98	Suivie de la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr	75
III.99	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 1%	75
III.100	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 5%	75
III.101	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 10%	76
III.102	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 1%	76
III.103	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 5%	76
III.104	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 10%	76
III.105	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 1%	76
III.106	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 5%	76
III.107	Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> à DO=600 nm à pH 9 pour un inoculum de 10%	77
III.108	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par <i>P. aeruginosa</i> à pH 5 et à différents pourcentage d'inoculum	77
III.109	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par <i>P. aeruginosa</i> à pH 5 et à différents pourcentage d'inoculum	77
III.110	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par <i>P. aeruginosa</i> à pH 7 et à différents pourcentage d'inoculum	78
III.111	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par <i>P. aeruginosa</i> à pH 7 et à différents pourcentage d'inoculum	78
III.112	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par <i>P. aeruginosa</i> à pH 9 et à différents pourcentage d'inoculum	78
III.113	Suivie de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par <i>P. aeruginosa</i> à pH 9 et à différents pourcentage d'inoculum	78
III.114	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> en absence de Cr et inoculum 1%	79
III.115	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> en présence de 100mg/l de Cr et inoculum 1%	79

III.11	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> en présence de 100mg/l de Cr et inoculum 1%	79
III.11	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> en absence de Cr et inoculum 5%	79
III.11	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> en présence de 100mg/l de Cr et inoculum 5%	80
III.11	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> en présence de 200mg/l de Cr et inoculum 5%	80
III.12	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> en absence de Cr et inoculum 10%	80
III.12	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> en présence de 100mg/l de Cr et inoculum 10%	80
III.12	Effet du pH sur la croissance bactérienne de <i>P. aeruginosa</i> en présence de 200mg/l de Cr et inoculum 10%	80
III.12	Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par <i>P. aeruginosa</i> en présence d'inoculum de 1%	81
III.12	Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par <i>P. aeruginosa</i> en présence d'inoculum de 1%	81
III.12	Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par <i>P. aeruginosa</i> en présence d'inoculum de 5%	81
III.12	Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par <i>P. aeruginosa</i> en présence d'inoculum de 5%	81
III.12	Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par <i>P. aeruginosa</i> en présence d'inoculum de 10%	82
III.12	Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par <i>P. aeruginosa</i> en présence d'inoculum de 10%	82
129	Courbe d'étalonnage du Chrome (Cr)	I

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
AK : Amikacine
AM : Ampicilline
As : Arsenic
B : Bacitracine
BHIB : Bouillon cœur-cervelle
BLSE : Bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi
BMR : Bactérie Multi résistante aux Antibiotiques
CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française
CAZ : Ceftazidim
Cd : Cadmium
Cr : Chrome
Cr(VI) : Chrome hexavalent
 Cr^{2+} : Chrome divalent
 Cr^{3+} : Chrome trivalent
 Cr^{6+} : Chrome hexavalent
Cu : Cuivre
CX : Cloxacillin
DO : Densité Optique
Fe : Fer
FMAT : Flore Mésophile Aérobie Totale
GM : Gentamicine
 H^+ : Proton
Hg : Mercure
 Me^{2+} : Cation métallique
MH : gélose Mueller-Hinton
NADPH : Nicotinamide adénine dinéclotide phosphate
Ni : Nickel
Org : Composé organique
Pb : Plomb
Ph : Potentiel d'Hydrogène
PVA : L'alcool polyvinylique
ROS : Espèce réactif de l'oxygène
Rpm : Tours par minute
Te : Tétracycline

TMP : Triméthoprim

Tr : Taux de réduction

UFC : Unité Formant Colonie

US EPA : Agence de la Protection de l'Environnement des États-Unis

Zn : Zinc

Introduction

Introduction

La croissance démographique associée à l'évolution vers des modes de vie plus sophistiqués intensifie la demande de produits industriels de haute qualité de manière remarquable, par conséquent un volume considérable d'eaux usées, émanant des secteurs industriels, est déversé dans les canaux, soit sans traitement, soit après un traitement insuffisant, induisant ainsi à une contamination de l'eau. Parmi les polluants présents dans ces eaux usées rejetées, les métaux lourds.

Les éléments métalliques lourds, incluant le plomb, le mercure, le cuivre, le zinc et le chrome, présentent une problématique environnementale persistante due à leur nature non biodégradable. Leur présence dans les écosystèmes s'étend sur de longues périodes, exacerbée par l'apport continu provenant de diverses sources anthropiques. L'accumulation progressive de ces métaux dans l'environnement pose des risques significatifs pour la santé humaine et animale. Au niveau microscopique, ces contaminants métalliques exercent également des impacts délétères sur les communautés bactériennes.

Cette perturbation à l'échelle microbienne peut avoir des répercussions plus larges sur le fonctionnement global des écosystèmes, altérant potentiellement les cycles biogéochimiques et les services écosystémiques essentiels (Nhari *et al.*, 2014).

La présence de métaux lourds dans les écosystèmes aquatiques exerce une pression sélective significative sur les communautés microbiennes, favorisant l'émergence et la propagation de bactéries résistantes (Seiler et Berendonk, 2012). Face à ces conditions environnementales stressantes, les bactéries ont développé une variété de mécanismes de résistance sophistiqués pour assurer leur survie et leur prolifération. La dissémination de ces mécanismes de résistance au sein des populations bactériennes est facilitée par le transfert horizontal de gènes, principalement via des éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les transposons et les intégrons (Baker-Austin *et al.*, 2006). Ce processus de transfert génétique accélère l'adaptation des communautés microbiennes aux environnements contaminés par les métaux lourds et peut également contribuer à la co-sélection de résistances aux antibiotiques, représentant ainsi un défi majeur pour la santé publique (Di Cesare *et al.*, 2016).

Il est essentiel de souligner que la résistance bactérienne aux métaux lourds ne se limite pas à un simple mécanisme de survie, mais ouvre également la voie à des applications biotechnologiques innovantes. Traditionnellement, l'élimination des métaux lourds repose sur diverses techniques physico-chimiques. Gupta & Diwan (2017) recensent une gamme de méthodes couramment utilisées, incluant la coagulation, la précipitation chimique, l'électrodialyse, la récupération par évaporation, la flottation, la floculation, l'échange d'ions, la nanofiltration, l'osmose inverse et l'ultrafiltration. D'autres approches, telles que l'extraction, la stabilisation, l'immobilisation et le lavage des sols, complètent cet arsenal de traitement. Cependant, Selatnia *et al.* (2004) soulignent que malgré leur efficacité, ces méthodes présentent des inconvénients significatifs. Elles sont généralement onéreuses, nécessitant une consommation importante d'énergie et de réactifs chimiques. De plus,

elles génèrent souvent des sous-produits secondaires toxiques, ce qui soulève des préoccupations environnementales supplémentaires et justifie la recherche d'alternatives plus durables.

La bioremédiation bactérienne des effluents industriels chargés en métaux lourds s'impose comme une alternative prometteuse aux méthodes physico-chimiques conventionnelles, offrant une approche plus durable et économiquement viable. Les microorganismes adaptés, facilement cultivables et peu coûteux à mettre en œuvre, démontrent une remarquable efficacité dans la séquestration, la transformation et la dégradation des contaminants métalliques (**Ayangbenro & Babalola, 2017**). Les processus microbiens, réalisables *in situ*, réduisent considérablement les coûts opérationnels et l'impact environnemental (**Dixit et al., 2015**). Des souches bactériennes résistantes comme *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Cupriavidus* ont prouvé leur capacité à éliminer efficacement une large gamme de métaux toxiques des eaux usées industrielles (**Saha et al., 2017; Ojuederie & Babalola, 2017**). Cette approche biotechnologique va au-delà du simple traitement des effluents en offrant la possibilité de récupérer des métaux précieux, ajoutant ainsi une dimension de valorisation économique au processus de dépollution (**Fomina & Gadd, 2014**).

Suite à ces perspectives prometteuses en bioremédiation bactérienne, notre étude vise à évaluer la tolérance aux métaux lourds des bactéries isolées de milieu marin influencé par l'anthropisation, et d'évaluer le potentiel de certaines d'entre elles pour réduire le chrome hexavalent. Ce métal est particulièrement ciblé en raison de la pollution croissante due aux rejets des tanneries, des industries de galvanoplastie, de la production d'acier inoxydable et de la fabrication de pigments et de peintures. Ces activités industrielles contribuent de manière significative à la contamination environnementale par le chrome hexavalent, ce qui souligne l'urgence de développer des solutions de bioremédiation efficaces et durables pour ce polluant extrêmement toxique et mobile dans l'environnement. Dans le cadre de cette étude, les objectifs se divisent en deux volets principaux :

1. Évaluation et caractérisation de la résistance aux métaux lourds des bactéries isolées du milieu marin.
2. Exploration du potentiel des souches résistantes dans l'élimination du chrome hexavalent, en étudiant l'influence de plusieurs paramètres.

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur les métaux lourds, en abordant leur toxicité, leur persistance environnementale, leurs impacts néfastes sur les écosystèmes aquatiques, les mécanismes de résistance bactérienne, et l'importance des techniques de bioremédiation pour atténuer cette pollution industrielle.

Le deuxième chapitre expose le matériel et méthodes mis en œuvre couvrant l'analyse de la charge bactérienne des sites étudiés, l'évaluation de la résistance aux métaux lourds, l'identification et la caractérisation des isolats résistants aux métaux lourds, ainsi que l'évaluation de leur capacité à biorémédier le chrome hexavalent dans diverses conditions.

Le troisième chapitre présente et discute les résultats obtenus.

Le travail se conclura par une synthèse générale des résultats et une discussion sur les perspectives futures de la recherche.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I.1 Les métaux lourds

I.1.1 Définition

Les métaux lourds sont des éléments métalliques dont la masse volumique dépasse 5 g/cm³. Ceux-ci sont le plus souvent présents dans l'environnement sous forme de traces : mercure, le plomb, le cadmium, le cuivre, l'arsenic, le nickel, le zinc, le cobalt et le manganèse (**Arris, 2008**).

Du point de vue biologique, nous distinguons deux types de métaux, selon leurs effets physiologiques et toxiques :

- Les métaux essentiels ou oligoéléments sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (**Loué, 1993**). Certains peuvent devenir toxiques lorsqu'ils dépassent un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), nickel (Ni), zinc (Zn), fer (Fe).
- Les métaux non essentiels ou toxiques, sont les métaux qui ne sont pas utilisés par les organismes vivants dans leur processus vital comme le : Cd, Pb, As, Hg et Cr (**Dabonne et al., 2010**).

I.1.2 Origine des métaux lourds

Les métaux lourds rejoignent l'environnement à partir de sources naturelles et anthropiques.

Sources naturelles : Les roches et les sols sont les principales sources naturelles de métaux lourds dans l'environnement, par altération physique et chimique des minéraux, avec les facteurs de l'érosion et des activités volcaniques (**Bradl, 2005**).

Sources anthropiques : les activités minières, les fonderies, de la galvanoplastie, l'utilisation des pesticides et des engrais phosphatés ainsi que les biosolides en agriculture, boues d'épuration, les rejets industriels et les dépôts atmosphériques, etc (**Wuana et Okieimen, 2011**).

TABLEAU I.1 – Sources anthropogéniques de quelques métaux lourds (**Hazrat et al., 2013**)

Métaux lourds	Sources
As(métalloïde)	Pesticides et préservation du bois
Cd	Peinture et pigment, stabilisant de plastique, fertilisants, phosphates ...etc
Cr	Tannerie, industries textile, pesticides, fertilisants...etc
Cu	Pesticides, fertilisants
Hg	Combustion de charbon, déchets médicaux, activités minières
Ni	Effluents industriels, instruments chirurgicaux, batteries d'automobile
Pb	Combustion de carburant à plomb, batteries, herbicides et insecticides.

I.1.3 Toxicité des métaux lourds

Des concentrations élevées en métaux lourds, dépassant les seuils limites tolérables, peuvent provoquer des effets néfastes sur la santé et perturber le fonctionnement normal des systèmes vivants (**Rodrigues et al., 2012**).

- **Impact sur l'environnement**

La présence des métaux lourds dans l'air, le sol et l'eau représente une menace pour l'environnement et la santé humaine. Les métaux lourds ont un long temps de séjour dans l'environnement, une longue demi-vie biologique. D'autre part, l'introduction des métaux lourds, sous diverses formes dans l'environnement, peut produire des modifications considérables dans les communautés microbiennes et leurs activités (**Nithya et al., 2011**).

L'eau transporte les métaux lourds, qui, même en quantités infimes, deviennent toxiques par bioaccumulation dans les organismes vivants. Ces métaux se fixent sur les minéraux argileux et les hydroxydes de fer et de manganèse, ou sont absorbés par les algues à la base des chaînes alimentaires. Ces métaux lourds peuvent s'accumuler à des niveaux trophiques supérieurs dans les chaînes alimentaires, provoquant ainsi des dommages (**Kaimoussi et al., 2005**).

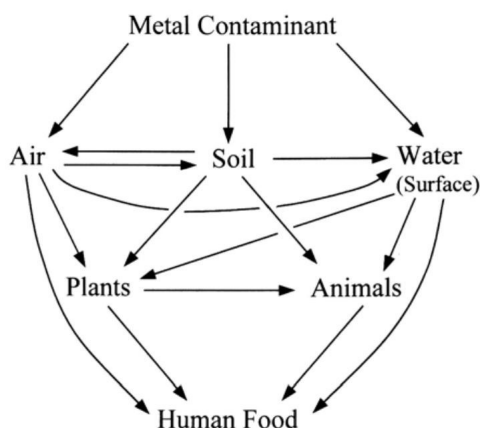


FIG. I.1 – Les voies de contamination des aliments par les métaux (Adriano et al., 2001).

• Impact sur la santé humaine

Les métaux lourds, même à de très faibles concentrations, sont toxiques et peuvent avoir des effets néfastes sur la santé humaine, notamment en contaminant les chaînes alimentaires. Ils provoquent un stress oxydatif en générant des radicaux libres, ce qui augmente la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ce déséquilibre dans la balance prooxydant/antioxydante des cellules peut entraîner des dommages cellulaires et conduire à la mort cellulaire. La contamination par les métaux lourds nécessite donc une attention particulière en raison de ses conséquences graves pour la santé humaine (**Memon et Schröder, 2009** ; **Sánchez-Chardi et al., 2009**). En effet, ces métaux toxiques s'accumulent dans l'organisme, perturbant son fonctionnement interne et réduisant la capacité des personnes à réagir et à s'adapter aux différentes situations. Certains métaux lourds sont connus pour leurs effets tératogènes, pouvant causer des malformations congénitales, tandis que d'autres peuvent altérer la fertilité. Ainsi, la présence de ces contaminants met en péril les fonctions vitales de l'être humain (**Sisca et al., 2009**).

• Impact sur les microorganismes

Les bactéries, aussi bien que les virus peuvent subir les effets des métaux lourds. L'interaction entre les bactéries et les métaux lourds a principalement été étudiée dans des environnements extrêmes. La nature de ces interactions dépend du rôle biologique du métal dans la cellule. Certains métaux lourds, comme le nickel (Ni), le cobalt (Co), le zinc (Zn) et le fer (Fe), sont des cofacteurs essentiels pour la stabilité ou la conformation de certaines protéines, mais ils deviennent toxiques à des concentrations élevées (**Monchy, 2007**).

I.2 Tolérance et résistance des bactéries aux métaux lourds

Gadd (1992) définit la tolérance comme la capacité d'un organisme à gérer la toxicité des métaux grâce à ses propriétés intrinsèques. En revanche, il décrit la résistance comme la capacité de sur-

2011). Ils possèdent en effet différentes capacités leur permettant d'éliminer, immobiliser et rendre inoffensifs les métaux lourds et radionucléides (**Ji et Silver, 1995**). Plusieurs processus microbiens sont impliqués dans la détoxification des métaux lourds, notamment des réactions d'oxydation, de réduction, de complexation, de méthylation, ainsi que des réactions faisant intervenir des biosurfactants (**Alam et Ahmad, 2011**).

I.3 Antibio-résistance et métallo-résistance

L'augmentation de l'antibiorésistance ne résulte pas uniquement d'un usage correct ou incorrect des antibiotiques par l'homme. D'autres activités anthropogène peuvent aussi y contribuer. Certains polluants environnementaux comme les métaux lourds, très persistants et non biodégradables, issus de diverses activités humaines, représentent en effet une réelle menace à la fois toxicologique et écologique. La pollution par les métaux pourrait donc jouer un rôle majeur dans la persistance et la dissémination de la résistance aux antibiotiques (**Baker-Austin et al., 2006**).

Les souches bactériennes à Gram négatif et à Gram positif isolées sur des milieux contenant le cobalt, le plomb, le mercure et le molybdène démontrèrent une résistance à l'ampicilline et au chloramphénicol, à l'inverse peu de souches isolées des milieux additionnés de plomb ou de molybdène ont été résistantes à la gentamycine (**Habi et Daba, 2009**). **Perron et al., (2004)** ont montré que la présence de zinc sélectionne des souches bactériennes à Gram (-) résistantes à la fois à différents métaux : zinc, cadmium et cobalt et à l'imipénème, antibiotique de la famille des carbapénèmes. Cette double résistance implique le système de régulation à deux composants CzcR/CzcS qui en présence du métal va d'une part, induire l'expression de la pompe à efflux CzcCBA permettant l'efflux du zinc, cadmium et cobalt et d'autre part réprimer l'expression de la porine OprD, responsable notamment de l'entrée de l'imipénème dans la cellule Fig.I.3 (**Perron, et al., 2004**).

I.4 La bioremédiation

En réponse à la toxicité des métaux, beaucoup de microorganismes ont développé des mécanismes particuliers de détoxification et de résistance aux métaux toxiques (**Wasi et al., 2008**). Ces mécanismes de résistance peuvent être intracellulaires ou extra cellulaires, spécifiques à des métaux particuliers ou généraux pour une large gamme de métaux lourds. Fig.I.4

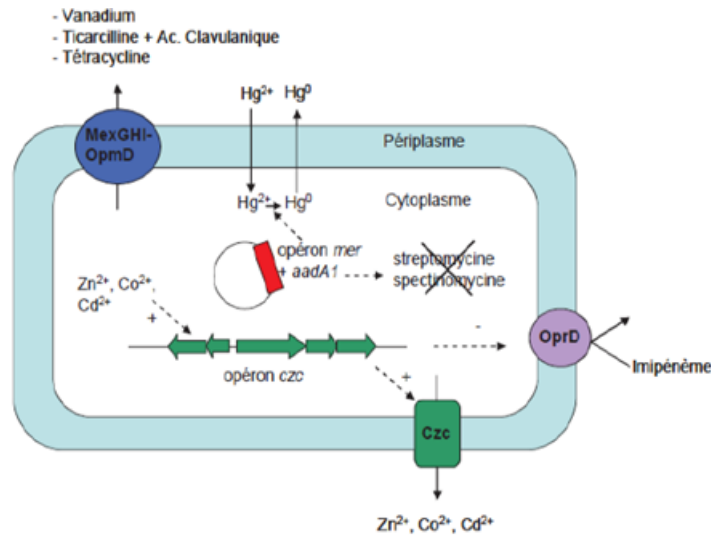


FIG. I.3 – Co-sélection de résistance aux métaux lourds et à l’imipénème chez les bactéries à Gram négatif (Baker-Austin et al.,2006)

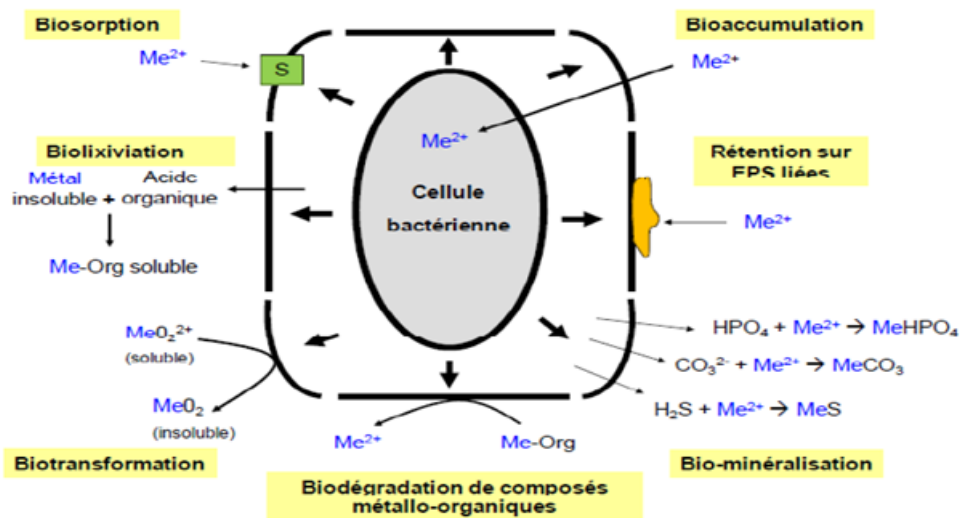


FIG. I.4 – Schématisation des interactions entre métaux et bactéries (adaptée de Ledin, 2000). S : groupement réactif présent sur la paroi bactérien. Me^{2+} : un cation métallique. Org : un composé organique

L’application de communautés microbiennes à grande échelle dans l’élimination des métaux lourds et le traitement des déchets ménagers et industriels est bien connue (Brar et al.,2006 ;Gadd, 2010). La bioremediation représente une option prometteuse par rapport aux techniques actuelles pour détoxifier et extraire les métaux nocifs (Fisher et Froid, 1980). Cette approche s’avère la plus performante et économique pour dépolluer les sites contaminés par les métaux lourds. Des études ont révélé que les micro-organismes autochtones et les associations symbiotiques entre plantes et microbes présentent une tolérance aux fortes teneurs en métaux lourds via divers mécanismes (Paul et al., 2005).

La biodégradation des pesticides carbamates par différentes bactéries a été rapportée par plusieurs chercheurs (**Barragán-Huerta et al., 2007**). **Roane et Pepper (2000)** parlent de la désintoxication du Cd par *Arthrobacter*, *Bacillus* ou *Pseudomonas spp.* La résistance au cadmium avec une probable capacité de désintoxication par *P. putida* a également été signalée par **Lee et al., (2001)**. De plus, **Wang et al., (1997)** parlent de l'utilisation de *P. aeruginosa* pour l'élimination du cadmium.

I.5 Cas du Chrome

Le mot chrome est dérivé du grec « chroma » qui signifie couleur en raison des nombreuses couleurs des composés du métal. C'est le septième élément abondant sur la Terre, on le rencontre dans l'environnement sous plusieurs états d'oxydation (de Cr^{2+} à Cr^{+6}). Sous l'état d'oxydation hexavalent il est le plus toxique pour les animaux, l'homme et les plantes (**Goullé et al., 2012**; **Jaishanka et al., 2014**).

I.5.1 Propriétés physique du Chrome

Le chrome a un numéro atomique de 24 et un numéro de masse de 51.9961, il appartient à la première série de métaux de transition. Les éléments vanadium, manganèse et molybdène entourent sa position dans le sous-groupe VI B du système périodique (**Avudainayagam et al., 2003**; **Pechova et Pavlata, 2007**; **Ahemad, 2014**).

D'autres propriétés physiques de cet élément sont regroupées dans le **TABLEAU I.2**.

TABLEAU I.2 – Propriétés physico-chimiques du chrome (**Banu and Ramaswamy, 1997**)

Propriétés	Données analytiques
Phase à température ambiante	Solide
Couleur	Blanc argenté
Numéro atomique	24
Masse atomique	51.996 g/mol
Configuration électronique	[Ar]4s13d5
Électronégativité	1.66
Densité	7.19 g/cm ³ at 20°C
Dureté	9 Mohs
Point de fusion	1,875°C ou 2,130.2 K
Point d'ébullition	2,672°C ou 2,963 K
Rayon de van der Waals	0.127 nm
Rayon ionique	0.061 nm (+3); 0.044 nm (+6)
Isotopes	6
Énergie de première ionisation	651.1 kJ/mol
Chaleur de fusion	15.3 kJ/mol
Chaleur de vaporisation	347 kJ/mol
Chaleur d'atomisation	397 kJ/mol
Conductivité thermique	93.9 J/m s K
Conductivité électrique	(1mohm/cm) 77.519
Affinité électronique	64.3 kJ/mol
Rayon atomique	128 pm
Numéros d'oxydation courants	+3, +6, -2, -1
Autres nombres d'oxydation	+1, +2, +4, +5
Potentiel standard	-0.71 V (Cr ³⁺ /Cr)

I.5.2 Propriétés chimiques

Selon **Mishra et Bharagava (2016)**, le chrome peut se présenter sous différents états d'oxydation, allant du chrome zéro (Cr^{+0}) au chrome hexavalent (Cr^{+6}). Parmi ces formes, les plus significatives sont le chrome trivalent (Cr^{+3}) et le chrome hexavalent (Cr^{+6}), dont la présence dépend des conditions d'oxydoréduction du milieu environnant.

Le chrome forme des ions importants tels que les chromates et les dichromates. Ces ions peuvent facilement être réduits en chrome trivalent lorsqu'ils se trouvent en solution acide et en présence de matière organique, comme l'ont démontré **Baetjer et al.**, dans leur étude de **1974**.

I.5.3 Les sources du Chrome

Le chrome est un métal largement utilisé dans tous les domaines industriels, de sorte que sa présence dans les effluents provenant des différentes activités représente une pollution importante des sédiments, du sol, de l'eau et de l'air (**Bhateria et Dhaka, 2017**).

I.5.3.1 Les sources naturelles

Dans l'environnement, le chrome se trouve naturellement sous sa forme minérale (**Mishra et Bharagava, 2016**), il est largement distribué dans les roches, les schistes et les argiles, ainsi que dans l'eau potable et l'eau de mer, ceux-ci peuvent servir de source naturelle de la distribution de chrome dans l'environnement (**Mohanty et Patra, 2011 ; Polti et al., 2011**).

I.5.3.2 Les sources anthropiques

Le chrome présent dans l'environnement est lié pour l'essentiel à des émissions d'origine industrielle. L'estimation mondiale totale de la consommation de chrome est de 12.5 millions tons, dont 85% sont consommés par des industries métallurgiques, 8% par les industries chimiques et 7% par les industries réfractaires (**Al-Battashi et al., 2016 ; Mishra et Bharagava, 2016**).

Les industries métallurgiques : Les activités métallurgiques industrielles constituent la principale source de pollution environnementale par le chrome toxique, en raison de l'emploi de ce métal dans la production d'aciers inoxydables, d'aciers alliés et d'alliages non ferreux (**Mohanty et Patra, 2011**).

Les industries chimiques : Le chrome pénètre dans l'environnement via diverses industries utilisant le chromate ou le dichromate comme matière première, notamment le tannage, le textile, la peinture, les arts graphiques, les inhibiteurs de corrosion et la combustion de combustibles fossiles tels que le charbon et le pétrole (**Das et Mathew, 2011 ; Mohanty et Patra, 2011**).

Autres sources : Il existe d'autres sources qui contribuent à la pollution par le chrome, parmi lesquelles, existent l'incinération des déchets, les zones de décharge et le transport (automobiles, véhicules à moteur diesel), en plus des engrais organiques et inorganiques, des pesticides, des fongicides ainsi que des boues d'épuration (**Mishra et Bharagava, 2016**).

I.5.4 Toxicité du Chrome

Lorsque le chrome et ses composés sont rejetés dans la nature, ils contaminent les sols, les ressources en eau et les sédiments. Cette pollution engendre des problèmes environnementaux et des risques pour la santé humaine du fait de la toxicité et du potentiel mutagène de ces substances (**Cheung et Gu, 2007 ; Thatoi et al., 2014**). Parmi les différentes formes du chrome, c'est le chrome hexavalent qui représente la menace la plus sérieuse pour les écosystèmes. En effet, sa forte solubilité dans l'eau et sa grande mobilité le rendent biodisponible pour une large gamme d'organismes

vivant dans les milieux aquatiques et terrestres (Arif *et al.*, 2014; Carlos *et al.*, 2016; Mishra et Bharagava, 2016). Le chrome peut également être attaché aux microplastiques, qui s'accumulent tout au long de la chaîne alimentaire et peuvent finalement pénétrer dans le corps humain (Zhou *et al.*, 2022).

I.5.5 Toxicité du Chrome pour l'homme

L'agence de la protection de l'environnement des Etats Unis (US EPA) a identifié le Cr(VI) comme l'un des 17 substances chimiques les plus toxiques pour l'Homme, le Centre International de Recherche sur le Cancer a classé le chrome hexavalent dans le groupe 1 des substances cancérigènes (Cheung et Gu, 2007; Goullé *et al.*, 2012).

Une fois à l'intérieur des cellules, le Cr (VI) réagit spontanément avec les réducteurs intracellulaires comme l'ascorbate et le glutathion, et donne en générant des intermédiaires Cr (V) et / ou de Cr (IV) de courte vie, ou des radicaux libres et le Cr (III) comme produit final (Costa, 2003; Xu *et al.*, 2005). Dans le cytoplasme de la cellule, le Cr (V) est oxydé en Cr (VI) et le procédé produit des espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui se combinent facilement avec le complexes ADN-protéines.

Le Cr(VI) est absorbé par les canaux de transport de sulfate membranaire, sous la plupart des conditions physiologiques, le Cr(VI) existe sous forme d'anions dichromate CrO_4^{2-} qui possèdent une structure similaire au sulfate SO_4^{2-} et au phosphate PO_4^{2-} , ce qui explique son absorption par les canaux de transport de sulfate, ceci est représenté dans la fig.I.5 (Cheung et Gu, 2007).

L'exposition au Cr (VI) peut induire chez l'Homme des allergies, eczéma, ulcération, irritations nasales et cutanées, perforation de tympan, troubles de la voie respiratoire et le cancer du poumon (Gibb *et al.*, 2000; Poopal et Laxman, 2009). De plus, le Cr (VI) a une capacité évidente à s'accumuler dans le placenta, endommageant le développement fœtal (Saxena *et al.*, 1990).

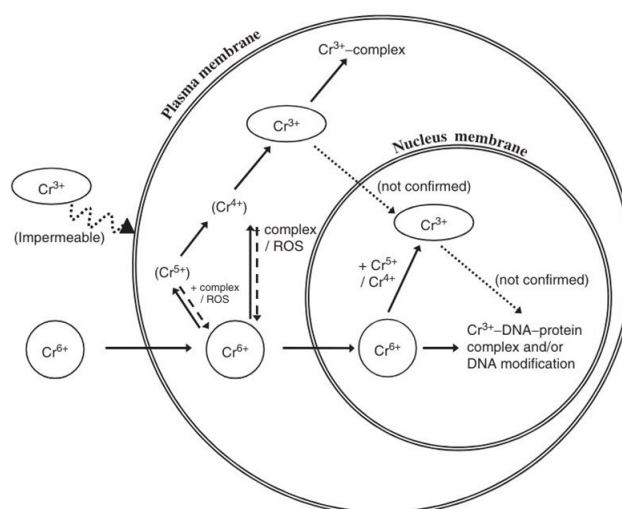


FIG. I.5 – Toxicité et mutagénicité du Cr (VI) dans la cellule (Cheung et Gu, 2007).

Le Cr (VI) est classé par l'Agence de Protection de l'Environnement des États-Unis (EPA) dans la catégorie « A », celle des polluants les plus cancérigènes pour l'Homme vu ses effets dangereux pour la santé humaine (**Costa et Klein, 2006**). La membrane cellulaire est pratiquement imperméable au Cr (III), ainsi le Cr (III) ne représente seulement qu'un millième de la toxicité du Cr (VI) (**Polti et al., 2010**).

Plusieurs effets toxiques du Cr(VI) sur la santé de l'Homme ont été rapportés, une partie est récapitulée dans le **TABLEAU I.3**.

TABLEAU I.3 – Effet du Cr(VI) sur la santé de l'Homme.

Effets	Références
Irritation nasale, ulcération, irritation de la peau, perforation du tympan et carcinome pulmonaire.	(Cheung et Gu, 2007)
Accumulation dans le placenta, ce qui nuit le développement du fœtus chez les mammifères.	(Cheung et Gu, 2007)
Insuffisance hépatique et rénale.	(Goullé et al., 2012)
Mutagène et cancérigène pour l'Homme et l'animal.	(Dhal et al., 2013)
Malformations congénitales.	(Dhal et al., 2013)
A fortes doses, il cause mort chez les animaux et les êtres humains. La cytotoxicité, génotoxicité et arrêt du cycle cellulaire des cellules de la Peau et des poumons. Cancer des poumons.	(Dhal et al., 2013)
Altère la peau, mais ne cause pas le cancer de la peau.	(Xie et al., 2015)
L'exposition au Cr(VI) réduit les fonctions de l'estomac et augmente le risque du cancer d'estomac.	(Welling et al., 2015) (Zayed et Terry, 2003)

I.5.6 La réglementation

Selon l'agence de la protection de l'environnement des Etats Unis US-EPA, la limite autorisée de Cr (VI) est de moins de 0,05 mg/l elle doit être atteinte avant de déverser des eaux usées contaminées par du chromate dans l'environnement (**Srivastava et Thakur, 2007 ; Sharma et Adholeya, 2011**). La limite autorisée de Cr (VI) adoptée en Algérie pour les effluents industriels est : 0.5mg/l selon le décret exécutif n° 06-141 du 19 avril 2006 qui définit les valeurs limites des rejets d'effluents liquides industriels (**JORADP, 2006**).

I.5.7 Procédés d'élimination du Chrome

I.5.7.1 Procédés physico-chimiques

Les méthodes conventionnelles de traitement du chrome (VI) dans l'eau, visant à réduire ses concentrations élevées pour respecter les normes réglementaires, s'appuient principalement sur des procédés physico-chimiques (Cheung et Gu, 2007). Parmi ces techniques, on retrouve :

- **L'osmose inverse :**

L'osmose inverse est un procédé membranaire sous pression permettant de retenir les métaux lourds tout en laissant passer l'eau à travers des membranes semi-perméables asymétriques, généralement en acétate de cellulose ou en permasep (Brandhuber et Frey, 2005 ; Saha et al., 2013).

- **Échange d'ions :**

L'échange d'ions, processus de diffusion d'ions d'une solution aqueuse à travers une résine échangeuse d'ions insoluble, est utilisé pour le traitement des eaux (Chowdhury, 2009 ; Saha et al., 2013 ; Kalidhasan et al., 2016). Pour l'élimination du chrome, la combinaison d'une résine cationique « forte » et d'une résine anionique « faible » permet d'atteindre un taux d'élimination très élevé (Owlad et al., 2009).

- **Précipitation chimique :**

La précipitation chimique du chrome implique sa réduction du Cr(VI) en Cr(III) en milieu acide (pH 2-3) à l'aide d'agents réducteurs tels que le dioxyde de soufre, le sulfite de sodium, le bisulfite de sodium ou le sulfate ferreux, suivie de la précipitation de l'hydroxyde de Cr(III) à pH 8-10, avec une co-précipitation efficace grâce à la formation d'hydroxyde ferrique insoluble (Chowdhury, 2009 ; Saha et al., 2011 ; Xu et al., 2015).

- **L'électrocinétique :**

L'électrocinétique, une technique récente de remédiation in situ des sites pollués, repose sur le mouvement des espèces sous un champ électrique, impliquant principalement l'électromigration, l'électro-osmose et l'électrophorèse (Yeung, 2006 ; Das et Mathew, 2011).

- **L'adsorption :**

L'adsorption, une méthode simple et efficace pour le traitement des eaux usées, permet l'élimination des polluants persistants, tels que le Cr(VI), en les fixant sur la surface d'un solide (adsorbant) comme le charbon actif, les matériaux biologiques, les zéolites ou le chitosane, le charbon actif étant considéré comme l'adsorbant de choix pour le chrome hexavalent (Kyzas et al., 2013 ; Arab et al., 2014 ; Owlad et al., 2009).

Malgré l'efficacité de ces procédés physico-chimiques pour l'élimination du chrome, ils présentent certains inconvénients majeurs tels que des coûts élevés en équipement et en surveillance, une consommation énergétique importante, une élimination incomplète du chrome dans les solutions à haute teneur en sel, une faible sélectivité, une sensibilité au pH et une production de déchets, ce qui a conduit à l'exploration de procédés biologiques comme alternatives.

I.5.7.2 Procédés biologiques

- **La biosorption :**

La biosorption, un processus passif, rapide et réversible, indépendant du métabolisme, utilise la biomasse microbienne vivante, inactive ou morte pour séquestrer les métaux lourds toxiques des effluents industriels (**Kratochvil et Volesky, 1998 ; Srinath et al., 2002 ; Hlihor et al., 2014 ; Vendruscolo et al., 2017**), impliquant une réaction de complexation physico-chimique non dirigée entre les espèces de métal dissous et les composants cellulaires chargés (**Kamaludeen et al., 2003**). Une grande variété de biosorbants, tels que les matières ligno-cellulosiques actives ou les microorganismes inactifs (**Hlihor et al., 2014**), notamment les bactéries (*Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus*) (**Das et al., 2008 ; Sukumar et al., 2014**), les levures, les champignons et les algues (**Kamaludeen et al., 2003 ; Vendruscolo et al., 2017**), sont utilisés pour éliminer efficacement le Cr(VI) sans générer de déchets secondaires dangereux, grâce à leur capacité de liaison aux métaux via des groupes fonctionnels présents dans leur parois cellulaires, comme démontré par **Srinath et al., (2002)** avec *B. megaterium*, capable d'éliminer le Cr(VI) par biosorption sur des cellules mortes à pH 2,5.

- **Biofilms dans les bioréacteurs :**

Les biofilms bactériens sont aussi recommandés comme moyens efficaces pour la remédiation des contaminants dans l'environnement, car ils présentent une tolérance à la dessiccation, à des hauts niveaux de polluants et d'autres facteurs de stress (**Kamaludeen et al., 2003**).

Pazos et al., (2010), ont mis le point sur un processus qui implique la bioréduction du Cr (VI) au Cr (III) par la bactérie *Arthrobacter viscosus* dans un bioréacteur, avec l'évaluation des différents paramètres, tels que la concentration de la biomasse, le pH et le prétraitement de la zéolite. Les résultats ont confirmé que le bioréacteur contenant un biofilm sur la zéolite 13X peut être utilisé dans la réduction du Cr, dont la réduction efficace s'effectue dans une concentration de la biomasse d'environ 5g/L et avec un pH maintenu à un niveau acide.

Smith et Gadd, (2000), ont démontré qu'un biofilm d'une culture mixte de bactéries sulfato-réductrices qui utilisent le lactate comme source de carbone était capable de réduire environ 88% du Cr (VI) total sur une période de 48h.

- **Cellules immobilisées :**

Les cellules immobilisées sur un gel de polyacrylamide peuvent être utilisées pour la dés-intoxication efficace et l'élimination des métaux en solution à partir d'un effluent dans un

réacteur (**Kamaludeen et al., 2003**).

B. sphaericus ADN303, une bactérie résistante et réductrice du chrome, immobilisée dans des billes d'alginate de PVA, a démontré sa capacité à réduire 87,5% de Cr (VI) à 20 μ M en 24h lors d'une culture discontinue, avec une efficacité améliorée en présence de glucose et de glycérol comme donneurs d'électrons (**Pal et al., 2013**).

De plus, les cellules de *Desulfovibrio vulgaris* immobilisées dans la gélose ont la capacité de réduire 0,5 mM de Cr (VI) à 0,1 mM en 22h, *Microbacterium sp.* NCIMB 13776 immobilisé dans la gélose peut réduire 0,5 mM de Cr (VI) à 0,26 mM en 65h, tandis que *Streptomyces griseus* immobilisé dans un gel de PVA-alginate S23 peut éliminer jusqu'à 0,48 mM de Cr (VI) dans 24h (**Yang et al., 2009**).

- **Bioréacteur utilisant des microorganismes vivants :**

Les chercheurs ont développé un procédé efficace de la réduction du chromate par l'utilisation d'une souche de *Pseudomonas mendicina* MCM B-180 pour le traitement des eaux usées contaminées par le chrome. La souche bactérienne utilisée est capable de résister jusqu'à 1600 mg/l du chrome et réduit totalement environ 2 mM du chromate. Dans un bioréacteur en mode continu et dans des conditions d'anaérobiose, 20 ml de cette bactérie peuvent éliminer environ 25 à 100 mg/l des chromates après 8h en utilisant la mélasse comme source de carbone (**Kamaludeen et al., 2003**).

Matériel & Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1 Matériel

Le TABLEAU II.1 représente l'ensemble des moyens utilisés pour la réalisation de ce travail.

TABLEAU II.1 – Matériel utilisé

Appareillage et équipement	Consommable	Milieux de culture	Produits chimiques et réactifs
-Bec Bunsen	-Boites Pétri	-Gélose Muller Hinton	-Eau distillée stérile
-Autoclave	-Tubes à essai	-Gélose Chapman	-Acétone
-Etuve	-Portoirs	-Gélose Tergitol	-Alcool
-Réfrigérateur	-Pipettes Pasteur	-Gélose Slanetz et Bartley	-Violet de gentiane
-Spectrophotomètre UV visible	-Flacons en verre	-Gélose BEA	-Lugol
-Centrifugeuse	-Pissette	-Bouillon BHIB	-Fuchsine
-Balance analytique	-Erlen Meyer	-Gélose PCA	-Huile à immersion
-Agitateur magnétique chauffant	-Entonnoir		-Huile de paraffine
-Vortex	-Eprouvette		-Disques d'oxydase
-Dispositif de filtration sur membrane	-Fiole		-Disques d'antibiotique
-Microscope photonique	-Poires		-Acide sulfurique
	-Barreaux magnétiques		-Diphényle-carbazyde
	-Ecouillons		-PbNO ₃
	-Anse de platine		-H ₂ O ₂
	-Micropipettes		-K ₂ Cr ₂ O ₇
	-Membrane de filtration		-CdCl ₂
	-Galerie API20E		-ZnSO ₄
	-Lames et lamelle		-HgCl ₂
			-Kovacs
			-Indol
			-VPI
			-VPII
			-TDA

II.2 Site d'étude et d'échantillonnage

Ce travail de recherche s'est concentré sur l'évaluation de la résistance aux métaux lourds chez la flore totale des embouchures de deux oueds : Oued El Harrach et Oued El Hamiz, et sur l'évaluation et l'optimisation de leur potentiel à éliminer le chrome en vue de proposer un bioprocédé de traitement d'effluents chargés en ce métal. L'échantillonnage a été réalisé le **16/03/2024** à deux endroits spécifiques désignés respectivement par **P1** pour l'embouchure d'Oued El Harrach (longitude **3° 7' 51,72024"**; latitude **36° 44' 29,08752"**) et **P2** pour l'embouchure d'Oued El Hamiz (longitude **3° 13' 44,75964"**; latitude **36° 46' 41,8476"**) voir Fig.II.1

II.2.1 Oued El Harrach

Le bassin versant de l'oued El Harrach appartient au grand bassin versant côtier Algérois. Il couvre une superficie de 1236.28 Km² et s'étend du Nord au Sud sur 51 Km et d'Est en Ouest sur 31 Km **(BERRAHAL et MEROUANE, 2004)**. Oued El Harrach traverse la plaine de Mitidja et plusieurs zones d'activités. Il est confronté à une pollution de type urbaine, agricole et industrielle. Parmi ces dernières, nous citerons **(ANRH,2002)** :

- Fabrication d'accumulateurs de démarrage au plomb
- Fabrication de peinture
- Transformation du caoutchouc
- Fabrication de câbles téléphoniques
- Production de produits pharmaceutique
- Fabrication de médicament

II.2.2 Oued El Hamiz

Le bassin versant d'El Hamiz couvre une superficie d'environ 432 Km² à son embouchure près de Bordj El Bahri. Celui-ci fait partie de l'Atlas de Tablat qui est le prolongement occidental du massif du Djurdjura et présente un réseau hydrographique très dense. L'Oued subit une pression anthropique qui se manifeste par les rejets d'effluents non traités issu de l'activité industrielle à proximité tels : métallurgie, construction, pétrochimie, production pharmaceutique, industries mécaniques, électriques et électroniques, alimentation, production de papier, etc. **(PAC, 2005)**

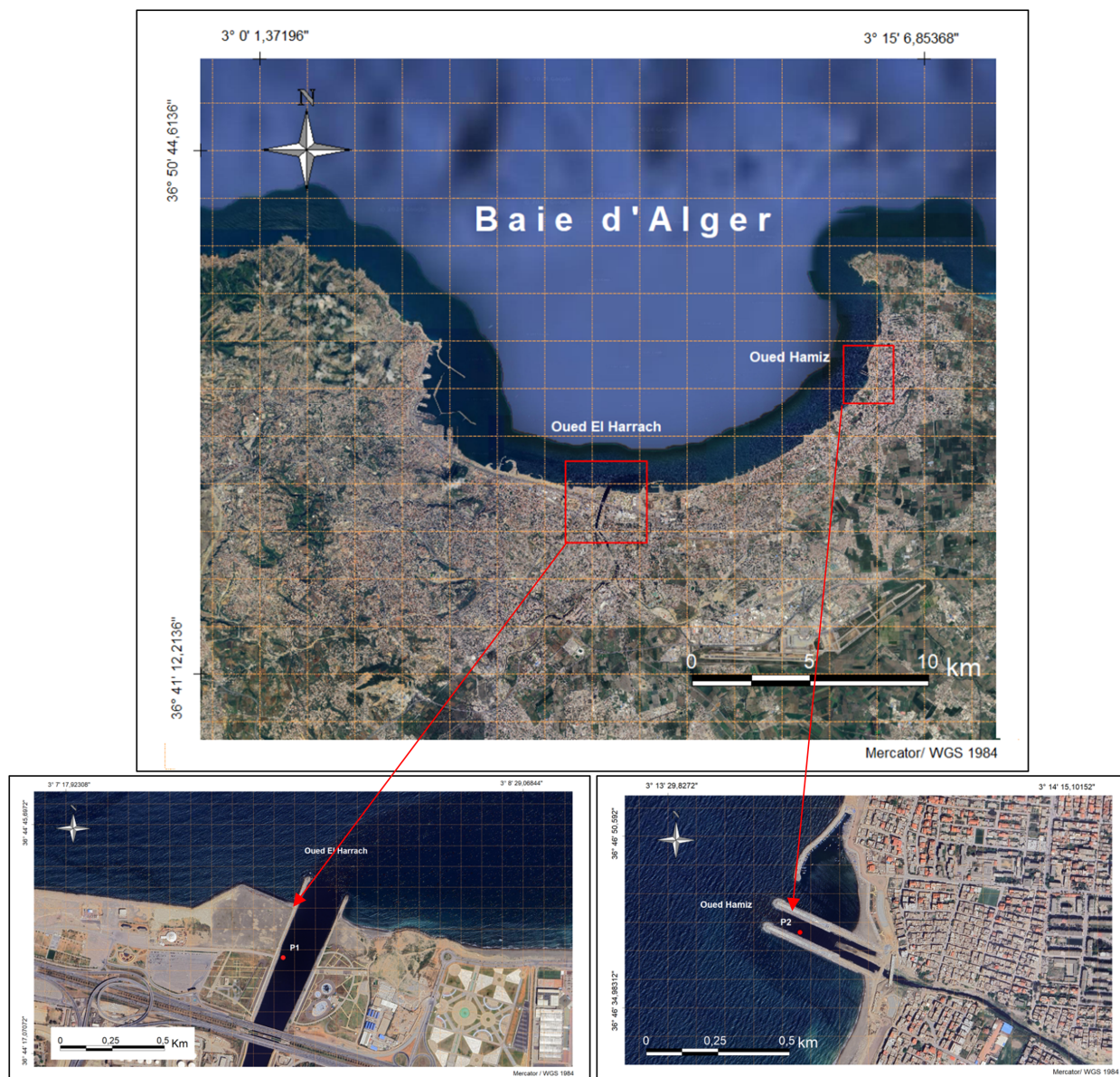


FIG. II.1 – Situation géographique des points de prélèvement (BENAMER H, 2024)

Les échantillons d'eau ont été prélevés manuellement dans des flacons en verre stériles. Les flacons ont été immergés à une profondeur d'environ 30 cm sous la surface de l'eau et ouverts contre le courant. Une fois remplis, ils ont été refermés sous l'eau pour prévenir la formation de bulles d'air et minimiser tout risque de contamination et transportés dans une glacière au laboratoire et analysés dans les 6h.

II.3 Évaluation de la qualité bactériologique des échantillons d'eau

L'évaluation de la qualité bactériologique des échantillons provenant des embouchures d'Oued El Harrach et d'Oued El Hamiz a été effectuée en utilisant la méthode de filtration sur membrane (**Rodier et al., 2009**), pour la détermination et le dénombrement de la flore mésophile totale ainsi que les germes de contamination fécale (coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux). Des dilutions de 10 en 10 ont été réalisées pour chaque échantillon. voir Fig.II.3.

II.3.1 Mode opératoire

- Stérilisation du dispositif de filtration FigII.2.
- Installation du dispositif.
- Placer le filtre stérile en ester de cellulose (0.45 μ m de porosité) sur la grille.
- Filtrer un volume (100ml) d'échantillon ou de dilution.
- Placer le filtre sur le milieu de culture adapté à chaque bactérie recherchée.
- Incuber les boîtes à la température appropriée



FIG. II.2 – Système de filtration sur membrane.

Le résultat sera exprimé en Unité Formant Colonie par 100 ml d'eau analysée (UFC/100ml) (**Be-leneva, 2011**)

II.3.2 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

La flore aérobie mésophile est un indicateur technique qui tente de représenter la charge microbienne totale, les membranes de filtration sont placées sur gélose PCA, et les boîtes sont incubées à 37 C° pendant 24 à 48 h (**Rodier et al., 2009**).

II.3.3 Dénombrement des coliformes totaux

Les coliformes totaux correspondent à des bacilles à Gram négatif, non sporulé, oxydase négatif, aérobie et anaérobie facultatifs, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24-48h à 35-37°C.

Pour procéder au dénombrement, la membrane de filtration est simplement déposée sur une boîte de Petri contenant la gélose lactosée au TTC et au tergitol 7, tout en évitant les bulles d'air, puis les

boîtes sont incubées à une température de 37 °C pendant une période allant de 24 à 48 heures. Les colonies caractéristiques présentent une coloration jaune orangé. (Rodier et al.,2009).

II.3.4 Dénombrement des coliformes fécaux ou thermotolérants

C'est un sous-groupes des coliformes totaux. Ils Présentent les mêmes propriétés à une température de 44°C.

Pour procéder au dénombrement, la membrane de filtration est simplement déposée sur des milieux gélosés lactosés au TTC et au Tergitol 7 en évitant les bulles d'air, puis les boîtes sont incubées à une température de 44°C pendant une période allant de 24 à 48 heures. Les colonies caractéristiques présentent une coloration jaune orangé (Rodier et al.,2009).

II.3.5 Dénombrement des Entérocoques (ex streptocoques fécaux)

Bactéries à Gram positif, sphériques ou ovoïdes, formant des chainettes, non sporulées, catalase négative, possédant l'antigène D, capables d'hydrolyser l'esculine en présence de bile. Ils se répartissent en deux genres Streptococcus et Enterococcus. Pour les dénombrer, placer la membrane de filtration sur milieu gélosé SLANETZ & Bartley et incuber les boites à 37°C pendant 24 à 48 h. La membrane est ensuite déposée sur la gélose BEA à 37°C pendant 2h, Les colonies caractéristiques présentent un halo noir résultant de la dihydroxy-6,7 coumarine qui se combine avec les ions de fer (III) après l'hydrolyse de l'esculine (Larpent, 1997).

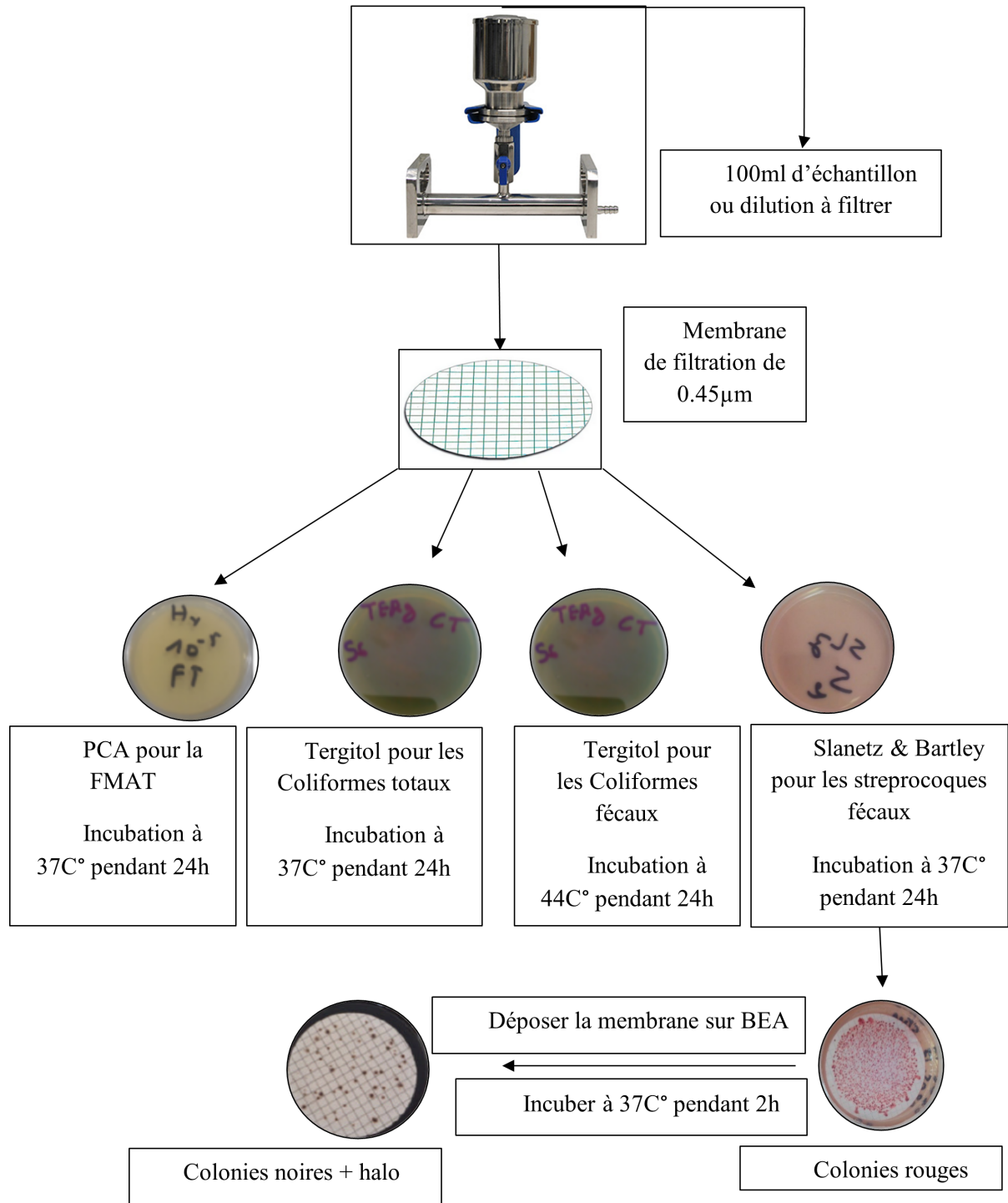


FIG. II.3 – Schéma représentatif des étapes de détermination de la flore totale (FMAT) et les germes de contamination fécale par filtration sur membrane.(BENAMER H, 2024)

II.4 Évaluation de la résistance bactérienne aux métaux lourds

L'évaluation de la résistance des bactéries aux métaux lourds a été effectuée pour six métaux lourds sélectionnés selon leurs utilisations, disponibilités, toxicité et importance. Les métaux concernés sont (CuSO_4), (ZnSO_4), (CdCl_2), (HgCl_2), ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) et (PbNO_3) Voir TABLEAU II.2 avec des concentrations finales respectives de 400 $\mu\text{g/ml}$, 400 $\mu\text{g/ml}$, 200 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 400 $\mu\text{g/ml}$ et 3200 $\mu\text{g/ml}$. La préparation des boîtes a été réalisée selon la méthode de dilution en milieu gélosé (mueller-hinton) (Touahir *et al.*, 2023).

TABLEAU II.2 – Formes d'oxydation des métaux utilisés

Sel métallique	Forme d'oxydation du métal
CuSO_4	Cu^{2+}
ZnSO_4	Zn^{2+}
CdCl_2	Cd^{2+}
HgCl	Hg^{2+}
PbNO_3	Pb^{2+}
$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	Cr^{6+}

0,1ml des échantillons ou des dilutions ont étéensemencés en surface des boîtes gélosées avec ou sans métaux lourds. Les boîtes ont été incubées à 37 C° pendant 24 à 48 h, et par la suite les bactéries qui ont poussées sur chaque boîte ont été dénombrées.

$$\%_{\text{résistance aux métaux lourds}} = \frac{\text{nombre de bactéries sur milieu contenant métal}}{\text{nombre de bactéries sur milieu sans métal}} * 100 \quad (\text{II.1})$$

II.5 Purification et conservation des souches résistantes aux métaux lourds

Les bactéries présentant une résistance aux métaux, démontrés par leur croissance sur les milieuxensemencés avec les métaux, ont été repiquées à plusieurs reprises sur des milieux contenant les mêmes métaux. Le repiquage se poursuit jusqu'à l'obtention d'une culture homogène où toutes les colonies sont identiques entre elles. Ensuite, elles ont été conservées dans des tubes de conservation.

II.5.1 Identification et caractérisation des bactéries résistantes

Pour identifier les différentes bactéries résistantes aux métaux lourds, nous avons appliqué une série de tests énumérés ci-dessous.

II.5.1.1 La coloration de GRAM

La coloration de Gram permet de déterminer deux grands groupes bactériens (Gram positif et Gram négatif), elle nous permet aussi de reconnaître la morphologie et le mode de regroupement des bactéries (Joffin et Leyral 2006).

Les étapes de la méthode sont comme suit :

— **Préparation d'un frottis sec :**

Mettre une goutte d'eau distillée stérile sur la lame, prélever stérilement, à l'aide d'une anse de platine, une parcelle d'une colonie bactérienne jeune de (18-24h), émulsionner cette colonie sur la goutte d'eau sur la lame, le frottis doit être étalé en couche mince et régulière pour bien séparer les cellules bactériennes. Sécher la lame et fixer la par un passage 3 à 4 fois dans la flamme du bec Bunsen.

— **Coloration au Violet de Gentiane :**

Chaque frottis fixé est coloré pendant 1 min au Violet de Gentiane puis laver à l'eau courante.

— **Mordantage :**

Traiter durant une minute la lame par une solution de Lugol, puis rincer à l'eau courante. Le lugol forme avec le Violet de Gentiane un complexe ce qui renforce la coloration.

— **Décoloration :**

Inonder la lame d'alcool pendant 15 secondes puis rincer immédiatement à l'eau courante. À ce stade les cellules à Gram négatif seront incolores, les cellules à Gram positif restent violettes.

— **Contre coloration avec de la Fuchsine :**

Rajouter de la Fuchsine sur les lames pendant 1 min, puis rincer à l'eau courante. Sécher la lame au dessus de la flamme d'un bec Bunsen, ou la sécher délicatement entre deux feuilles de papier filtre fin (ou buvard), sans frotter.

— **Lecture :**

Examiner les lames colorées au microscope optique en ajoutant une goutte d'huile à immersion (au Gx100). En raison de leur paroi de structure plus épaisse et de composition chimique particulière, les bactéries Gram+ gardent la coloration violette Fig.II.4. Les bactéries Gram- Fig.II.4, avec une paroi plus fine et plus perméable à la décoloration, perdent la couleur violette. De manière à visualiser les bactéries Gram-, on recoloré avec de la fuchsine (rose) Fig.II.5.

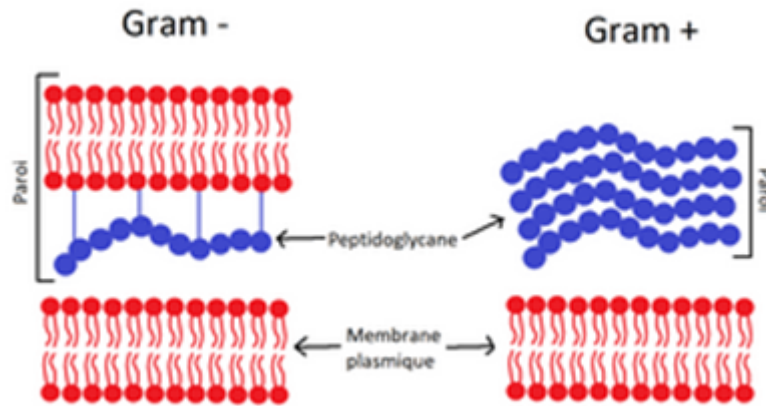


FIG. II.4 – caractérisation de la paroi des Gram - et Gram +

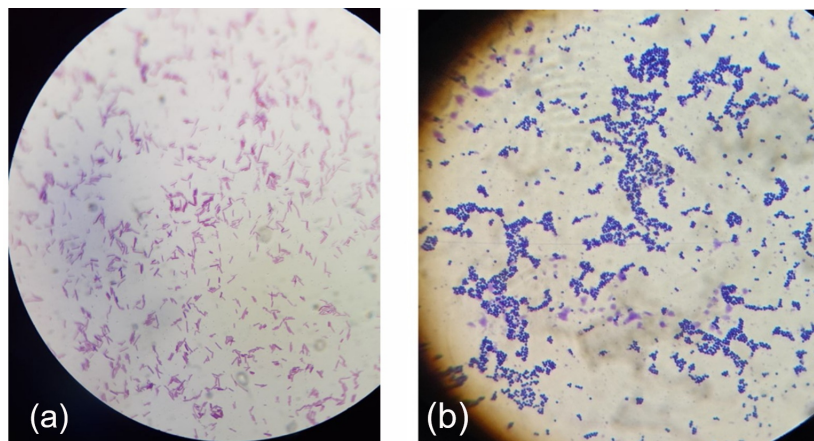


FIG. II.5 – Observation au microscope optique de bactérie (a) bacille Gram-, (b) cocci Gram+ (BENAMER H, 2024)

II.5.1.2 Identification biochimique

L'identification biochimique est un examen qui permet d'identifier une bactérie en s'appuyant sur ces caractères biochimiques. Après la coloration de Gram, les bactéries ont été soumises aux tests biochimiques suivants : test de catalase, test d'oxydase, test de coagulase (cocci Gram+) et pour les bactéries à Gram négatif de forme bacille et coccobacille, une identification par galerie API 20E a été réalisée.

- **Test de la catalase**

Le test de la catalase permet de détecter l'enzyme catalase dans les bactéries. Cette enzyme catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui est produit par certaines réactions cellulaires et est très toxiques, donc c'est l'une des enzymes chargée d'éponger l'eau oxygénée par la dismutation (Pelmont, 1993).

La réaction catalysée est la suivante : $2H_2O_2 + \text{Catalase} \rightarrow 2H_2O + O_2$

A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien et une goutte d'eau oxygénée. Un test positif qui indique la présence de catalase est traduit par le dégagement immédiat de bulles gazeuses.



- **Test d'oxydase (Delarras, 2007)**

Ce test permet une identification présomptive de certaines bactéries à Gram (-) qui produisent cette enzyme. En présence de cytochrome oxydase, le N,N,N',N'-Tetraméthyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (incolore) forme un composé coloré en bleu.

A l'aide de pinces placer un disque d'oxydase sur une lame porte objet, et humidifier à l'aide d'une goutte d'eau physiologique stérile. Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester. Prélever la colonie choisie à l'aide d'une anse de platine. Frotter doucement la colonie sur le disque. Un test positif se traduit par l'apparition d'une coloration bleu foncée à violette dans un délai de 30 secondes, le test est négatif dans le cas contraire.



- **Galerie API20E**

Le système API20E (BioMérieux, Inc., France) est conçu pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif. Il se compose de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés, permettant une identification précise des bactéries ciblées. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait selon les recommandations du fournisseur (**Figarella, 1998**). Le mode opératoire est illustré dans la Fig.II.6.

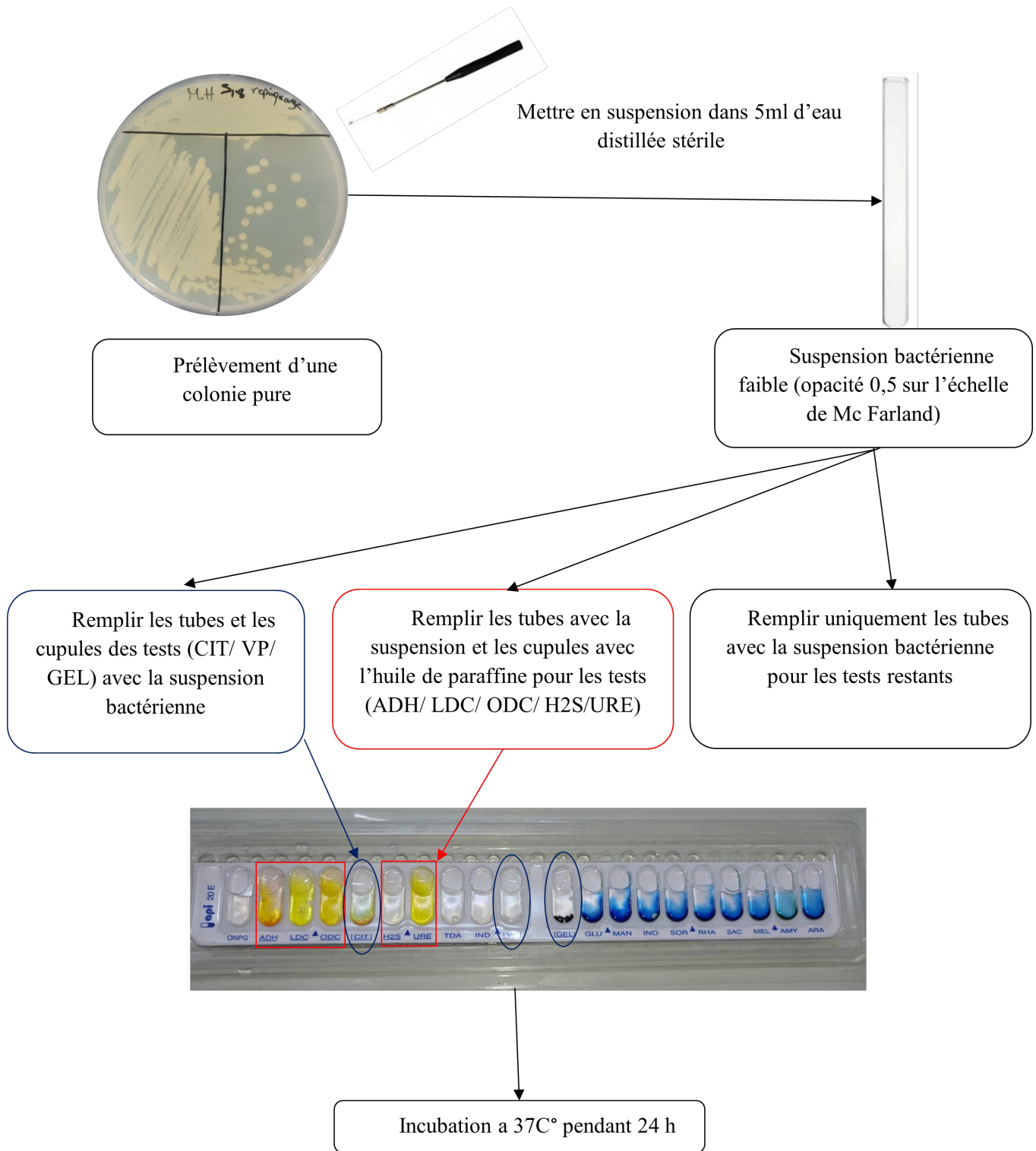


FIG. II.6 – Les étapes d'ensemencement d'une Galerie API20E (BENAMER,2024)

II.5.1.3 Identification des cocci à Gram positif

Les cocci à Gram positif peuvent appartenir au genre *Staphylococcus* (catalase- positif), qui se présente sous forme de grappes, ou *Streptococcus* (catalase-négatif), qui se présente en chaînes (**Sizar, Unakal, 2022**).

- **Isolement sur milieu Chapman**

Les cocci à Gram positif, suspectés d'être des staphylocoques en raison de leur regroupement en amas, ont été réisolés sur une gélose Chapman, un milieu sélectif, et incubés à 37°C pendant 24 heures. L'identification a été confirmée par un test de catalase.

Pour confirmer la pathogénicité de *Staphylococcus aureus* un test de coagulase a été effectué.

- **Test de coagulase**

Ce test consiste en la mise en évidence de la coagulase qui est une protéine semblable à une enzyme qui provoque la coagulation du plasma en convertissant le fibrinogène en fibrine.

À l'aide d'un fil stérile, prélever une partie de chaque colonie sélectionnée et l'ensemencer dans un tube ou dans un flacon de bouillon cœur-cervelle Incuber à 35° C ou 37°C pendant 24 h ± 2 h. Ajouter aseptiquement 0,1 ml de chaque culture à 0,3 ml de plasma de lapin dans des tubes stériles à hémolyse ou flacons incubés à 35°C± 2°C. En inclinant le tube, examiner la coagulation du plasma après 4 h à 6 h d'incubation et, si le test est négatif, réexaminer après 24 h d'incubation (**JORADP, 2014**). Fig.II.7

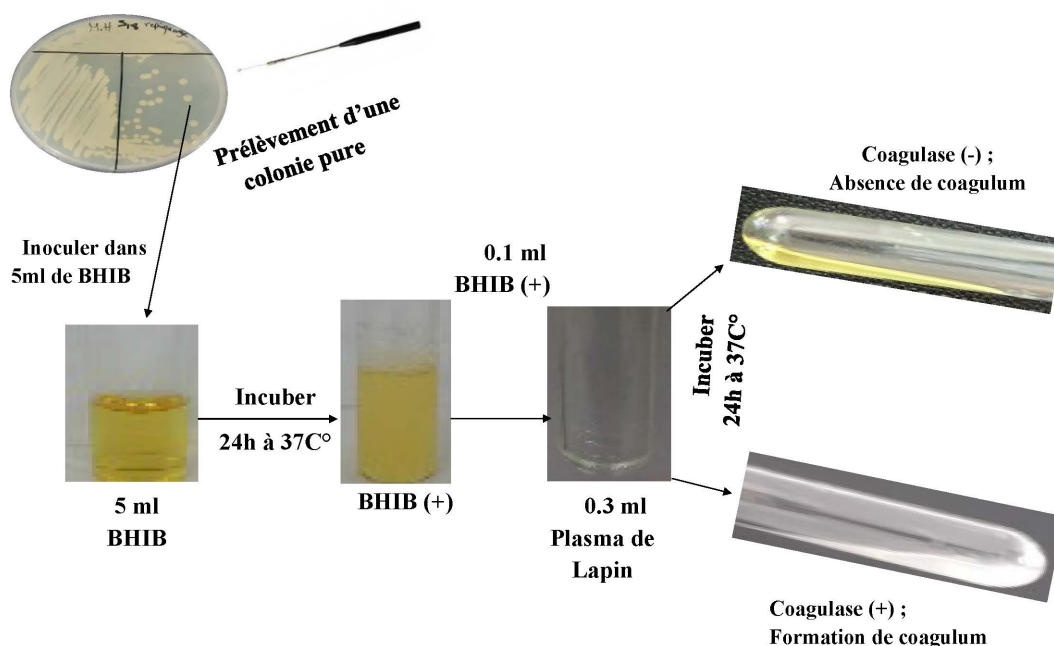


FIG. II.7 – Les étapes de la réalisation du test de la Coagulase (BENAMER, 2024)

II.6 Détermination du profil de résistance aux métaux lourds des souches bactériennes isolées par la méthode de dilution en milieu gélosé

Un inoculum de 2 μ l (dot) d'une culture jeune (10^8 cellule/ml) de la souche bactérienne à tester obtenue sur BHIB après une incubation de 24h à 37°C, est déposé à la surface de boîtes de MH additionnées de métaux lourds à des concentrations critiques : CuSO_4 (400 μ g/ml); CdCl_2 (200 μ g/ml); ZnSO_4 (400 μ g/ml); HgCl_2 (50 μ g/ml); $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (1600 μ g/ml); PbNO_3 (3200 μ g/ml) puis incubé à 37°C pendant 24h.

Une croissance bactérienne indique la résistance de cette souche à la concentration des métaux lourds testés.

II.7 Étude de la résistance associée des bactéries aux antibiotiques

L'étude de la résistance aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (méthode de Kirby-Bauer) sur Mueller-Hinton selon les recommandations du comité de

l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2023).

II.7.1 Technique de l'antibiogramme

Une suspension bactérienne de la souche à tester (10^8 UFC/ml) a été préparée à partir d'une culture jeune de 24h incubée à 37°C. Cette suspension a été ensuiteensemencée de manière uniforme sur la surface d'une gélose Mueller-Hinton (MH) à l'aide d'un écouvillon stérile. Les disques d'antibiotiques ont été déposés sur la surface de cette gélose à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes ont ensuite été laissées à température ambiante pendant 15 minutes pour permettre la diffusion des antibiotiques dans le milieu gélosé avant d'être incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Lecture Conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2023), les diamètres des zones d'inhibition formées autour des disques d'antibiotiques ont été mesurés en millimètres à l'aide d'un pied à coulisse. Ces valeurs ont ensuite été comparées aux diamètres critiques fournis par le CA-SFM afin de déterminer la sensibilité de la souche bactérienne testée aux différents antibiotiques.

le TABLEAU II.3 présente les différents antibiotiques qui ont été sélectionnés pour évaluer la sensibilité des espèces bactériennes étudiées.

TABLEAU II.3 – Les différents antibiotiques testés

Antibiotique	Charge(µg)	Famille d'antibiotique
Ampicilline (AM)	10	Bêta-lactamine
Ceftazidime (CAZ)	30	Bêta-lactamine
Cloxacillin (CX)	1	Bêta-lactamine
Amikacine (AK)	30	Aminoglycoside
Gentamicine (GM)	10	Aminoglycoside
Bacitracine (B)	10	Polypeptides
Tétracycline (TE)	30	Cycline
Triméthoprim (TMP)	5	Diaminopyrimidines

II.8 Essaie d'élimination du chrome par des souches résistantes aux métaux lourds (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*)

Trois souches bactériennes prometteuses ont été sélectionnées à savoir : *Pseudomonas aeruginosa* (Hr1), *Staphylococcus aureus* (Hr st), *Klebsiella pneumoniae* (Hz(4)) pour la suite de l'étude. On a exploré l'impact de trois paramètres clés sur leur capacité d'élimination du Chrome VI :

- Le pourcentage de l'inoculum,
- Le pH du milieu
- La concentration initiale du chrome.

II.8.1 Expérimentation réalisée

Afin de mettre en évidence l'effet des trois paramètres cités ci-dessus, des flacons de 150 ml de bouillon nutritif contenant des concentrations de 100 mg/l et 200 mg/l de Chrome VI, ajustés à des pH variés (pH 5, pH 7 et pH 9), ont été inoculés avec des proportions d'inoculum jeune de 1%, 5% et 10% du volume total. En parallèle, des flacons témoins ont été préparés dans les mêmes conditions, mais sans Chrome VI. Le milieu est ensuite incubé à 37°C pendant 120 heures.

Pour chaque flacon, un échantillon de 10 ml est prélevé dans des conditions d'asepsie à des intervalles de temps régulières (t_0 , t_6 , t_{24} , t_{48} , t_{72} , t_{96} , t_{120}), la cinétique de la croissance bactérienne a été suivie par la mesure de l'absorbance à 600 nm ainsi que la concentration du Chrome VI à 540 nm.

II.8.2 Dosage du Chrome VI par la méthode colorimétrique

Les échantillons de 10 ml prélevés sont centrifugés à 6000 rpm pendant 10 min afin d'obtenir un surnageant exempt de cellules microbiennes (**Amrik et Anshu, 2013**). Prélever 5ml du surnageant, ajouter 4ml d'acide sulfurique 2N et 0,20 ml de solution de 1,5-diphenylcarbazide.

Le Cr (VI) de l'échantillon à analyser est mélangé avec un agent complexant, le 1,5-diphenylcarbazide en milieu acide. Ainsi, un complexe rose violacé se forme après 10 à 15 minutes, et son intensité est mesurée par spectrophotométrie à 540 nm (**Mahjoub et al., 2015 ; Carlos et al., 2016**).

La détermination de la concentration du chrome se fait à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie préalablement pour différentes concentrations de chrome hexavalent (**voir en annexe**) (**APHA, 2005 ; CENTRED'EXPERTISE Québec, 2006**) Le taux de réduction du chrome (Tr) est calculé en utilisant la formule suivante (**Pang et al., 2011**) :

$$Tr = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} * 100 \quad (\text{II.2})$$

C₀ : concentration initiale du Cr (VI)

C_t : concentration du Cr (VI) en temps t

t : temps d'incubation.

Résultats & Discussion

Chapitre III : Résultats & Discussion

III.1 Qualité bactériologique des échantillons d'eau prélevés

La qualité bactériologique des échantillons d'eau prélevés a été évaluée par le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT), ainsi que les germes indicateurs de contamination fécale à savoir : les coliformes totaux (CT), les coliformes fécaux (CF) et les Streptocoques fécaux(SF)). Les résultats obtenus sont représentés dans de la Fig.III.1 à la Fig.III.4

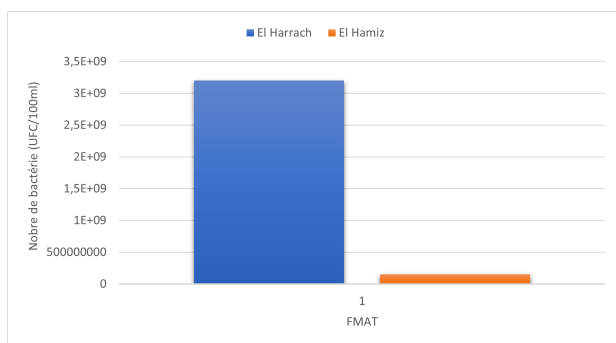


FIG. III.1 – Dénombrement de la FMAT dans les échantillons des embouchures de Oued El Harrach et Oued El Hamiz

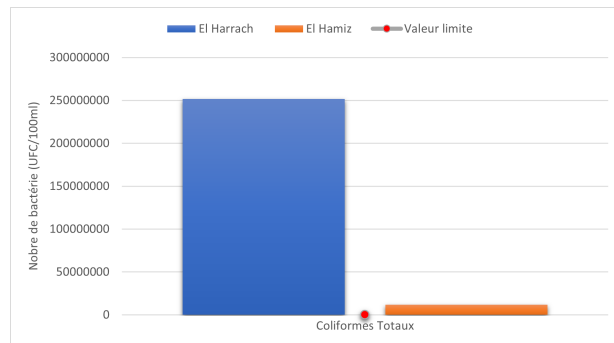


FIG. III.2 – Dénombrement des coliformes totaux dans les échantillons des embouchures de Oued El Harrach et Oued El Hamiz

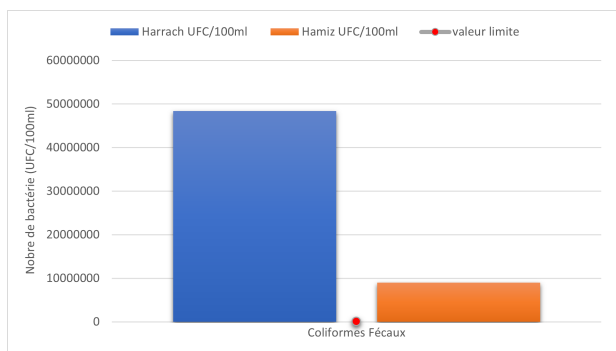


FIG. III.3 – Dénombrement des coliformes fécaux dans les embouchures de Oued El Harrach et Oued El Hamiz

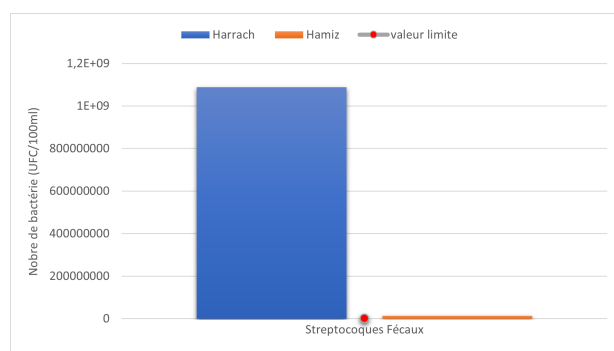


FIG. III.4 – Dénombrement des streptocoques fécaux dans les embouchures de Oued El Harrach et Oued EL Hamiz

TABLEAU III.1 – Normes Algériennes des eaux de baignades, **JORADP,1993**

Germes	Valeur guide (germe/100ml)	Valeur limite (germe/100ml)
Coliformes totaux	500	10000
Coliformes fécaux	100	2000
Streptocoques fécaux	100	/

Les résultats de l'analyse bactériologique montrent que l'échantillon de l'embouchure de Oued EL Harrach présente des valeurs élevées des différents paramètres recherchés comparativement à ceux obtenus pour l'embouchure de Oued El Hamiz. En effet, des valeurs de 3×10^9 UFC/100ml et de 1.5×10^8 UFC/100ml ont été observées respectivement, pour la flore totale (FMAT) de oued el harrach et celle Oued el Hamiz. De même, pour les autres indicateurs de contamination fécale où nous notons respectivement, pour oued el harrach et oued el hamiz les valeurs suivantes : Coliformes totaux (2×10^8 UFC/100ml, 2×10^7 UFC/100ml), coliformes fécaux (4.8×10^6 UFC/100ml, 1.08×10^8 UFC/100ml) et Streptocoques fécaux (1.19×10^7 UFC/100ml, $1,36 \times 10^7$ UFC/100ml).

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que les charges de germes de contamination fécale dans les deux prélèvements sont largement supérieures aux normes fixées par la réglementation pour les eaux de baignades (JORADP, 1993). Cette observation indique une contamination anthropique significative dans les deux régions étudiées qui se justifie par les apports des oueds attribués aux activités anthropiques, notamment les effluents domestiques et ménagers, dans une région caractérisée par une forte densité de population tel que rapporté par Morsli I. et Bouyakoub F. (2018) pour Oued El Harrach.

Selon Hébet et Légaré, (2000); les coliformes fécaux présents dans l'eau peuvent provenir de différentes sources : rejets des eaux usées municipales, épandage inadéquat de fertilisant de fermes, installations septiques non conformes, système d'entreposage de fumier et de lisier défectueux, ruissellement urbain, raccordements inversés.

La persistance des entérocoques dans l'eau peut être supérieure à celle des autres organismes indicateurs notamment à cause de leur résistance notoire aux agents désinfectants (Chevalier, 2002). Plusieurs travaux ont signalé la tendance de pollution élevée au niveau de oued El harrach avec des valeurs inférieures aux notre (Bouchelouche A. et Krembit A. (2017; Morsli I. et Bouyakoub F. (2018). Par ailleurs, Abed (2017) a rapporté des valeurs de contamination fécale inférieures aux normes dans l'amont de l'Oued El Harrach. Cette différence notable peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment des variations temporelles et spatiales dans les sources de pollution, ces résultats pourraient également indiquer des zones spécifiques moins affectées par la pollution, ou des périodes où les niveaux de contamination étaient relativement bas.

III.2 Prévalence de la résistance bactérienne aux métaux lourds

Les résultats de l'évaluation de la résistance bactérienne aux métaux lourds sont illustrés dans la Fig.III.5

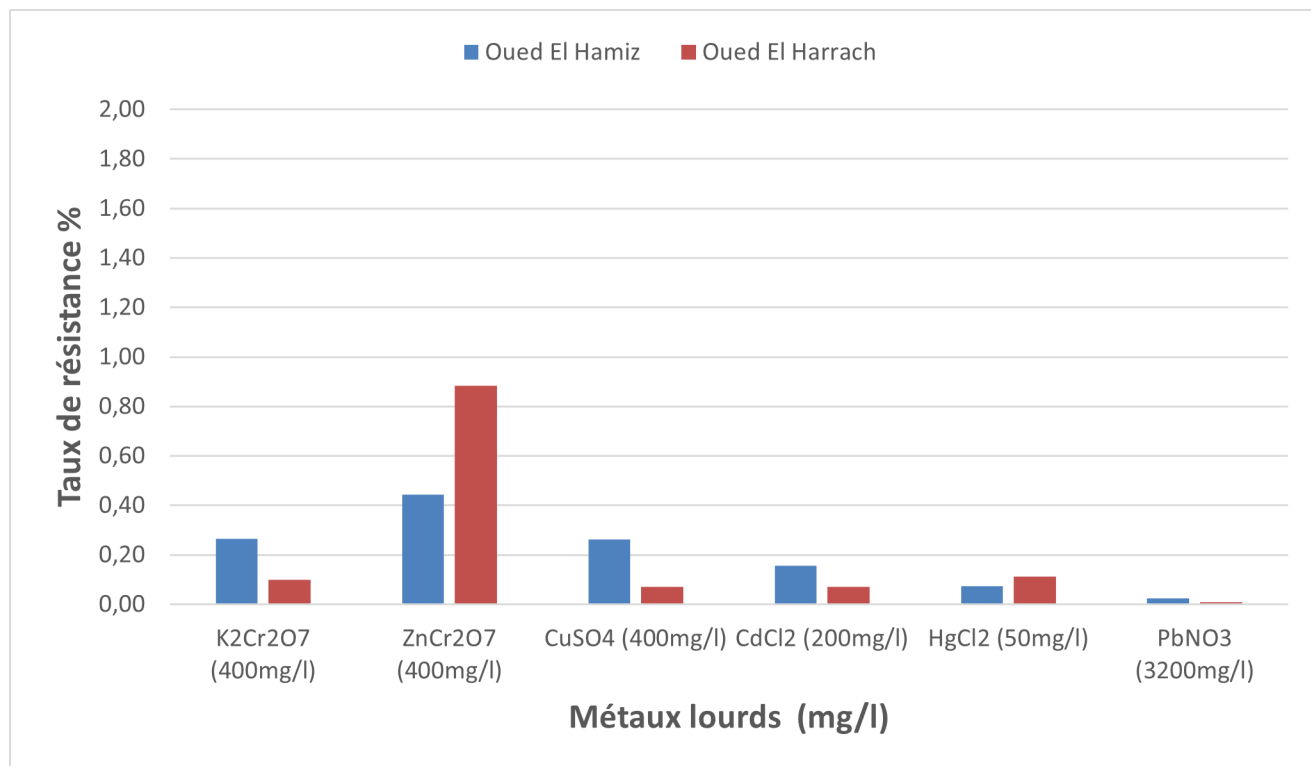


FIG. III.5 – Taux de résistance aux métaux lourds chez la flore totale des embouchures d'Oued El Harrach et Oued El Hamiz

Les résultats indiquent une très faible résistance des bactéries aux métaux lourds étudiés. Pour l'analyse des résultats suivants nous comparerons les taux de résistance entre les deux sites étudiés. Les niveaux de résistances les plus élevés ont été constatés pour le zinc, avec des taux nettement plus marqués à Oued El Harrach (0,88%) par rapport à ceux observés à Oued El Hamiz (0,44%). Les niveaux de résistance au mercure ont affiché une prévalence supérieure à Oued El Harrach (0,11%) par rapport à ceux constatés à Oued El Hamiz (0,07%). Contrairement aux deux métaux précédents, la résistance au cuivre se distingue par des taux plus élevés à Oued El Hamiz (0,26%), tandis qu'à Oued El Harrach, elle se manifeste à un niveau nettement inférieur, de l'ordre de (0,07%).

Les taux de résistance au cadmium sont respectivement de 0,07% et 0,16% pour Oued El Harrach et Oued El Hamiz, un résultat qui met en évidence de manière très explicite une résistance plus élevée à Oued El Hamiz par rapport à Oued El Harrach. En ce qui concerne le plomb, les valeurs observées sont les plus faibles, avec des taux légèrement plus élevés à Oued El Hamiz (0,03%) par rapport à Oued El Harrach (0,01%). La résistance au chrome est plus importante au niveau d'Oued

El Hamiz avec un taux de (0,26%) contre (0,10%) au niveau d'Oued El Harrach.

L'analyse de ces résultats souligne des variations remarquables dans les niveaux de résistance aux métaux lourds entre les sites d'Oued El Harrach et d'Oued El Hamiz. Les taux de résistance au zinc et au mercure sont plus élevés à Oued El Harrach, tandis que pour les autres métaux (plomb, chrome, cadmium, cuivre), ils sont plus élevés à Oued El Hamiz. Cependant, il est important de noter que les taux obtenus sont très faibles pour les deux sites, ce qui indique une résistance globalement faible aux métaux lourds dans ces régions. De plus, ces résultats sont largement inférieurs à ceux retrouvés au niveau de l'embouchure d'Oued Mazafran par **Touahir et al. (2023)**. Ces résultats obtenus peuvent être liés aux travaux d'aménagement effectués et/ou la capacité de dispersion des apports anthropiques dans cette région.

En effet, de nombreuses études ont mis en évidence l'impact de la pollution et des apports anthropiques sur la propagation de la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds (**Alouache et al., 2011 ; Touahir et al., 2023**).

III.3 Identification et caractérisation des souches résistantes

A l'aide de divers tests d'identification précédemment décrit, nous avons identifié un certain nombre de bactéries résistantes, résumées comme suit :

III.3.1 Résultats de la coloration de Gram

Les résultats de la coloration de Gram de 35 souches résistantes aux métaux lourds ont révélé une prédominance des Gram-, avec 33 souches sur 35 sous forme de bacilles et de cocco-bacilles, tandis que seulement 2 souches, appartenant aux Gram+ et regroupées en amas, ont été identifiées comme résistantes. Les résultats sont illustrés et résumés dans la Fig.III.6 et le TABLEAU III.2 :

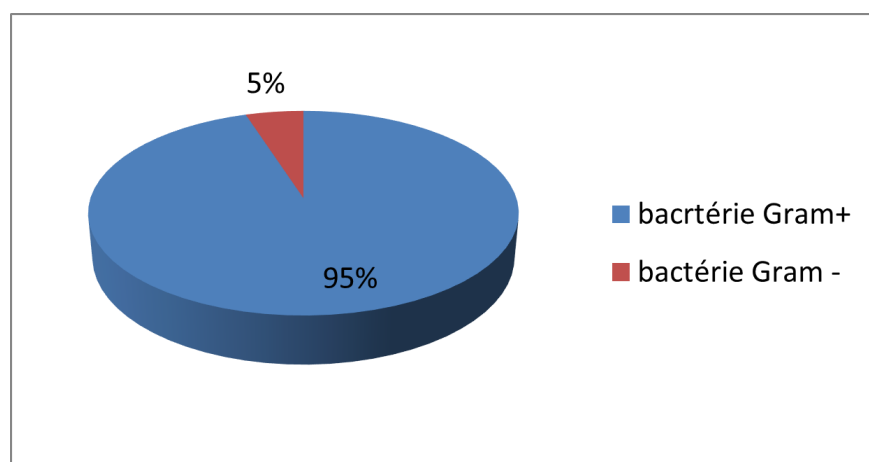


FIG. III.6 – Répartition des bactéries résistantes aux métaux lourds selon le Gram

TABLEAU III.2 – Résultats de la Coloration de GRAM, l'Oxydase et la catalase de 35 souches résistantes aux métaux lourds

Échantillon	Métal	Référence de souche	Forme et arrangement	Coloration de Gram	Oxydase	Catalase
Oued El Harrach	Cr	Hr1	Bacilles	-	+	+
	Cr	Hr1P	Bacilles	-	-	+
	Cr	Hr2	Bacilles	-	-	+
	Cr	Hr3	Bacilles	-	+	+
	Cr	Hr4	Bacilles	-	+	+
	Cr	Hr E	Bacilles	-	-	+
	Zn	HrV	Cocobacilles	-	+	+
	Zn	HrO	Bacilles	-	-	+
	Zn	Hr S 1	Bacilles	-	-	+
	Zn	Hr st	Cocci en amas	+	-	+
	Zn	Hr S 1'	Bacilles	-	-	+
	Zn	Hr S2	Bacilles	-	-	+
	Zn	Hr Sn	Bacilles	-	-	+
	Cu	Hr F	Cocco baciles	-	-	+
	Cd	Hr C3	Cocco baciles	-	+	+
Oued El Hamiz	Cr	Hz1	Bacilles	-	-	+
	Cr	Hz2	Bacilles	-	-	+
	Cr	Hz3	Bacilles	-	-	+
	Cr	Hz4	Bacilles	-	+	+
	Cr	Hz5	Bacilles	-	-	+
	Cr	Hz6	Bacilles	-	+	+
	Zn	Hz E	Bacilles	-	-	+
	Zn	Hz E''	Bacilles	-	+	+
	Zn	Hz st	Cocci en amas	+	+	+
	Zn	Hz5'	Bacilles	-	+	+
	Zn	Hz1'	Bacilles	-	+	+
	Zn	Hz6'	Bacilles	-	+	+
	Zn	Hz2'	Bacilles	-	+	+
	Cu	Hz4'	Bacilles	-	+	+
	Cu	Hz00	Cocco bacilles	-	+	+
	Cd	Hz00'	Bacilles	-	-	+
	Cd	HzX	Bacilles	-	-	+
	Hg	Hz(1)	Bacilles	-	-	-
	Hg	Hz(3)	Bacilles	-	+	-
	Hg	Hz(4)	Bacilles	-	-	+

Selon nos résultats, 95% des bactéries résistantes aux métaux identifiées étaient des Gram négatifs, contre seulement 5% de Gram positifs. Cette observation est cohérente avec les résultats rapportés par **Yamina et al., (2012)**, qui ont constaté que 77% des 41 souches résistantes aux métaux isolées de l'Oued El Harrach étaient des Gram négatifs, tandis que 23% étaient des Gram positifs.

Une autre étude menée par **Chitouh R. et Souilah N. (2018)** a révélé que toutes les souches d'entérobactéries étudiées toléraient à 100% des concentrations de cuivre et de cadmium allant de 12,5 à 400 µg/ml. Des taux de tolérance élevés, compris entre 82% et 90,1% pour le cuivre et entre 82,86% et 97,87% pour le cadmium, ont également été observés pour d'autres souches bactériennes à gram négatif.

Les travaux de **Hassen A et al., (1998)** ont mis en évidence que les isolats bactériens tolérants aux métaux lourds, issus de diverses matrices environnementales, appartenaient principalement au

groupe des bactéries à Gram négatif. Ces souches ont démontré un niveau de tolérance élevé vis-à-vis du cuivre et du mercure, tandis que leur résistance envers le chrome, le zinc, le cobalt et le cadmium s'est avérée modérée, avec des niveaux de tolérance intermédiaires.

Les recherches menées par **Benhalima et al. (2020)** sur la rivière de Seybouse ont corroboré les observations précédentes, révélant que l'ensemble des isolats bactériens résistants au cuivre et au cadmium appartenaient au groupe des bacilles à Gram négatif. Cette constatation vient renforcer l'hypothèse selon laquelle les bactéries Gram négatifs, plus particulièrement les bacilles, sont dotées de systèmes de résistance plus performants et spécifiques vis-à-vis de ces deux métaux lourds. Néanmoins, certaines observations ont révélé des exceptions à la prédominance générale des bactéries à Gram négatif dans la résistance aux métaux lourds. Les travaux de **Bencheikh S. et Boumaaza K. (2017)**, portant sur les eaux de surface, démontrent que les bactéries à Gram positif appartenant au groupe des cocci présentaient une tolérance supérieure au cuivre par rapport aux autres groupes bactériens étudiés. En revanche, les entérobactéries, ont révélé une résistance accrue au cadmium comparativement aux autres souches isolées.

La forte capacité bactérienne de résistance au cuivre pourrait s'expliquer par le fait que la plupart des micro-organismes ont dû s'adapter à la présence du cuivre dans leur habitat en se dotant de mécanismes de tolérance au cuivre et en modifiant les structures de protéines déjà existantes (**Castresana, Lubben et al., 1994**).

La résistance aux métaux et la survie sont le résultat d'une coopération entre les mécanismes de résistance et le métabolisme métallique cellulaire normal (**Soussou, 2013**). Il existe une grande diversité de mécanismes de résistance aux ions métalliques, liée à leur valence, taille, indice de solubilité, potentiel redox et la forme sur laquelle l'élément il se trouve dans l'environnement (**Monchy, 2007**).

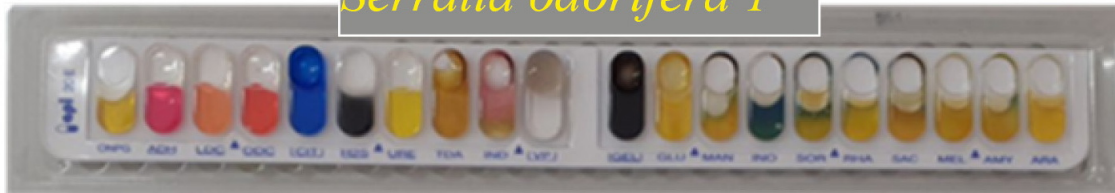
III.3.2 Résultats de l'identification des bactéries Gram- par Galerie API20E

Les bactéries bacilles et coccobacilles à Gram- ont été identifiées à l'aide de la Galerie API20E, conformément aux étapes précédemment décrites. Le résultat de l'identification a été fourni par le logiciel « identification.xls ». Les résultats des galeries ayant permis d'identifier les bactéries Gram- sont présentées dans la Fig.III.7 et Fig.III.8.

Enterobacter cloacae



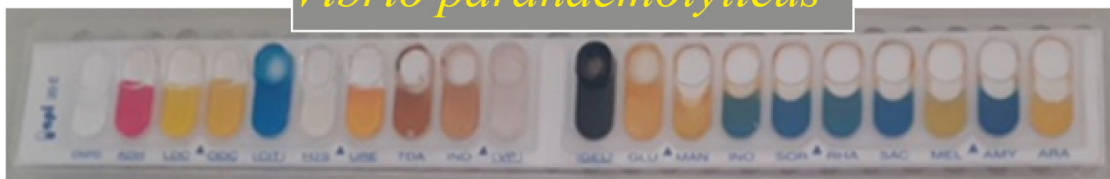
Serratia odorifera 1



Serratia marcescens



Vibrio parahaemolyticus



Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis



Stenotrophomonas maltophilia



FIG. III.7 – Illustration des résultats des galeries API20E



FIG. III.8 – Suite illustration des résultats des galeries API20E

III.3.2.1 Résultats de l'identification des Gram+

Les bactéries ayant présenté une coloration de Gram positive et un regroupement en amas ont été isolées sur milieu Chapman. Après une incubation de 24 heures, des colonies caractéristiques dorées ont poussées, accompagnées d'un virage au jaune du rouge du phénol, indiquant la fermentation du mannitol, comme l'indique la Fig.III.9.



FIG. III.9 – Colonies jaune sur gélose Chapman

Les colonies caractéristiques obtenues ont été soumises à un test de la catalase, qui s'est révélé positif Fig.III.10 (A), ainsi qu'à un test de coagulase. Après une incubation de 24 heures, la formation d'un coagulum a confirmé un test de coagulase positif Fig.III.10 (B).

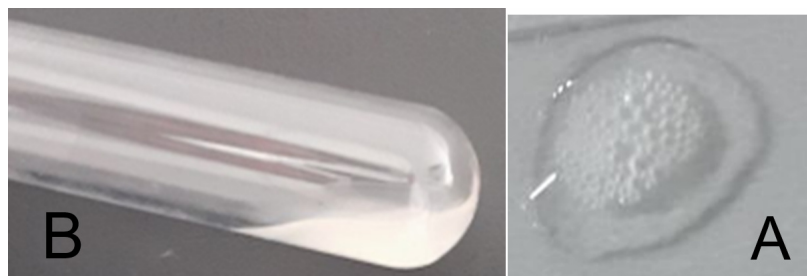


FIG. III.10 – Test Catalase (+) en (A), Test Coagulase (+) en (B)

Ces résultats nous orientent et nous confirment l'identification de *Staphylococcus aureus*.

Les résultats ont conduit à l'identification des 13 espèces suivantes :

Pseudomonas aeruginosa (n=12), *Enterobacter cloacae* (n=5), *Serratia odorifera* 1(n=2), *Serratia marcescens* (n=2), *Citrobacter freundii* (n=4), *Staphylococcus aureus* (n=2), *Klebsiella oxytoca* (n=2), *Escherichia coli* (n=1), *Vibrio parahaemolyticus* (n=1), *Pasteurella pneumotropica* (n=1), *Stenotrophomonas maltophilia* (n=1), *Aeromonas salmonicida* (n=1), *Klebsiella pneumoniae subsp. Rhinoscleromatis* (n=1). Pour plus de détail voir le TABLEAU III.3.

TABLEAU III.3 – Résultat de l'identification de 35 souches résistantes aux métaux lourds

Échantillon	Métal	Référence de souche	Identification
Oued El Harrach	Cr	Hr1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Cr	Hr1P	<i>Enterobacter cloacae</i>
	Cr	Hr3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Cr	Hr4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Cr	Hr E	<i>Serratia odorifera 1</i>
	Zn	HrV	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Zn	HrO	<i>Serratia marcescens</i>
	Zn	Hr S 1	<i>Citrobacter freundii</i>
	Zn	Hr st	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Zn	Hr S 1'	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	Zn	Hr S2	<i>Citrobacter freundii</i>
	Zn	Hr Sn	<i>Citrobacter freundii</i>
	Cu	Hr F	<i>Serratia odorifera 1</i>
	Cd	Hr C3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Hg	Hr 9	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Oued El Hamiz	Cr	Hz1	<i>Enterobacter cloacae</i>
	Cr	Hz2	<i>Enterobacter cloacae</i>
	Cr	Hz3	<i>Serratia marcescens</i>
	Cr	Hz4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Cr	Hz5	<i>Enterobacter cloacae</i>
	Cr	Hz6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Zn	Hz E	<i>Escherichia coli</i>
	Zn	Hz E''	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	Zn	Hz st	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Zn	Hz5'	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Zn	Hz1'	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Zn	Hz6'	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Zn	Hz2'	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Cu	Hz4'	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Cu	Hz00	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
	Cd	Hz00'	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	Cd	HzX	<i>Enterobacter cloacae</i>
	Hg	Hz(1)	<i>Aeromonas salmonicida</i>
	Hg	Hz(3)	<i>Citrobacter freundii</i>
	Hg	Hz(4)	<i>Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis</i>

Plusieurs genres bactériens ont été identifiés comme résistants à divers métaux lourds. Les principaux genres incluent *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*. Parmi les Gram positif, seule *Staphylococcus aureus* a été fréquemment identifiée.

Le genre *Pseudomonas* est réputé pour sa résistance aux métaux lourds (**Leedjaru et al., 1996**). Nos résultats confirment cette hypothèse, puisque *Pseudomonas aeruginosa* était la bactérie la plus couramment retrouvée dans les deux sites, indiquant une ubiquité et résistance aux métaux lourds. Cela corrobore également les conclusions de **Malik et Aleem (2010)**, qui ont constaté que la majorité des *Pseudomonas* isolés de l'eau et des sols irrigués par des eaux usées présentaient une tolérance élevée aux métaux lourds.

D'après les recherches ultérieures de **Chitouh R. et Souilah N. (2018)**, l'espèce *Klebsiella pneumoniae* (E2) a montré le taux de tolérance le plus élevé (plus de 99% vis-à-vis du cuivre et plus de 98% vis-à-vis du cadmium).

Une autre étude menée par **Matyer et al. (2009)** a mis en évidence une forte résistance aux métaux lourds chez les genres *Pseudomonas* et *Aeromonas*, associée à une résistance aux antibiotiques.

III.4 Détermination du profil de résistance des bactéries aux métaux lourds

En raison des contraintes de temps, nous avons concentré nos efforts sur l'étude du profil de résistance de 15 souches, parmi les 35 souches résistantes, indiquées dans le **TABLEAU III.4**.

Les profils de résistance aux métaux lourds de 15 souches résistantes aux métaux lourds ont été étudiés Fig.III.11, TABLE III.4 Les résultats ont révélé une multi résistance variant de 3 à 5 métaux. Un profil de résistance à 4 métaux est majoritairement observé, concernant 10 souches sur 15, réparties selon les deux profils suivants : Zn-Cu-Cd-Cr (n=8) et Zn-Cu-Cd-Hg (n=2). Le profil de résistance à 5 métaux, Zn-Cu-Cd-Cr-Hg (n=2), a été identifié dans Oued El Hamiz, correspondant à *Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis* et *Aeromonas salmonicida*. Le profil le moins répandu est celui de la résistance à 3 métaux, Zn-Cu-Cr (n=3), observé chez *Serratia odorifera*. Toutes les souches observées sont résistantes au zinc et au cuivre. En revanche, aucune des souches testées n'a montré de résistance au plomb.

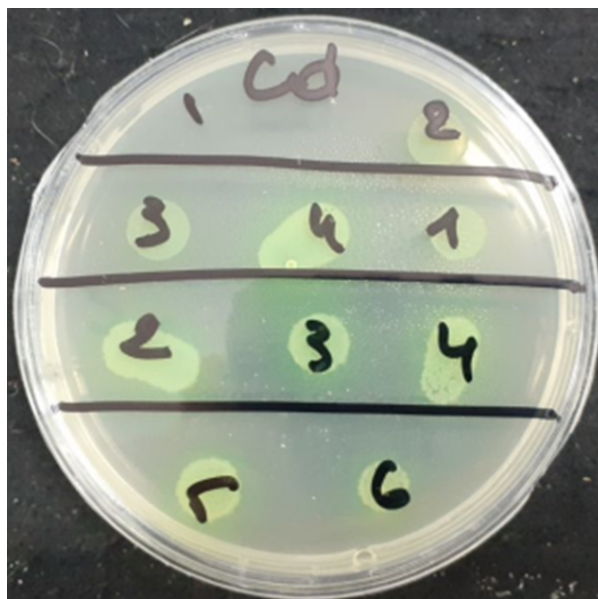


FIG. III.11 – Illustration des résultats de la multirésistance des souches (cas du cadmium)

TABLEAU III.4 – Profil de 15 souches résistantes aux métaux lourds isolées, les concentrations sont en ($\mu\text{g/ml}$)

Site	code	Souches	Zn(400)	Cu(400)	Cd(200)	Cr(400)	Hg(50)	Pb(3200)
Oued El Harrach	Hr1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	Hr S 1'	<i>Klebsiella oxytoca</i>	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
	Hr S 1	<i>Citrobacterfreundii</i>	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
	Hr F	<i>Serratia odorifera</i>	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
	Hr st	<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
Oued El Hamiz	Hz4'	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	Hz(4)	<i>Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	Hz00	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	Hz3	<i>Serratia marcescens</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	HzX	<i>Enterobacter cloacae</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	Hz00'	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	Hz(1)	<i>Aeromonas salmonicida</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	Hz st	<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
	Hz E	<i>E.coli</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
Hz E''	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	

Yamina et al., (2012) ont démontré, d'après leurs résultats, que la plupart des souches isolées étaient multirésistantes et, contrairement à nos résultats, résistantes au plomb. Une autre étude menée par **Habi S et al., (2009)** sur des cours d'eau de la région de Sétif a révélé que *Citrobacter spp*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp* et *Serratia spp* sont les espèces les plus résistantes aux métaux lourds, avec des profils de multirésistance au plomb (Pb), au mercure (Hg) et au cadmium (Cd). Les résultats ont également montré que le phénotype le plus dominant était celui du mercure-cadmium (HgCd), indiquant une association entre la résistance au mercure et au cadmium.

L'étude de **Chitouh R. et Souilah N. (2018)** a révélé que presque toutes les souches de staphylocoques étudiées étaient résistantes au cuivre et au cadmium, bien que *Staphylococcus aureus* se soit montrée légèrement plus sensible à ces métaux. Ces résultats concordent avec les nôtres, qui indiquent également une sensibilité accrue de *Staphylococcus aureus* au cadmium dans notre étude.

Ashraf et al. (2018) ont démontré dans leurs recherches que les espèces *Enterobacter sp*, *Microbacterium arborescens* et *Pantoea stewartii* peuvent proliférer dans des environnements hautement toxiques en métaux lourds et se sont révélées efficaces pour réduire le chrome dans les effluents des tanneries.

Diverses études ont rapporté que la formation de biofilms par *Pseudochrobacrum saccharolyticum* LY10 (**Long et al., 2019**), *Arthrobacter sp.* SUK 1205 (**Dey et Paul, 2018**), *E. coli* et *Staphylococcus epidermidis* (**Quiton et al., 2018**), ainsi que *Stenotrophomonas maltophilia* (**Baldiris et al., 2018**) pourrait représenter des organismes potentiels pour la remédiation du Cr(VI).

III.5 Profil de résistance associée aux antibiotiques des souches résistantes aux métaux lourds

Les résultats du profil de résistance aux 8 antibiotiques testés pour les 15 souches bactériennes sont résumés dans le TABLEAU III.5.

TABLEAU III.5 – profil de résistances des 15 souches aux 8 antibiotiques testés

Souches	code	AM	CAZ	CX	AK	GM	B	TE	TMP
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hr1	R	R	R	R	R	S	R	R
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Hz(4)	S	R	S	R	R	S	R	R
<i>Citrobacter freundii</i>	Hr S1	S	R	S	R	R	S	R	R
<i>Serratia odorifera</i>	Hr F	S	R	S	R	R	S	R	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	Hz st	S	R	S	R	R	S	R	S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hz4'	R	R	R	R	R	S	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. Rhinoscleromatis</i>	Hz(4)	S	R	S	R	R	S	R	R
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	Hz00	S	R	S	R	R	S	R	S
<i>Serratia marcescens</i>	Hz3	R	R	R	R	R	S	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	HzX	S	R	S	R	R	S	R	S
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Hz00'	S	R	S	R	R	S	R	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	Hr st	S	R	S	R	R	S	R	S
<i>Aeromonas salmonicida</i>	Hz(1)	R	R	R	R	R	S	S	R
<i>E.coli</i>	Hz E	S	R	S	R	R	S	R	S
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Hz E''	S	R	S	R	R	S	R	R

Le R fait référence à une résistance, Le S fait référence à une sensibilité l'antibiotique.

D'après les résultats, les souches bactériennes testées ont présenté un profil de multirésistance de 4 à 7 molécules antibiotiques et multidrug résistance MDR avec une résistance de 3 à 4 familles d'antibiotiques. Les phénotypes de résistance prédominants sont : le profil de résistance à 4 antibiotiques (AK, GM, TE, CAZ) et le profil de résistance à 5 antibiotiques (AK, GM, TE, CAZ, TMP). Seulement 3 souches ont démontré un profil de résistance à 7 antibiotiques : *Pseudomonas aeruginosa* et *Serratia marcescens* présentant le phénotype suivant : AM, CX, CAZ, AK, GM, TE,

TMP. Tandis que *Aeromonas salmonicida* était la seule souche sensible à la Tétracycline (TE), avec un profil : CX, AM, AK, GM, CAZ, TMP. En revanche, aucune souche n'a développé de résistance à la Bacitracine (B).

Les résultats obtenus indiquent que toutes les entérobactéries étudiées présentent une multi-résistance (BMR). Ce phénomène constitue un problème majeur de santé publique, amplifié par l'usage abusif et non contrôlé des antibiotiques (Schwaber *et al.*, 2006). En Algérie, les entérobactéries, en particulier celles produisant des β -lactamases à spectre élargi (BLSE), sont les BMR les plus fréquentes tant dans les environnements hospitaliers que dans les milieux aquatiques (Touati, 2006 ; Messai *et al.*, 2008 ; alouache *et al.*, 2011 ; alouache *et al.*, 2014).

Les métaux lourds favorisent indirectement, par co-sélection, la résistance aux antibiotiques (Koditschek et Guyre, 1974). Ce processus de sélection indirecte est dû au couplage des mécanismes de résistance contre les antibiotiques et les métaux lourds. Ces mécanismes peuvent être liés physiologiquement (résistance croisée) et/ou génétiquement (co-résistance) (Seiler & Berendonk, 2012). La résistance croisée décrit les mécanismes qui confèrent une tolérance à plusieurs agents antimicrobiens comme les antibiotiques et les métaux lourds à savoir le système d'efflux ou l'imperméabilité (Chapman, 2003). La co-résistance fait référence à la présence sur un même élément génétique mobile de gènes conférant la résistance à différents agents antimicrobiens, comme les antibiotiques et les métaux lourds, permettant ainsi leur transmission conjointe lors de transferts horizontaux de gènes (Chapman, 2003). Un exemple concret a été rapporté par Osman *et al.* (2010) qui ont identifié chez une bactérie aquatique un plasmide abritant à la fois des gènes de résistance aux antibiotiques et aux métaux comme le chrome et le cobalt, favorisant vraisemblablement leur co-dissémination.

Une étude réalisée par Habu et Daba (2009) a mis en évidence que des souches bactériennes à Gram négatif et à Gram positif, isolées sur des milieux supplémentés en cobalt, plomb, mercure et molybdène, présentaient des phénotypes de résistance à l'ampicilline et au chloramphénicol. Touahir *et al.*, 2023 ont rapporté des taux de résistance important à l'amoxicilline (100%), triméthoprim-sulfamides (55.9%) et tétracyclines (50.8%) chez des entérobactéries résistantes aux métaux lourds isolées dans la baie de Bousmail. Perron *et al.* 2004 ont abordé la question de la co-résistance régulatrice aux métaux et aux antibiotiques chez la bactérie à Gram négatif *P. aeruginosa*. Les isolats exposés au zinc se sont également révélés résistants à d'autres métaux lourds (cadmium et cobalt) et à l'antibiotique de la classe des carbapénèmes, l'imipénème.

De plus, *Aeromonas salmonicida subsp. Salmonicida* isolée du saumon atlantique (Salmosalar) dans des installations aquacoles a été identifiée comme portant l'opéron mer de résistance au mercure ainsi que de multiples gènes de résistance aux antibiotiques (aadA7, sulI, sulIII, floR, tetA, tetR, strA, strB, et blaCMY-2) sur un plasmide IncA/C (McIntosh *et al.*, 2008).

Nos résultats indiquent que les espèces bactériennes capables de résister et de proliférer en présence de mercure (Hg), à savoir *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*, *Citrobacter freundii* et *Aeromonas salmonicida*, ont développé une résistance aux aminoglycosides (amikacine et gentamicine). Ces observations contrastent avec celles de **Tuckfield et McArthur (2008)** qui ont rapporté une diminution de la résistance microbienne aux aminoglycosides sur des sites contaminés par le mercure (Hg). De plus, nos données divergent également de l'étude de **Chitouh R. et Souilah N. (2018)** qui a mis en évidence une sensibilité de *Staphylococcus aureus* à la gentamicine, alors que nos résultats révèlent une résistance de cette espèce à cet antibiotique aminoglycosidique.

Les résultats de l'identification des souches bactériennes résistantes aux métaux lourds et aux antibiotiques révèlent des implications préoccupantes pour l'environnement et la santé publique. En effet, la présence de telles souches dans des écosystèmes naturels peut entraîner une contamination prolongée des sols et des eaux, perturbant les chaînes alimentaires et augmentant les risques de propagation de résistances aux antibiotiques chez les microorganismes pathogènes. Cependant, cette capacité de résistance peut être exploitée de manière positive pour le traitement des effluents industriels riches en métaux lourds. C'est dans cette optique que la deuxième partie de notre étude s'est focalisée sur l'évaluation du potentiel de trois souches bactériennes spécifiques, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, pour la bioremédiation du Cr(VI). Ces bactéries, grâce à leurs mécanismes de résistance et de réduction des métaux, pourraient offrir une solution biotechnologique efficace pour la dépollution des milieux contaminés.

III.6 Résultat de l'essai d'élimination du chrome par des souches résistantes aux métaux lourds ; Cas de *Klebsiella pneumoniae* subsp. *Rhinoscleromatis* (Hz(4))

III.6.1 Effet du pourcentage de l'inoculum et de la concentration initiale du Cr VI sur la croissance bactérienne

Le suivi de la croissance microbienne a été réalisé à une DO de 600 nm sur une période de 5 jours (120 heures) dans des conditions variées, y compris en absence et en présence de Cr VI à des concentrations de 100 et 200 mg/l, ainsi qu'avec différentes quantités initiales d'inoculum (1%, 5 % et 10 %) à des pH de 5, 7 et 9.

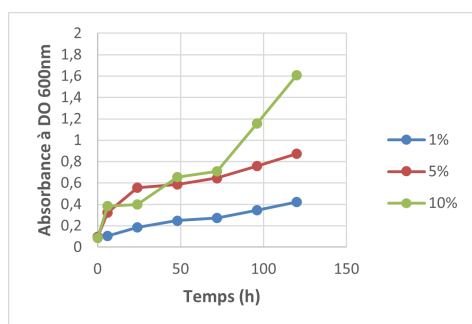


FIG. III.12 – Suivi de la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH5 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en absence du Chrome

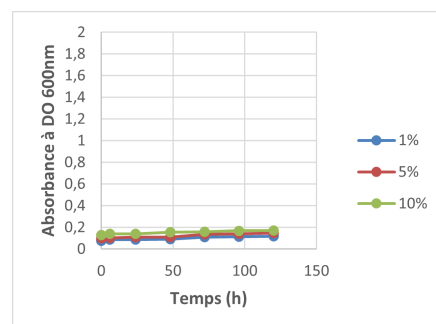


FIG. III.13 – Suivi de la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH5 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 100mg/l de Chrome

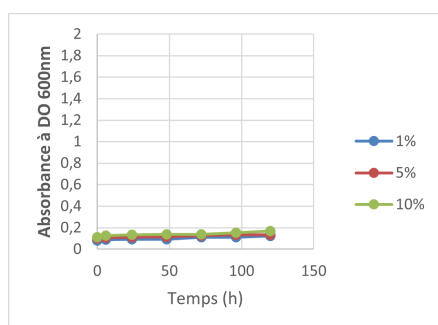


FIG. III.14 – Suivi de la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH5 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 200mg/l de Chrome

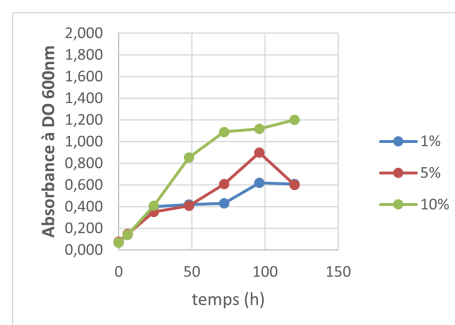


FIG. III.15 – Suivi de la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH7 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en absence du Chrome

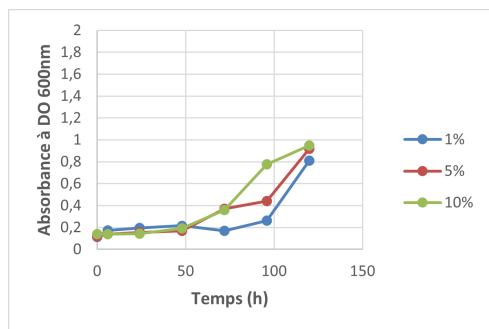


FIG. III.16 – Suivre de la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH7 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 100mg/l de Chrome

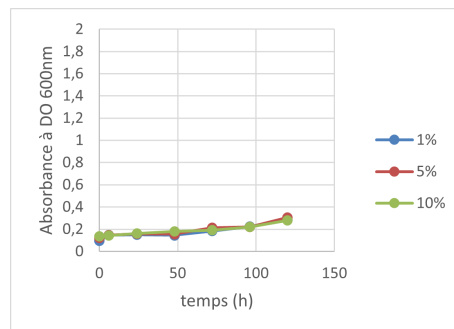


FIG. III.17 – Suivre de la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH7 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 200mg/l de Chrome

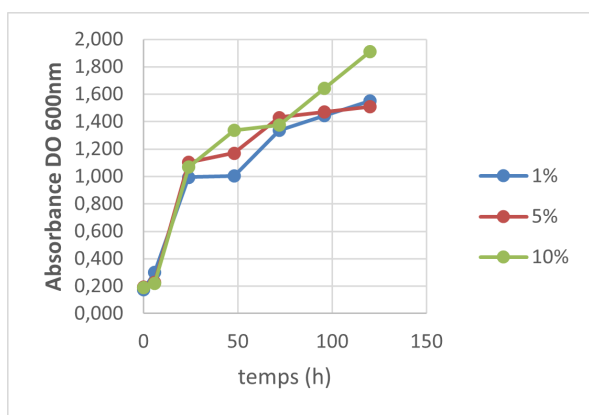


FIG. III.18 – Suivre de la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH9 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en absence du Chrome

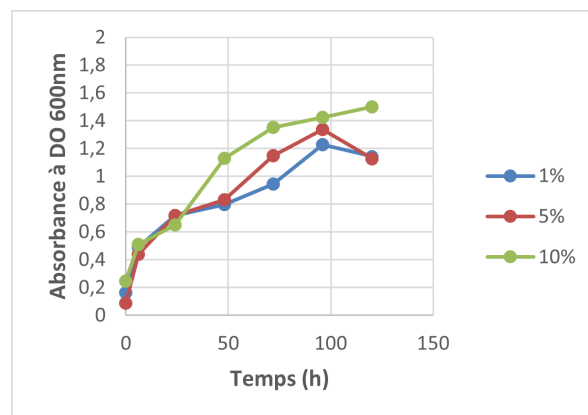


FIG. III.19 – Suivre de la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH9 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 100mg/l de Chrome

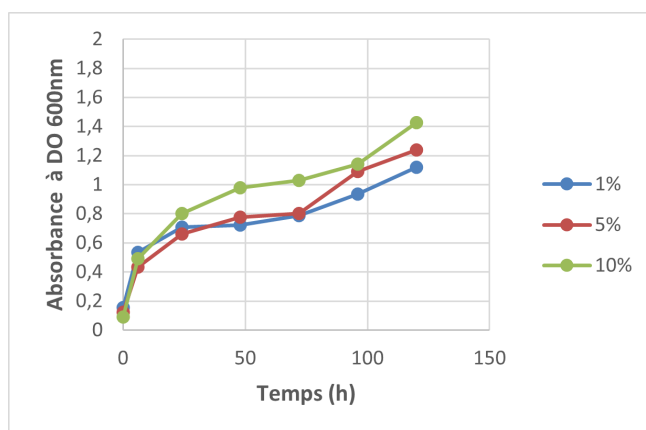


FIG. III.20 – Suivre de la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH9 pour différents pourcentage d'inoculum (1%,5%,10%) et en présence de 200mg/l de Chrome

Les résultats des figures Fig.III.12 à Fig.III.20 révèlent une corrélation positive entre le pourcentage d'inoculum et la cinétique de croissance de *Klebsiella pneumoniae* dans l'ensemble des conditions expérimentales étudiées. Cette tendance est particulièrement prononcée pour l'inoculum à 10%, qui démontre de façon constante la croissance la plus élevée. Les densités optiques (DO) maximales atteintes pour un inoculum de 10% varient en fonction du pH, avec des valeurs de 1,2, 1,6 et 1,8 observées respectivement à pH 7, 5 et 9, soulignant l'influence significative du pH sur la prolifération bactérienne.

Les figures Fig.III.21 à Fig.III.29 mettent en évidence l'effet inhibiteur du chrome sur la croissance bactérienne. Une relation dose-dépendante est observée, où l'augmentation de la concentration en chrome de 0 à 200 mg/l se traduit par une réduction progressive et généralisée des taux de croissance.

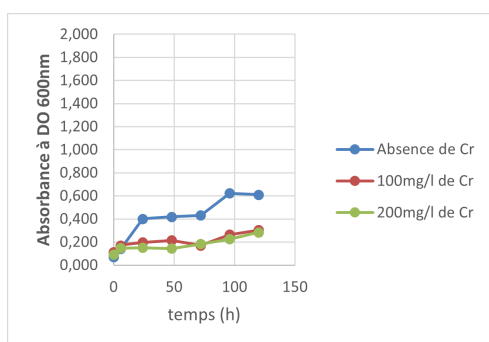


FIG. III.21 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH7 pour un inoculum de 1%

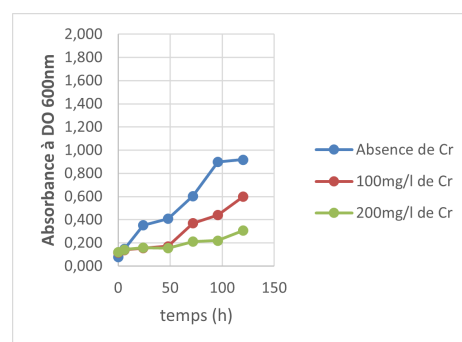


FIG. III.22 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH7 pour un inoculum de 5%

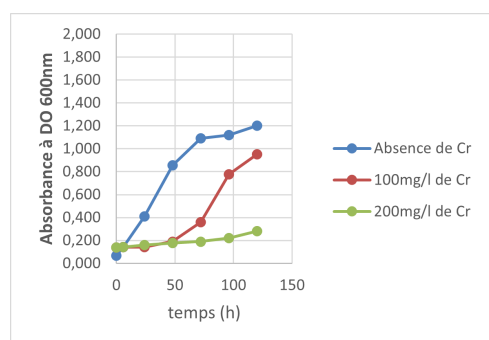


FIG. III.23 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH7 pour un inoculum de 10%

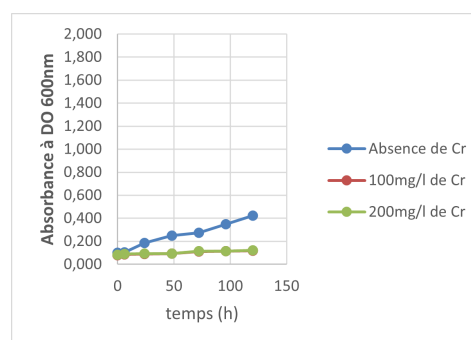


FIG. III.24 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH5 pour un inoculum de 1%

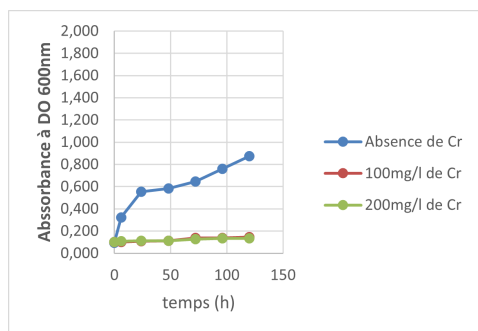


FIG. III.25 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH5 pour un inoculum de 5%

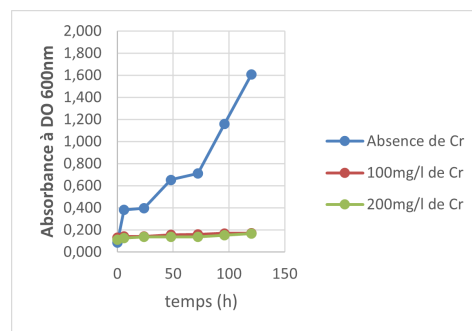


FIG. III.26 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH5 pour un inoculum de 10%

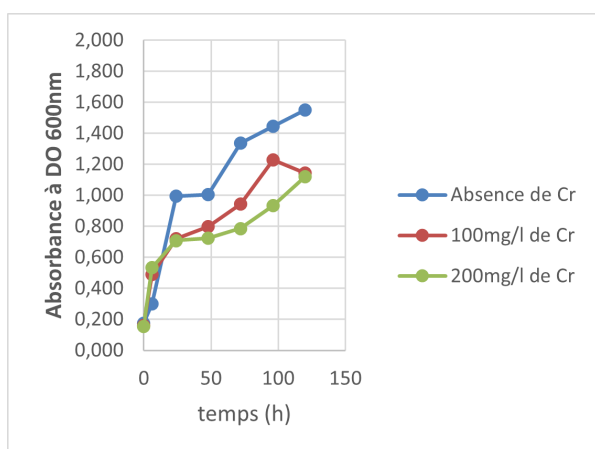


FIG. III.27 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH9 pour un inoculum de 1%

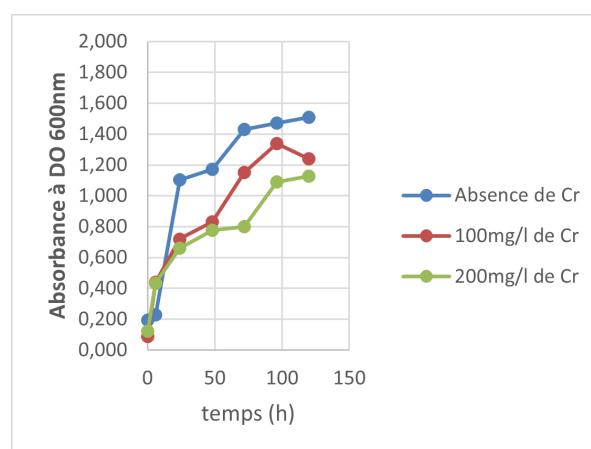


FIG. III.28 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH9 pour un inoculum de 5%

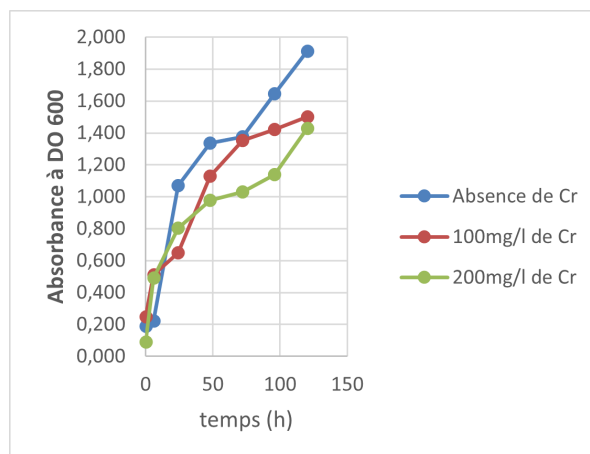


FIG. III.29 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* à DO=600nm à pH9 pour un inoculum de 10%

III.6.2 Effet du pourcentage de l'inoculum et de la concentration initiale de Cr VI sur l'élimination du Cr VI

Les figures de Fig.III.30 à Fig.III.35 illustrent le suivi de la réduction du chrome dans le milieu en utilisant divers inoculum (1%, 5%, 10%) avec des concentrations initiales de 100 mg/l et 200 mg/l de CrVI.

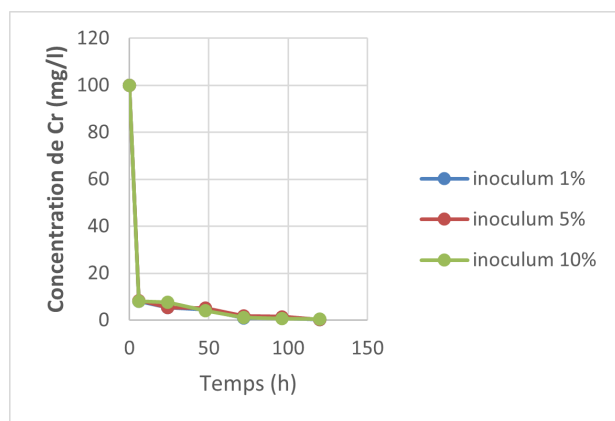


FIG. III.30 – Suivi de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 100mg/l par *Klebsiella pneumoniae* à différents pourcentages d'inoculum et à pH 7

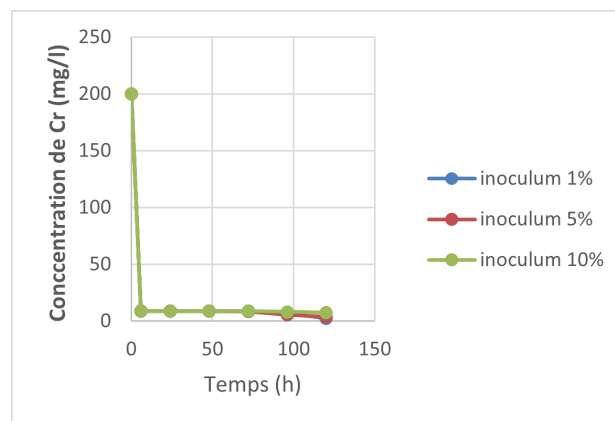


FIG. III.31 – Suivi de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 200mg/l par *Klebsiella pneumoniae* à différents pourcentages d'inoculum et à pH 7

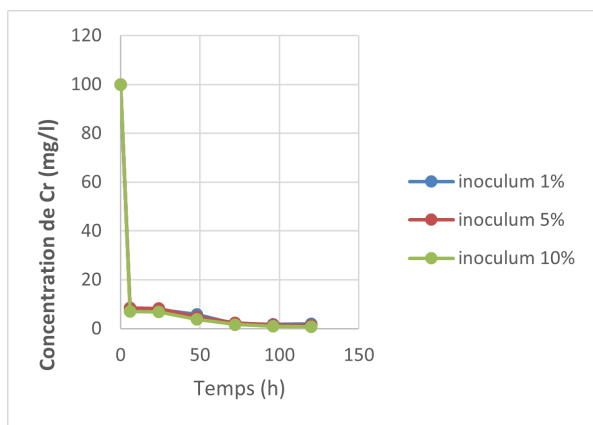


FIG. III.32 – Suivi de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 100mg/l par *Klebsiella pneumoniae* à différents pourcentages d'inoculum et à pH 5

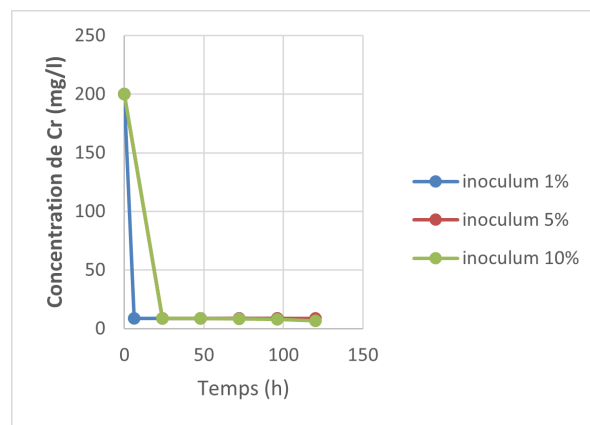


FIG. III.33 – Suivi de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 200mg/l par *Klebsiella pneumoniae* à différents pourcentages d'inoculum et à pH 5

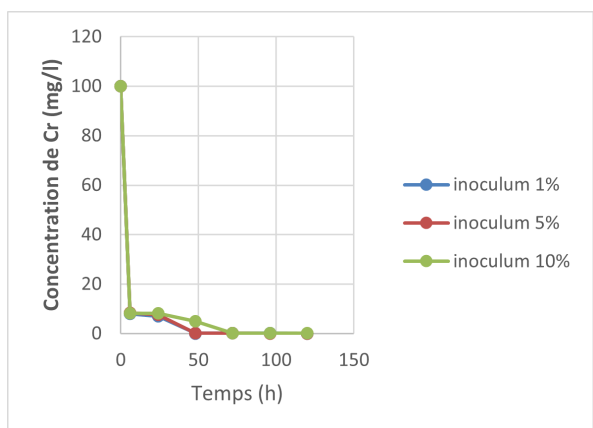


FIG. III.34 – Suivi de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 100mg/l par *Klebsiella pneumoniae* à différents pourcentages d'inoculum et à pH 9

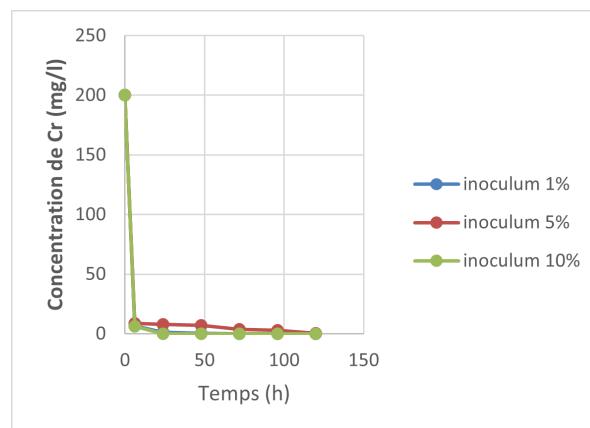


FIG. III.35 – Suivi de l'élimination du Chrome à une concentration initiale de 200mg/l par *Klebsiella pneumoniae* à différents pourcentages d'inoculum et à pH 9

On remarque une élimination rapide et efficace du contaminant dès les premières 24 heures quel que soit le pH et la concentration initiale du Cr. L'influence de la concentration d'inoculum est significative, avec l'inoculum à 10% démontrant systématiquement une efficacité supérieure par rapport à l'inoculum à 5% et à 1%. Cette tendance se manifeste par des taux d'élimination plus élevés et une cinétique plus rapide pour la concentration la plus forte d'inoculum. Par ailleurs, la concentration initiale de Cr joue un rôle dans l'efficacité du processus. À 100 mg/l, les taux d'élimination atteignent des niveaux exceptionnels, dépassant 99% dans la plupart des cas. En comparaison, à 200 mg/l, bien que l'élimination reste très efficace avec des taux supérieurs à 96%, on observe une légère diminution de l'efficacité en termes de pourcentage. Cette différence suggère que la capacité de bioremédiation de *K. pneumoniae*, bien que robuste, peut être légèrement affectée par des concentrations plus élevées de Cr, spécialement aux pH 5 et 7 qui influent sur la croissance.

III.6.3 Effet du pH sur la croissance bactérienne

L'influence du pH sur l'élimination du chrome hexavalent (CrVI) par *Klebsiella pneumoniae* a été examinée dans cette étude par rapport à 3 pH (5,7,9). Deux concentrations de CrVI (100 mg/l et 200 mg/l) ont été testées avec trois pourcentages d'inoculum initial (1%, 5%, 10%).

La croissance bactérienne a été suivie pendant 5 jours en mesurant la densité optique à 600 nm.

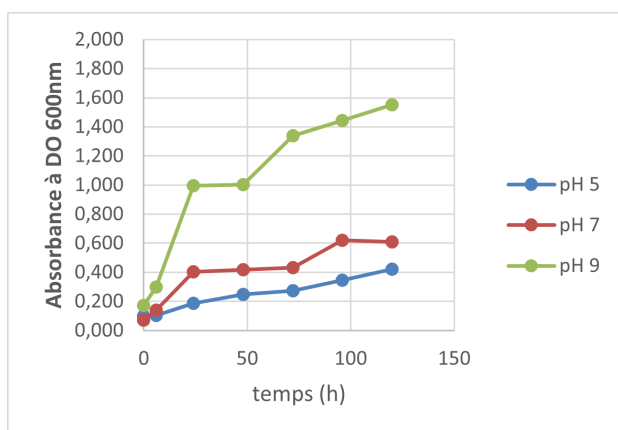


FIG. III.36 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* pour un inoculum de 1% et en absence de Cr

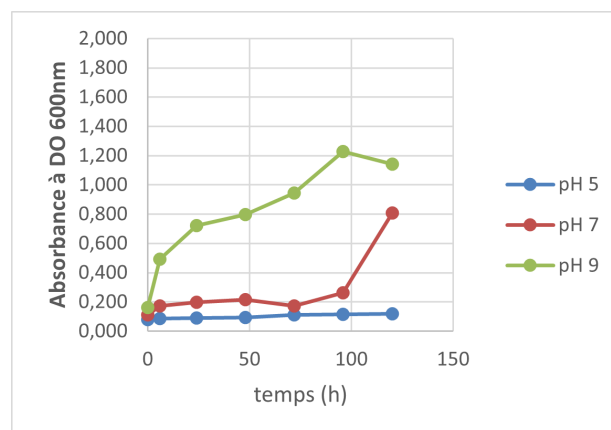


FIG. III.37 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* pour un inoculum de 1% et en présence de 100mg/l de Cr

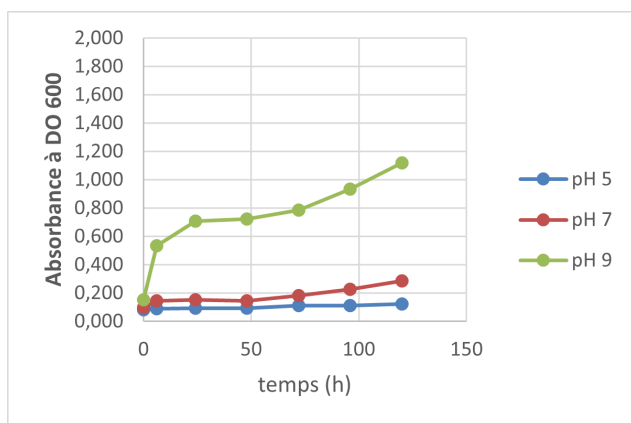


FIG. III.38 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* pour un inoculum de 1% et en présence de 200mg/l de Cr

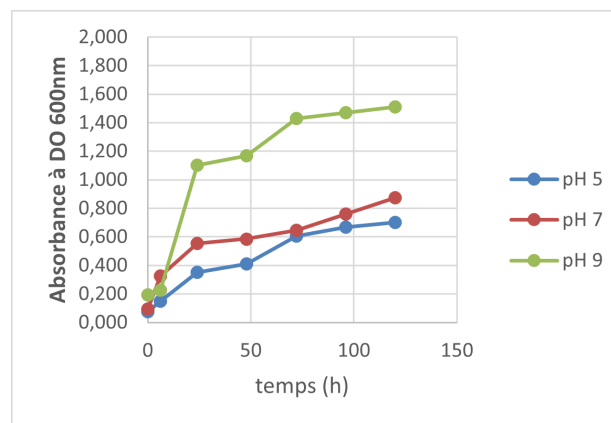


FIG. III.39 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* pour un inoculum de 5% et absence de Cr

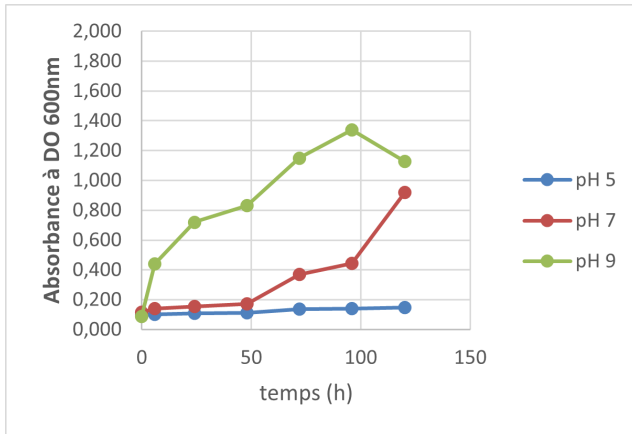


FIG. III.40 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* pour un inoculum de 5% et présence de 100mg/l de Cr

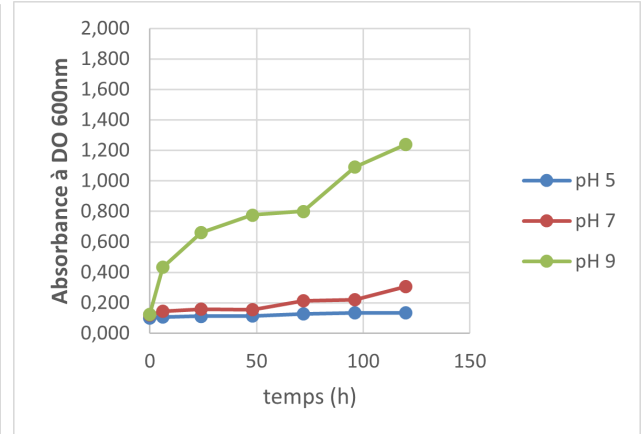


FIG. III.41 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* pour un inoculum de 5% et présence de 200mg/l de Cr

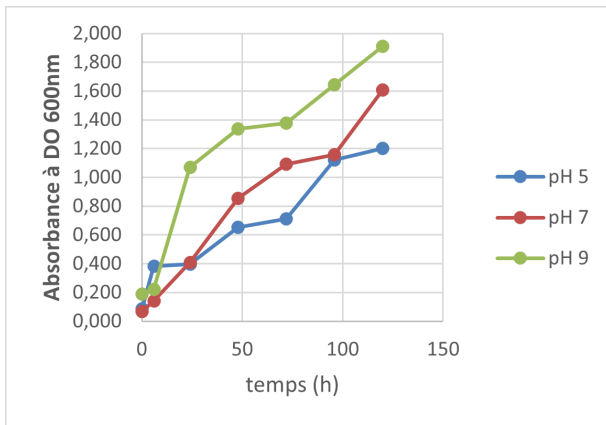


FIG. III.42 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* pour un inoculum de 10% et en absence de Cr

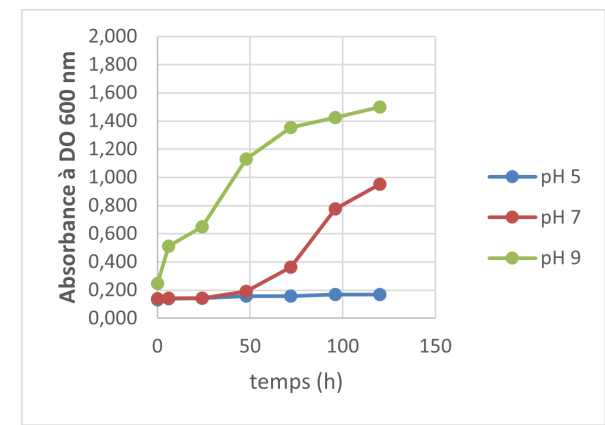


FIG. III.43 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* pour un inoculum de 10% et en présence de 100mg/l de Cr

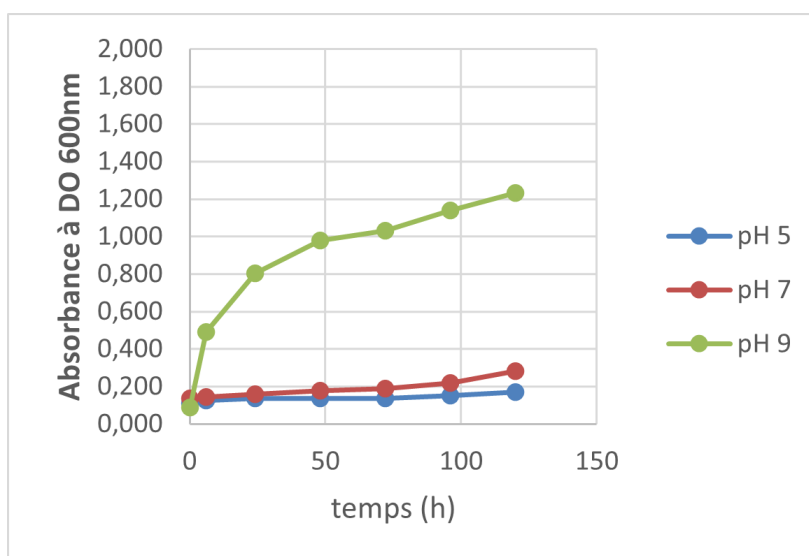


FIG. III.44 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* pour un inoculum de 10% et en présence de 200mg/l de Cr

Les résultats présentés dans les figures Fig.III.36 à Fig.III.44 indiquent que *K.pneumoniae* présente une croissance optimale à pH 9, tant en absence qu'en présence de chrome. En revanche, une croissance significativement réduite est observée à pH 5, indépendamment de l'inoculum initial avec un effet particulièrement marqué en présence de Cr.

III.6.4 Effet du pH sur l'élimination du Cr VI

Les résultats des figures Fig.III.45 à III.50 montrent qu'à pH 9 l'élimination du Cr VI est plus efficace, mieux que les pH 7 et 5, quelle que soit la concentration initiale ou le pourcentage d'inoculum. Cette efficacité en milieu alcalin est constante dans toutes les conditions testées. On observe aussi que l'augmentation du pourcentage d'inoculum améliore le processus d'élimination à tous les pH. Un inoculum de 10% permet une élimination plus rapide et complète, surtout après 48 heures de traitement, avec des taux d'élimination proches de 100% pour une concentration de 100 mg/l. En revanche, une concentration de 200 mg/l nécessite un temps de traitement plus long pour atteindre des niveaux comparables. Ces résultats sont obtenus, même en présence d'une croissance quasi nulle à pH 7 et 5 (figure de la croissance). Ce qui laisse suggérer une élimination du chrome par des souches actives sans la production d'un excès de biomasse ce qui pourrait être également intéressant.

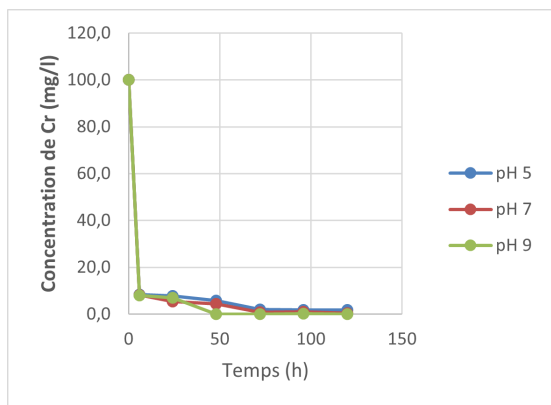


FIG. III.45 – Effet du pH sur l’élimination de 100mg/l de Cr par *Klebsiella pneumoniae* en présence d’inoculum 1%

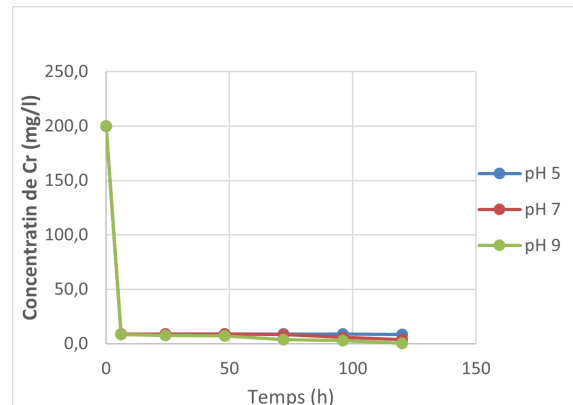


FIG. III.46 – Effet du pH sur l’élimination de 200mg/l de Cr par *Klebsiella pneumoniae* en présence d’inoculum 1%

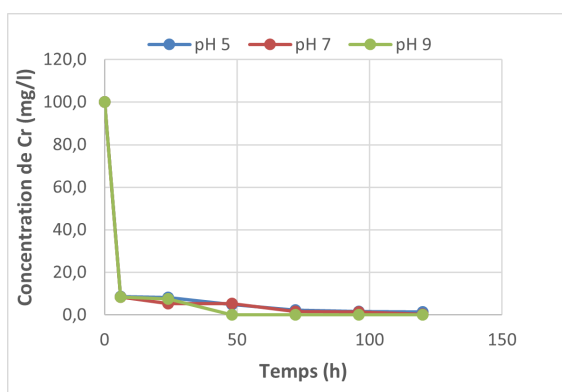


FIG. III.47 – Effet du pH sur l’élimination de 100mg/l de Cr par *Klebsiella pneumoniae* en présence d’inoculum 5%

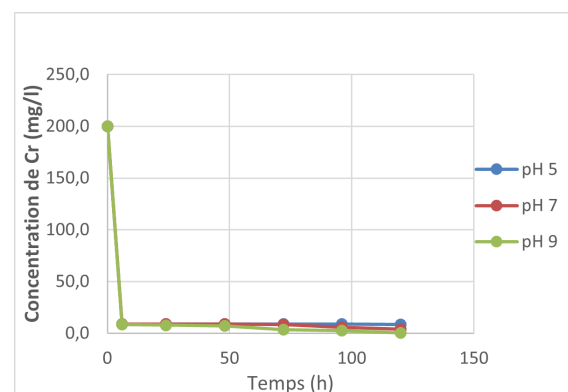


FIG. III.48 – Effet du pH sur l’élimination de 200mg/l de Cr par *Klebsiella pneumoniae* en présence d’inoculum 5%

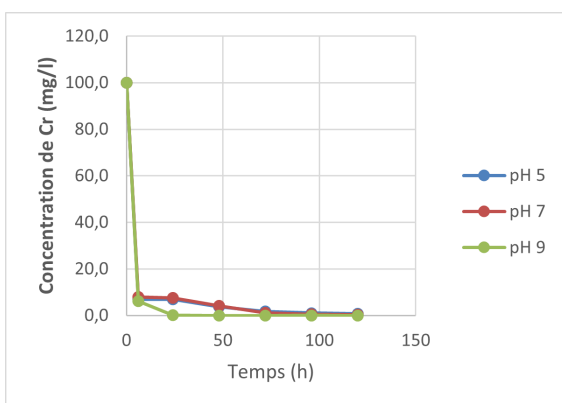


FIG. III.49 – Effet du pH sur l’élimination de 100mg/l de Cr par *Klebsiella pneumoniae* en présence d’inoculum 10%

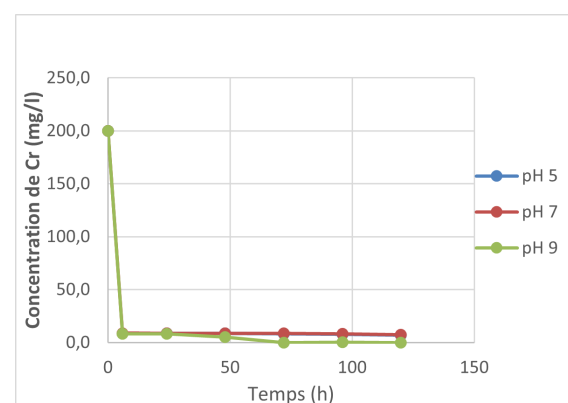


FIG. III.50 – Effet du pH sur l’élimination de 200mg/l de Cr par *Klebsiella pneumoniae* en présence d’inoculum 10%

III.7 Résultat de l'essai d'élimination du chrome par des souches résistantes aux métaux lourds ; Cas de *Staphylococcus aureus* (Hr st)

III.7.1 Effet du pourcentage d'inoculum et de la concentration initiale de Cr(VI) sur la croissance bactérienne

La croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* a été suivie à une DO de 600 nm sur une période de 5 jours (120 heures) dans différentes conditions, incluant l'absence et la présence de Cr VI à des concentrations de 100 et 200 mg/l, ainsi que des quantités initiales d'inoculum de 1 %, 5 %, et 10 % à des pH de 5, 7 et 9. Les résultats de ce suivi sont représentés dans les figures de Fig.III.51 à Fig.III.59

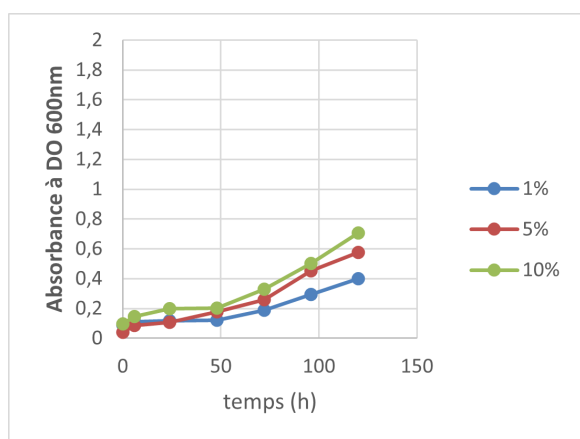


FIG. III.51 – Suivi de la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence du Cr

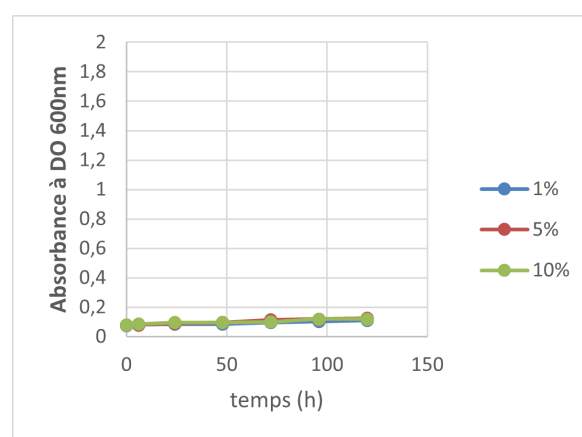


FIG. III.52 – Suivi de la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l de Cr

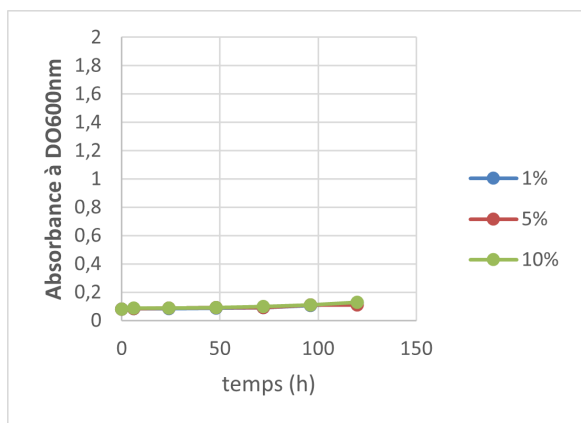


FIG. III.53 – Suivre de la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d’inoculum et en présence de 200mg/l de Cr

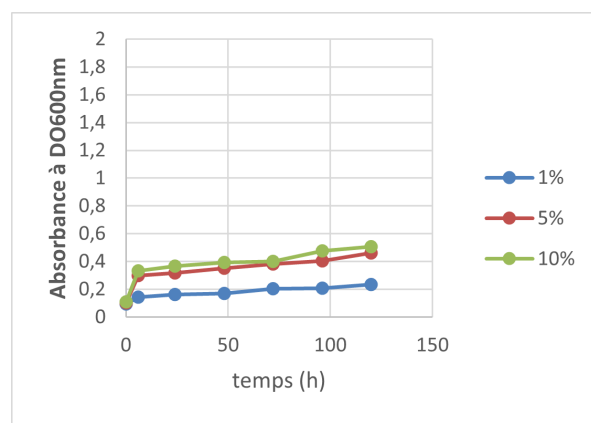


FIG. III.54 – Suivre de la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d’inoculum et en absence du Cr

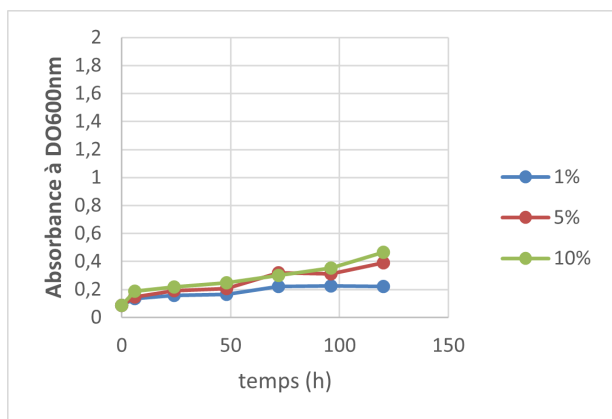


FIG. III.55 – Suivre de la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à D O=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d’inoculum et en présence de 100mg/l de Cr

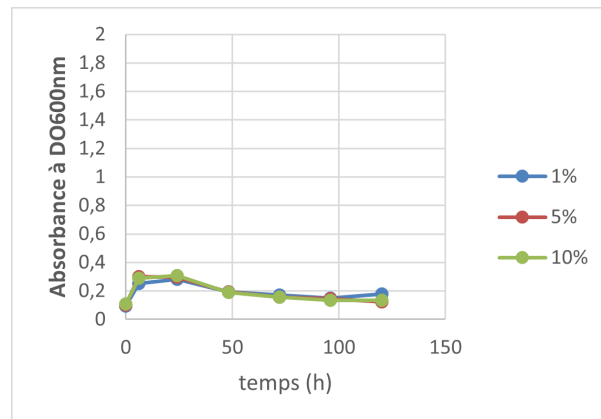


FIG. III.56 – Suivre de la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d’inoculum et en présence de 200mg/l de Cr

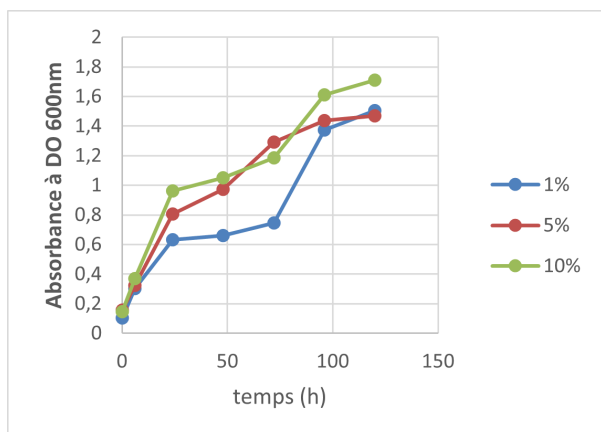


FIG. III.57 – Suivi de la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence du Cr

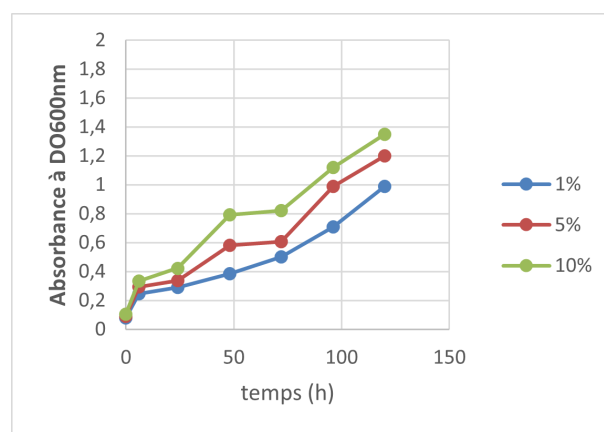


FIG. III.58 – Suivi de la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l de Cr

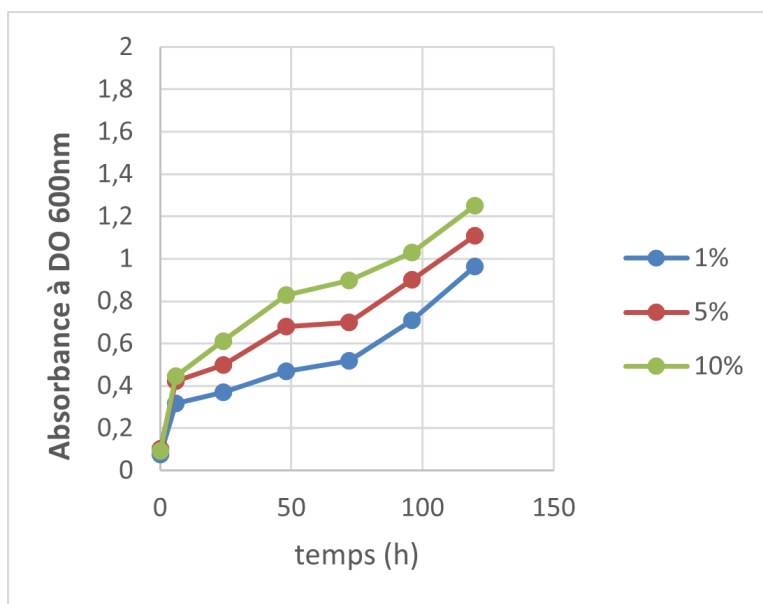


FIG. III.59 – Suivi de la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr

Les résultats montrent que l'inoculum de 10% favorise une meilleure croissance bactérienne par rapport aux inoculum de 1% et 5% dans toutes les conditions testées. En l'absence de Cr VI, cette différence est particulièrement marquée, avec des DO maximales atteignant respectivement 0,8, 0,6 et 1,8 pour les pH 5, 7 et 9. Cependant, en présence de Cr VI, cet effet est atténué, les courbes de croissance étant quasiment superposées, surtout à un pH de 5. À pH 9, en revanche, la distinction entre les différents pourcentages d'inoculum reste clairement visible, indiquant une influence plus prononcée du pourcentage d'inoculum sur la croissance bactérienne dans des conditions alcalines.

Les figures de Fig.III.60 à Fig.III.68 montrent que le Cr VI inhibe significativement la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus*, quelle que soit la concentration (100 mg/l ou 200 mg/l) et le pH (5 ou 7). Cette inhibition est plus prononcée à pH 5. À pH 9, l'effet est moins marqué, en particulier pour les inoculum de 5% et 10%, où les courbes de croissance du témoin et celles des concentrations de 100 mg/l et 200 mg/l sont approximativement similaires.

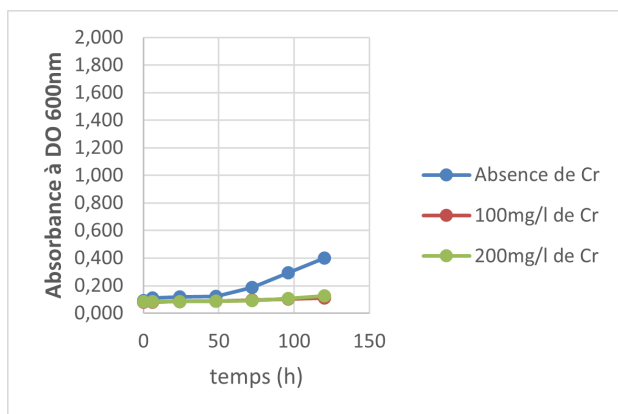


FIG. III.60 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 1%

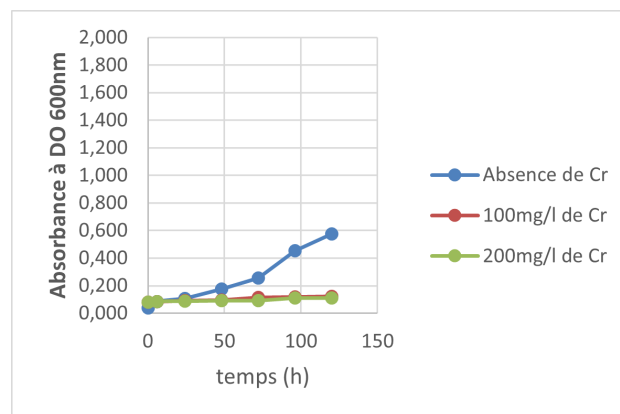


FIG. III.61 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 5%

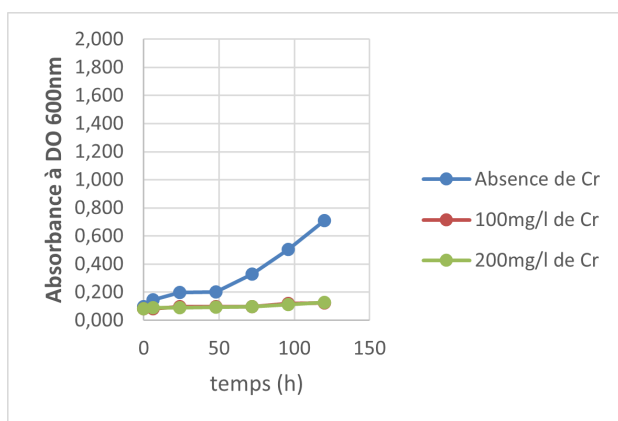


FIG. III.62 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 10%

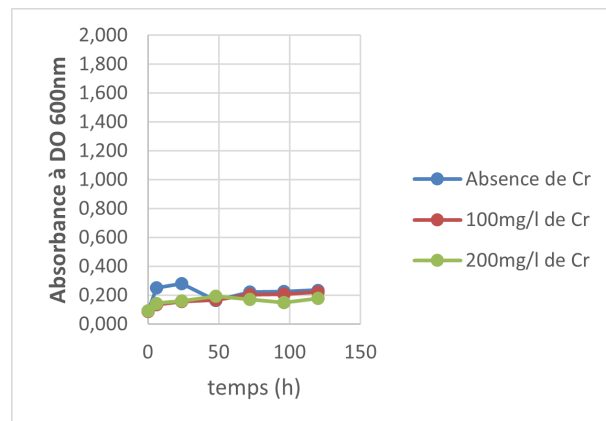


FIG. III.63 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 1%

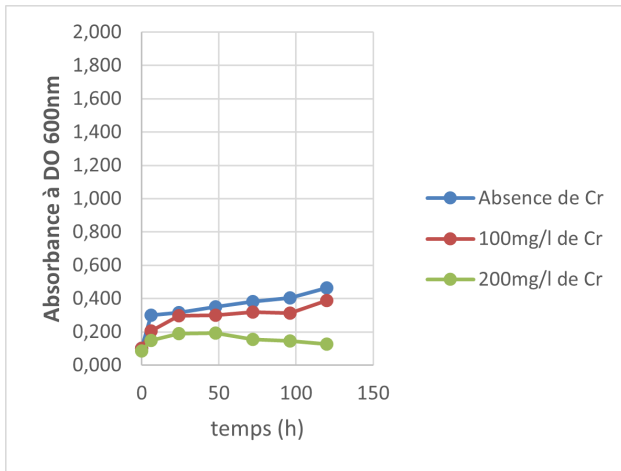


FIG. III.64 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 5%

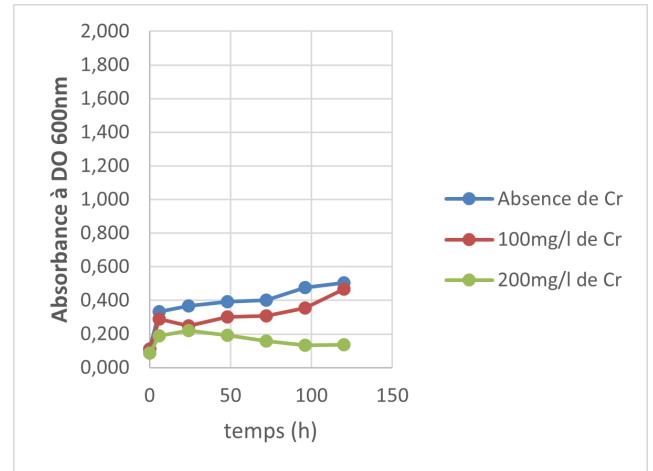


FIG. III.65 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 10%

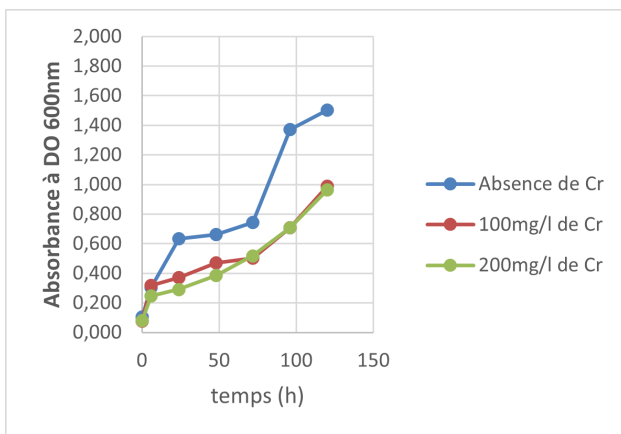


FIG. III.66 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 1%

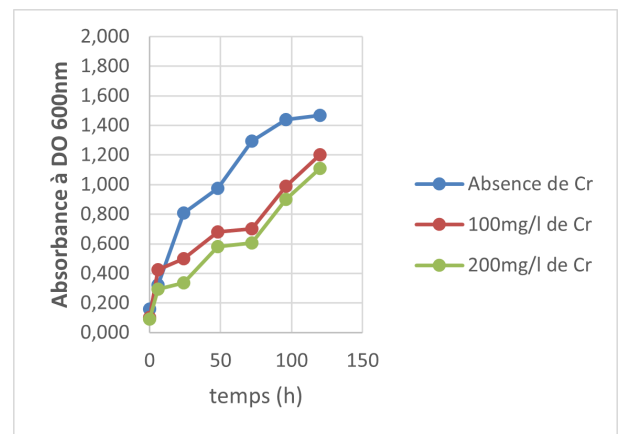


FIG. III.67 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 5%

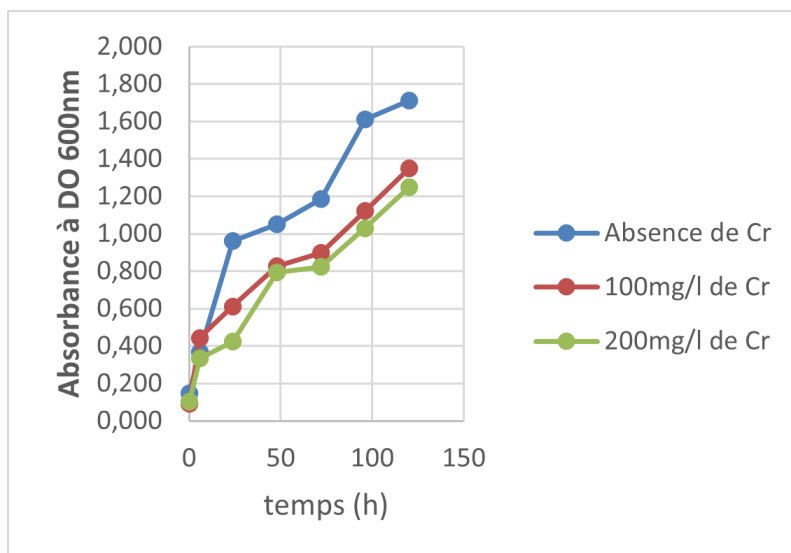


FIG. III.68 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 10%

III.7.2 Effet du pourcentage de l'inoculum et de la concentration initiale de Cr (VI) sur l'élimination du Cr (VI)

Les figures de Fig.III.69 à Fig.III.74 présentent le suivi de la réduction du chrome dans le milieu sur une période de 5 jours, utilisant divers pourcentages d'inoculum (1%, 5%, 10%) et des concentrations initiales de Cr VI de 100 mg/l et 200 mg/l.

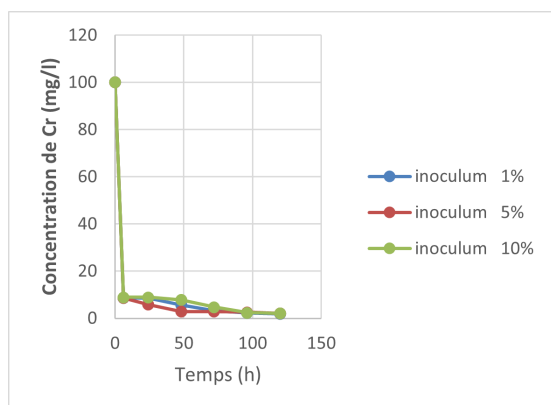


FIG. III.69 – Suivi de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par *Staphylococcus aureus* et à différents pourcentages d'inoculum à pH 5

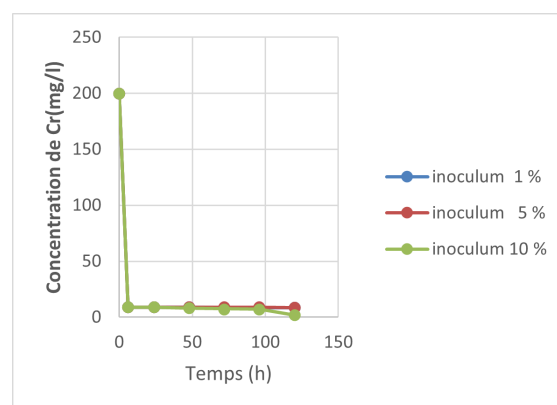


FIG. III.70 – Suivi de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par *Staphylococcus aureus* et à différents pourcentages d'inoculum à pH 5

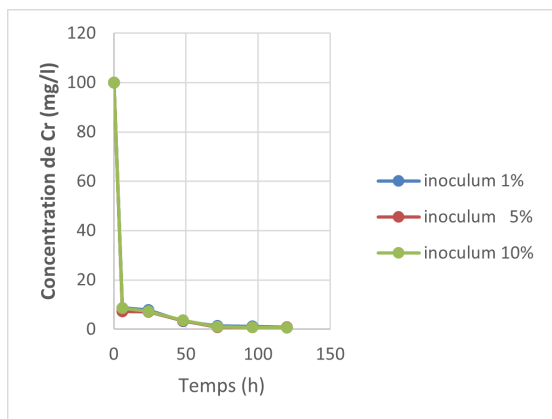


FIG. III.71 – Suivi de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par *Staphylococcus aureus* et à différents pourcentages d'inoculum à pH 7

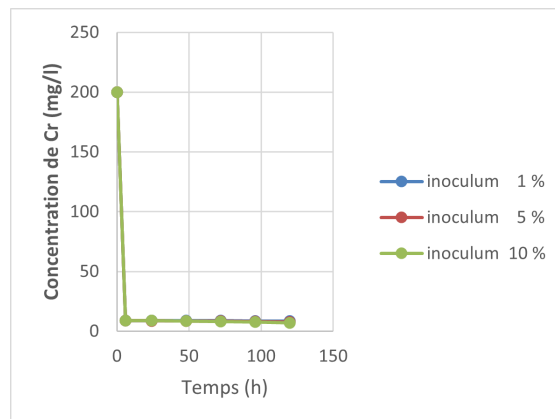


FIG. III.72 – Suivi de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par *Staphylococcus aureus* et à différents pourcentages d'inoculum à pH 7

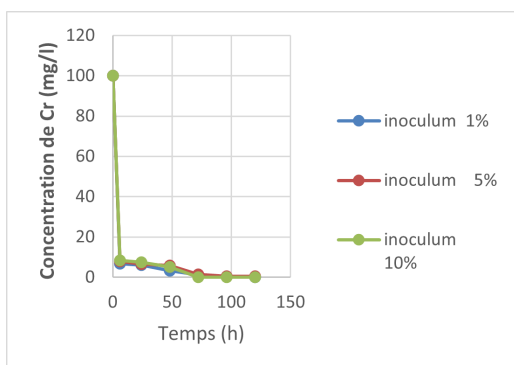


FIG. III.73 – Suivi de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par *Staphylococcus aureus* et à différents pourcentages d'inoculum à pH 9

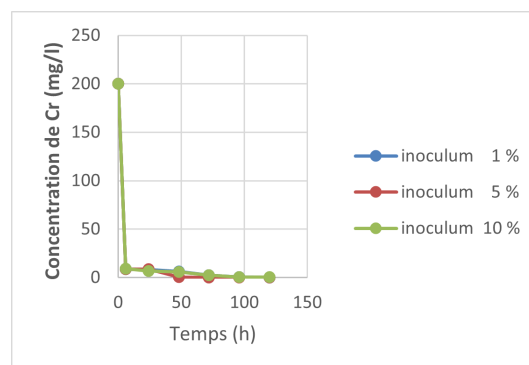


FIG. III.74 – Suivi de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par *Staphylococcus aureus* et à différents pourcentages d'inoculum à pH 9

L'analyse des figures révèle que le pourcentage d'inoculum initial (1%, 5%, 10%) n'influence pas significativement l'élimination du Cr VI par *S. aureus* de manière générale. Les courbes d'élimination du chrome sont similaires quel que soit le pourcentage d'inoculum, à quelques exceptions près. Notamment, pour une concentration de 100 mg/l de Cr VI à pH 5 et pour une concentration de 200 mg/l à pH 9, l'inoculum de 5% montre une élimination légèrement supérieure par rapport aux autres pourcentages. En ce qui concerne l'effet de la concentration initiale de Cr VI, il est observé que l'élimination du chrome à une concentration de 100 mg/l atteint des taux de 99% en 72 heures, contrairement à la concentration de 200 mg/l qui nécessite plus de temps pour atteindre des niveaux comparables.

III.7.3 Effet du pH sur la croissance bactérienne

Dans cette partie on a examiné l'influence de divers pH (5, 7 et 9) sur la croissance bactérienne de *S. aureus*. Deux concentrations de Cr(VI) (100 mg/l et 200 mg/l) ont été testées avec trois quantité d'inoculum initial (1%, 5% et 10%), en suivant la croissance par mesure de l'absorbance à 600 nm sur une période de cinq jours. Les résultats sont illustrés dans les figures de Fig.III.75 à Fig.III.83

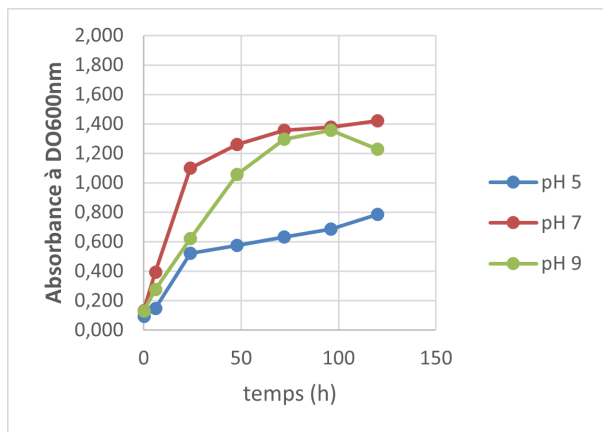


FIG. III.75 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* en absence de Cr et un inoculum de 1%

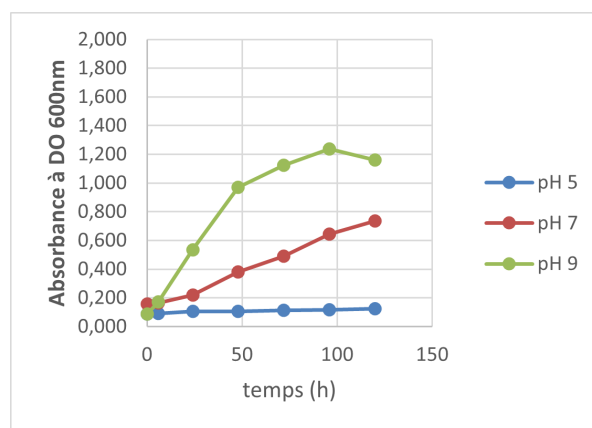


FIG. III.76 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* en présence de 100mg/l de Cr et un inoculum de 1%

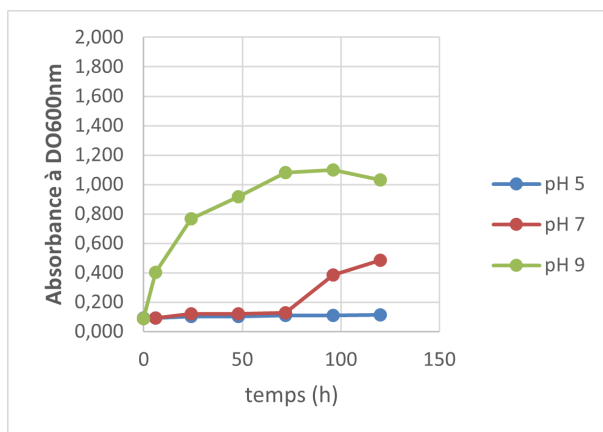


FIG. III.77 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* en présence de 200mg/l de Cr et un inoculum de 1%

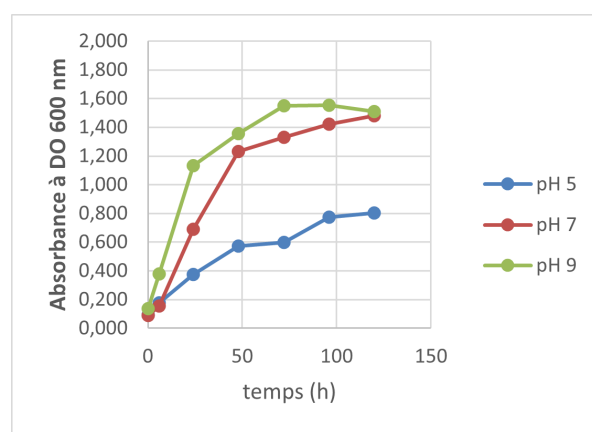


FIG. III.78 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* en absence de Cr et un inoculum de 5%

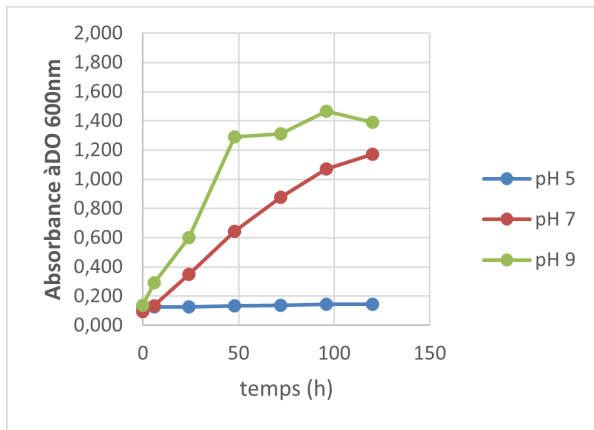


FIG. III.79 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* en présence de 100mg/l de Cr et un inoculum de 5%

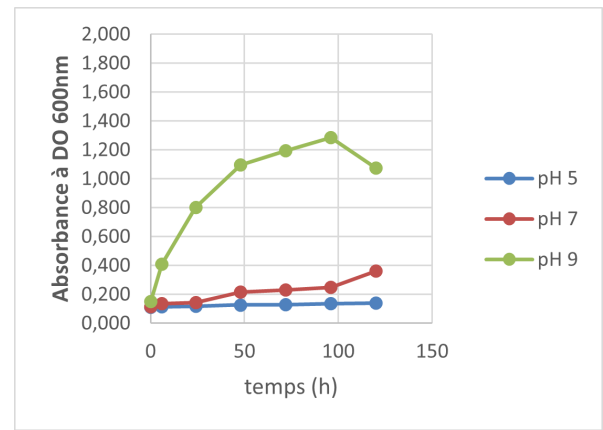


FIG. III.80 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* en présence de 200mg/l de Cr et un inoculum de 5%

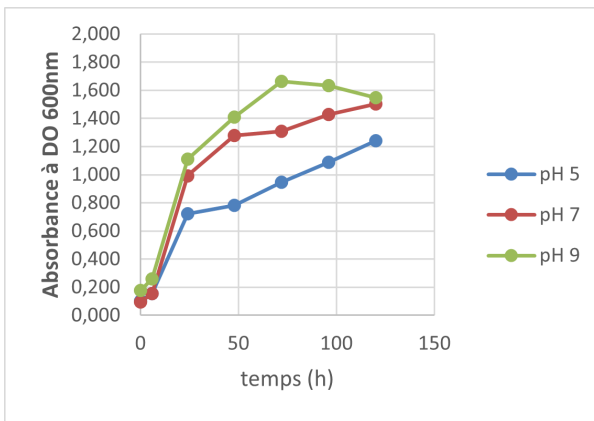


FIG. III.81 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* en absence de Cr et un inoculum de 10%

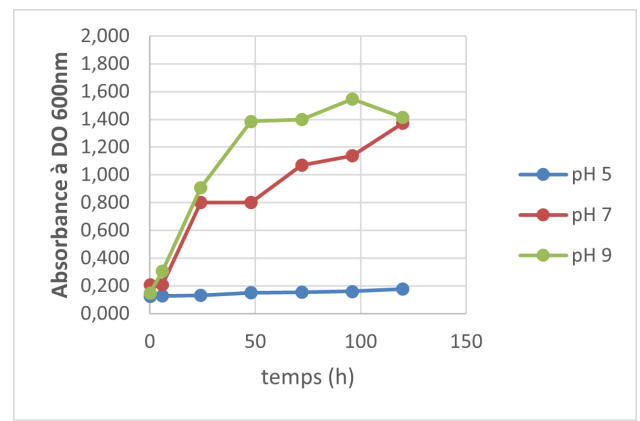


FIG. III.82 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* en présence de 100mg/l de Cr et un inoculum de 10%

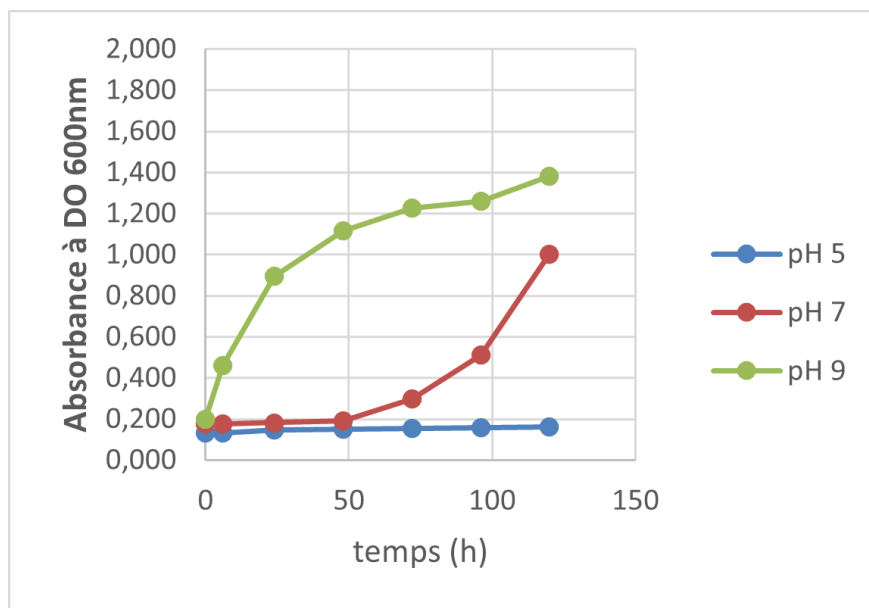


FIG. III.83 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* en présence de 200mg/l de Cr et un inoculum de 10%

Cette étude examine comment le pH affecte la croissance de *S. aureus* en présence de différentes concentrations initiales de Cr (100 mg/l et 200 mg/l) et avec des niveaux d'inoculum variables. Les résultats indiquent que, en l'absence de Cr, la croissance bactérienne est maximale à pH 9, suivie de près par pH 7 pour les inoculum de 5% et 10%, en revanche un inoculum de 1% montre une croissance optimale à pH 7. Avec 100 mg/l de Cr, la croissance diminue légèrement à pH 9 et 7, mais elle chute de manière significative à pH 5, quel que soit l'inoculum testé. Cela se traduit par une réduction de la Densité Optique (DO) de 0,8 à 0,1 pour un inoculum de 1%, de 0,8 à 0,1 pour 5%, et de 1,2 à 0,2 pour 10%. À une concentration initiale de 200 mg/l de Cr, la croissance bactérienne diminue à pH 7 et 5, avec une légère diminution à pH 9.

III.7.4 Effet du pH sur l'élimination du Cr(VI)

L'influence de trois niveaux de pH (5, 7 et 9) sur la réduction du Cr(VI) a été exploré en utilisant des concentrations de 100 mg/l et 200 mg/l de Cr, tout en variant l'inoculum à 1%, 5% et 10%. Le suivi a été effectué sur une période de cinq jours. Les résultats sont démontrés sur les figures de Fig.III.84 à Fig.III.89 :

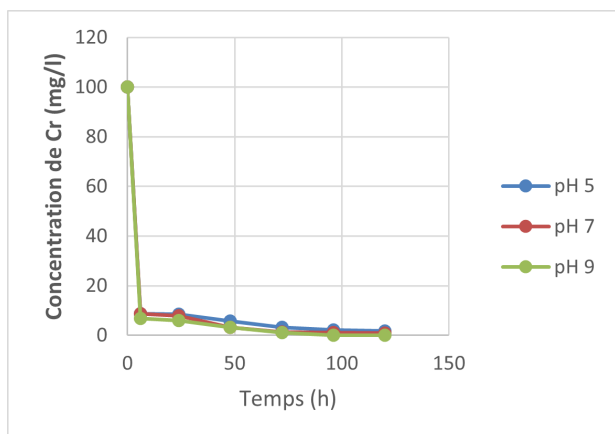


FIG. III.84 – Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par *Staphylococcus aureus* en présence d'inoculum 1%

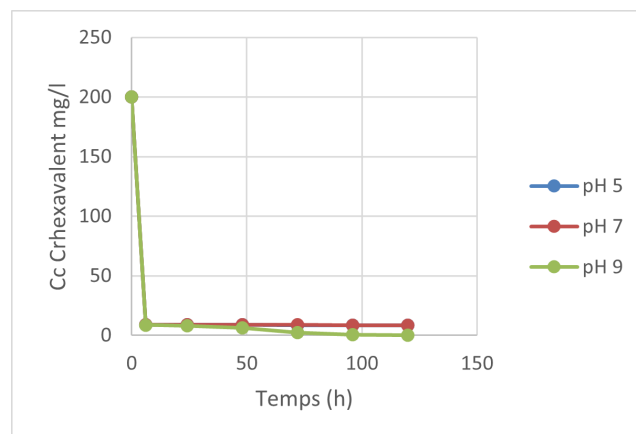


FIG. III.85 – Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par *Staphylococcus aureus* en présence d'inoculum 1%

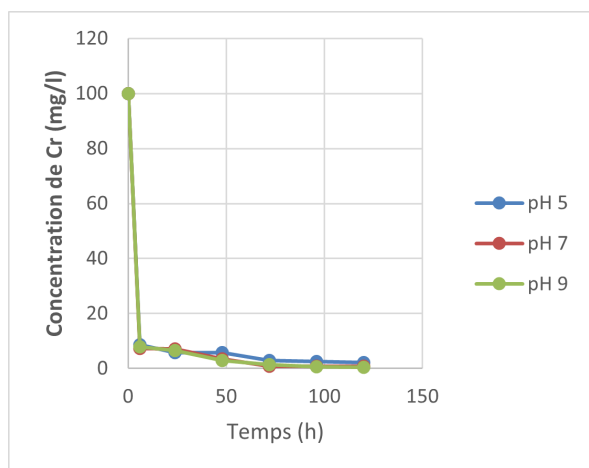


FIG. III.86 – Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par *Staphylococcus aureus* en présence d'inoculum 5%

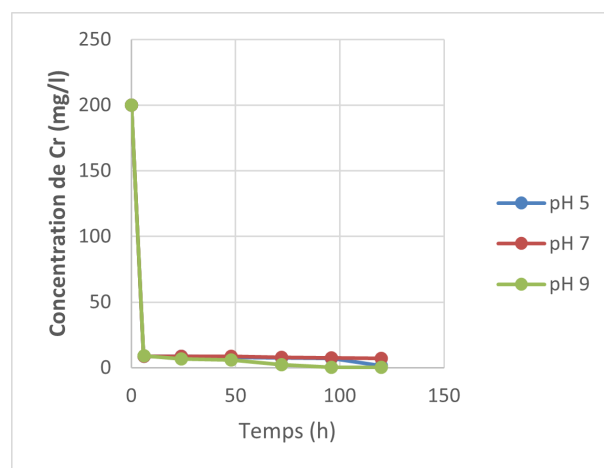


FIG. III.87 – Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par *Staphylococcus aureus* en présence d'inoculum 5%

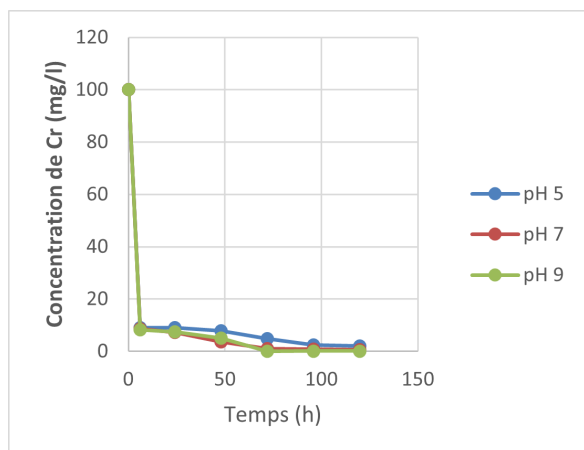


FIG. III.88 – Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par *Staphylococcus aureus* en présence d'inoculum 10%

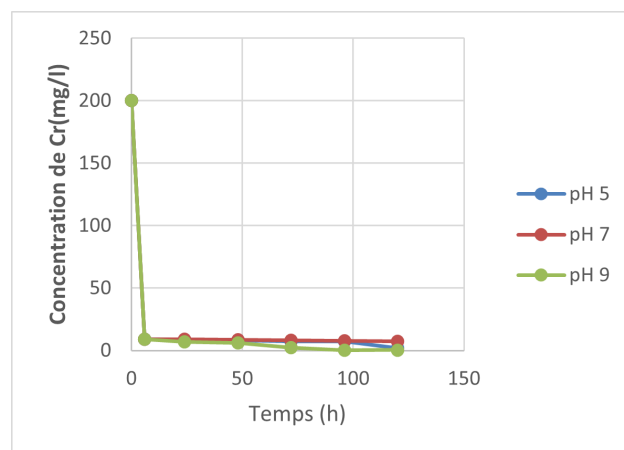


FIG. III.89 – Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par *Staphylococcus aureus* en présence d'inoculum 10%

L'analyse des graphiques révèle une performance optimale d'élimination du Cr à pH 9. Le processus d'élimination se caractérise par une phase initiale rapide durant les 50 premières heures, suivie d'une phase de stabilisation. L'efficacité de l'élimination s'accroît avec l'augmentation du taux d'inoculum, notamment à pH 5 et 7. À pH 9, l'élimination atteint près de 100%, quel que soit le taux d'inoculum. Cette tendance se maintient pour les deux concentrations de chrome étudiées (100 et 200 mg/l), démontrant la robustesse du processus.

III.8 Résultat de l'essai d'élimination du chrome par des souches résistantes aux métaux lourds ; Cas de *Pseudomonas aeruginosa* (Hr1)

III.8.1 Effet du pourcentage de l'inoculum et la concentration initiale du Cr(VI) sur la croissance bactérienne

Les figures de Fig.III.90 à Fig.III.98 représentent le suivi de la croissance bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa* par mesure de la DO à 600nm pendant 5 jours dans différentes conditions incluant l'absence et la présence de Cr VI à des concentrations de 100 et 200 mg/l, ainsi que des quantités initiales d'inoculum de 1 %, 5 %, et 10 % à des pH de 5, 7 et 9.

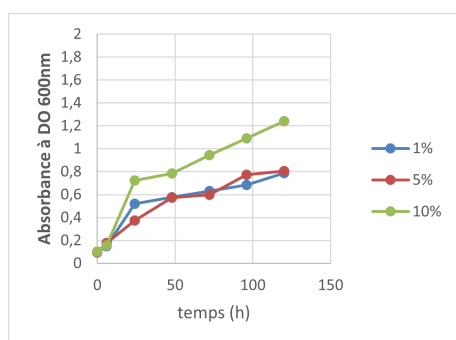


FIG. III.90 – Suivi de la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence de Cr

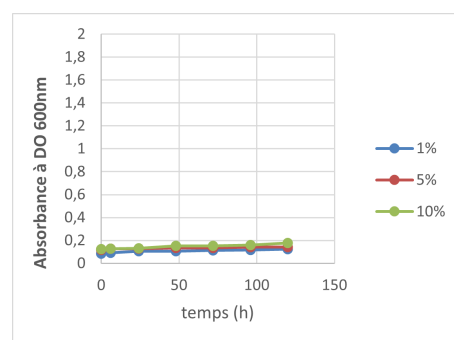


FIG. III.91 – Suivi de la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l de Cr

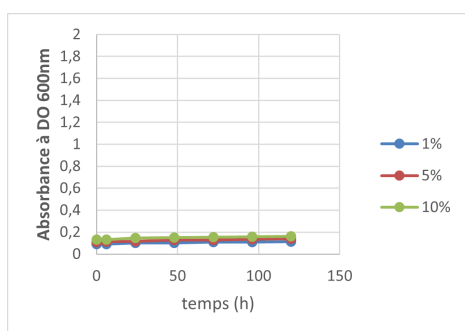


FIG. III.92 – Suivi de la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 5 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr

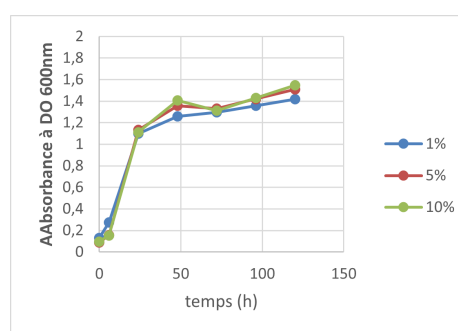


FIG. III.93 – Suivi de la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence de Cr

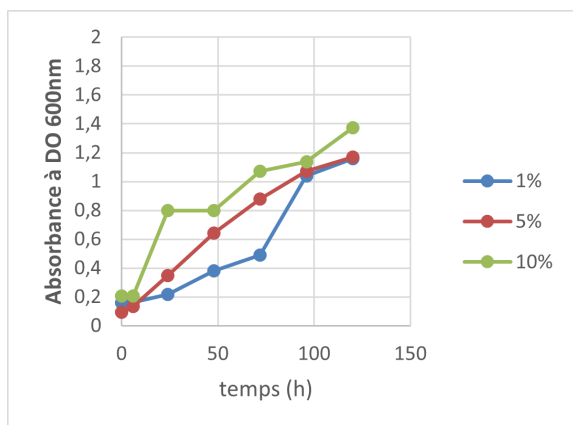


FIG. III.94 – Suivre de la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l de Cr

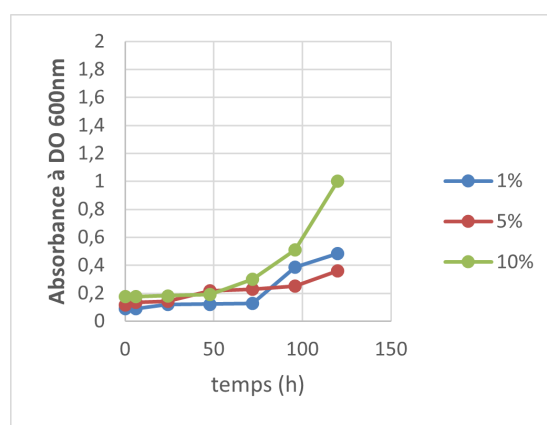


FIG. III.95 – Suivre de la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 7 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr

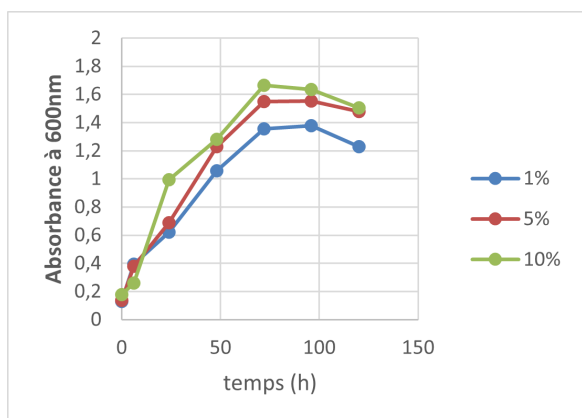


FIG. III.96 – Suivre de la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en absence de Cr

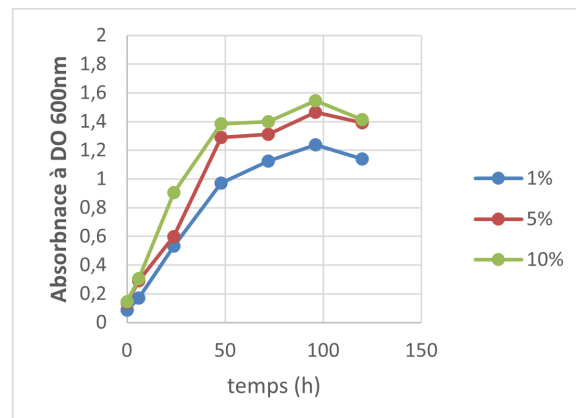


FIG. III.97 – Suivre de la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 100mg/l deCr

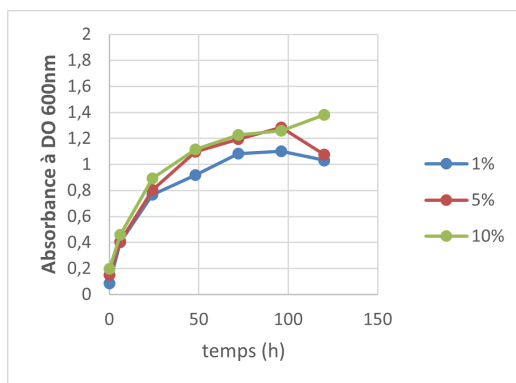


FIG. III.98 – Suivi de la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 9 pour différents pourcentage d'inoculum et en présence de 200mg/l de Cr

D'après l'ensemble des graphiques présentés, on peut observer que la quantité d'inoculum initiale a un impact significatif sur la croissance bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa*, tant en absence qu'en présence de chrome. En général un inoculum plus élevé (10%) conduit à une croissance plus rapide et plus importante par rapport aux inoculums plus faibles (1% et 5%). Cet effet est particulièrement visible dans les conditions sans chrome ou avec de faibles concentrations de chrome ou la DO atteint des valeurs de 1,2 ; 1,5 et 1,6 pour des pH de 5, 7, 9. Cependant, en présence de concentrations élevées de chrome (200 mg/l), l'effet de l'inoculum est moins prononcé surtout pour un pH 5.

Dans l'ensemble des graphiques de Fig.III.99 à Fig.III.107, il est évident que la présence de chrome (Cr) à des concentrations de 100 mg/l et 200 mg/l inhibe la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* par rapport à l'absence de Cr. La concentration de 200 mg/l exerce un effet inhibiteur généralement plus marqué que celle de 100 mg/l, indiquant une toxicité dose-dépendante. De plus, on observe que la croissance est globalement plus lente et que l'effet inhibiteur du Cr est plus prononcé avec un inoculum de 1%. En revanche, pour un inoculum de 10%, la croissance est la plus rapide et l'effet inhibiteur du Cr semble légèrement atténué.

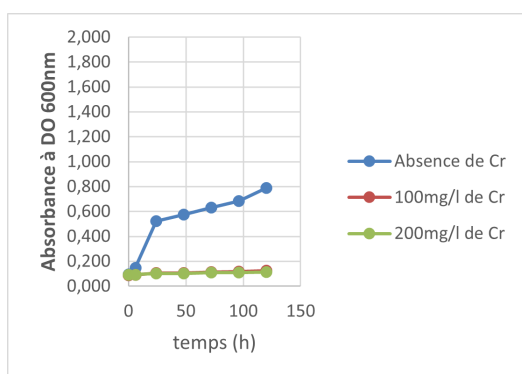


FIG. III.99 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 1%

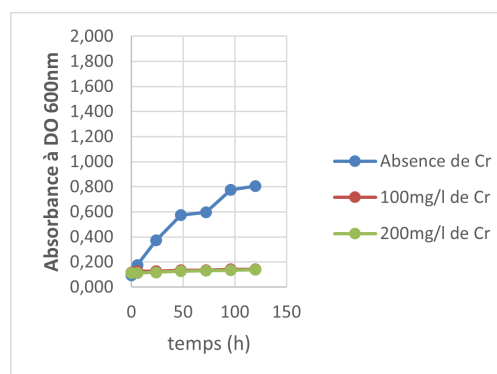


FIG. III.100 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 5%

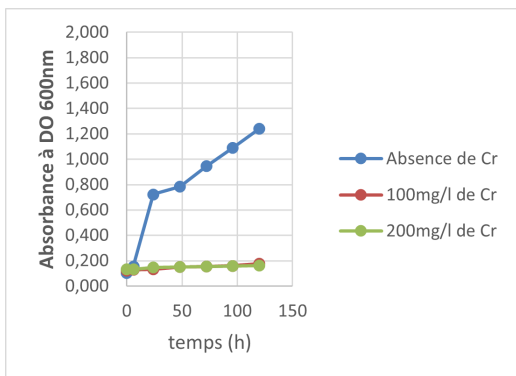


FIG. III.101 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 5 pour un inoculum de 10%

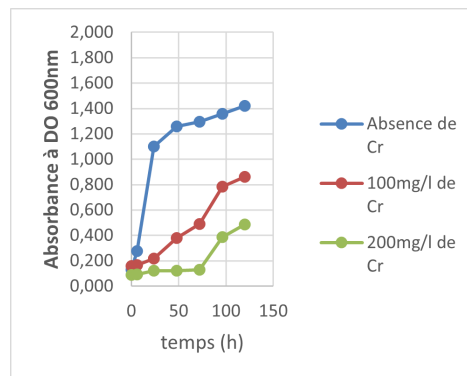


FIG. III.102 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 1%

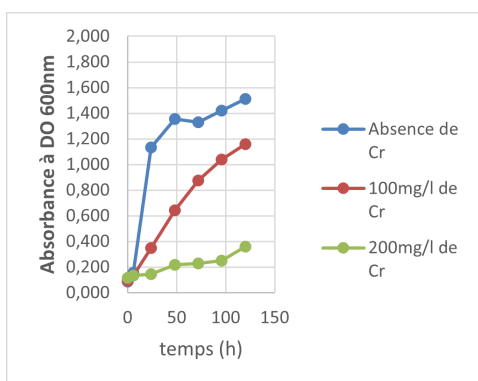


FIG. III.103 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 5%

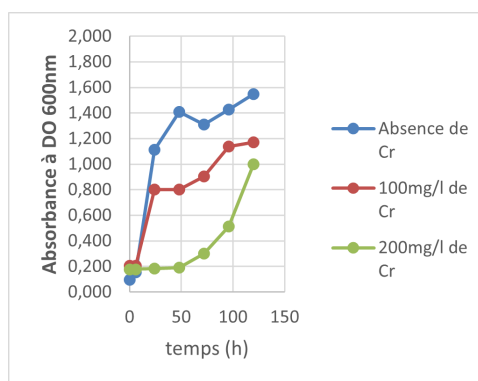


FIG. III.104 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 7 pour un inoculum de 10%

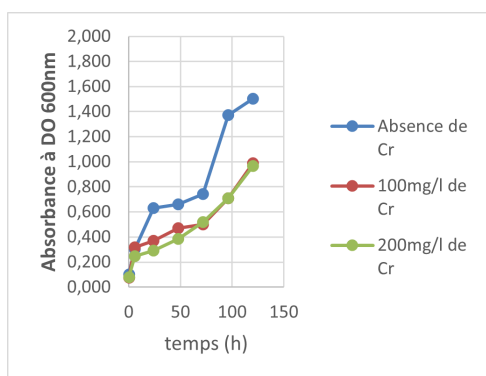


FIG. III.105 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 1%

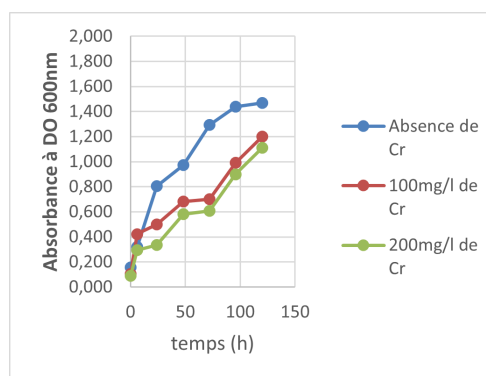


FIG. III.106 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600nm à pH 9 pour un inoculum de 5%

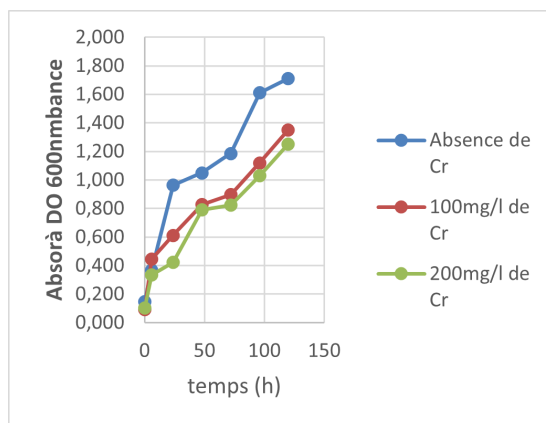


FIG. III.107 – Effet de la concentration du Cr sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* à DO=600 nm à pH 9 pour un inoculum de 10%

III.8.2 Effet de l'inoculum et de la concentration initiale du Cr(VI) sur l'élimination du Cr(VI)

Le suivi de l'élimination du Cr(VI) par *P.aeruginosa* a été effectué par rapport à deux concentrations initiales de Cr 100 et 200mg/l en présence de 3 quantités initiales d'inoculum 1%,5% et 10%.

L'élimination du Cr est particulièrement efficace avec un inoculum de 10% à une concentration de 100 mg/l, surtout aux pH 7 et 9, où un taux d'élimination de 100% est atteint en 24 heures. À une concentration de 200 mg/l, l'effet de l'inoculum semble atténué, car les courbes d'élimination sont similaires pour les pH 5 et 7, indépendamment du pourcentage d'inoculum. Cependant, à un pH de 9, un inoculum de 10% parvient encore à atteindre un taux d'élimination de 100% en 24 h. Ceci est représenté dans les figures de Fig.III.108 à Fig.III.113 :

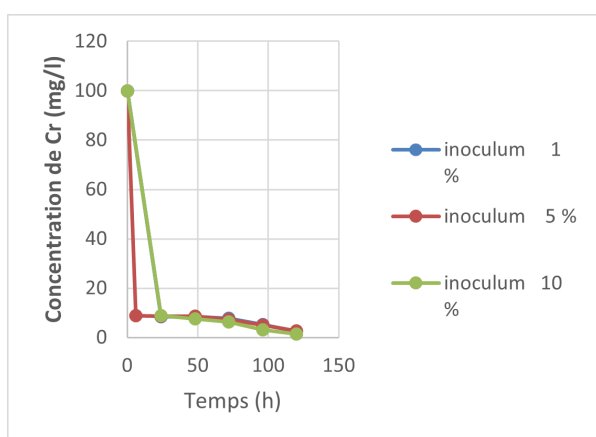


FIG. III.108 – Suivi de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par *P. aeruginosa* à pH 5 et à différents pourcentage d'inoculum

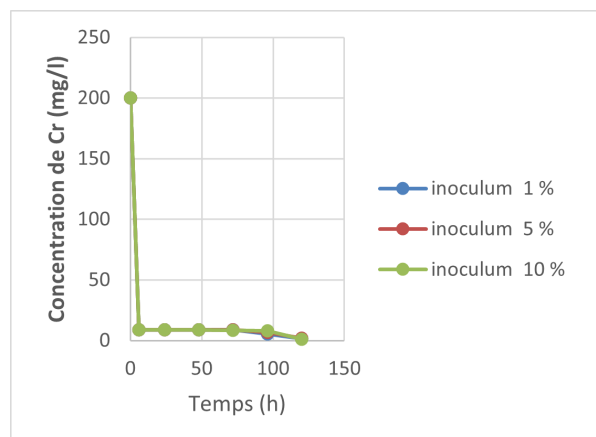


FIG. III.109 – Suivi de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par *P. aeruginosa* à pH 5 et à différents pourcentage d'inoculum

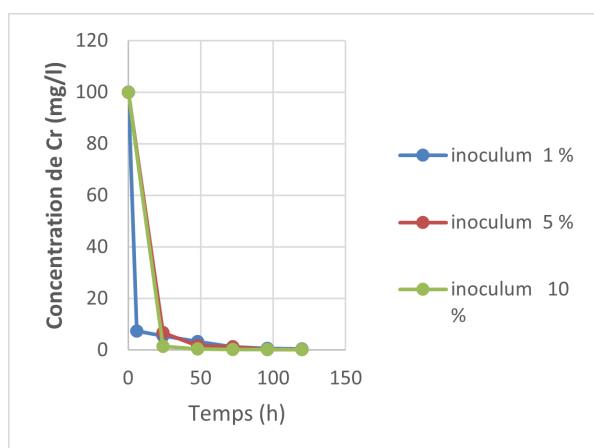


FIG. III.110 – Suivre de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par *P. aeruginosa* à pH 7 et à différents pourcentage d'inoculum

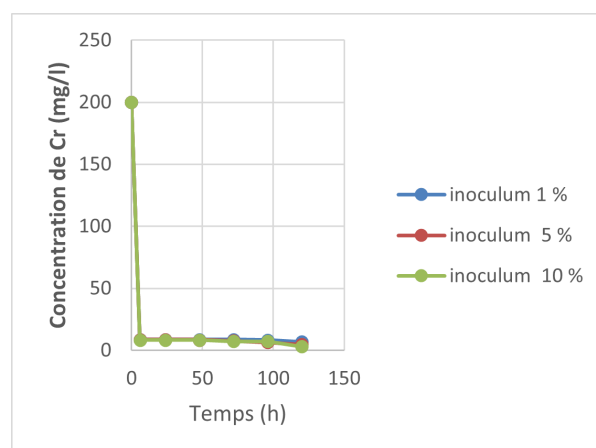


FIG. III.111 – Suivre de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par *P. aeruginosa* à pH 7 et à différents pourcentage d'inoculum

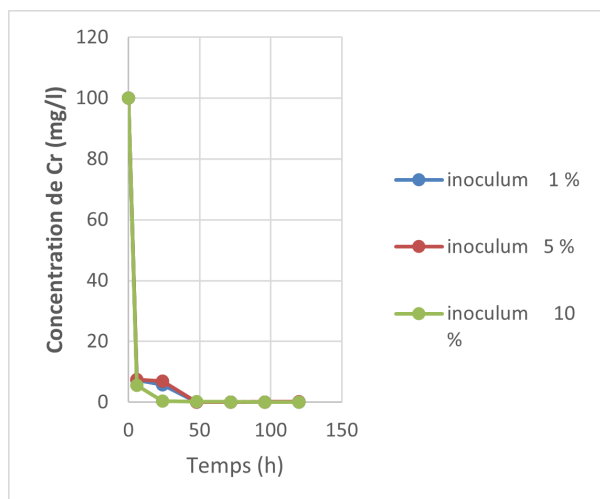


FIG. III.112 – Suivre de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 100mg/l par *P. aeruginosa* à pH 9 et à différents pourcentage d'inoculum

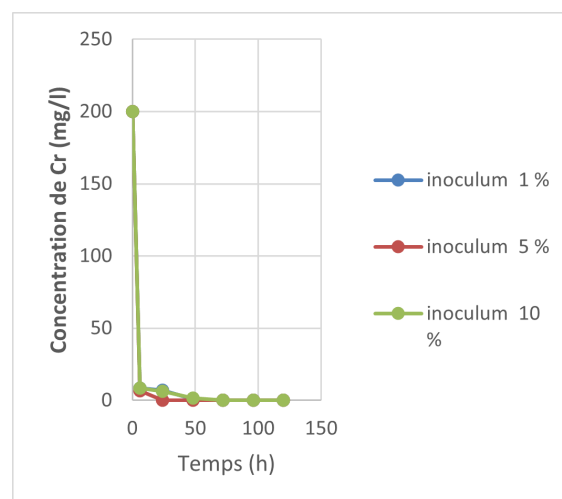


FIG. III.113 – Suivre de l'élimination du Cr à une concentration initiale de 200mg/l par *P. aeruginosa* à pH 9 et à différents pourcentage d'inoculum

III.8.3 Effet du pH sur la croissance bactérienne

L'effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* a été suivi en mesurant la densité optique à 600 nm pendant 5 jours (120 heures). Les expériences ont été menées à des pH de 5, 7 et 9 avec différents inoculums (1%, 5%, et 10%) en présence de 100 et 200 mg/l de Cr.

L'analyse des résultats révèle que, quel que soit l'inoculum initial (1%, 5% ou 10%), la croissance de *P. aeruginosa* est optimale à pH 9, suivie par pH 7, tandis qu'elle est la plus faible à pH 5, en l'absence de Cr. Cette tendance se maintient avec une concentration initiale de Cr de 100 mg/l, bien que l'on observe une légère diminution des densités optiques (DO). En revanche, à une concentration de 200 mg/l de Cr, la croissance à pH 7 et 5 est fortement réduite par rapport à celle à pH 9, qui reste notablement élevée malgré l'augmentation de la concentration de Cr. Ces observations suggèrent que *P. aeruginosa* tolère mieux les conditions de stress liées au Cr à un pH plus élevé, et que la toxicité du Cr est accentuée à des pH plus bas, particulièrement à une concentration de 200 mg/l. Figures de Fig.III.114 à Fig.III.122.

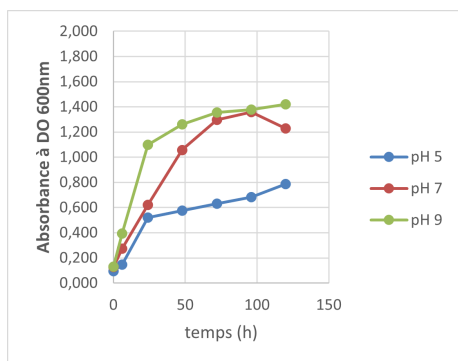


FIG. III.114 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* en absence de Cr et inoculum 1%

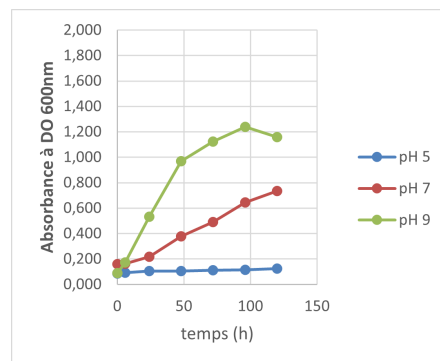


FIG. III.115 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* en présence de 100mg/l de Cr et inoculum 1%

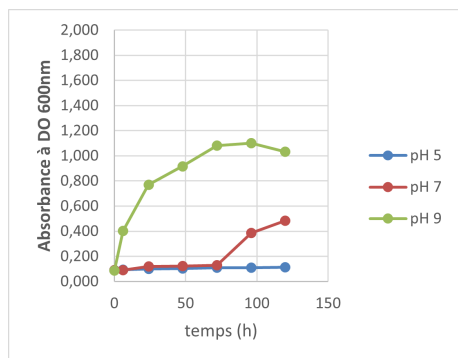


FIG. III.116 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* en présence de 100mg/l de Cr et inoculum 1%

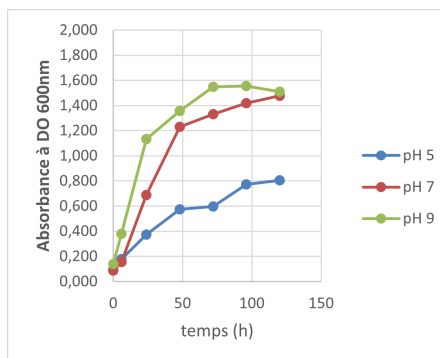


FIG. III.117 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* en absence de Cr et inoculum 5%

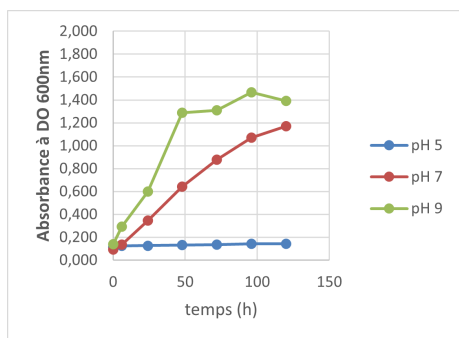


FIG. III.118 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* en présence de 100mg/l de Cr et inoculum 5%

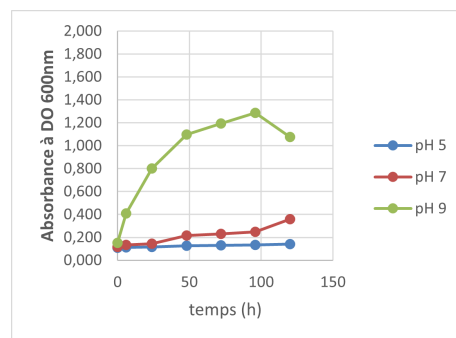


FIG. III.119 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* en présence de 200mg/l de Cr et inoculum 5%

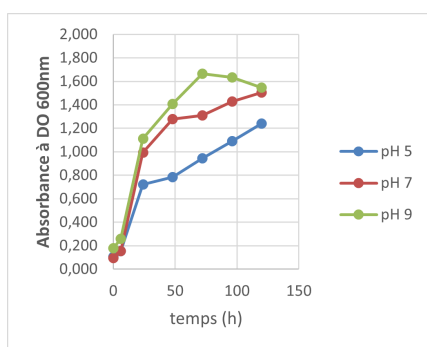


FIG. III.120 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* en absence de Cr et inoculum 10%

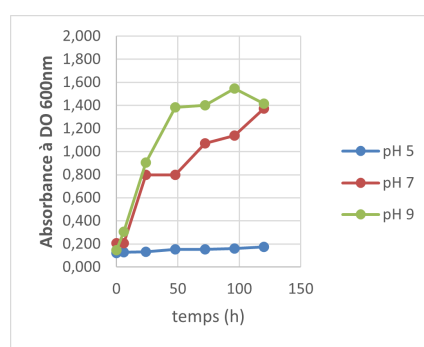


FIG. III.121 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* en présence de 100mg/l de Cr et inoculum 10%

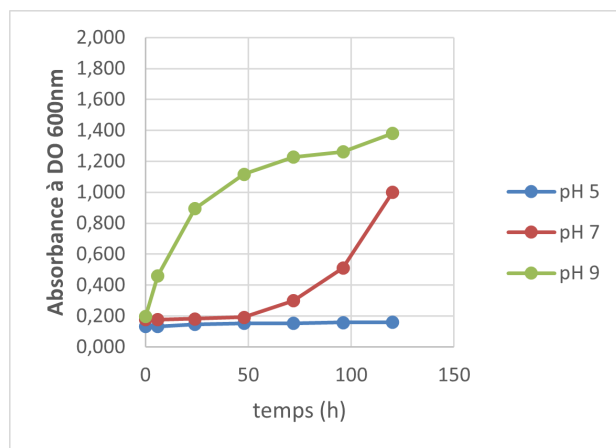


FIG. III.122 – Effet du pH sur la croissance bactérienne de *P. aeruginosa* en présence de 200mg/l de Cr et inoculum 10%

III.8.4 Effet du pH sur l'élimination du Cr(VI)

L'influence de trois pH différents (5, 7 et 9) sur la réduction du Cr(VI) a été étudiée en utilisant des concentrations de 100 mg/l et 200 mg/l de Cr, avec des inoculum de 1%, 5% et 10%. Les observations ont été réalisées sur une période de cinq jours.

Pour une concentration de 100 mg/l de Cr(VI), un pH de 9 s'avère être le plus efficace, indépendamment de l'inoculum utilisé. Pour un inoculum de 1%, le taux d'élimination atteint 100% après 48 heures, tandis que pour des inoculum de 5% et 10%, ce taux est atteint après seulement 24 heures. En revanche, l'élimination du Cr à pH 5 est plus lente et moins efficace, avec un taux de 98% atteint seulement après 120 heures. Pour une concentration de 200 mg/l de Cr(VI), le pH de 9 reste le plus performant, atteignant un taux d'élimination de 100% en 48 heures, quel que soit l'inoculum. Figures de Fig.III.123 à Fig.III.128

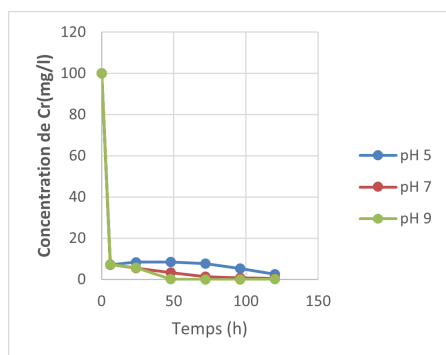


FIG. III.123 – Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par *P. aeruginosa* en présence d'inoculum de 1%

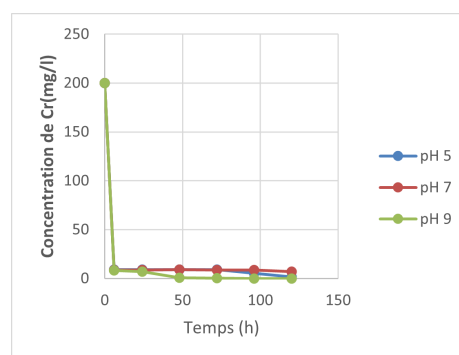


FIG. III.124 – Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par *P. aeruginosa* en présence d'inoculum de 1%

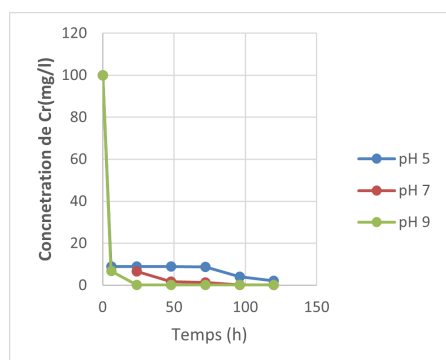


FIG. III.125 – Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par *P. aeruginosa* en présence d'inoculum de 5%

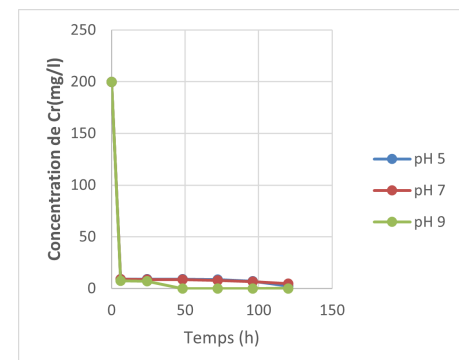


FIG. III.126 – Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par *P. aeruginosa* en présence d'inoculum de 5%

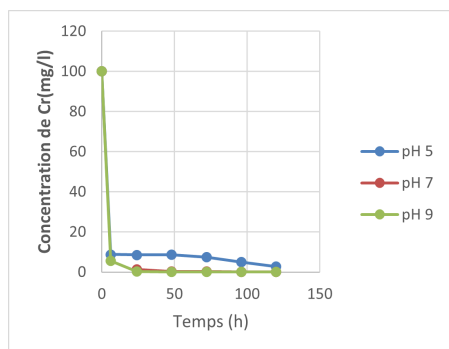


FIG. III.127 – Effet du pH sur l'élimination de 100mg/l de Cr par *P. aeruginosa* en présence d'inoculum de 10%

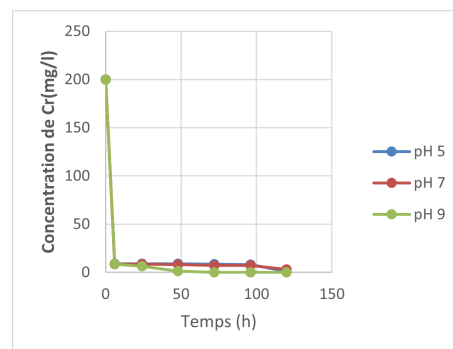


FIG. III.128 – Effet du pH sur l'élimination de 200mg/l de Cr par *P. aeruginosa* en présence d'inoculum de 10%

Les résultats obtenus montrent que les trois souches bactériennes, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, ont démontré une efficacité notable dans l'élimination du Cr(VI) à un pH de 9, indépendamment des conditions expérimentales. Parfois, une préférence pour un inoculum de 10% a été observée. Le processus d'élimination du Cr(VI) s'est avéré presque similaire pour les trois souches, bien que *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* aient montré des performances supérieures. Ces deux souches ont atteint des taux d'élimination de près de 100% dès 24 à 48 heures, généralement pour les deux concentrations de Cr(VI) testées (100 et 200 mg/l), avec une performance optimale observée à la concentration de 100 mg/l. Bien que, les souches ont montré une absence de croissance en présence de chrome à pH5, nous constatons que l'élimination du chrome est observée avec des taux élevés du même ordre que ceux des autres pH. Ceci pourrait être intéressant afin d'éviter la production en excès de la biomasse. Ce résultat est contradictoire avec celui obtenu par **Djarir et Nour (2023)** qui rapporte une mauvaise croissance de *S. aureus* à pH 5 suivi par une diminution dans la capacité d'élimination du chrome chez cette bactérie.

Selon une étude réalisée par **Carlos et al. (2016)**, deux espèces de bactéries Gram-négatives isolées d'effluents, à savoir *Alcaligenes faecalis* et *Pseudochrobactrum saccharolyticum*, ont montré une période de latence de 24 heures à une concentration de 100 mg/l de Cr(VI). Entre 24 et 48 heures, *Alcaligenes faecalis* a montré une croissance exponentielle suivie d'une phase stationnaire avec une réduction de 70 % de Cr(VI) après 120 heures d'incubation. *Pseudochrobactrum saccharolyticum* a présenté une concentration cellulaire élevée après 48 heures d'incubation, mais sans réduction de Cr(VI). Ce n'est qu'après 72 heures d'incubation et une augmentation de la concentration cellulaire qu'une réduction significative de 45 % de Cr(VI) a été obtenue. À la concentration de 100 mg/l de Cr(VI), les isolats ont eu une période d'adaptation de 24 heures, avec une faible croissance. **Wani et al., (2007)** ont rapporté une réduction complète de Cr(VI) par *Burkholderia* après 36 heures d'incubation dans un milieu nutritif alcalin avec une concentration initiale de 75 mg/l de Cr(VI). Les micro-organismes agissent comme des catalyseurs des réactions de réduction de Cr(VI) via des mécanismes tels que la réduction enzymatique extracellulaire, la réduction non métabolique sur les

surfaces bactériennes et la réduction intracellulaire et la précipitation. La réduction enzymatique est le principal mécanisme de réduction de Cr(VI) à Cr(III).

Emadzadeh et al., (2016) ont examiné l'impact de divers volumes d'inoculum (5, 10, 15 et 20 ml) de la souche *B. cereus* sur la réduction du Cr(VI) à une concentration de 50 mg/l de Cr(VI). Les résultats montrent que l'augmentation du volume de biomasse de 5 mL à 20 mL influence le taux de réduction du Cr(VI), atteignant un taux de réduction maximal de 100 % après 24 heures d'incubation avec un inoculum de 20 mL. En outre, **Oves et al., (2013)** ont découvert que *Bacillus thuringiensis* OSM29 peut tolérer des concentrations élevées de Cr (jusqu'à 1500 mg/l) grâce à sa grande tolérance aux métaux et à sa capacité à produire rapidement des quantités significatives de biomasse. Ces résultats corroborent avec les notre qui suggèrent une meilleure élimination de Cr à des pourcentages d'inoculum élevé.

Cependant, **Puranik et Paknikar (1999)** ont examiné l'influence de la concentration de biomasse de la souche *Citrobacter* MCM B-181 sur l'adsorption du plomb, du cadmium et du zinc. Leurs observations ont révélé que l'augmentation de la concentration de biomasse entraînait une diminution de l'adsorption spécifique de ces métaux, suggérant que cela pourrait résulter d'interférences entre les sites de liaison à des concentrations plus élevées.

Zahoor et Rehman (2009) ont montré que *Bacillus sp.* JDM-2-1 et *S. capitatus* ont une capacité significative à réduire le Cr(VI), réduisant respectivement de 85% et 81% le Cr(VI) (100 µg/ml) après 96 heures. De plus, ces bactéries ont été capables de réduire de 86% et 89% le Cr(VI) après 144 heures d'incubation directement à partir d'effluents industriels. Les conditions de stress nutritif n'ont pas affecté la capacité de *Bacillus sp.* JDM-2-1 et *S. capitatus* à réduire le Cr(VI). Ainsi, ces deux bactéries ont non seulement survécu dans les eaux usées contaminées, mais ont également montré une amélioration marquée dans la dépollution du toxique Cr(VI) en leur présence. Plusieurs chercheurs ont également rapporté la réduction directe du Cr(VI) dans les effluents contaminés de l'industrie de finition des métaux (**Hardoyo et Ohtake, 1991 ; Ganguli et Tripathi, 2002**).

Une méthode potentielle est la réduction catalysée par les microbes du Cr(VI) en Cr(III), initialement rapportée avec les souches de *Pseudomonas spp.* (**Romanenko et Koren'Ken, 1977**). Depuis lors, des progrès significatifs ont été réalisés pour comprendre les processus contrôlant la réduction enzymatique du Cr(VI) chez les bactéries Gram-négatives, notamment celles appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Desulfo vibrio* et *Shewanella* (**Chardin et al., 2003 ; Ackerley et al., 2004**). Plusieurs bactéries Gram-positives sont également connues pour réduire le Cr(VI), y compris plusieurs membres du genre *Bacillus* (**Campos et al., 1995 ; Camargo et al., 2003**).

Dans une étude sur la biosorption des ions Cr(VI) menée par **Sethuraman et al. (2010)** sur *B. subtilis*, *P. aeruginosa* et *E. cloacae*, il a été observé que le pourcentage maximal d'élimination de Cr(VI) était de 63 % à 100 mg/l pour *B. subtilis*, de 77,9% à 25 mg/l pour *P. aeruginosa* et de 86,2% à 25 mg/l pour *E. cloacae*. À une concentration de 200 mg/l, *B. subtilis* a montré le meilleur taux d'élimination par rapport aux autres bactéries, bien que lors de la phase de croissance initiale, l'élimination était moins efficace. À 25 mg/l, les pourcentages maximaux d'élimination étaient respectivement de 78% pour *P. aeruginosa*, 86% pour *E. cloacae* et 33,5% pour *B. subtilis*. Ces résultats mettent en évidence une diminution progressive du pourcentage d'élimination avec l'augmentation de la concentration en métal dans toutes les bactéries en termes de capacité de biosorption.

Les travaux de **Sethurman et Balasubramanian en 2010** ont mis en évidence la capacité des bactéries *E. cloacae* et *P. aeruginosa* à fixer le chrome dans des conditions de pH variées, allant de l'acidité à l'alcalinité (pH 2 à 9). Leurs résultats indiquent une efficacité maximale d'adsorption en milieu basique. Ce phénomène s'explique par le comportement des ions hydrogène : en milieu acide, ces ions occupent largement les sites de liaison sur la biomasse. À l'inverse, lorsque le pH augmente, la concentration en ions H⁺ diminue. Cela permet à la surface bactérienne, chargée négativement, d'interagir plus efficacement avec les ions métalliques positifs comme le chrome. Ce qui corrobore les résultats obtenus dans cette étude ainsi que ceux obtenus par **Djarir et Nour (2023)** sur des souches isolées à partir de la sardine.

Les conditions optimales de réduction du chrome par les bactéries varient selon les espèces, comme le montrent plusieurs études. **Wang et Shen (1995)** ont observé que *E. coli* réduit efficacement le chrome dans une large gamme de pH (3-8) et de températures (10-45°C), avec un optimum à pH 7 et 36°C. Pour *B. cereus*, **Singh et al. (2013)** ont rapporté une réduction maximale à pH 8, avec une baisse significative d'activité (plus de 70%) lorsque le pH s'écarte de cet optimum. De façon intéressante, **Aslam et al. (2016)** ont constaté que *Bacillus megaterium*-ASNF3 favorise la réduction du chrome lorsque le pH d'un lixiviat passe progressivement du neutre au basique. Même constat pour les résultats obtenus par **Djarir et Nour (2023)** pour *S. odorifera*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* isolées à partir de la sardine.

Ces études soulignent l'importance du pH dans l'élimination du Cr(VI), quel que soit le mécanisme impliqué. Nos résultats s'inscrivent dans cette tendance, avec une efficacité maximale d'élimination du chrome observée à pH 9. Cette concordance avec la littérature suggère que les conditions alcalines peuvent favoriser l'activité réductrice de certaines bactéries vis-à-vis du chrome hexavalent.

La résistance bactérienne au chrome hexavalent implique divers mécanismes, dont la réduction est

un élément clé. **Francis et al. (2000)** ont noté que la majorité des bactéries capables de réduire le Cr(VI) sont des espèces à Gram négatif, bien que cette capacité ne soit pas exclusive à ce groupe. La réduction du chrome peut se produire par deux voies principales : directe et indirecte. La voie directe implique des processus enzymatiques qui transforment le Cr(VI) en Cr(III), tandis que la voie indirecte fait intervenir des métabolites bactériens, comme l'ont démontré **Wang et al. (1989)**.

Un mécanisme alternatif de résistance au chrome a été identifié chez certaines bactéries, notamment *Pseudomonas aeruginosa* et *Cupriavidus metallidurans*. Il s'agit d'un système d'efflux du chromate, médié par le transporteur chrA. Ce processus, qui dépend de l'énergie cellulaire, est gouverné par le potentiel de la membrane bactérienne.

Parmi les enzymes impliquées dans la réduction du chrome, **Ramirez-Diaz et al. (2008)** ont mis en lumière l'importance des flavoprotéines réductases dépendantes du NADPH. Ces enzymes constituent une famille bien caractérisée et jouent un rôle crucial dans la transformation du Cr(VI) en Cr(III).

Il est important de noter que ces mécanismes ne sont pas mutuellement exclusifs. Les bactéries peuvent employer une combinaison de ces stratégies pour faire face à la toxicité du chrome, en fonction des conditions environnementales et de leur background génétique.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Cette étude avait pour but d'évaluer et de caractériser la résistance aux métaux lourds de la flore totale isolée des embouchures des oueds El Harrach et El Hamiz; des sites soumis à une forte pression anthropique dont une contamination métallique et d'optimiser le potentiel de certaines souches résistantes à éliminer le chrome hexavalent. Les résultats obtenus sont énuméré ci-dessous :

- Les résultats du dénombrement ont révélé une contamination microbienne nettement plus élevée dans l'oued El Harrach comparativement à l'oued El Hamiz, avec des concentrations significativement supérieures en flore mésophile aérobie totale, en coliformes totaux, en coliformes fécaux et en entérocoques fécaux.
- Les résultats ont montré une résistance microbienne globalement faible aux métaux lourds étudiés, avec des variations significatives entre les deux sites : une résistance plus élevée au zinc et au mercure à Oued El Harrach, tandis que la résistance au cuivre, au cadmium, au plomb et au chrome était plus prononcée à Oued El Hamiz.
- 95% des souches bactériennes isolées et identifiées comme résistantes aux métaux lourds appartenaient à des bactéries à Gram négatifs.
- Toutes les souches isolées montraient une multirésistances aux métaux lourds ainsi qu'une résistance associée aux antibiotiques.

Les résultats de l'identification et de l'évaluation ont révélé des niveaux élevés de contamination microbienne et de résistance aux métaux lourds et aux antibiotiques dans les souches isolées des sites étudiés. Ces données mettent en lumière le potentiel de ces bactéries à survivre et à prospérer dans des environnements pollués, soulignant leur capacité adaptative remarquable. Forts de ces observations, nous nous tournons désormais vers l'exploitation de ces souches bactériennes pour le traitement des effluents industriels. L'utilisation de bactéries multirésistantes aux métaux lourds pour la bioremédiation offre une perspective prometteuse pour la réduction des polluants toxiques dans les eaux usées industrielles.

Dans cette partie de l'étude, nous avons exploré le potentiel d'élimination du Cr(VI) de trois souches bactériennes multirésistantes : *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Pour ce faire, nous avons varié trois paramètres cruciaux : la concentration initiale en Cr(VI), le pourcentage de l'inoculum bactérien et le pH du milieu. L'objectif était de déterminer comment ces facteurs influencent la croissance bactérienne et la réduction du Cr(VI).

Les résultats ont dévoilé :

- Une corrélation positive entre la concentration de l'inoculum initial et la cinétique de croissance bactérienne. L'augmentation du pourcentage d'inoculum a résulté en une amplification significative du taux de croissance spécifique et une réduction du temps de latence.

- Un effet inhibiteur dose-dépendant du chrome sur la croissance bactérienne a été observé pour toutes les souches étudiées, avec une inhibition moins prononcée à 100 mg/l qu'à 200 mg/l.
- L'analyse de l'influence du pH a révélé une modulation significative de la croissance bactérienne et de l'efficacité d'élimination du chrome, avec des performances optimales observées à pH 9 pour l'ensemble des isolats, suivies de près par celles à pH 7, tandis qu'un pH de 5 s'est avéré inhibiteur pour la croissance de la totalité des souches testées. Cependant, l'efficacité des souches à l'élimination du chrome n'est pas affectée.
- L'analyse comparative des performances de bioremédiation entre les trois souches isolées a révélé des capacités globalement similaires, avec toutefois une tendance à une efficacité légèrement supérieure observée chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* par rapport à *Staphylococcus aureus*.

D'après les résultats obtenus et tenant compte de la performance de nos 3 souches, plusieurs applications potentielles peuvent être envisagées.

Les souches isolées pourraient être utilisées pour développer des systèmes de traitement biologique spécifiquement conçus pour la décontamination des effluents industriels chargés en chrome. Ces systèmes pourraient prendre la forme de bioréacteurs adaptés ou de filtres biologiques intégrés aux stations d'épuration industrielles. Les souches pourraient être utilisées pour augmenter l'efficacité des stations d'épuration existantes. Cette bioaugmentation permettrait d'améliorer la capacité de ces installations à éliminer le chrome et potentiellement d'autres métaux lourds.

Ces applications potentielles soulignent la valeur des souches isolées non seulement pour le traitement direct des effluents contaminés par le chrome, mais aussi pour le développement de biotechnologies environnementales plus larges.

D'après notre étude et les résultats obtenus, afin d'exploiter pleinement le potentiel des souches bactériennes isolées, il est impératif d'approfondir et d'élargir nos recherches par des approches complémentaires.

1. Une analyse génomique et protéomique approfondie pour élucider les mécanismes moléculaires de résistance et d'élimination du chrome.
2. Des études d'écotoxicologie pour évaluer l'impact environnemental à long terme de ces souches.
3. Des essais à l'échelle pilote pour valider l'efficacité des procédés en conditions réelles.
4. L'exploration des synergies potentielles avec d'autres microorganismes ou techniques de remédiation pour l'utilisation de consortium.
5. L'évaluation de la capacité des souches à traiter d'autres polluants métalliques et organiques.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Abed (2017). Evaluation de la qualité de l'eau du réseau Hydrographique de l'Oued El Harrach (partie amont), Mémoire de Master. Génie des procédés. Boumerdes : Université M'Hamed Bouguara. P .38

Ackerley, D. F., Gonzalez, C. F., Park, C. H., Blake, R., Keyhan, M., & Matin, A. (2004). Chromate-reducing properties of soluble flavoproteins from *Pseudomonas putida* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, P.P. 873-882.

Adriano, D.C (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments : Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals. New York : 2nd Edition, Springer, P .867

Agence Nationale des Ressources Hydrauliques (ANRH). (2002). Étude de l'Oued El Harrach. Rapport sur la qualité des eaux de surface en Algérie. Alger : ANRH.

Ahemad, M. (2014). Bacterial mechanisms for Cr (VI) resistance and reduction : an overview and recent advances. *Folia Microbiologica*. Vol. 59, n°4, P.P. 321-332.

Alam et al, (2020). Software defined infrastructure for operational numerical weather prediction, communications in computer and information science. In Driving scientific and engineering discoveries through the convergence of HPC, big data and AI - 17th smoky mountains computational sciences and engineering conference, Oak Ridge, TN, USA, 2020, P. 44

Al-Battashi H., Joshi S. J., Pracejus B., & Al-Ansari, A. (2016). The geomicrobiology of chromium (VI) pollution : microbial diversity and its bioremediation potential. *The Open Biotechnology Journal*. Vol. 10, n° 1, P.P. 379-389

Alouache et al., (2011). Antibiotic resistance and extended-spectrum β -lactamases in isolated bacteria from seawater of Algiers beaches (Algeria). *Microbes Environ*. Vol. 27, n° 1, P.P. 80-86.

Alouache, S., Estepa, V., Messai, Y., Ruiz, E., Torres, C., & Bakour, R. (2014). Characterization of ESBLs and Associated Quinolone Resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates from an Urban Wastewater Treatment Plant in Algeria. *Microbial Drug Resistance*. Vol. 20, n° 1, P.P. 30–38.

Amrik et Anshu (2013). Evaluation of *Acinetobacter* sp. B9 for Cr (VI) resistance and detoxification with potential application in bioremediation of heavy-metals-rich. Industrial wastewater. Vol. 20, n°9, P.P. 35-66.

APHA (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington DC : 21st Edition, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, P. 36

Arab, F., Ahmadi-Angali, K., & Abshirini, Y (2014). The study of electrolyte effects on the adsorption of chromium (VI) on activated carbon and its kinetic and thermodynamic. Oriental Journal of Chemistry. Vol. 30, n°4, P.P. 1589-1595.

Arif, M., Hussain, J., & Hussain, I (2014). Occurrence of Trace and Toxic metals in River Narmada. EQA-International Journal of Environmental Quality. Vol. 14, n° 14, P.P. 31-41.

Arris Sihem (2008) « Etude expérimentale de l'élimination des polluants organiques et inorganiques par adsorption sous-produits de céréale » Thèse de doctorat. Chimie. Constantine : Université Frères Mentouri-Constantine 1.

Ashraf, R., Vasiljevic, T., Day, S. L., Smith, S. C., et Donkor, O. N (2014). Lactic acid bacteria and probiotic organisms induce different cytokine profile and regulatory T cells mechanisms. Journal of Functional Foods. Vol. 6, P.P. 395-409.

Aslam, S., Hussain, A., & Qazi, J. I (2016). Dual action of chromium-reducing and nitrogen fixing *Bacillus megaterium*. 3 Biotech. Vol. 6, n°2, P.P. 1-11.

Avudainayagam, S., Megharaj, M., Owens, G., Kookana, R. S., Chittleborough, D., & Naidu, (2003). Chemistry of chromium in soils with emphasis on tannery waste sites. In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, P.P. 53-91.

Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O (2017). A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments : A Review of Microbial Biosorbents. International Journal Of Environmental Research And Public Health/International Journal Of Environmental Research And Public Health. Vol. 14, n° 1, P.94

Baker-Austin, C., Wright, M. S., Stepanauskas, R., & McArthur, J. (2006). Co-selection of antibiotic and metal resistance. Trends In Microbiology. Vol. 14, n° 4, P.P 176 182.

Banu KS, Ramaswamy K (1997) Dual inoculation of vesicular arbuscular mycorrhiza and Rhizobium in green gram. *Legume Res.* Vol. 2, n° 3, P.P. 177–180.

Barragán-Huerta, B. E., Costa-Pérez, C., Peralta-Cruz, J., Barrera-Cortés, J., Esparza-García, F., & Rodríguez-Vázquez, R. (2007). Biodegradation of organochlorine pesticides by bacteria grown in microniches of the porous structure of green bean coffee. *International Biodeterioration & Biodegradation.* Vol. 59, n° 3, P.P. 239-244.

Belattmania, Z., Zrid, R., Reani, A., Tahiri, S., Eddaoui, A., Loukili, H., ... & Sabour, B. (2015). Phycoremediation of hexavalent chromium in simulated wastewater by *Halopteris scoparia* (Linnaeus) Sauvageau (Ochrophyta, Phaeophyceae). Vol. 6, n° 8, P.P 2229-2238

Beleneva, I. A. (2011). Incidence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from the Japan and South China seas. *Marine Pollution Bulletin.* Vol. 62, n° 2, P.P. 382-387.

Bencheikh S. et Boumaaza K. (2017). Etude de la métallos-résistance des bactéries isolées des eaux de surface de la région de Guelma. Mémoire de Maser. Microbiologie de l'environnement. Guelma : Université 8 Mai 1945 Guelma. P. 123

Benhalima, L., S. Amri, M. Bensouilah, R. Ouzrout (2020). Heavy metal resistance and metallothionein induction in bacteria isolated from seybouse river, Algeria. *Applied Ecology and Environmental Research.* Vol. 18, n° 1, P.P. 1721–1737.

Bharagava, R.N., Mishra, S (2018). Hexavalent chromium reduction potential of *Cellulosimicrobium* sp. isolated from common effluent treatment plant of tannery industries. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* Vol. 147, P.P. 102–109.

Bouchelouche A. et Krembit A. (2017). Contribution à l'étude de la qualité hydrobiologique de l'eau de l'Oued El Harrach. Mémoire de Master. Hydrobiologie Marine et Continentale. Blida : Université Blida1. P. 87

Bradl HB (2005). Heavy Metals in the Environment. Elsevier Academic Press. Vol. 6, P. 270

Brandhuber, P., Frey, M., McGuire, M.J., Chao, P-F., Seidel, C., Amy, G., Yoon, J., McNeill, L.S., Banerjee, K (2004). Low-Level Hexavalent Chromium Treatment Options : Bench-Scale Evaluation. Rapport No. 91042F. Denver : American Water Works Association Research Foundation (AWWARF)

Brar, S. K., Verma, M., Surampalli, R. Y., Misra, K., Tyagi, R. D., Meunier, N., & Blais, J. F. (2006). Bioremediation of hazardous wastes — A review. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management*. Vol. 10, n°2, P.P. 59-72.

Bruins MR, Kapil S, Oehme FW (200). Microbial resistance to metals in the environment. *Eco-toxicol Environ Saf*. Vol. 45, n°3, P.P.198-207.

Camargo, F. A., Okeke, B. C., Bento, F. M., & Frankenberger, W. T. (2003). In vitro reduction of hexavalent chromium by a cell-free extract of *Bacillus* sp. ES 29 stimulated by Cu²⁺. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 62, n° 5, P.P. 569-573.

Campos, J., Martínez-Pacheco, M., & Cervantes, C. (1995). Hexavalent-chromium reduction by a chromate-resistant *Bacillus* sp. strain. *Antonie van Leeuwenhoek*. vol. 68, n° 3, P.P. 203-208.

Carlos, F. S., Giovanella, P., Bavaresco, J., de Souza Borges, C., & d'Oliveira Camargo, F. A. (2016). A comparison of microbial bioaugmentation and biostimulation for hexavalent chromium removal from wastewater. *Water, Air, & Soil Pollution*. Vol. 227, n° 6, P.P. 1-11.

CA-SFM, comite de l'antibiogramme de la societe française de microbiologie. (2023). Recommendation. P. 12-15, 18,23-25, 27,39-48,56-63.

Castresana J, Saraste M (1995). Evolution of energetic metabolism : the respiration-early hypothesis. *Trends Biochem Sci*. vol. 20, n° 11, P.P. 8-443.

Chapman, J. S. (2003). Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. *International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol. 51, n° 4, P.P. 271-276.

Chardin, B., Dolla, A., Chaspoul, F., Fardeau, M. L., Gallice, P., & Bruschi, M. (2003). Bioremediation of chromate : thermodynamic analysis of the effects of Cr (VI) on sulfate-reducing bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 60, n° 3, P.P. 352-360.

Cheung, K. H., & Gu, J. D. (2007). Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential : a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol. 59, n° 1, P.P. 8-15.

Chitouh R. et Souilah N. (2018). Etude de l'antibiotique et de la tolérance aux métaux lourds des entérobactéries et des staphylococcus. Mémoire de Master. Microbiologie appliquée. Guelma :

Université 8 Mai 1945 Guelma. P. 101

Chowdhury, P. (2009). Polymers for the Extraction of Chromium—Role of Polymers in the Removal and Recovery of Chromium from Wastewater. *Journal of Macromolecular Science, Part A : Pure and Applied Chemistry*. Vol. 46, n° 10, P.P. 1030-1038.

Costa, M. (2003). Potential hazards of hexavalent chromate in our drinking water. *Toxicology and Applied Pharmacology*. Vol. 188, n° 1, P.P. 1-5.

Costa, M., & Klein, C. B. (2006). Toxicity and carcinogenicity of chromium compounds in humans. *Critical Reviews in Toxicology*. Vol. 36, n° 2, P.P. 155-163.

Dabonne S, Koffi B, Kouadio E, Koffi A, Due E et Kouame L. 2010. Traditional utensils : Potential sources of poisoning by heavy metals. *British Journal of Pharmacology*. Vol. 1, n° 2, P.P. 90–92.

Das, N., & Mathew, L. (2011). Chromium pollution and bioremediation : an overview. In *Biomanagement of Metal-Contaminated Soils*. Vol. 20, P.P. 297-321

Delarras, (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Paris : Éd. Médical I., Lavoisier, P. 32.

Dey, S., Paul, A.K., (2018). Influence of metal ions on biofilm formation by *Arthrobacter* sp. SUK 1205 and evaluation of their Cr (VI) removal efficacy. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* Vol. 132, P.P. 122–131.

Dhal, B., Thatoi, H. N., Das, N. N., & Pandey, B. D. (2013). Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste : A review. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 15, P.P. 272-291.

Di Cesare, A., Eckert, E. M., D'Urso, S., Bertoni, R., Gillan, D. C., Wattiez, R., & Corno, G. (2016). Co-occurrence of integrase 1, antibiotic and heavy metal resistance genes in municipal wastewater treatment plants. *Water Research*. Vol. 1, n° 94, P.P. 208 214.

Dixit, R., Wasiullah, Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U. B., Sahu, A., Shukla, R., Singh, B. P., Rai, J. P., Sharma, P. K., Lade, H., & Paul, D. (2015). Bioremediation of Heavy Metals from Soil and Aquatic Environment : An Overview of Principles and Criteria of Fundamental Processes. *Sustainability*. Vol. 7, n° 2, P.P. 2189-2212.

Djarir,I ; Nour,Y (2023). Evaluation et isolement des bactéries résistantes aux métaux lourds à partir de poissons et leur potentiel à éliminer le chrome. Mémoire d'Ingénieur. Dely Brahim : Ecole National Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral.

Emadzadeha, M., Pazoukib, M., Abdollahzadeh Sharghib, E., & Taghavia, L. (2016). Experimental study on the factors affecting hexavalent chromium bioreduction by *Bacillus cereus*. Int J Eng Trans B. vol. 29, n° 2, P.P. 152-159.

Figarella, J. 1998 L'étude cytobactériologique des produits pathologiques constitue, avec les recherches sérologiques, l'apport le plus significatif du laboratoire au diagnostic des infections. Est proposée une approche par type de prélèvement. Bordeaux : CRDP d'Aquitaine, P. 189

Fisher, N. S., & Frood, D. (1980). Heavy metals and marine diatoms : Influence of dissolved organic compounds on toxicity and selection for metal tolerance. Marine Biology. Vol. 59, n° 2, P.P. 85-93. Fomina, M., & Gadd, G. M. (2014). Biosorption : current perspectives on concept, definition and application. Bioresource Technology. Vol. 160, P.P. 3-14.

Francis, C. A., Obratsova, A. Y., & Tebo, B. M. (2000). Dissimilatory metal reduction by the facultative anaerobe *Pantoea agglomerans* SP1. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 66, n° 2, P.P. 543-548.

Gadd et Smith, 2000 Reduction and precipitation of chromate by mixed culture sulphate-reducing bacterial biofilms. Journal of Applied Microbiology. Vol. 88, n° 6, P.P. 983-991.

Gadd GM (1992). Metals and microorganisms : a problem of definition. FEMS Microbiol Lett. Vol. 15, n° 3, P.P. 197-203

Gadd, G. M. (2010). Metals, minerals and microbes : geomicrobiology and bioremediation. Microbiology. Vol. 156, n° 3, P.P. 609-643.

Ganguli, A., & Tripathi, A. K. (2002). Bioremediation of toxic chromium from electroplating effluent by chromate-reducing *Pseudomonas aeruginosa* A2Chr in two bioreactors. Applied Microbiology and Biotechnology. Vol. 58, n° 3, P.P. 416-420.

Gavrilescu, M. (2004). Removal of Heavy Metals from the Environment by Biosorption. Engineering in Life Sciences. Vol. 4, n° 3, P.P. 219-232.

Gibb, H. J., Lees, P. S., Pinsky, P. F., & Rooney, B. C. (2000). Lung cancer among workers in chromium chemical production. *American Journal of Industrial Medicine*. Vol. 38, n° 2, P.P. 115-126.

Goullé, J. P., Sausseureau, E., Grosjean, J., Doche, C., Mahieu, L., Thouret, J. M., ... et Lacroix, C. (2012). Accidental potassium dichromate poisoning. Toxicokinetics of chromium by ICP-MSRC in biological fluids and in hair. *Forensic Science International*. Vol. 10, n° 1, P.P. 8-12.

Gupta, P., & Diwan, B. (2017). Bacterial Exopolysaccharide mediated heavy metal removal : A Review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. *Biotechnology Reports*. Vol. 23, n° 13, P.P. 58-71. Habi S., Daba H. (2009). Plasmid incidence, antibiotic and metal resistance among Enterobacteriaceae isolated from Algerian streams. *Pak. J. Biol. Sci.* vol. 12, n° 22, P.P. 1474-1482.

Hardoyo, & Ohtake, H. (1991). Effects of heavy metal cations on chromate reduction by *Enterobacter cloacae* strain HO1. *Journal of General and Applied Microbiology*. Vol. 37, n° 6, P.P. 519-522.

Hassen A., Saidi N., Cherif M., Boudabous A. (1998). Resistance of environmental bacteria to heavy metals. *Bioresource Technology*. Vol. 64, n° 1, P.P. 7-15.

Hazrat A, Ezzat K et Sajad M. (2013). Phytoremediation of heavy metals Concepts and applications. *Chemosphere*. Vol. 91, n° 7, P.P. 869–881.

Hébert et Légaré, (2000). Suivi de la qualité de l'eau des rivières et petits cours d'eau. Rapport d'activité. Québec : Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'Environnement.

Hlihor, R. M., Bulgariu, L., Sobariu, D. L., Diaconu, M., Tavares, T., & Gavrilescu, M. (2014). Recent advances in biosorption of heavy metals : support tools for biosorption equilibrium, kinetics and mechanism. *Revue Roumaine de Chimie*. Vol. 59, n° 6-7, P.P. 527-538.

Hobman et Brown, 1997 Bacterial mercury-resistance genes. *Met Ions Biol. Syst*. Vol. 34, P.P. 527-568.

Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., et Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*. Vol. 7, n° 2, P.P. 60-72. Ji and Silver, 1995 Bacterial resistance mechanisms for heavy metals of environmental concern. *J. Ind. Microbiol.* Vol 14, n° 2, P.P. 61-75.

Joffin et Leyral ,2006. Microbiologie technique. Tom 1. Dictionnaire des techniques. Bordeaux, France : Centre Régional De Documentation Pédagogique, P. 368.

JORADP (Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire). (2006). Décret exécutif n° 06-141 du 20 Rabie El Aouel 1427 correspondant au 19 avril 2006 définissant les valeurs limites des rejets d'effluents liquides industriels. Journal Officiel de la République Algérienne, 26, 4-12.

Kaimoussi, A., Mouzdahir, A., & Saih, A. (2005). Variations saisonnières des concentrations en métaux (Cd, Cu, Fe, Mn et Zn) chez l'algue *Fucus spiralis* du littoral de la ville d'El Jadida (Maroc). Water Quality Research Journal of Canada. Vol. 40, n° 1, P.P. 102–110.

Kalidhasan, S., Kumar, A. S. K., Rajesh, V., & Rajesh, N. (2016). The journey traversed in the remediation of hexavalent chromium and the road ahead toward greener alternatives—A perspective. Coordination Chemistry Reviews. Vol. 317, P.P. 157-166.

Kamaludeen, S. P. B., Arunkumar, K. R., & Ramasamy, K. (2003). Bioremediation of chromium contaminated environments. India Journal of Experimental Biology. Vol. 41, n° 9, P.P. 972-985.

Koditschek, L. K., & Guyre, P. (1974). Resistance transfer fecal coliforms isolated from the Whippany river. Water Research. Vol. 8, n° 10, P.P. 747–752.

Kratochvil, D., & Volesky, B. (1998). Advances in the biosorption of heavy metals. Trends in Biotechnology. Vol. 16, n° 7, P.P. 291-300.

Kyzas, G. Z., Kostoglou, M., & Lazaridis, N. K. (2013). Copper and chromium (VI) removal by chitosan derivatives—Equilibrium and kinetic studies. Chemical Engineering Journal. Vol. 152, n° 3, P.P. 479- 487.

Larpent, J.-P. (1997). Microbiologie Alimentaire. Techniques de l'Ingénieur, traité. Paris : Tec & Doc, P. 1073

Ledin M. (2000). Accumulation of metals by microorganisms —processes and importance for soil systems. Earth-Science Reviews. Vol. 51, n°1, P.P. 1-31.

Lee, S. W., Glickmann, E., & Cooksey, D. A. (2001). Chromosomal locus for cadmium resistance in *Pseudomonas putida* consisting of a cadmium-transporting ATPase and a MerR family response

regulator. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 67, n° 4, P.P. 1437-1444.

Long, D., Hashmi, M.Z., Su, X., Pongpiachan, S., 2019. Cr (VI) reduction by an extracellular polymeric substance (EPS) produced from a strain of *Pseudochrobactrum saccharolyticum*. *3 Biotech*. Vol. 9, n° 3, P.P. 1–9.

Loué A. (1993). *Oligo-éléments en agriculture-* Ed. Nathan (Ed), 45-177p. McKenzie A. B, 1997- Isotope evidence of the relative retention and mobility of lead, and radiocesium in swtish ombrophicpeats- *Sci Total Environ*. Vol. 203, n° 2, P.P. 115-127.

Mahjoub, B., Fkih, I., & Ncibi, M. C. (2015). Élimination du chrome hexavalent des solutions aqueuses par adsorption sur feuilles brutes de *Posidonia oceanica* (L.) : cinétiques, équilibres et modélisation. N° 55, P.P. 19-26

Malik, A., & Aleem, A. (2010). Incidence of metal and antibiotic resistance in *Pseudomonas* spp. from the river water, agricultural soil irrigated with wastewater and groundwater. *Environmental Monitoring and Assessment*. Vol. 178, n° (1–4), P.P. 293–308.

Matyar, F., Kaya, A., & Dinçer, S. (2008). Antibacterial agents and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. *Science of the Total Environment*. Vol. 407, n° 1, P.P. 279-285.

McIntosh, D., Cunningham, M., Ji, B., Fekete, F. A., Parry, E. M., Clark, S. E., ... & Ritchie, R. (2008). Transferable, multiple antibiotic and mercury resistance in Atlantic Canadian isolates of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* is associated with carriage of an IncA/C plasmid similar to the *Salmonella enterica* plasmid pSN254.

Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Vol. 61, n° 6, P.P. 1221-1228. Memon, A. R., & Schröder, P. (2008). Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research International*. Vol. 16, n° 2, P.P. 162–175.

Messai Y., Iabadene H., Benhassine T., Alouache S., Tazir M., Gautier V., Arlet G. Bakour R. (2008). Prevalence and characterization of extended-spectrum β lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie* . vol. 56, n° 5, P.P. 319–325.

Mishra, S., & Bharagava, R. N. (2016). Toxic and genotoxic effects of hexavalent chromium in environment and its bioremediation strategies. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*. vol. 34, n° 1, P.P. 1-32.

Mohanty, M., & Patra, H. K. (2011). Attenuation of chromium toxicity by bioremediation technology. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Vol. 210, P.P. 1-34.

Monchy Sébastien. (2007). Organisation et expression des gènes de résistance aux métaux lourds chez *Cupriavidus metallidurans* CH34. Thèse de doctorat. Bruxelles, Belgique : VUB - Université libre de Bruxelles.

Morsli I. et Bouyakoub F. (2018). Contribution à l'évolution de degrés de contamination physicochimiques et microbiologique au niveau de l'oued El-Harrach. Mémoire de Master. Blida : Université Blida1. P. 101

Naithani et Kakkar, 2005 Evaluation of heavy metals in Indian herbal teas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. Vol. 75, n° 1, P.P. 197-203.

Nies, 2003 Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. *FEMS Microbiol. Rev.* vol. 27, n° 2, P.P. 313-339

Nithya C, Gnanalakshmi B et Pandian SK. 2011. Assessment and characterization of heavy metal resistance in Palk Bay sediment bacteria. *Marine Environmental Research*. Vol. 71, n° 4, P.P. 283-294.

Ojuederie, O. B., & Babalola, O. O. (2017). Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments : A Review. *International Journal Of Environmental Research And Public Health/International Journal Of Environmental Research And Public Health*. Vol. 14, n° 12, P. 1504.

Osman, O., Tanaka, S., Domondon, D. T., Matsuoka, A., & Okubo, K. (2010). Antibiotic and heavy metal resistance in bacteria isolated from deep-sea sediments in the Sanriku coast, Japan. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. vol. 45, n° 11, P.P. 1392-1399.

Oves, M., Khan, M. S., & Zaidi, A. (2013). Biosorption of heavy metals by *Bacillus thuringiensis* strain OSM29 originating from industrial effluent contaminated north Indian soil. *Saudi journal of biological sciences*. Vol. 20, n° 2, P.P. 121-129.

Owlad, M., Aroua, M. K., Daud, W. A. W., & Baroutian, S. (2009). Removal of hexavalent chromium-contaminated water and wastewater : a review. *Water, Air, and Soil Pollution*. Vol. 200, n° (1-4), P.P 59-77.

Pagès Delphine, Lisa Sanchez, Sandrine Conrod, Xavier Gidrol, Agnes Fekete, Philippe Schmitt-Kopplin, Thierry Heulin, Wafa Achouak (2007). Exploration of intracolonial adaptation mechanisms of *Pseudomonas brassicacearum* facing cadmium toxicity. *Environnement Microbiol.* Vol. 9, n° 11, P.P. 2820-2835.

Pal, A., Datta, S., & Paul, A. K. (2013). Hexavalent chromium reduction by immobilized cells of *Bacillus sphaericus* AND 303. *Brazilian Archives of Biology and Technology.* vol. 56, n° 3, P.P. 505-512.

Pang ZP, Yang N, Vierbuchen T, Ostermeier A, Fuentes DR, Yang TQ, Citri A, Sebastiano V, Marro S, Südhof TC, Wernig M (2011). Induction of human neuronal cells by defined transcription factors. *Nature.* vol. 26, n° 476 ; P.P. 220-223

Paul, D., Pandey, G., Pandey, J., & Jain, R. K. (2005). Accessing microbial diversity for bioremediation and environmental restoration. *Trends in Biotechnology.* Vol. 23, n° 3, P.P. 135-142.

Pazos, M., Branco, M., Neves, I. C., Sanromán, M. A., & Tavares, T. (2010). Removal of Cr (VI) from Aqueous Solutions by a Bacterial Biofilm Supported on Zeolite : Optimisation of the Operational Conditions and Scale-Up of the Bioreactor. *Chemical Engineering & Technology.* Vol. 33, n° 12, P.P. 2008-2014.

Pechova, A., & Pavlata, L. (2007). Chromium as an essential nutrient : a review. *Veterinarni Medicina-Praha.* Vol. 52, n° 1, P.P. 1-18. Pelmont J, (1993) : Bactéries et environnement. Adaptations physiologiques. Grenoble, France : Presses universitaires de Grenoble, P. 899

Perron K., Caille O., Rossier C., Van Delden C., Dumas JL., Kohler T. (2004). CzcR- CzcS, a two-component system involved in heavy metal and carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem.* Vol. 279, n° 10, P.P. 8761-8768.

Polti, M. A., Amoroso, M. J., & Abate, C. M. (2010). Chromium (VI) resistance and removal by actinomycete strains isolated from sediments. *Chemosphere.* Vol. 80, n° 3, P.P. 247-253.

Polti, M. A., Amoroso, M. J., & Abate, C. M. (2011). Intracellular chromium accumulation by *Streptomyces* sp. MC1. *Water, Air, & Soil Pollution.* Vol. 214, n° (1-4), P.P. 49-57.

Poopal, R. K., & Laxman, R. S. (2009). Studies on biological reduction of chromate by *Streptomyces griseus*. *Journal of Hazardous Materials.* Vol. 169, n° (1-3), P.P. 539-545.

Puranik, P. R., et Paknikar, K. M. (1999). Biosorption of lead, cadmium, and zinc by *Citrobacter* strain MCM B-181 : Characterization Studies. *Biotechnology progress*. Vol. 15, n° 2, P.P. 228-237.

Quiton, K.G., Doma Jr., B., Futralan, C.M., Wan, M.W., 2018. Removal of chromium (VI) and zinc (II) from aqueous solution using kaolin-supported bacterial biofilms of Gram-negative *E. coli* and Gram-positive *Staphylococcus epidermidis*. *Sustain. Environ. Res.* Vol. 28, n° 5, 206–213.

Ramírez-Díaz, M. I., Díaz-Pérez, C., Vargas, E., Riveros-Rosas, H., Campos-García, J., & Cervantes, C. (2008). Mechanisms of bacterial resistance to chromium compound. *Biometals*. Vol. 21, n° 3, P.P. 321-332.

Roane, T. M., & Pepper, I. L. (2000). Microbial responses to environmentally toxic cadmium. *Microbial Ecology*. Vol. 38, n° 4, P.P. 358-364.

Rodier J., 1999 : L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, Eaux résiduaires, Eau de mer. Dunod, Paris : 7eme édition. P. 1824

Rodrigues S, Henriques B, Reis A, Duarte A, Pereira E et Römken PFAM. 2012. Hg transfer from contaminated soils to plants and animals. *Environmental Chemistry Letters*. Vol. 10, P.P. 61–67.

Romanenko, V. I., & Koren'Ken, V. N. (1977). A pure culture of bacteria utilizing chromates and bichromates as hydrogen acceptors in growth under anaerobic conditions. *Mikrobiologiya*, 46(3), P.P. 414-417.

Rompré, A., Servais, P., Baudart, J., de-Roubin, M. R., & Laurent, P. (2002). Detection and enumeration of coliforms in drinking water : current methods and emerging approaches. *Journal of microbiological methods*. Vol. 49, n° 1, P.P. 31-54.

Saha, R., Mukherjee, K., Saha, I., Ghosh, A., Ghosh, S. K., & Saha, B. (2013). Removal of hexavalent chromium from water by adsorption on mosambi (*Citrus limetta*) peel. *Research on Chemical Intermediates*. Vol. 39, n° 5, P.P. 2245-2257.

Saha, R., Nandi, R., & Saha, B. (2011). Sources and toxicity of hexavalent chromium. *Journal of Coordination Chemistry*. Vol. 64, n° 10, P.P. 1782-1806.

Sánchez-Chardi, A., Peñarroja-Matutano, C., Borrás, M., & Nadal, J. (2009). Bioaccumula-

tion of metals and effects of a landfill in small mammals Part III : Structural alterations. Environmental Research. Vol. 109, n° 8, P.P. 960–967.

Sarret, G., Harada, E., Choi, Y. E., Isaure, M. P., Geoffroy, N., Fakra, S., Marcus, M. A., Birschwilks, M., Clemens, S., & Manceau, A. (2005). Trichomes of tobacco excrete zinc as zinc-substituted calcium carbonate and other zinc-containing compounds. Plant Physiology. Vol. 141, n° 3, P.P. 1021-1034.

Saxena, D. K., Murthy, R. C., Jain, V. K., & Chandra, S. V. (1990). Embryo-fetal development in rats exposed to hexavalent chromium. Reproductive Toxicology. Vol. 4, n° 1, P.P. 51-57.

Schwaber J., Navon-Venezia S., Kaye S., Ben-Ami R., Schwartz D. & Carmeli Y. (2006). Clinical and economic impact of bacteremia with extended-spectrum- β - lactamase-producing Enterobacteriaceae. Antimicrob. Agent. Chemother. vol. 50, n° 4, P.P. 1257- 1262.

Seiler, C., & Berendonk, T. U. (2012). Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. Frontiers in Microbiology. Vol. 14, n°3, P. 399

Selatnia, A., Boukazoula, A., Kechid, N., Bakhti, M., & Chergui, A. (2004). Biosorption of Fe^{3+} from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. Process Biochemistry. Vol. 39, n° 11, P.P. 1643 1651.

Sethuraman, P., Balasubramanian, N., & Dharmendra Kumar, M. (2010). Biosorption of Cr(VI) by *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae*. International Journal of Environmental Technology and Management. Vol. 12, n°(2-4), P.P. 308-321.

Sharma, S., & Adholeya, A. (2011). Detoxification and accumulation of chromium from tannery effluent and spent chrome effluent by *Paecilomyces lilacinus* fungi. International Biodeterioration & Biodegradation. Vol. 65, n° 2, P.P. 309-317.

Singh, N., Verma, T., & Gaur, R. (2013). Detoxification of hexavalent chromium by an indigenous facultative anaerobic *Bacillus cereus* strain isolated from tannery effluent. African Journal of Biotechnology. Vol. 12, n° 10, P.P. 1091-1103

Smith, W. L., & Gadd, G. M. (2000). Reduction and precipitation of chromate by mixed culture sulphate-reducing bacterial biofilms. Journal of Applied Microbiology. Vol. 88, n° 6, P.P. 983-991.

Soussou S. (2013). Adaptation de la symbiose Fabacées-rhizobium aux sites miniers : Absorption du zinc par *Anthyllis vulneraria* et analyse de la diversité des bactéries symbiotiques de *Hedysarum coronarium*. Thèse de Doctorat. Microbiologie, Parasitologie. Tunis : Université de Sousse. P. 230

Srinath, T., Verma, T., Ramteke, P. W., & Garg, S. K. (2002). Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. *Chemosphere*. Vol. 48, n° 4, P.P. 427-435.

Srivastava, S., & Thakur, I. S. (2007). Évaluation of biosorption potency of *Acinetobacter* sp. For removal of hexavalent chromium from tannery effluent. *Biodegradation*. Vol. 18, n° 5, P.P. 637-646.

Sukumar, C., Janaki, V., Kamala-Kannan, S., & Shanthi, K. (2014). Biosorption of chromium (VI) using *Bacillus subtilis* SS-1 isolated from soil samples of electroplating industry. *Clean Technologies and Environmental Policy*. Vol. 16, n° 2, P.P. 405-413.

Thatoi, H., Das, S., Mishra, J., Rath, B. P., & Das, N. (2014). Bacterial chromate reductase, a potential enzyme for bioremediation of hexavalent chromium : a review. *Journal of Environmental Management*. Vol. 15, P.P. 383-399.

Touahir et al, 2023. Assessment and characterization of heavy metals resistance bacteria isolated in Southwestern Mediterranean coastal waters (Bou-Ismaïl Bay) : Impacts of anthropogenic activities Laboratory Conservation and Valorization of Marine Resources (CVRM), National Higher School of Marine Sciences and Coastal Management (ENSSMAL), Algiers, Algeria. P. 39-44-45.

Touati A., Benallaoua S., Forte D., Madoux J., Brasme L., De Champs C. (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta –lactamases among clinical isolates of enterobacteriaceae in Bejaia, Algeria. *Antimicrobial Agents Journal*. Vol. 27, n° 5, P.P. 397-402.

Tuckfield, R. C., & McArthur, J. V. (2008). Spatial analysis of antibiotic resistance along metal contaminated streams. *Microbial Ecology*. Vol. 55, n° 4, P.P. 595-607.

Vendruscolo, F., da Rocha Ferreira, G. L., & Antoniosi Filho, N. R. (2017). Biosorption of hexavalent chromium by microorganisms. *International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol. 119, P.P. 87-95.

Wang, C. L., Michels, P. C., Dawson, S. C., Kitisakkul, S., Baross, J. A., Keasling, J. D., & Clark, D. S. (1997). Cadmium removal by a new strain of *Pseudomonas aeruginosa* in aerobic culture. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 63, n° 10, P.P. 4075-4078.

Wang, Y. T., & Shen, H. (1995). Bacterial reduction of hexavalent chromium. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. Vol. 14, n° 2, P.P. 159-163.

Wani, R., Kodam, K. M., Gawai, K. R., & Dhakephalkar, P. K. (2007). Chromate reduction by *Burkholderia cepacia* MCMB-821, isolated from the pristine habitat of alkaline Crater Lake. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 75, n° 3, P.P. 627-632.

Wasi, S., Jeelani, G., & Ahmad, M. (2008). Biochemical characterization of a multiple heavy metal, pesticides and phenol resistant *Pseudomonas fluorescens* strain. *Chemosphere*. Vol. 71, n° 7, P.P. 1348–1355.

Wasi, S., Tabrez, S., & Ahmad, M. (2011). Suitability of Immobilized *Pseudomonas fluorescens* SM1 Strain for Remediation of Phenols, Heavy Metals, and Pesticides from Water. *Water, Air and Soil Pollution/Water, Air & Soil Pollution*. Vol. 220, n° (1–4), P.P. 89–99.

Welling, R., Beaumont, J. J., Petersen, S. J., Alexeeff, G. V., & Steinmaus, C. (2015). Chromium VI and stomach cancer : a meta-analysis of the current epidemiological evidence. *Occupational and Environmental Medicine*. Vol. 72, n°2, P.P. 151-159.

Wong, P. T., et Trevors, J. T. (1988). Chromium toxicity to algae and bacteria in Chromium in the Natural and Human Environments. New York : Wiley, c1988, P. 571

Wuana RA et Okieimen FE. (2011). Heavy metals in contaminated soils : a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Ecology*. Vol. 2011, P.P. 1– 20.

Xie, Y., Holmgren, S., Andrews, D. M., & Wolfe, M. S. (2015). Evaluating the impact of the U.S. National Toxicology Program : A case study on hexavalent chromium. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 123, n° 12, P.P. 1340-1348.

Xu, J., Wise, J. P., & Patierno, S. R. (2005). DNA damage induced by carcinogenic lead chromate particles in cultured mammalian cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. Vol. 586, n°2, P.P. 81-90.

Xu, W. H., Jian, H., Liu, Y. G., Zeng, G. M., Li, X., & Zhang, W. (2015). Bioreduction of Chromate by an Isolated *Bacillus anthracis* Cr-4 with Soluble Cr (III) Product. *Water, Air, & Soil Pollution*. Vol. 226, n° 3, P. 82.

Yamina, B., Tahar, B., & Marie Laure, F. (2012). Isolation and screening of heavy metal resistant

bacteria from wastewater : a study of heavy metal co-resistance and antibiotics resistance. *Water science and technology*. Vol. 66, n° 10, P.P. 2041-2048.

Yang, J., He, M., & Wang, G. (2009). Removal of toxic chromate using free and immobilized Cr (VI)-reducing bacterial cells of *Intrasporangium* sp. Q5-1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 25, n° 9, P.P. 1579-1587.

Yeung, A. T. (2006). Contaminant extractability by electrokinetics. *Environmental Engineering Science*. Vol. 23, n° 1, P.P. 202-224.

Zahoor, A., & Rehman, A. (2009). Isolation of Cr (VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater. *Journal of Environmental Sciences*. Vol. 21, n° 6, P.P. 814-820.

Zayed, A. M., & Terry, N. (2003). Chromium in the environment : factors affecting biological remediation. *Plant and Soil*. Vol. 249, n°1, P.P 139-156.

Zhou, Y., Liu, X., Wang, J., & Wang, J. (2022). Adsorption of heavy metals on microplastics : A review of relevant kinetics, mechanisms, and factors affecting the process. *Water Research*. 217, P.P. 118-407.

Annexes

.1 Annexe A

Courbe d'étalonnage

Préparation d'une série de concentrations des solutions étalons du Cr, et mesure de la DO à 540 nm.

TABLEAU 6 – Concentrations et DO des solutions étalons

Solution étalon n°	Concentration Cr (mg/l)	DO1	DO2	DO3	DO moyenne	Écart-type*
1	0,2	0,148	0,142	0,146	0,145	0,003
2	0,4	0,233	0,232	0,233	0,233	0,001
3	1	0,398	0,398	0,396	0,397	0,001
4	1,2	0,456	0,458	0,459	0,458	0,002
5	1,4	0,532	0,533	0,533	0,533	0,001
6	1,6	0,609	0,611	0,613	0,611	0,002

* L'erreur est inférieure à < 5

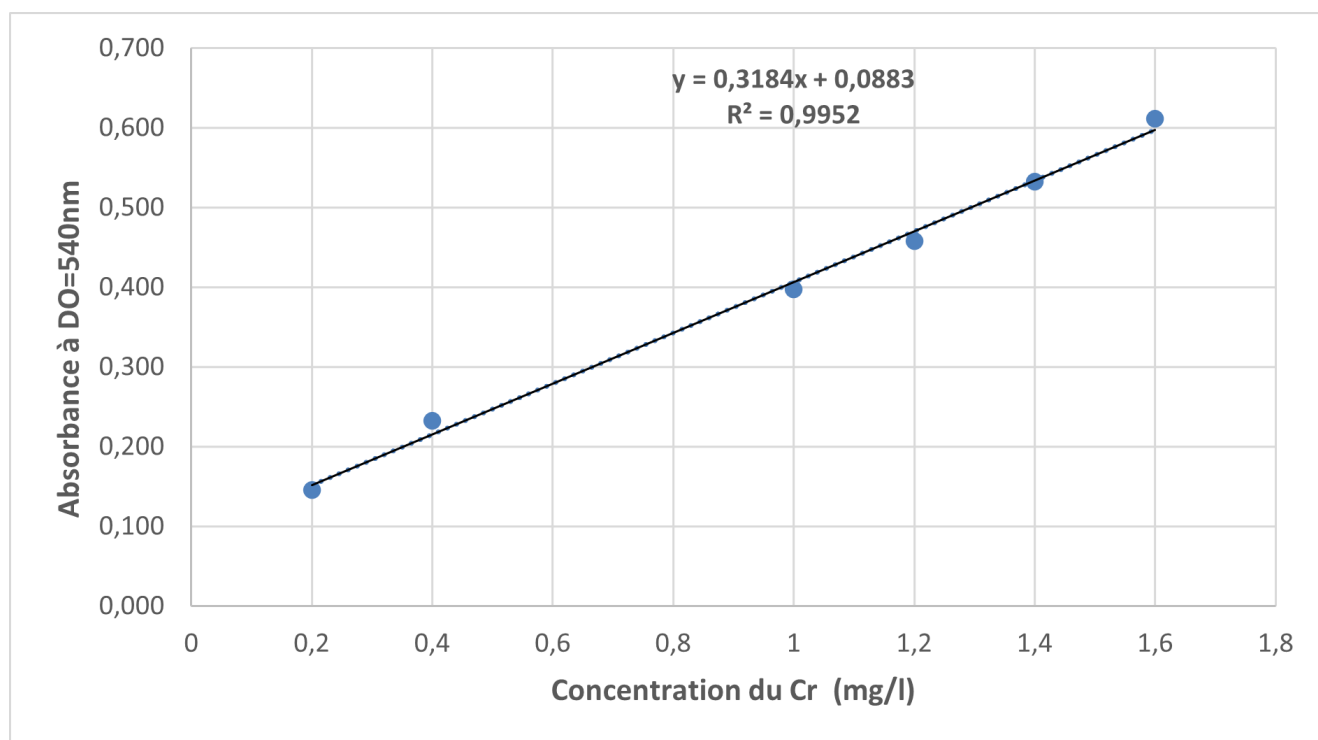




















FIG. 129 – Courbe d'étalonnage du Chrome (Cr)

.2 Annexe B

INTERPRÉTATION DES TESTS BIOCHIMIQUES D'UNE GALERIE API 20 E	NEGATIF	POSITIF
<p>ONPG: BETA GALACTOSIDASE</p> <p>Sous l'action d'une β galactosidase, l'ONPG (orthonitrophényl β D galactopyranoside) incolore est hydrolysé et libère de l'orthonitrophénol de couleur jaune.</p>		
<p>ADH: ARGININE DIHYDROLASE</p> <p>La dégradation de l'arginine donne des dérivés aminés ou de l'ammoniaque entraînant une alcalinisation du milieu qui se traduit par le virage à l'orange ou au rouge de l'indicateur de pH (rouge de phénol).</p>		
<p>LDC: LYSINE DECARBOXYLASE</p> <p>La dégradation de la lysine donne de la cadaverine entraînant une alcalinisation du milieu qui se traduit par le virage à l'orange ou au rouge de l'indicateur de pH (rouge de phénol).</p>		
<p>ODC: ORNITHINE DECARBOXYLASE</p> <p>La dégradation de l'ornithine donne de la putrescine entraînant une alcalinisation du milieu qui se traduit par le virage à l'orange ou au rouge de l'indicateur de pH (rouge de phénol).</p>		
<p>CIT: CITRATE DE SIMMONS</p> <p>L'utilisation du citrate comme seule source de carbone entraîne une alcalinisation du milieu de culture, soit un virage au bleu-vert de l'indicateur de pH (bleu de bromothymol) préférentiellement dans la zone aérobie.</p>		
<p>H₂S: FORMATION DE H₂S</p> <p>La réduction des composés soufrés du milieu entraîne la formation de H₂S qui donne un précipité noir en présence de sel de fer.</p>		
<p>URE: UREASE (FERGUSON)</p> <p>L'hydrolyse de l'urée donne de l'ammoniaque entraînant une alcalinisation du milieu qui se traduit par le virage au rouge de l'indicateur de pH (rouge de phénol).</p>		
<p>TDA: TRYPTOPHANE DESAMINASE</p> <p>La désamination oxydative du tryptophane (mise en jeu par la même enzyme que pour le phénylalanine, APP) produit l'acide indolpyruvique qui donne une coloration brun-rouge avec le chlorure ferrique (reactif TDA).</p>		
<p>IND: INDOLE</p> <p>Sous l'action d'une tryptophanase, le tryptophane est transformé en indole qui donne une coloration violette avec le reactif de Kovacs (reactif IND).</p>		

INTERPRÉTATION DES TESTS BIOCHIMIQUES D'UNE GALERIE API 20 E	NEGATIF	POSITIF
<p>VP : ACÉTOINE (ACÉTYL METHYLCARBINOL)</p> <p>La production d'acétoine à partir de l'acide pyruvique est mise en évidence en milieu alcalin (réactif VP1) en présence d'α naphthol (réactif VP2), l'acétoine donne dans ces conditions une coloration rose à rouge.</p>		
<p>GEL : PROTEOLYSE DE LA GELATINE</p> <p>La protéolyse de la gélatine de Kohn libère un pigment noir qui diffuse dans le tube.</p>		
<p>GLU: GLUCOSE</p> <p>L'utilisation (fermentation / oxydation) du glucose entraîne une acidification du milieu qui se traduit par le virage au jaune de l'indicateur de pH (bleu de bromothymol).</p>		
<p>MAN: MANNITOL SAC: SACCHAROSE INO : INOSITOL MEL: MELIBIOSE SOR: SORBITOL AMY: AMYGDALINE RHA: RHAMNOSE ARA: L(+)-ARABINOSE</p> <p>L'utilisation (fermentation / oxydation) de ces glucides entraîne une acidification du milieu qui se traduit par le virage au jaune de l'indicateur de pH (bleu de bromothymol).</p>		
<p>OX: CYTOCHROME OXYDASE</p> <p>La cytochrome oxydase entraîne la formation d'un complexe violet avec la tétraméthylparaphénylène diamine (réactif OX) dans le tube ONPG ou H₂S.</p>		
<p>NIT: FORMATION DE NITRITES</p> <p>Sous l'action d'une nitrate réductase, les nitrates présents dans le tube GLU sont réduits en nitrites mis en évidence par le réactif de Griess (réactif NIT1 et NIT2) qui donne une coloration rouge.</p>		
<p>N₂: FORMATION D'AZOTE</p> <p>Il y a transformation des nitrates en azote si la réaction de Griess reste négative après l'addition d'un peu de poudre de zinc dans le tube GLU, une fois la recherche de la formation de nitrites effectuée.</p>		
<p>GAZ: FORMATION DE GAZ</p> <p>Lors de l'utilisation des glucides, la production de gaz se traduit par la formation de bulles.</p> <p>N.B. dans le tube GLU, la production de gaz à partir du glucose est inhibée par la présence de nitrate, par contre, on peut parfois observer la présence de bulles d'azote obtenues par réduction complète du nitrate.</p>		
<p>CAT: CATALASE</p> <p>La présence d'une catalase se traduit par la formation de bulles dans un des tubes positifs de glucide après addition d'une goutte d'eau oxygénée à 1,5 %.</p>		

3 Annexe C



École Nationale Polytechnique Département Génie des Procédés et Environnement

2^{ème} Séminaire National sur les Pollutions Environnementales et le Développement Durable SNPE'2024- Juin 1-2, 2024- ENP Alger, Algérie

POLY ENVIRONNEMENT

Evaluation et caractérisation de la résistance aux métaux lourds chez les bactéries isolées à partir des embouchures de Oued EL Harrach et de Oued El Hamiz

BENAMER Hanane*, ALOUACHE Souhila**, DJERAIa Nourredine*

*Laboratoire LCVRM- équipe Microbiologie et Biotechnologie marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral
BP19, Campus Universitaire, Bois des cars, Dely Ibrahim, Alger 16320

Résumé

L'augmentation des apports anthropiques contenant les agents anti-microbiens (métaux lourds, antibiotiques...) a favorisé la dissémination de la résistance bactérienne à ces substances. Cette situation est une préoccupation majeure en santé publique puisqu'elle s'est développée très rapidement atteignant presque toutes les espèces pathogènes pour l'homme et/ou pour l'animal. L'objectif de ce travail a été l'évaluation de la résistance aux métaux lourds au niveau des embouchures de Oued El Hamiz et de Oued El harrach. Des faibles taux de résistance ont été observés parmi la flore totale où nous avons noté les taux suivants respectivement, pour oued El harrach et Oued el hamiz : Zinc (0.88%, 0.44%), Cuivre (0.07%, 0.26%), Chrome (0.10%, 0.27%), Cadmium (0.07%, 0.16%), Mercure (0.11% , 0.07%) et le Plomb (0.01%, 0.03%). 13 souches résistantes ont été identifiées et analysées pour leurs profils de résistance aux métaux lourds. Les résultats ont montré la présence des espèces suivantes : *P. aeruginosa*, *E.coli*, *K.oxytoca*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *S. odorifera*, *S. marcescens*, *P. pneumotropica*, *S.maltophilia*, *A. salmonicida*, *V. parahaemolyticus*. Les souches ont montré une multirésistance de 3 à 5 métaux lourds avec les profils suivants: Zn-Cu-Cr (n=1), Zn-Cu-Cd-Cr (n= 8), Zn-Cu-Cd-Hg (n=2), Zn-Cu-Cd-Cr-Hg (n=2). Nous pouvons conclure que ces bactéries résistantes peuvent causer des risques écologiques et sanitaires importants surtout que la plupart des souches résistantes isolées sont pathogènes pour l'homme et/ou l'animal.

Mots-clés : Résistance Aux Métaux Lourds ; Bactéries ; Apports Anthropiques ; Embouchure Oued El Harrach ; Embouchure Oued El Hamiz.

Annexe D

Business model canvas

**Mise en place d'un procédé de traitement des effluents
industriels riches en chrome par biofiltration**

Équipe d'encadrement

Pr. ALOUACHE S.

Équipe de projet

BENAMER Hanane

2023-2024

Sommaire

Introduction	4
I Présentation du Projet	4
I.1 Idée du projet (solution proposée)	4
I.2 Les valeurs suggérées	5
I.3 L'équipes	5
I.4 Les objectifs du projet	5
I.5 Les activités clés	6
I.6 Planning de réalisation du projet	6
II Aspects innovants	6
II.1 Nature des innovations	6
III Analyse stratégique du marché	7
III.1 Le segment du marché	7
III.2 Mesure de l'intensité de la concurrence	9
III.3 La stratégie marketing	10
IV Plan de production et D'organisation	11
IV.1 Le processus de production	11
IV.1.1 Achat de la matière première	11
IV.1.2 Fabrication	12
IV.1.3 Conditionnement du produit	12
IV.1.4 Assemblage des Colonnes de Biofiltration	12
IV.1.5 Emballage	13
IV.2 L'appauvrissement	13
IV.2.1 Politique d'achat	13
IV.2.2 Les fournisseurs	14
IV.2.3 Politique de paiement et délai de réception	14
IV.3 Main d'œuvre	14
IV.4 Les principaux partenaires	14

V Plan financier	15
V.1 Les Coûts et les charges	15
V.2 Les ventes prévisionnelles	16
V.3 Chiffre d'affaires annuel et dépenses annuelle (DA)	17
V.4 La rentabilité	18
VI Prototype expérimental	18
VI.1 Préparation de la Biomasse Bactérienne :	18
VI.2 Préparation de la Solution PVA-Alginate de Sodium	18
VI.3 Formation des Billes	18
VI.4 Essai d'élimination du Chrome et de Traitement des Effluents	19
VI.5 Évaluation des résultats	19

Introduction

Le traitement des effluents industriels représente un enjeu crucial pour la protection de l'environnement et la santé publique. Parmi les contaminants les plus préoccupants figure le chrome, un métal lourd utilisé dans de nombreuses industries, notamment la métallurgie, le tannage et la fabrication de pigments. La présence de chrome dans les eaux usées perturbe les écosystèmes aquatiques en s'accumulant dans les sédiments et les organismes, affectant les chaînes alimentaires et les espèces prédatrices, y compris les humains. De plus, le chrome peut contaminer les nappes phréatiques, compliquant le traitement de l'eau potable et augmentant les coûts. Ces impacts environnementaux et sanitaires rendent indispensable le développement de technologies de traitement efficaces et durables.

Chapitre I : Présentation du Projet

I.1 Idée du projet (solution proposée)

Notre projet consiste à créer BioClearTech, une entreprise basée à Oued Smer, spécialisée dans les technologies environnementales et le développement de procédés de traitement des effluents industriels chargés en chrome.

Cette entreprise a le statut juridique d'une SARL (société à responsabilité limitée) avec un code de registre de commerce de 606203 (Epuración des eaux usées) obtenu auprès du Centre National du Registre du Commerce (CNRC).

L'idée de mon projet est née de la constatation des nombreux inconvénients et limites des méthodes conventionnelles de traitement des effluents industriels. Ces méthodes traditionnelles se sont révélées coûteuses, exigeant des investissements financiers et énergétiques significatifs, tout en nécessitant une quantité importante de réactifs chimiques. De plus, elles génèrent fréquemment des sous-produits secondaires toxiques, posant des défis supplémentaires en termes de gestion des déchets et de protection de l'environnement.

Face à ces problématiques, on propose une alternative plus écologique, plus économique et plus durable. C'est ainsi qu'est apparue l'idée de la biofiltration. Cette méthode innovante utilise des bactéries réductrices de chrome, immobilisées dans des billes de PVA-alginate de sodium, intégrées dans des colonnes de traitement. Cette approche promet non seulement de réduire les coûts et la consommation énergétique, mais également de minimiser les impacts environnementaux en évitant la production de sous-produits toxiques.

I.2 Les valeurs suggérées

Notre procédé de traitement des effluents industriels utilise des bactéries réductrices de chrome immobilisées dans des billes de PVA-alginate de sodium, offrant une solution novatrice, écologique et économique inédite sur le marché. Ce système de biofiltration, conçu pour une performance supérieure, réduit efficacement les niveaux de chrome et répond ou dépasse les attentes en matière de purification et de respect des normes environnementales. Grâce à sa conception modulaire, il offre une grande flexibilité, permettant des modifications et des adaptations selon les besoins spécifiques des clients et une intégration facile dans les infrastructures existantes. Notre technologie aide à accomplir des tâches spécifiques de traitement des effluents, avec des solutions personnalisées et un accompagnement technique optimal. Nos biofiltres, conçus pour répondre aux attentes en termes de performance, facilité d'utilisation et durabilité, utilisent des matériaux recyclables et réutilisables. Cela réduit les coûts de production et permet de proposer des prix de vente compétitifs, offrant ainsi une valeur ajoutée économique significative.

I.3 L'équipes

L'équipe de travail de BioClearTechBK est actuellement constituée de moi-même, BENAMER Hanane ingénieure en biotechnologie marine. Au cours de mon cursus, j'ai acquis des compétences pointues dans les méthodes biotechnologiques appliquées à divers domaines. Mon expérience, renforcée par de nombreux stages, notamment en microbiologie, m'a permis de développer une expertise approfondie en microbiologie, essentielle pour le traitement des effluents industriels. Mon projet de fin d'études m'a également permis de consolider mes compétences techniques et pratiques. En outre, j'ai suivi des formations en entrepreneuriat et en management de projet, ce qui m'a doté des compétences nécessaires et d'une compréhension approfondie pour élaborer et gérer efficacement un projet innovant comme BioClearTech.

I.4 Les objectifs du projet

Nous nous engageons à introduire des solutions de traitement des effluents écologiques et durables en utilisant des technologies de bioremédiation innovantes, adaptées aux besoins spécifiques des industries algériennes. Notre objectif est d'offrir des solutions rentables en réduisant les coûts de production et d'exploitation pour les entreprises industrielles, tout en maintenant une haute performance de purification. Nous aidons également les entreprises à se conformer aux réglementations environnementales nationales et internationales, en garantissant que les effluents traités respectent les normes en vigueur. Nous visons à attirer et convaincre les industries algériennes de l'efficacité et des avantages de notre procédé de biofiltration pour le traitement des effluents chargés en chrome. Par ailleurs, nous aspirons à établir BioClearTech comme un leader reconnu et respecté dans le

domaine du traitement des effluents industriels en Algérie, grâce à des performances prouvées et une approche innovante. En développant des partenariats avec des institutions de recherche, des organismes gouvernementaux et des entreprises privées, nous voulons promouvoir la recherche, le développement et la mise en œuvre de technologies de traitement des effluents. Enfin, nous nous efforçons d'étendre notre gamme de services et technologies pour traiter d'autres types de contaminants, répondre aux besoins variés des industries et explorer des opportunités de marché à l'international.

I.5 Les activités clés

— **Production et fabrication :**

Fabrication des billes de PVA-alginate de sodium avec les bactéries immobilisées ainsi que la conception et l'assemblage des colonnes de biofiltration pour les installations industrielles.

— **Installation et Maintenance :**

Mise en place des systèmes de biofiltration dans les installations des clients industriels accompagner de services de maintenance régulière et de support technique pour garantir le bon fonctionnement des systèmes installés.

— **Conseil et Accompagnement :**

Former les employés des clients sur l'utilisation et l'entretien des systèmes de biofiltration.

— **Marketing et Sensibilisation :**

Promouvoir auprès des industries et des organismes de régulation les avantages des solutions de biofiltration, tout en sensibilisant aux impacts environnementaux des effluents chargés en chrome et aux solutions écologiques disponibles.

— **Recherche et développement :**

Conduire des tests en laboratoire pour optimiser les conditions de traitement visant à maximiser l'efficacité de la réduction du chrome, tout en explorant et développant des technologies pour traiter divers contaminants.

I.6 Planning de réalisation du projet

Chapitre II : Aspects innovants

II.1 Nature des innovations

- **Innovation du marché :** Introduction d'une solution de biofiltration écologique et économique pour le traitement des effluents industriels, répondant à un besoin non satisfait sur le marché algérien.

TABLEAU I.1 – Planning de réalisation du projet

Phases	Tâches	Durée (Mois)				
		1	2	3	4	5
Phase 1	Élaboration du plan détaillé du projet, analyse des besoins industriels algériens, recherche et sélection des technologies de bioremédiation, et identification des partenaires stratégiques.	X				
Phase 2	Acquisition de l'équipement et location du local.	X				
Phase 3	Recherche et optimisation du protocole de production à l'échelle du laboratoire		X			
Phase 4	Production des billes et assemblage du dispositif	X				
Phase 5	Installation pilote et validation du procédé		X			
Phase 6	Déploiement commerciale et expansion	X				

- **Innovation incrémentale** : Amélioration continue des technologies de biofiltration et des procédés de production pour optimiser l'efficacité et réduire les coûts au fil du temps.
- **Innovation radicale** : Développement de nouvelles méthodes de bioremédiation basées sur l'immobilisation de bactéries réductrices de chrome dans des billes de PVA-alginate de sodium, offrant une alternative radicale aux méthodes conventionnelles.
- **Innovation technologique** : Utilisation de matériaux avancés comme le PVA-alginate de sodium et de techniques de biotechnologie pour créer des systèmes de biofiltration hautement performants et durables.

Chapitre III : Analyse stratégique du marché

III.1 Le segment du marché

Le marché potentiel comprend toutes les entités susceptibles de demander nos produits pour répondre à leurs besoins en traitement des effluents industriels contenant du chrome. Nos acheteurs se concentrent sur Alger, avec un total de 37 entreprises réparties entre les industries de la métallurgie, du textile, de la peinture, de l'électroménager, et du tannage du cuir.

Le marché cible se concentre sur les industries les plus polluantes en matière en terme de rejet du Chrome. Nos clients potentiels comprennent :

- **Algérienne Des Cuirs & Dérivés, Spa, ACED** spécialisée dans la transformation du cuir et ses dérivés et fabrication de cuirs synthétiques.

Adresse : Zone Industrielle, route Nationale n°5 Secteur 7 Groupe n°264 16017 Rouiba.

Téléphone : +213 23 85 12 63

- **GIMACS, Sarl** spécialisée dans le traitement des peaux, cuir et fourrure.
Adresse : Route Nationale n°41 16014 Chéraga.
Téléphone : +213 20 28 27 25
- **SODRG** spécialisée dans la fabrication d'appareil électronique et d'électroménager divers.
Adresse : Rue colonel si abdelhamid 16041 Aïn taya.
- **ICOSIUMETAL** spécialisée dans la construction métallique (FABRICATION D'ELEMENTS ET POSE ASSOCIEES OU FABRICATION).
Adresse : ROUTE PRINCIPAL LOT N : 24 BORDJ EL BAHRI

Ces industries pourraient être motivées à acheter notre produit et à collaborer avec nous en raison de la nécessité de se conformer aux réglementations environnementales strictes en matière de rejet des effluents contenant du chrome, réduire leur empreinte écologique et améliorer leur image publique en adoptant des technologies de traitement respectueuses de l'environnement et réduire les coûts associés aux pénalités pour non-conformité et les coûts de gestion des déchets.

Au premier trimestre de la première année, nous ciblerons principalement les industries localisées à Alger. Cependant, dès le deuxième trimestre, nous prévoyons d'élargir notre présence vers les autres wilayas de la région centre. Pour la deuxième année, nous nous étendrons progressivement vers les autres wilayas, afin d'atteindre une couverture complète du territoire algérien à la fin du deuxième trimestre de cette même année. Après la quatrième année, et après avoir acquis une certaine expertise à l'échelle nationale, nous envisageons d'élargir notre marché et d'accéder au marché international.

III.2 Mesure de l'intensité de la concurrence

Entreprise	Description	Forces	Faiblesses
Envi-Eau Algérie	Entreprise spécialisée dans le traitement des eaux usées industrielles	Expertise dans le traitement des eaux contenant des métaux lourds, Utilisation de technologies modernes et éprouvées.	Solutions souvent plus coûteuses que celles des concurrents, Moins flexible pour adapter ses solutions à des besoins spécifiques.
HydroTech Algérie	Fournisseur de technologies de traitement des eaux industrielles avec un focus sur les méthodes chimiques et biologiques.	Offre une large gamme de solutions, y compris chimiques et biologiques, Bien établi à travers l'Algérie.	Moins d'innovations récentes comparées à certains concurrents, Support client perçu comme moins réactif.
GreenTech Environnement	Fournisseur de solutions environnementales globales, y compris le traitement des déchets et des eaux.	Solutions complètes pour la gestion des déchets et des eaux, Bonne réputation dans le domaine de l'environnement.	Moins de parts de marché dans le secteur des eaux industrielles, Investissements initiaux élevés pour certaines solutions.
CleanWater Solutions	Spécialisée dans les systèmes de purification de l'eau, y compris le traitement des eaux domestiques et industrielles.	Gamme de produits très diversifiée, Solutions souvent plus abordables.	Moins spécialisé dans le traitement des eaux industrielles comparé à d'autres,
WATER ALGERIAN DESIGN	Entreprise innovante spécialisée dans le design et la mise en place de systèmes de traitement des eaux, y compris les effluents industriels	Design innovant de systèmes de traitement des eaux, Bonne connaissance du marché algérien et de ses besoins spécifiques.	Entreprise peut-être plus jeune avec moins de projets réalisés comparé aux concurrents établis,

III.3 La stratégie marketing

Pour atteindre efficacement nos clients et établir une présence solide sur le marché algérien, nous suivrons les étapes suivantes :

Participation à des Salons et Foires Industrielles : Participer à des événements industriels pour présenter nos solutions à un public ciblé et établir des contacts. Comme : BATIMATEX EXPO, SINAA, SIEE Pollutec.

Collaborations avec des Institutions Académiques et de Recherche : Travailler avec des universités et des centres de recherche pour développer et promouvoir nos solutions.

Partenariats : Collaborer avec des entreprises de traitement des eaux comme HydroTech Algérie, WATER ALGERIAN DESIGN pour intégrer nos solutions dans leurs offres.

Publicité en Ligne : Utiliser Google Ads et les publicités sur les réseaux sociaux pour cibler les décideurs des industries pertinentes.

Réseaux Sociaux : Créer et maintenir des profils actifs sur LinkedIn, Twitter pour partager des nouvelles, des études de cas, et des témoignages. Cree un site web

Canaux de Distribution : Vente Directe en s'approcher directement les industries cibles, vente en ligne sur des Marketplace BtoB comme Alibaba.

Programme de fidélisation (BioClear Rewards) : l'objectif de ce programme est d'assurer une satisfaction et une fidélité à long terme de nos clients. Le programme comporte :

— **Système de Points :** Les clients accumulent des points pour chaque achat, où chaque pourcentage du total des achats annuels équivaut à un certain nombre de points.

o **100 points :** 5% de réduction sur un achat futur.

o **250 points :** 10% de réduction sur un achat futur.

o **500 points :** Consultation gratuite pour l'optimisation des systèmes existants.

Avantages Additionnels

o Les membres du programme de fidélité reçoivent un support client prioritaire.

o Les membres sont les premiers informés et ont accès aux nouvelles technologies et services.

— **Plan d'Action en Périodes :**

Premier Trimestre (T1)

o Lancer le site web et les profils sur les réseaux sociaux.

o Commencer les campagnes de publicité en ligne.

- o Participer à des salons locaux pour présenter vos solutions.
- **Deuxième Trimestre (T2)**
 - o Renforcer les partenariats avec les entreprises de traitement des eaux.
 - o Organiser des webinaires pour éduquer le marché sur nos technologies.
 - o Lancer des études de cas et des témoignages clients sur le site web et les réseaux sociaux.
- **Troisième Trimestre (T3)**
 - o Développer des relations publiques avec des communiqués de presse et des articles dans des publications spécialisées.
 - o Continuer les campagnes de publicité en ligne avec des ajustements basés sur les performances.
- Quatrième Trimestre (T4)**
 - o Évaluer les performances marketing et ajuster les stratégies en fonction des résultats obtenus.
 - o Planifier pour l'année suivante en se basant sur les feedbacks des clients et les tendances du marché.

Chapitre IV : Plan de production et D'organisation

IV.1 Le processus de production

Le processus de production des billes de PVA et d'alginate de sodium immobilisées par des bactéries marines se déroule en plusieurs étapes. Ces étapes sont cruciales pour assurer la qualité du produit final utilisé dans les colonnes de biofiltration pour le traitement des effluents industriels chargés en chrome.

IV.1.1 Achat de la matière première

L'achat de matières premières est la première étape cruciale dans notre processus de production. Cette étape garantit que toutes les matières nécessaires à la fabrication de nos billes de PVA et d'alginate de sodium de haute qualité sont disponibles et conformes aux normes strictes de qualité et de durabilité de BioClearTech.

- o **Fournisseurs de la matière première** : GLOBAL SERVICE LABORATOIRE (GSLAB), EURL INFINITY INVESTMENT, CHEKERLAB.
- o **Contrôle Qualité** : Réception et inspection des matières premières pour vérifier leur conformité avec les spécifications techniques et les normes de qualité.
- o **Stockage** : Stocker les matières premières dans des conditions optimales pour préserver leur intégrité. Le PVA et l'alginate de sodium sont conservés dans des environnements secs, tandis

que les bactéries marines sont stockées à des températures contrôlées pour maintenir leur viabilité.

IV.1.2 Fabrication

La fabrication est le cœur de notre processus de production, où nous transformons les matières premières en billes de biofiltration performantes.

- o **Préparation des Solutions** : Préparer des solutions de PVA et d'alginate de sodium dans des proportions précises pour assurer la formation homogène des billes.
- o **Inoculation des Bactéries** : Ajouter les cultures bactériennes marines à la solution d'alginate pour permettre l'immobilisation des bactéries dans les billes.
- o **Formation des Billes** : Utiliser un procédé de goutte à goutte pour former des billes homogènes de PVA et d'alginate de sodium contenant les bactéries immobilisées.
- o **Solidification** : Immerger les billes formées dans une solution de durcissement pour les solidifier et les rendre prêtes pour l'utilisation dans les colonnes de biofiltration.
- o **Contrôle Qualité** : Effectuer des tests de contrôle qualité sur les billes fabriquées pour s'assurer qu'elles répondent aux spécifications requises en termes de taille, de résistance et de capacité de rétention des bactéries.

IV.1.3 Conditionnement du produit

Le conditionnement est une étape essentielle pour préparer les billes de biofiltration pour la distribution et l'utilisation finale.

- o **Séchage et Stabilisation** : Sécher les billes pour éliminer toute humidité résiduelle et stabiliser leur structure.
- o **Tri et Sélection** : Trier les billes pour éliminer celles qui ne répondent pas aux normes de qualité et sélectionner les meilleures pour le conditionnement final.
- o **Mesure et Pesage** : Mesurer et peser les billes pour les conditionner en lots standardisés, assurant une distribution uniforme et facilitant l'utilisation par les clients.

IV.1.4 Assemblage des Colonnes de Biofiltration

- o **Conception des Colonnes** : Choix du matériau et conception des colonnes adaptées à l'installation de billes de PVA-alginate.
- o **Chargement des Colonnes** : Remplissage des colonnes avec les billes de PVA-alginate stabilisées.
- o **Test de Fonctionnement** : Vérification de l'efficacité et de la résistance des colonnes à différentes conditions de flux et de charge de polluants.

IV.1.5 Emballage

- o **Préparation des Unités de Vente** : Emballage des colonnes de biofiltration dans des contenants appropriés pour assurer leur protection pendant le transport et le stockage.
- o **Étiquetage et Documentation** : Étiquetage des produits avec les informations nécessaires telles que les spécifications techniques, la date de fabrication et les précautions d'utilisation.

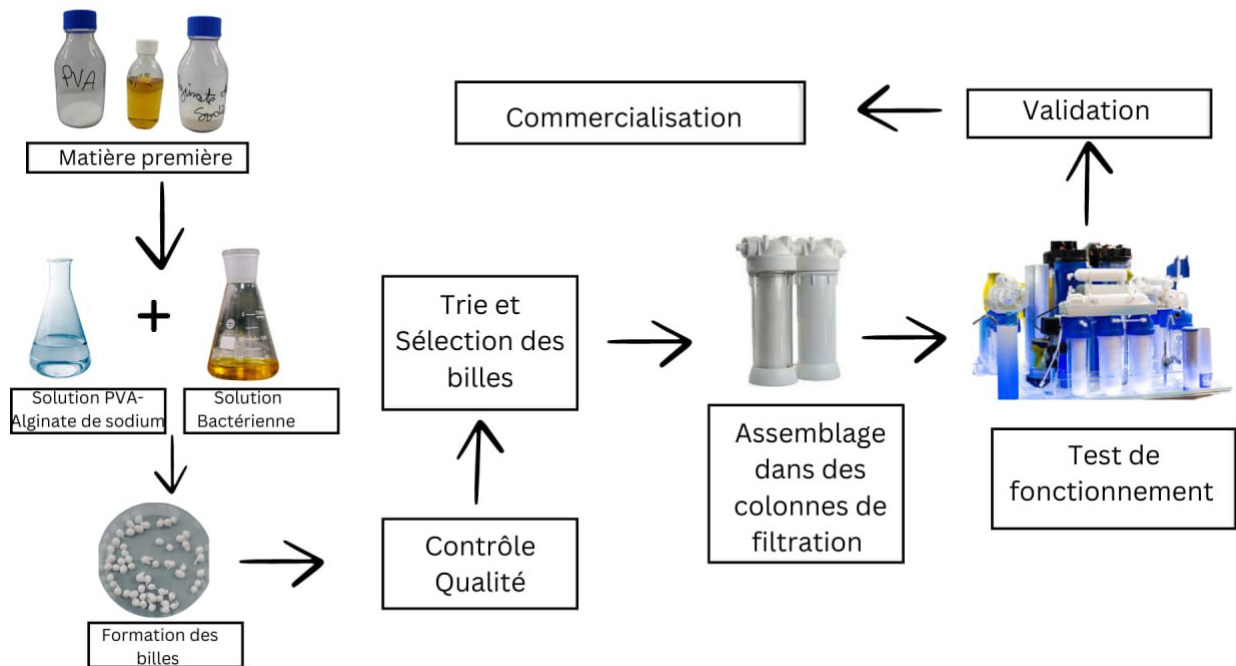


FIG. IV.1 – Processus de production

IV.2 L'appauvrissement

IV.2.1 Politique d'achat

- o **La matière première** : PVA (Polyvinyl Alcohol), alginate de sodium, bactéries marine, milieu de culture (bouillon nutritif).
- o **Matériaux et fourniture** : réactif et produits chimiques de gélification et conditionnement des billes.
- o **Équipement** : Bioréacteur, réservoir de mélange, autoclave, rampe à filtration, réfrigérateurs, pompe péristaltique, étuve, colonne de filtration, équipements bureautiques, machine d'emballage sous vide, systèmes d'information.

IV.2.2 Les fournisseurs

- o **Fournisseurs de Matières Premières** : GLOBAL SERVICE LABORATOIRE (GSLAB), EURL INFINITY INVESTMENT, CHEKERLAB.
- o **Fournisseurs d'équipement de laboratoire** : Microbiotech EURL, Groupe Worldlab.
- o **Fournisseurs de colonne de filtration** : AquaPro Algeria, Algérie profiltre.

IV.2.3 Politique de paiement et délai de réception

- **Politique de Paiement** : Pour optimiser les coûts et assurer une gestion efficace des flux de trésorerie, nous négocierons des conditions de paiement avantageuses, incluant des remises pour paiements anticipés et des conditions de crédit étendues, mettrons en place un système de paiements échelonnés pour les grosses commandes d'équipements, et établirons des accords-cadres à long terme avec des fournisseurs clés afin de garantir des prix stables et une disponibilité continue des matières premières.
- **Délais de Réception** : Pour éviter les ruptures de stock et les retards de production, nous collaborerons étroitement avec les fournisseurs pour obtenir des délais de livraison précis et fiables, planifierons des achats anticipés, et utiliserons des systèmes de gestion des achats pour suivre les commandes et assurer la conformité avec les délais de livraison.

IV.3 Main d'œuvre

Au début du projet, nous démarrerons avec une équipe de quatre personnes : un ingénieur en Biotechnologie, un technicien de laboratoire, un responsable du marketing et des ventes. Au cours des six prochaines années, nous recruterons davantage de professionnels compétents selon l'évolution du projet.

IV.4 Les principaux partenaires

- o **Fournisseurs de matière première** : GLOBAL SERVICE LABORATOIRE (GSLAB), EURL INFINITY INVESTMENT, CHEKERLAB.
- o **Fournisseur d'équipement** : Groupe Worldlab, EXOSAFE EURL, BIO LB NOUR, EURL.
- o **Institutions académiques et de recherche** : USTHB, Centre de Développement des Energies Renouvelables (CDER).
- o **Organismes de Régulation et de Certification** : Ministère de l'Environnement et des Énergies Renouvelables, Agence Nationale des Déchets (AND).
- o **Agences de Communication et Marketing** : DIGITAL NATIVES SARL, MEDIA EXPERT, Sarl.

- o ANADE (l'Agence nationale d'Appui et de développement de L'entrepreneuriat)
- o ASF (Algerian Startup Found).
- o Blue incubator (ENSSMAL).

Chapitre V : Plan financier

V.1 Les Coûts et les charges

TABLEAU V.1 – Les charges des équipements

Matériel	Prix(DA)
Agitateurs Magnétiques	200 000,00
Balance de Précision	150 000,00
Centrifugeuse	400 000,00
Incubateur	80 000,00
Réservoir de Mélange	70 000,00
Bioréacteur	3 000 000,00
Pompes Péristaltiques	300 000,00
Colonnes de Biofiltration	20 000,00
Matériel de laboratoire	267 661,00
consommable	768444,4
Total	5 256 105,40

TABLEAU V.2 – les Charges fixes et variables du projet

Nature des Coûts	Catégorie de charge	Prix (DA)
Coûts fixes	Equipements	4 220 000,00
	Local	124 000,00
	Marketing	100 000,00
	Salaires	1 800 000,00
Coûts variables	Consommables	768 444,40
	Energie	200 000,00
	Emballage	50 000,00

TABLEAU V.3 – Le cout du projet et le prix de vente unitaire

Coût du projet (DA)	7 020 105,40
Prix unitaire (DA)	1 979,93
Prix de vente (DA)	2375,92

V.2 Les ventes prévisionnelles

TABLEAU V.4 – Le cout du projet et le prix de vente unitaire

Mois	Quantite (Unité)
Janvier	100
Février	100
Mars	110
Avril	120
Mai	140
Juin	150
Juillet	160
Aout	160
Septembre	180
Octobre	190
Novembre	200
Décembre	200
TOTAL	1810

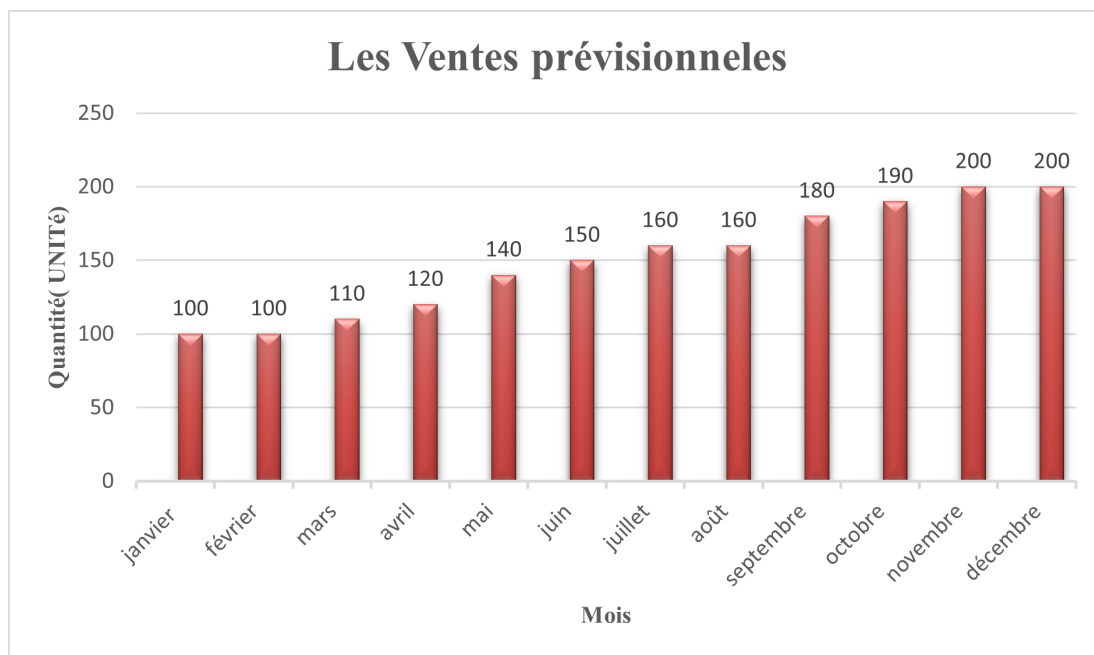


FIG. V.1 – Vente prévisionnelle annuelle

V.3 Chiffre d'affaires annuel et dépenses annuelle (DA)

TABLEAU V.5 – Le cout du projet et le prix de vente unitaire

Mois	Quantite (Unité)	CA (Quantité x Prix de vente)	Coût	Résultat
janvier	100	237,592.00	197,992.57	39,599.43
février	100	237,592.00	197,992.57	39,599.43
mars	110	261,351.20	217,791.82	43,559.38
avril	120	285,110.40	237,591.08	47,519.32
mai	140	332,628.80	277,189.60	55,439.20
juin	150	356,388.00	296,988.85	59,399.15
juillet	160	380,147.20	316,788.11	63,359.09
aout	160	380,147.20	316,788.11	63,359.09
septembre	180	427,665.60	356,386.62	71,278.98
octobre	190	451,424.80	376,185.88	75,238.92
novembre	200	475,184.00	395,985.14	79,198.86
décembre	200	475,184.00	395,985.14	79,198.86
TOTAL	1810	4300415.2	3583665.48	716749.72

V.4 La rentabilité

TABLEAU V.6 – La rentabilité

Seuil de rentabilité (en CA)/année	3,361,247.37 DA
Seuil de rentabilité (en Unité)/année	1,414.71 DA
Seuil de rentabilité (en jour)	285.29 DA

Chapitre VI : Prototype expérimental

Le prototype vise à démontrer l'efficacité des billes de PVA-alginate de sodium immobilisées avec des bactéries marines pour la biofiltration des effluents industriels chargés en chrome.

VI.1 Préparation de la Biomasse Bactérienne :

- La biomasse bactérienne a été cultivée dans un milieu nutritif à 35°C pendant une nuit.
- Après incubation, les cellules bactériennes ont été récupérées par centrifugation, lavées et remises en suspension dans de l'eau distillée.

VI.2 Préparation de la Solution PVA-Alginate de Sodium

- Une solution de PVA-Alginate de sodium a été préparée en chauffant à 80°C et en refroidissant à 35°C.
- La suspension bactérienne préparée a été ajoutée à cette solution.
- La réticulation des billes a été effectuée en ajoutant cette solution à une solution de réticulation et en laissant à 4°C pendant 24 heures pour durcir les billes.

VI.3 Formation des Billes

- Après durcissement, les billes de PVA-Alginate contenant les bactéries ont été lavées à plusieurs reprises avec de l'eau distillée stérile pour éliminer les résidus de réticulation.

VI.4 Essai d'élimination du Chrome et de Traitement des Effluents

- Les billes immobilisées ont été testées pour leur capacité à traiter un effluent synthétique préparé au laboratoire.
- L'essai a consisté à incuber les billes avec l'effluent à 37°C pour évaluer leur efficacité dans l'élimination du chrome et le traitement des contaminants.

VI.5 Évaluation des résultats

- Les performances des billes ont été évaluées en mesurant la réduction de la concentration de chrome dans l'effluent traité.
- Des analyses périodiques ont été effectuées pour surveiller la stabilité et l'activité des bactéries immobilisées sur les billes de PVA-Alginate.

En raison des contraintes de temps, nous avons seulement pu produire les billes pour l'instant et prévoyons de les intégrer dans les colonnes de filtration ultérieurement.

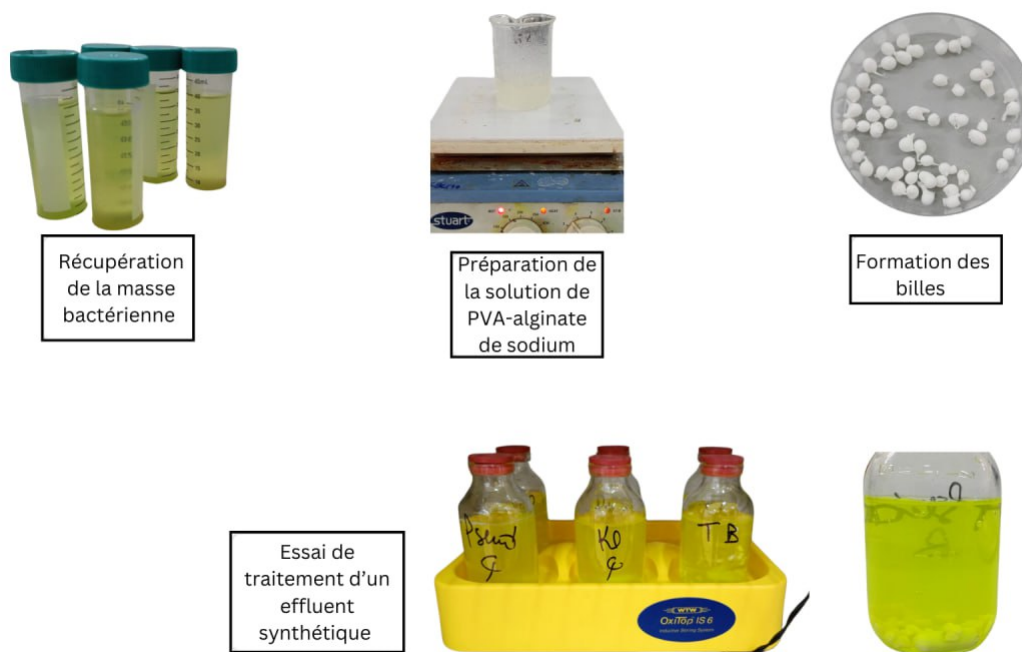
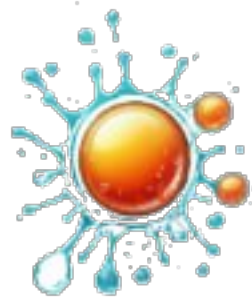


FIG. VI.1 – Schéma représentatif du prototype expérimental



BioClearTech
Since 2024

FIG. VI.2

FIG. VI.3 – Business Model Canvas

Partenaire clés	Activités clés	Proposition de valeur	Relation avec les clients	Ségment client
<p>-Fournisseurs de matière première : GLOBAL SERVICE LABORATOIRE (GSLAB), EURL INFINITY INVESTMENT, CHEKERLAB.</p> <p>-Fournisseur d'équipement : Groupe Worldlab, EXOSAFE EURL, BIO LB NOUR, EURL.</p> <p>-Institutions académiques et de recherche : USTHB, Centre de Développement des Energies Renouvelables (CDER).</p> <p>-Ministère de l'Environnement et des Énergies Renouvelables.</p> <p>-Agence Nationale des Déchets (AND).</p> <p>-Agences de Communication et Marketing : DIGITAL NATIVES SARL, MEDIA EXPERT,Sarl.</p> <p>-ANADE (l'Agence nationale d'Appui et de développement de L'entrepreneuriat).</p> <p>-ASF (Algerian Startup Found).</p> <p>-Blue incubator (ENSSMAL).</p>	<p>Production et fabrication.</p> <p>-Installation et Maintenance.</p> <p>-Conseil et Accompagnement</p> <p>-Marketing et Sensibilisation</p> <p>Ressource clés</p> <p>-Ressources humaines : un ingénieur en biotechnologie marine ; un technicien de laboratoire un responsable du marketing et des ventes.</p> <p>-Matière première et consommables.</p> <p>-Equipement de laboratoire.</p> <p>-Equipement de production.</p>	<p>-Technologie innovante en utilisation de bactéries réductrices de chrome immobilisées dans des billes de PVA-alginate de sodium.</p> <p>-Conception modulaire permettant des adaptations selon les besoins des clients.</p> <p>-Facilité d'intégration dans les infrastructures existantes.</p> <p>-Solutions sur mesure avec accompagnement technique.</p> <p>-Réduction efficace des niveaux de chrome, répondant ou dépassant les normes environnementales.</p>	<p>Mise en place d'un programme de fidélisation (BioClear Rewards), Les clients accumulent des points pour chaque achat</p> <ul style="list-style-type: none"> - 100 points : 5% de réduction sur un achat futur. - 250 points : 10% de réduction sur un achat futur. - 500 points : Consultation gratuite pour l'optimisation des systèmes existants. <p>Les membres du programme de fidélité reçoivent un support client prioritaire.</p> <p>Les membres sont les premiers informés et ont accès aux nouvelles technologies et services.</p> <p>Canaux de distribution</p> <p>-Participation à des Salons et Foires Industrielles : BATIMATEX EXPO, SINAA, SIEE Pollutec.</p> <p>-Publicité en Ligne en utilisant Google Ads.</p> <p>-Création d'un site web, et des profils de réseaux sociaux LinkedIn, Twitter pour partager des nouvelles, des études de cas, et des témoignages.</p> <p>-Vente Directe en s'approchant directement des industries cibles.</p> <p>-Vente en ligne sur des Marketplace B to B comme Alibaba.</p>	<p>-Algérienne Des Cuir & Dérivés, Spa, ACED</p> <p>-GIMACS,Sarl</p> <p>-SODRG</p> <p>-ICOSIUMETAL</p>
Structure des Coûts (DA)			Sources de revenus	
<p>Agitateurs Magnétiques</p> <p>Balance de Précision</p> <p>Centrifugeuse</p> <p>Incubateur</p> <p>Réservoir de Mélange</p> <p>Bioréacteur</p> <p>Pompes Péraltiques</p> <p>Colonnes de Biofiltration</p> <p>Equipement de laboratoire</p> <p>Milieux de culture et réactifs</p>	<p>200,000.00</p> <p>150,000.00</p> <p>400,000.00</p> <p>80,000.00</p> <p>70,000.00</p> <p>3,000,000.00</p> <p>300,000.00</p> <p>20,000.00</p> <p>267,661.00</p> <p>768,444.40</p> <p>Totale : 5,256,105.40</p>	<p>-Vente des billes des colonnes e biofiltration associé aux billes.</p> <p>-Vente des billes.</p> <p>-Service d'installation.</p> <p>-Service de personnalisation.</p> <p>-Service de maintenance.</p>		

Résumé

Ce mémoire porte sur l'étude de la résistance aux métaux lourds des bactéries isolées de milieux marins influencés par l'activité humaine, et leur potentiel d'utilisation pour la bioremédiation du chrome hexavalent. Face à l'augmentation de la pollution industrielle et aux limites des méthodes de traitement traditionnelles, la recherche se tourne vers des solutions biologiques plus durables et économiques.

Les travaux ont été menés sur des échantillons prélevés aux embouchures des oueds El Har-rach et El Hamiz, des sites soumis à une forte pression anthropique. Les résultats révèlent une charge microbienne importante et une résistance variable aux métaux lourds entre les sites étudiés qui reste globalement faible. Les bactéries isolées montrent une multirésistance aux métaux lourds et aux antibiotiques, avec une prédominance de bactéries à Gram négatif. L'étude approfondit ensuite le potentiel de bioremédiation du chrome hexavalent de trois souches sélectionnées (*Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), en examinant l'influence de divers paramètres (inoculum, pH et concentration du chrome) sur leur efficacité. Les résultats étaient prometteurs et les souches ont montré leur capacité à éliminer le chrome.

Mots clés : métaux lourds, résistance, bactéries, élimination du chrome, bioprocédé

Abstract

This dissertation looks at the resistance to heavy metals of bacteria isolated from marine environments influenced by human activity, and their potential for use in the bioremediation of hexavalent chromium. Faced with increasing industrial pollution and the limitations of traditional treatment methods, research is turning towards more sustainable and economical biological solutions.

The work was carried out on samples taken from the mouths of the El Harrach and El Hamiz wadis, sites subject to heavy anthropogenic pressure. The results reveal a high microbial load and variable resistance to heavy metals between the sites studied, which remains low overall. The bacteria isolated showed multiple resistance to heavy metals and antibiotics, with a predominance of Gram-negative bacteria. The study then examined the bioremediation potential of hexavalent chromium in three selected strains (*Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), by examining the influence of various parameters (inoculum, pH and chromium concentration) on their effectiveness. The results were promising and the strains demonstrated their ability to eliminate chromium.

Key words : heavy metals, resistance, bacteria, chromium removal, bioprocessing