

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et cellulaire

Département : Biologie

Thème

**Impact Toxicologique d'un biocide "Le Triclosan" sur des micro-organismes
Bio-indicateurs de pollution « La Paramécie ».**

Présenté par :

- Arribi Meryem
- Friane Hadil
- Merah Ismahane

Devant le jury composé de :

Présidente :	Mme. Ayad. H.	MCB	Université de Guelma
Examinatrice :	Mme. Merabet. R	MCA	Université de Guelma
Encadrante :	Mme Benosmane. S	MCB	Université de Guelma

Juin 2023

REMERCIEMENT

Avant tout, On remercie dieu qui nous a donné la patience et la force et la santé pour atteindre nos buts.

Nous sincères remerciements vont à notre encadreur : **Mme Benosmane Sana**, docteur à l'université de Guelma, nous la remercions également pour sa disponibilité, son aide, ses conseils et ses orientations tout au long de cette recherche, qu'il trouve ici toutes nos gratitude.

Notre respect et reconnaissance sont adressés à **Mme Ayad Hayet**, Docteur à l'université de Guelma, qui nous fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Nous tenons à remercier **Mme Merabet Rim**, Docteur à l'université de Guelma, d'avoir accepté d'examiner notre travail, nous vous adressons notre gratitude.

Nous adressons nos rifs remerciements aux ingénieurs de Laboratoires de Biologie d'Université de Guelma : **Ratiba**, pour la gentillesse et comiviale, pour l'aide qu'ils nous ont apportée tout le long de préparation de ce travail.

En est profondément reconnaissantes à toute personne qui nous a aidé de près ou de loin, directement ou indirectement durant ce passage



DEDICACE



Ce dédie ce modeste mémoire à :

Mon père Rafic : La personne que j'aime le plus au monde, celle qui m'a toujours montré le chemin, mon premier maître, la source de mes efforts, et celle qui a veillé sur moi toute ma vie pour m'encourager, Dieu lui accorde longue vie.

MA mère Radia : Mon premier amour, celui qui m'a donné la vie, je te salue pour le sacrifice que tu as fait pour mon éducation et mon bonheur, je t'aime pour la vie.

À ma sœur, mon amie, mon cher Malak ma vie. Votre soutien fait une grande différence dans ma vie.

Mes chers frères, Abdou, Anis et Yassine. Merci d'être dans ma vie et pour votre soutien continu Je t'aime.

Mes grands-parents ghania et toute ma famille.

Tous mes amis(es) sans exception,

Surtout mes bénome Hadil et Ismahan je tiens à vous exprimer ma gratitude pour tous les moments.



Arribi Meryem

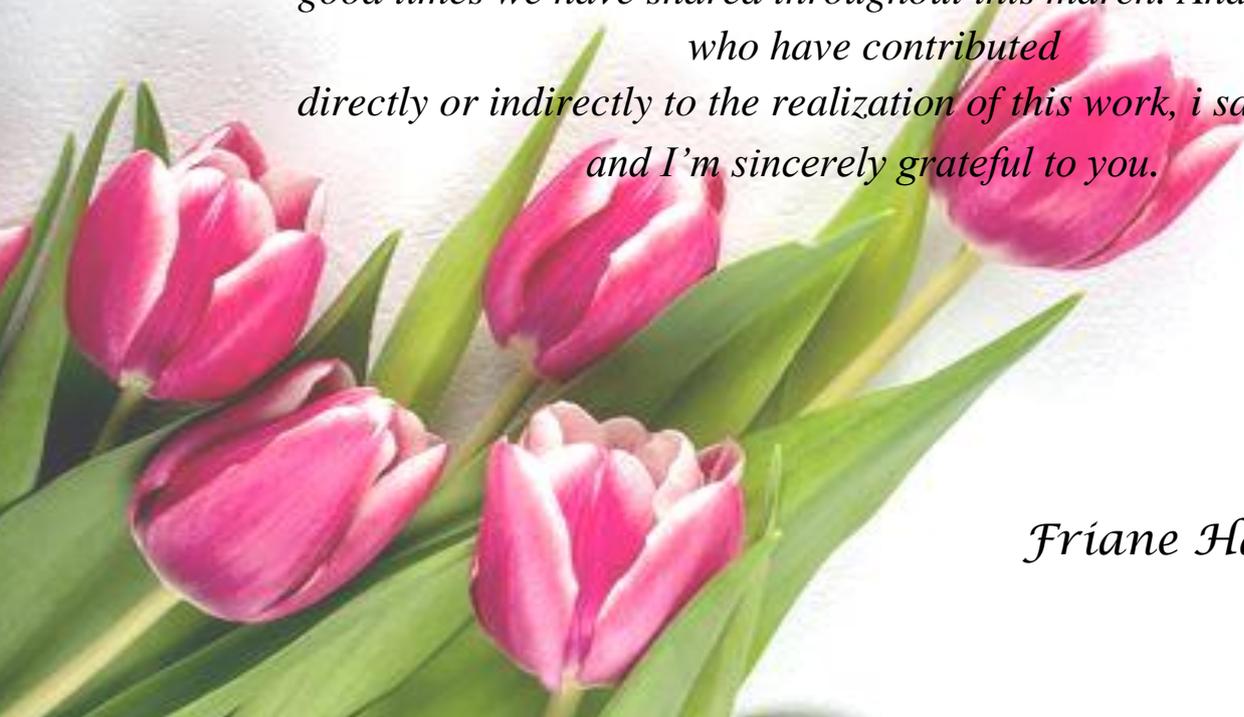


DEDICACE



*First of all i would like to express my pride and deep graduation to myself for my efforts and patience throughout this study march. I dedicate this work for myself, my courageous, ambitious, create and charismatic soul. Secondly and with sincere gratitude, i dedicate this achivement to my family, especially, to : My dear father mister « **FRIANE KAMEL** », my Iron man, my source of comfort, srength and confidence, thank you my hero for your help, sacrifices and everything you have done for me, I'm so proud to be your daughter my mother madam « **DOUAKHA SIHAM** » the golden women, the most beautiful mother in my world, the light of my heart, there are no words strong enough to thank you fot everything you have brought me in terms of encouragement and help. Your generosity will never be forgotten. i love you more than words could ever express it.*

*My brother « **FRIANE MED-AMINE** » to the part of my heart, my hope. I'm deeply grateful to have wonderful brother. To all my family. thanks for everything you gave me. To all my friends especially **Meryem and Ismahan** I would like to express my gratitude for all the good times we have shared throughout this march. And to all those who have contributed directly or indirectly to the realization of this work, i say thank you and I'm sincerely grateful to you.*



Friane Hadil



DEDICACE



En ce jour si spécial, je tiens à exprimer ma gratitude infinie pour votre soutien inconditionnel tout au long de mon parcours d'études. Votre amour, vos encouragements et votre présence ont été les piliers qui ont nourri ma réussite.

À mon père, **Saleh**, ton dévouement et ta persévérance m'ont toujours inspiré. Tu m'as montré l'importance du travail acharné et de la persistance pour atteindre mes objectifs. C'est grâce à toi que je suis devenu la personne que je suis aujourd'hui.

À ma mère, **Samia**, ton amour inconditionnel, ta douceur et ta bienveillance m'ont guidé à chaque étape de ma vie. Tu as été mon roc, ma source d'inspiration et ma confidente. Je te suis infiniment reconnaissant(e) pour tout ce que tu as fait pour moi.

À mon frère **Aymen** et ma sœur **Sajida**, vous avez toujours été mes plus grands supporters. Votre soutien constant et vos encouragements m'ont permis de croire en moi-même et de persévérer même dans les moments difficiles. Je suis fière de vous avoir comme membres de ma famille.

À tous mes amis, mes professeurs et ma famille, **Merah** et **Chenatlia**, votre présence dans ma vie a été un cadeau inestimable. Vos conseils, votre amitié et vos mots d'encouragement ont été des facteurs clés de ma réussite académique. Je ne saurais jamais assez vous remercier pour votre soutien indéfectible.

Que ce modeste témoignage de gratitude vous parvienne comme une marque de ma reconnaissance éternelle. Sans vous, mes proches **Meriem** et **Hadil**, mes amis et mes enseignants, cette réussite ne serait pas possible. Votre confiance en moi et votre amour ont été les moteurs de ma détermination.

Aujourd'hui, je partage avec vous cette victoire. Que notre lien se renforce à jamais et que nous continuions à grandir et à nous soutenir mutuellement dans tous nos projets futurs.

Merci du fond du cœur.



Merah Ismahane

Résumé :

Le triclosan est un insecticide organochloré nocif pour les organismes vivants. Cette étude a été menée pour évaluer sa toxicité à l'aide d'un modèle bio-indicateurs de pollution la paramécie. Ces organismes ont été exposés à différentes concentrations croissantes (1.80, 1.82, 1.84, 1.86, 18.0, 18.2, 18.4 et 18.6 mg/L) du biocide Triclosan pendant 96 heure par rapport à des témoins. Les résultats obtenus montrent que le triclosan provoque la non reproduction et la non croissance. D'autre part, nos résultats ont montré que l'exposition des paramécies au triclosan entraîne une nécrose rapide, d'où son effet antimicrobien. De ce fait, ce biocide est toxique et mortel particulièrement pour des protistes ciliés qui se nourrissent essentiellement de bactéries.

Mot clé : Triclosan, biocide, paramécie, cytotoxicité.

ملخص:

التريكلوسان هو مبيد حشري كلوري عضوي ضار بالكائنات الحية. أجريت هذه الدراسة لتقييم سميتها باستخدام نموذج المؤشر الحيوي لتلوث الباراميسيا. تعرضت هذه الكائنات الحية لتركيزات متزايدة مختلفة (1.80 و 1.82 و 1.84 و 1.86 و 18.0 و 18.2 و 18.4 و 18.6 ملغم / لتر) من المبيد الحيوي للتريكلوسان لمدة 96 ساعة مقارنة بالضوابط. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن التريكلوسان يسبب عدم التكاثر وعدم النمو. من ناحية أخرى، أظهرت نتائجنا أن تعرض الباراميسيس للتريكلوسان يؤدي إلى نخر سريع، وبالتالي تأثيره المضاد للميكروبات. ونتيجة لذلك، فإن هذا المبيد الحيوي سام ومميت خاصة بالنسبة للبروتيين الهديبين الذين يتغذون بشكل رئيسي على البكتيريا.

الكلمة الرئيسية: التريكلوسان، المبيد البيولوجي، الباراميسيوم، السمية الخلوية.

Abstract:

Triclosan is an organochlorine insecticide harmful to living organisms. This study was conducted to assess its toxicity using a bio-indicator model of paramecia pollution. These organisms were exposed to different increasing concentrations (1.80, 1.82, 1.84, 1.86, 18.0, 18.2, 18.4 and 18.6 mg/L) of the Triclosan biocide for 96 hours compared to controls. The results obtained show that triclosan causes non-reproduction and non-growth. On the other hand, our results showed that the exposure of paramecies to triclosan leads to rapid necrosis, hence its antimicrobial effect. As a result, this biocide is toxic and deadly especially for ciliated protists who feed mainly on bacteria.

Key word: Triclosan, biocide, Paramecia, cytotoxicity.

Sommaire

Remerciement	I
Dédicace	II
Resume	V
Sommaire.....	VIII
Liste de figures	X
Liste des tableaux.....	XI
Abreviarion	XII
Introduction générale	1
Chapitre 01: synthèse bibliographique	
I- Agents antimicrobiens (biocides)	4
1-Triclosan : definition, fabrication, marche	4
2-Utilisations du triclosan	4
3-Utilisation dans les produits cosmetiques et d`hygiene	5
4-Consommation du triclosan	5
5 - Proprietes physiques et chimiques	6
6 - Effets endocriniens du triclosan chez l`homme	8
7- Présence du triclosan dans l`environnement	8
8 - Mécanisme de degradation du triclosan	9
8.1- Biodegradation	9
8.2 -Photodegradation	11
9-Mecanisme d`action	13
10- Toxicite du triclosan.....	13
11-Stress oxydatif.....	14
II- Le bio indicateur de pollution	16
1-Rappel sur la paramécie	16
2-Structure de la paramécie et organisation	16
3- Cycle de vie de la paramécie	18
4- Classification de la paramécie	18
5- Locomotion de la paramécie.....	19
6- Nutrition de la paramécie	19
7-Reproduction de la paramécie.....	19
9- Objectif du travail	20

Chapitre 02: matriele et méthodes	
1-Matériel biologique	22
2- Maériel chimique	22
3- Méthodes	23
3.1- Effet du milieu sur la croissance des paramécies	24
3.2 Traitement des paramécies	24
3.3 Croissance cellulaire	26
3.4 Calcul du pourcentage de reponse	26
Chapitre 03: resultats	
1- Incidence du milieu de culture sur la croissance des paramécies	28
2- Effet du triclosan sur la croissance de la paramécie	28
2.1-Effet du triclosan sur la cinetique de croissance cellulaire des paramécies	28
2.2-Calcul du pourcentage de reponse	30
Chapitre 04: discussion et conclusion	
Discussion	34
Conclusion	36
Référeces bibliographiques	37

Liste de figures

Figure 1 : Répartition de l'utilisation du Triclosan par secteur dans l'U.E en 2006	6
Figure2 : Mécanismes de dégradation du triclosan	12
Figure 03 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	15
Figure 04 : Paramécie sous le microscope électrique.....	15
Figure 05 : Structure d'une paramécie sous microscope	16
Figure 06 : Représentation schématique de l'organisation générale des principaux organites de la paramécie.....	17
Figure 07 : Image d'une paramécie sous microscope optique X40	21
Figure 08 : La poudre de Triclosan	22
Figure 09 : Effet des différentes dilutions du milieu sur la croissance des paramécies	27
Figure 10 : Effet des concentrations 18,0 ; 18,2 ; 18,4 et 18,6 mg/L du Triclosan sur la cinétique de croissance des paramécies.....	28
Figure 11 : effet des concentrations 1,8 ; 1,82 ; 1,84 et 1,86 mg/L du Triclosan sur la croissance des paramécies.....	29
Figure 12 : Pourcentage de réponse des paramécies traitées aux concentrations 18,0 ; 18,2 ; 18,4 et 18,6 mg/L de Triclosan.....	30
Figure 13 : Pourcentage de réponse des paramécies traitées aux concentrations 1,8 ; 1,82 ; 1,84 et 1,86 mg/L de Triclosan.....	31

Liste des tableaux

Tableau 1 : principales caractéristiques physico-chimiques.....	7
Tableau 02 : Composition et préparation du milieu de culture	22

Abreviarion :

- PE :** Perturbateurs endocriniens.
- TCS :** Triclosan.
- CSPC :** Comité scientifique des produits de consommation.
- CSSC :** Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs.
- TCDD :** Tétrachlorodibenzodioxine.
- PeCDD :** Pentachlorodibenzodioxine.
- HxCDD :** Hexachlorodibenzodioxine.
- CE50 :** Concentration efficace médiane.
- PCDD :** Dibenzo-p-dioxines polychlorées.
- UV :** Rayons ultraviolets.
- NAD :** Nicotinamide adényl nucléotide.
- ROS :** Réactives oxygène species.
- pH :** Pontentiel hydrogène.
- PR :** Pourcentage de réponse (%).
- Nc :** Nombre des cellules témoins.
- Ne :** Nombre final des cellules traitées.
- µg :** Microgramme.
- L:** Litre.
- Mg :** Milligramme.
- ml :** Millilitre.

A decorative rectangular frame with rounded corners and a double-line border, containing the title text.

Introduction Générale

Introduction Générale

Introduction Générale

Les écosystèmes naturels, qu'ils soient aquatiques ou terrestres, présentent un grand intérêt écologique et constituent la base du développement socio-économique humain. (**Jian et al., 2007**). Cependant, depuis la seconde moitié du XXe siècle, l'environnement est de plus en plus pollué par les activités humaines, et les effets sont immédiatement visibles. Les développements technologiques rapides et les booms industriels massifs ont ajouté de nouvelles dimensions au risque de pollution, et aujourd'hui le nombre de populations exposées aux polluants environnementaux continue de croître. En fait, en plus des plus de 2 millions déjà sur la liste et plus de 100 000 disponibles dans le commerce, le nombre de nouveaux produits chimiques synthétisés chaque année est rejeté dans l'environnement à la fin de leur cycle de vie. (**Murati, 2012**).

Le mot « pollution » existe depuis très longtemps. Elle se définit comme résultant de l'introduction ou de la présence d'un facteur dénaturant et de son action dans un environnement particulier. Le mot « alternative » lui-même a un sens large et inclut tous les facteurs qui provoquent des changements environnementaux. Il peut s'agir de l'introduction de certains produits chimiques nocifs pour certaines ou toutes les espèces, de la modification de certains paramètres physiques comme la température, de l'introduction de vibrations, de rayonnements viraux et bactériens (**Pérès, 1976**). On distingue souvent selon la nature de l'altéragène plusieurs types de pollution : la pollution physique ; la pollution biologique ; la pollution chimique ; la pollution radioactive.

Depuis quelques années, le sujet des perturbateurs endocriniens (PE) est devenu un sujet controversé, avec des avis partagés au niveau de la classe politique, de la communauté scientifique et du grand public. Ces substances sont utilisées dans de nombreux domaines tels que l'alimentation, les cosmétiques, les textiles et les produits chimiques, et se retrouvent dans les plantes, les animaux, l'air, l'eau, le sol et les sédiments. De nombreux articles sur Internet décrivent la présence de PE dans les produits de soins personnels, mais son identification et sa réglementation ne sont pas claires. Ces articles sont principalement basés sur des recherches sur la composition des produits. Près de 40 % produits de santé et de beauté contiennent au moins un perturbateur endocrinien chimique (**Bergman et al., 2013**), qui interfère avec la régulation hormonale, selon des résultats de recherche présentés à Paris vendredi 13 septembre.

Introduction Générale

Menée par l'Institut Notoo en partenariat avec le Réseau Environnement Santé, l'étude porte sur 15 000 produits de beauté et d'hygiène (**Anses, 2011**). Les vernis à ongles (74% contenant au moins un PE) sont préférés aux primers (71%). Produits de maquillage pour les yeux (51%), démaquillants (43%), rouges à lèvres (40%), soins du visage (38%), déodorants (36%), dentifrices (30%), shampoings (24%).

Les PE les plus couramment utilisés dans les produits de soins personnels contiennent des parabènes (23 %) et du cyclopentasiloxane (15 %), tandis que le Triclosan se trouve dans seulement 1,3 produits. » contiennent souvent plus d'une de ces substances, a déclaré le président et fondateur de Notoo, Baptiste Marty, qui appelle les gouvernements à interdire leur utilisation dans les produits du quotidien. [1]

Donc dans ce contexte que nous avons mené notre travail et dont l'objectif général vise à évaluer la toxicité d'un produit chimique le Triclosan à l'égard de bio-indicateur de la pollution la paramécie, Ce manuscrit comporte :

Chapitre numéro 01, comporte une étude bibliographique portant des généralités sur le produit chimique à tester le Triclosan ainsi que sur le modèle biologique utilisé dans la présente étude, La Paramécie.

Chapitre numéro 02, nous présentons la méthodologie et les protocoles des dosages appliqués afin d'évaluer la toxicité du Triclosan. Les résultats obtenus, suivis de leur discussion sont représentés dans le troisième chapitre.

Enfin, notre travail sera clôturé par une conclusion générale et des perspectives.

Chapitre 01

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

I- Agents antimicrobiens (biocides) :

1-Triclosan : Définition, fabrication, marché :

Le 5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol, communément appelé triclosan, est un composé aromatique chloré et un agent antimicrobien et antiseptique synthétique utilisé dans de nombreuses applications industrielles. Par exemple, on le trouve dans les produits de soins personnels tels que le dentifrice, le savon pour les mains, la crème pour la peau, le déodorant, la lotion hydratante et le rince-bouche (**Parent, 2009 ; Bedoux et al., 2012**). Le Triclosan est également utilisé dans les matériaux en contact avec les aliments tels que les planches à découper, les textiles, les chaussures de sport et les sous-vêtements. (**Dann et Hotela, 2011**). Triclosan est un composant des solutions antimicrobiennes utilisées dans les hôpitaux depuis les années 1970 (**Fang et al., 2010**). Leurs propriétés antibactériennes facilitent leur utilisation médicale par les médecins, les infirmières, les patients et les familles pour prévenir la transmission des infections des mains, ce qui est particulièrement dangereux pour les personnes immunodéprimées (**Environmental Défence, 2012**). Depuis les années 1990, le Triclosan est également utilisé comme additif dans les biens de consommation (**Ibid,1990**). En fait, les consommateurs d'Europe, d'Amérique du Nord et d'Australie veulent que leurs maisons et leurs lieux de travail soient « aussi stériles que possible ». Le monde n'était pas seulement possible, il était aussi désirable. (Ibis). Le terme « antibactérien » a apparemment contribué à la prévalence du triclosan dans les produits de consommation (**Ibid,1990**).

2-Utilisations du Triclosan :

Le triclosan entre principalement dans la composition de produits d'hygiène et cosmétiques, notamment les savons, les déodorants et les dentifrices, où il agit comme agent antiseptique et antibactérien. En 2001, le triclosan a été détecté dans 76 savons commerciaux (**Perencevich et al ,2001**). En 2008, il figurait dans plus de 140 catégories de produits de beauté, de soins personnels et d'autres produits antimicrobiens de tous les jours.

Ustensiles de cuisine, jouets, vêtements et tissus. En particulier, il est utilisé dans de nombreux produits ménagers tels que les détergents, est utilisé dans les antiseptiques et les désinfectants dans les établissements médicaux et est parfois incorporé dans des dispositifs médicaux. Veuillez noter que le Triclosan n'est pas approuvé pour une utilisation alimentaire au sein de l'Union européenne. Cependant, il peut être utilisé dans des produits biocides pour

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

l'hygiène vétérinaire. Il entre également dans la composition de produits appelés « Cloxyphenorm », « Irgasan » et « Lexol 300 ».

3-Utilisation dans les produits cosmétiques et d'hygiène :

Le TCS a été répertorié dans la directive européenne sur les cosmétiques (76/768/CEE) en 1986 et est utilisé comme conservateur dans les cosmétiques à des concentrations allant jusqu'à 0,3 %. Le comité scientifique des produits de consommation (CSPC) estime, selon moi, que le maintien de l'utilisation du TCS comme conservateur au niveau maximum de 0,3 % actuellement fixé dans tous les cosmétiques n'est pas sans risque, précise-t-il. Cet avis a été approuvé par le Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs (CSSC). [2-3]

Le CSSC est un produit pour les ongles destinés au nettoyage des ongles des doigts et des orteils avant l'application de formulations pour ongles artificiels jusqu'à une concentration de 0,3 % et de TCS jusqu'à une concentration de 0,2 % en bain de bouche. [2]

Autres utilisations identifiées. Depuis le 30 octobre 2014, le TCS a été classé comme marchandise dangereuse par la Commission européenne et conformément au règlement UE n° 358/2014, le TCS ne peut plus être utilisé dans la fabrication de produits de rasage. [4]

4-Consommation du triclosan :

Le Triclosan peut migrer des matériaux en plastique pour aller contaminer les aliments (Canosa et al., 2008). En raison de sa forte hydrophobicité, il peut s'adsorber aux particules et contaminer les plans d'eau. (Cabana et al., 2007). Selon Huang et al. (2014), en 2008, 78 % du triclosan consommé a été rejeté dans l'environnement.

En 2012, Santé Canada a enregistré environ 1 600 produits de santé personnels contenant du Triclosan (Santé Canada, 2012).

La consommation de triclosan en Chine a plus que triplé en neuf ans, passant de 250 tonnes en 2003 à 810 tonnes en 2012 (Huang et al., 2014).

Selon Huang et al. (2014), en raison du développement socioéconomique, la consommation de triclosan devrait passer de 660 000 kg en 2008 à environ 1 301 000 kg en 2020.

Cela augmentera l'impact environnemental annuel potentiel de 93 % d'ici 2020 par rapport à 2008.



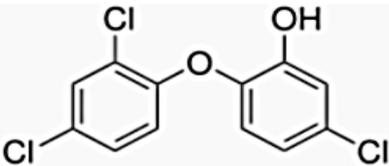
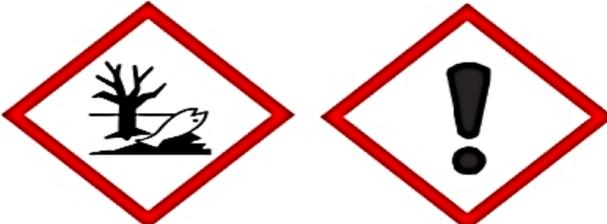
Figure 1 : Répartition de l'utilisation du Triclosan par secteur dans l'U.E en 2006.

5 - Propriétés physiques et chimiques:

Ses principales propriétés chimiques et physiques sont résumées dans le tableau.

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

Tableau 1 : principales caractéristiques physico-chimiques.[4]

Formule brute	C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂
Nomenclature UICPA (Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée)	5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol
Autres noms	2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphényl éther
Catégorie	Produit organique
Sous-Catégorie	Phénol
Formule Semi-développée	
Apparence	Poudre Blanche Cristalline
N° CAS (Chemical Abstracts Service)	3380-34-5
N° EINECS (European Inventory of Existing Commercial chemical Substances)	222-182-2
Masse Molaire	289.54 g/mol
Densité	1.49 g/cm ³
Température de fusion	54 à 57°C (129,2–134,6°F ; 327–330K)
Température d'ébullition	120°C (248°F ; 393K)
Solubilité	Très soluble dans les solutions alcalines et dans de nombreux solvants organiques
Solubilité dans l'eau	10 mg/L à 20°C (68°F ; 293K)
Solubilité différentielle LogP (Log Kow)	4,76
Constante d'acidité pKa	7,9
Identification SGH (Système Général Harmonisé)	 H315 ; H319 ; H400 ; H410
Noms Commerciaux (Liste non exhaustive)	Lexol 300, Irgasan DP 300, Ster-Zac, FAT 80'023, CH 3565, GP41-353, Irgacare MP

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

6 - Effets endocriniens du Triclosan chez l'Homme :

Recherche systématique de la littérature Le triclosan (TCS) est un ingrédient actif antibactérien et antifongique synthétique à large spectre présent dans une variété de produits de soins personnels et industriels, notamment les savons, les déodorants, les shampooings, les dentifrices et les bains de bouche. En tant que perturbateur endocrinien. Les études épidémiologiques sur la thyroïde et la fonction reproductive masculine n'ont pas rapporté d'effets secondaires du TCS, mais restent limitées et inadéquates. Des études *in vitro* suggèrent que ce composé joue un rôle dans l'homéostasie hormonale maternelle et fœtale, la fonction reproductrice féminine, la désintoxication xénobiotique et la perturbation de la stéroïdogénèse. Sa similitude structurelle avec les œstrogènes humains suggère qu'il pourrait influencer la carcinogénèse des tumeurs hormono-dépendantes. Trois mécanismes d'action sont distingués. Troubles du métabolisme hormonal, déplacement des hormones de leurs récepteurs (agonistes ou non), et perturbation de l'activité des enzymes impliquées dans la synthèse des hormones stéroïdiennes.

D'autres études cliniques sont nécessaires pour comprendre les mécanismes sous-jacents, les relations dose-réponse et la durée d'exposition. Cependant, il est également important de ne pas sous-estimer les effets synergiques des perturbateurs endocriniens. (**Marie DURET, 2017**).

7- Présence du triclosan dans l'environnement :

L'utilisation intensive de triclosan dans les produits de soins personnels cause de graves problèmes environnementaux (**Lucia Sanchez-Prado et al., 2008**). Environ 96 % du triclosan se retrouve dans les produits de consommation et est ensuite éliminé dans les usines de traitement des eaux usées. (**Lin et al., 2010**). En fait, les égouts sont la principale voie par laquelle le triclosan pénètre dans l'environnement. (**Kookana et al., 2011**), Cela explique sa présence dans les effluents et les boues des stations d'épuration. (**Cabana et al., 2007**).

Selon **Ying et Kookana (2007)**, la demi-vie du triclosan en laboratoire dans des conditions aérobies est de 18 jours, et cette demi-vie est beaucoup plus longue tout au long de l'expérience de 70 jours dans des conditions à faible teneur en oxygène. Cela pourrait expliquer l'exposition à long terme des organismes au triclosan. Le triclosan étant lipophile, il lie les solides en suspension et s'accumule dans les boues. (Hua et al., 2005). L'utilisation de boues

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

activées dans les stations d'épuration réduit la concentration de triclosan dans les eaux usées après bioaccumulation de Triclosan dans les boues (**Bester, 2005 ; Heidler et Halden, 2007**).

En raison de sa forte hydrophobicité, le Triclosan disparaît dans l'eau par adsorption des particules. Cela signifie que le triclosan a tendance à s'accumuler parmi les organismes aquatiques (**Cabana et al., 2007**).

8 - Mécanisme de dégradation du Triclosan :

Il est connu que le traitement par boues activées dans des conditions aérobies dégrade le triclosan. (**Heidler et Halden, 2007 ; Miller et al., 2008**). Selon **Chen et al. (2011)**, le triclosan est dégradé même dans des conditions anaérobies.

Il a été démontré que le traitement continu des boues activées élimine plus de 90 % du triclosan et en dégrade 97 % (**Stasinakis et al., 2007 ; Wang Et al., 2014**). Cependant, dans une étude de **Lozano et al. (2013)**, la masse de triclosan retirée de la phase liquide lors de l'amorçage était de $6,38 \pm 0,7$ kg/jour et la masse retenue dans les boues était de $5,74 \pm 0,65$ kg. / jours. . Après traitement, la masse excrétée était de $2,76 \pm 0,34$ kg/jour et $2,31 \pm 0,15$ kg/jour restaient dans les boues. Cela signifie qu'environ 100 % du triclosan éliminé de la phase liquide lors du traitement primaire étaient présents dans les boues, et $86,4 \pm 6,2$ % du triclosan étaient encore présents lors de l'élimination lors du traitement secondaire. . En comparant ces résultats, il convient de noter qu'il n'y a pas de dégradation du triclosan lors du traitement primaire, alors qu'il y a une certaine dégradation du triclosan lors du traitement secondaire. (**Lozano et al., 2013**). Dans les mêmes conditions que le traitement par boues activées (**Heidler et Halden, 2007**) 48 ± 19 % de la masse initiale de triclosan dans les stations d'épuration américaines.

Le traitement secondaire l'élimine par divers processus, y compris la biodégradation. La différence entre ces deux études réside principalement dans l'élimination du triclosan par le traitement de première intention (**Heidler et Halden, 2007**).

8.1- Biodégradation :

Plusieurs études ont porté sur la biodégradation du triclosan dans l'environnement et dans les eaux usées (**Kim et al., 2011 ; Lee do et al., 2012 ; Wu et al., 2012**), la biodégradation est l'élimination, la destruction de molécules organiques par des processus physicochimiques

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

(oxydation du permanganate, photolyse, chloration), des transformations enzymatiques (laccases fongiques), et des traitements biologiques (bactéries, champignons).

Tous ces processus sont plus ou moins toxiques, comme la décomposition partielle du triclosan, ou les phénoxyphénols chlorés, les trihalométhanes, voire les dioxines toxiques comme la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzodioxine (TCDD) conduisent à la formation d'éventuels composés., 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzodioxine (PeCDD), 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzodioxine (HxCDD) et formation de composés polymères indésirables à partir d'intermédiaires radicalaires (**Kim et al., 2011 ; Lee do et al., 2012 ; Wu et al., 2012**).

Selon **Roh et al. (2009)**, il a été observé que certaines bactéries nitrifiantes peuvent dégrader le Triclosan, notamment en présence d'enzymes produites par des bactéries oxydant l'ammoniac qui agissent comme catalyseurs de la dégradation du Triclosan dans les stations d'épuration. Le Triclosan est traité dans des stations d'épuration Méthylation biologique.

Dans le traitement des eaux usées, le Triclosan est converti dans des conditions aérobies en méthyltriclosan (Metcs), le principal sous-produit du Triclosan, qui est ensuite rejeté dans le plan d'eau récepteur (**Lozano et al., 2013**). L'étude de **Chen et al., (2011)** récemment montré que le méthyltriclosan est également formé dans des conditions Anoxiques (sans oxygène, et avec présence de nitrates) à des taux bien inférieurs à ceux en conditions aérobies. Notons que le méthyltriclosan n'a pas été formé dans des conditions anaérobies dans les expériences de laboratoire.

Il est également possible que Les bactéries nitrifiantes dans le sol convertissent le triclosan en méthyltriclosan comme Un mécanisme de défense contre la toxicité du triclosan. Selon **Butler et al. (2012)**, ces Résultats devraient être confirmés ou réfutés par une étude plus approfondie. Le Méthyltriclosan est un composé hydrophobe, avec un coefficient de partage octanol-Eau (log K_{ow}) de 5,4 par rapport à 4,76 pour le composé d'origine (**Dann et Hontela, 2011**). Cela signifie que le méthyltriclosan devrait persister davantage dans l'environnement que le triclosan. (Lozano et al., 2013).

Dans le sol, la demi-vie du méthyltriclosan est environ quatre fois plus longue que celle du Triclosan, estimée à 18 jours en conditions aérobies. Par conséquent, le méthyltriclosan peut être dégradé dans l'environnement, ou du moins plus sensible à la photodégradation que son composé d'origine.

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

Les concentrations de méthyltriclosan trouvées dans les échantillons de boues provenant du traitement des eaux usées en Espagne varient d'environ 0,004 à 0,311 mg/kg (poids sec) (**Sanchez-Brunete et al., 2010**) Le méthyltriclosan est toxique pour la vie aquatique (Delorenzo et al., 2008) Capable de s'accumuler dans le corps des poissons (**Leiker et al., 2009**) et les algues (**Coogan et al., 2007**).

8.2 -Photodégradation

Le triclosan, lorsqu'il est suffisamment ionisé, est sensible à la photolyse à un pH supérieur à son pKa. Lorsque l'atome de chlore de H. triclosan est remplacé par un groupe hydroxyle (**Buth et al., 2009**). La dégradation photochimique du triclosan dans les eaux usées entraîne la formation de composés toxiques. **Sanchez-Prado et al., (2006)** ont démontré que la formation de 2,8-dichlorodibenzodioxine (2,8-DCDD) était indépendante de la valeur du pH de l'échantillon, et que la photodégradation du triclosan par le rayonnement UV et la lumière du soleil était plus efficace dans les eaux usées que dans l'eau ultra pure ralentie. Ça mène à l'éducation Identifié par différents photoproduits (**Fig.2**).

Un problème majeur dans la photolyse du triclosan est la formation possible de produits de type dioxine (**Buth et al., 2009**), c'est un puissant perturbateur endocrinien. La photodégradation est un autre processus qui joue un rôle important dans la transformation du triclosan dans les eaux de surface (**Anger et al., 2013**). Conduit à la formation de 2,7/2,8-dibenzodichloro-p-dioxine (**Veetil et al., 2012**). Il a été démontré que le triclosan réagit avec le chlore libre en solution aqueuse pour produire trois dérivés chlorés du triclosan : 4,5-dichloro-2-(2,4 -dichlorophénoxy)phénol (4-Cl-TCS) 2-(2,4- dichlorophénoxy)phénol (6-Cl-TCS) et 4,5,6-trichloro-2-(2,4-dichlorophénoxy)phénol (4,6-Cl-TCS) (**Buth et al., 2009**). Il est clair que le triclosan, comme les autres phénols, réagit avec le chlore libre en présence d'eau pour former d'autres produits tels que les chlorophénols et le chloroforme (**Canosa et al., 2005 ; Buth et al., 2009**).

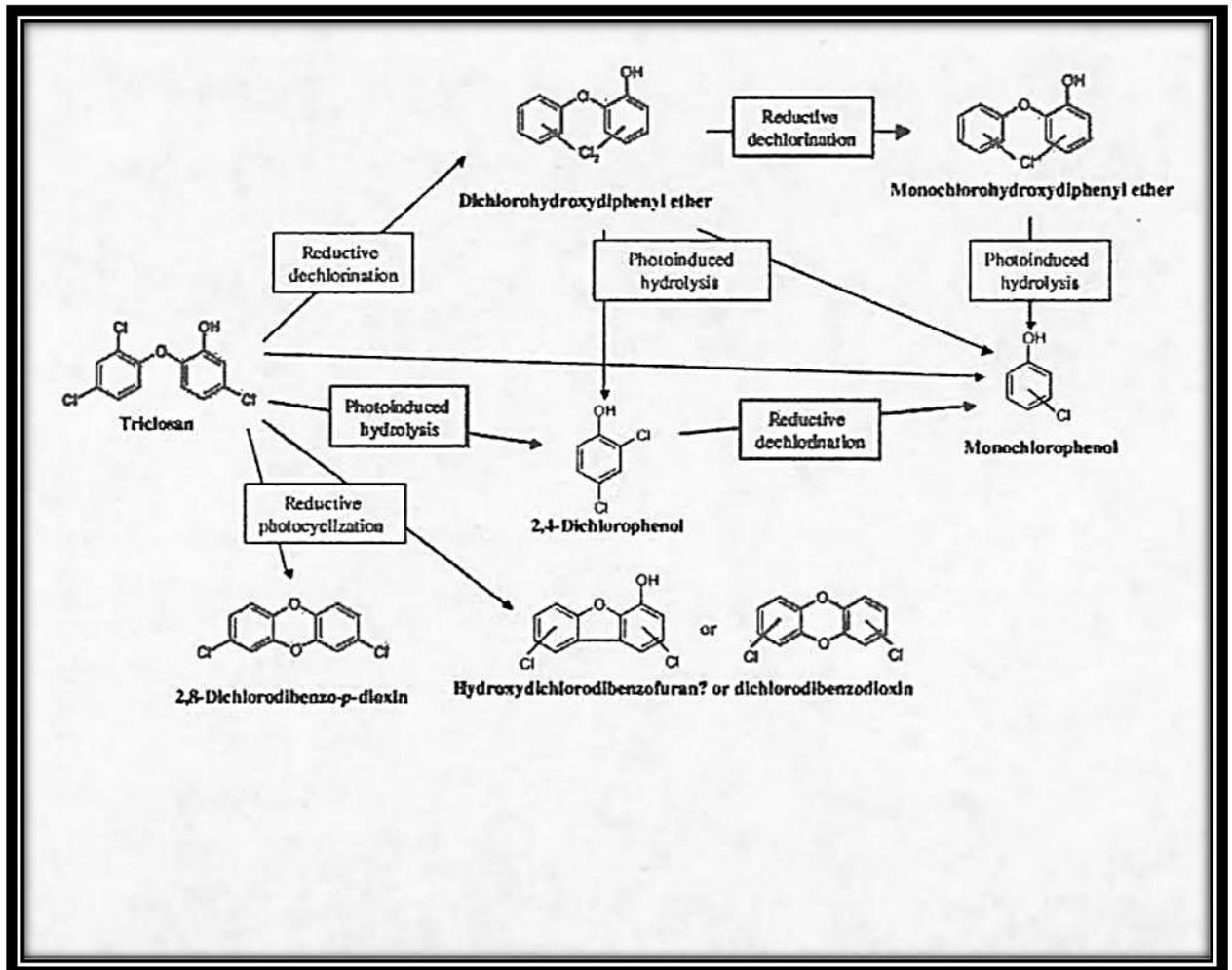


Figure 2 : Mécanismes de dégradation du triclosan (Sanchez-Prado *et al.*, 2006)

Les phénoxyphénols polychlorés sont convertis photochimiquement en dibenzo-p-dioxines polychlorées (PCDD) dans une réaction de substitution photochimique intramoléculaire. Le PCDD fait partie des congénères des dioxines et est dix fois plus toxique que le 2,8 PCDD (Freeman *et al.*, 1986, Buth *et al.*, 2009).

Cette réaction révèle que la 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxine est produite à la suite de l'irradiation du triclosan dans des eaux naturelles pures avec des rayons ultraviolets (UV) artificiels et un rayonnement solaire (Aranami et Readman, 2007). Lorsque le triclosan pénètre dans les eaux naturelles par les eaux usées, il peut absorber l'énergie solaire et se photodégrader, produisant plusieurs produits de conversion toxiques. À la fin de l'été et au début de l'automne, le triclosan est dégradé photochimiquement à une distance de 80 microsecondes du lac Greifen, en Suisse (Tixier *et al.*, 2002, Buth *et al.*, 2009). En termes d'impacts potentiels, cela signifie que de faibles niveaux de triclosan dans les réseaux trophiques peuvent causer des dommages aux écosystèmes aquatiques (Oliveira *et al.*, 2009).

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

9-Mécanisme d'action :

En tant qu'antiseptique à large spectre, le Triclosan présente des effets bactéricides et bactériostatiques, selon la concentration appliquée [5]. Deux principaux mécanismes d'action du triclosan ont été suggérés pour inhiber la croissance bactérienne. Premièrement, le triclosan pénètre dans la membrane bactérienne et provoque sa décomposition. Le deuxième mécanisme d'action est plus complexe. Le triclosan se lie aux bactéries. Groupe ENR d'origine bactérienne (acyl réductases avec des protéines énoyl acyl). Cette liaison a pour effet d'augmenter l'affinité pour le nicotinamide adényl nucléotide (NAD). Un complexe ternaire de NAD-ENR-triclosan est alors formé. Étant donné que ce complexe ne peut pas participer à la synthèse des acides gras, les membranes cellulaires bactériennes ne peuvent pas s'assembler et se développer. Interactions entre le TCS et les bactéries. À des concentrations plus élevées, le TCS agit plus tôt et affecte tous les stades de croissance. De plus, des différences significatives de mortalité ont également été observées (Escalada et al., 2005).

Cette mortalité peut s'expliquer en partie par l'inhibition de voies métaboliques et synthétiques clés (McMurry et al., 1998). En fait, le TCS bloque la synthèse des acides gras en inhibant l'enzyme énoyl réductase (McMurry et al., 1998). Néanmoins, selon (Villalain et al., 2001), la létalité induite par le TCS ne peut être expliquée par le blocage de la voie de synthèse des acides gras seul, ni par des lésions bactériennes de la membrane. L'effet membranaire du TCS entraîne une déstabilisation de la structure membranaire et l'intégrité fonctionnelle de la membrane bactérienne est endommagée sans qu'une lyse bactérienne ne se produise (Guillen et al., 2004 ; Villalain et al., 2001).

10- Toxicité du triclosan :

Le triclosan peut pénétrer dans l'organisme à travers la barrière cutanée (Moss et al., 2000). Aux États-Unis, le triclosan a été détecté dans 75 % des échantillons d'urine testés (Calafat et al., 2003-2004). Il est également présent dans le lait maternel et peut traverser le placenta. Il peut également être détecté dans le sang de cordon (Shekhar et al., 2017). La plupart des expositions humaines se produisent par l'application de produits cosmétiques (tels que des lotions, des savons et des dentifrices) sur la peau. Il existe également une exposition à des aliments et à de l'eau contaminés.

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

11-stress oxydatif :

Ces dernières années, le monde de la biologie et de la médecine a été envahi par le nouveau concept de « stress oxydatif », ou maladie (**Favier, 2003**).

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la capacité de défense antioxydante de l'organisme. Bien que les ROS soient toxiques pour les cellules, elles sont également essentielles car elles sont impliquées dans la régulation de divers processus physiologiques, dont la signalisation cellulaire. Les ROS générés localement et de manière transitoire produisent des modifications protéiques qui conduisent à la phosphorylation ou à la déphosphorylation et agissent comme des activateurs ou des inhibiteurs des voies de signalisation. De grandes quantités de ROS produites en continu provoquent un véritable stress oxydatif avec des modifications irréversibles des lipides, des protéines et des acides nucléiques. On pense que le stress oxydatif joue un rôle dans la physiopathologie de nombreuses maladies, en particulier les cancers avec élimination défectueuse des cellules cancéreuses, les maladies vasculaires impliquant des lésions de la paroi vasculaire et les maladies inflammatoires. En effet, les ROS jouent un rôle actif dans la défense. De plus, on pense que les dommages moléculaires et cellulaires causés par les ROS contribuent aux signes du vieillissement. De nombreux auteurs proposent de mesurer des marqueurs du stress oxydatif, c'est-à-dire des produits moléculaires altérés par ces attaques oxydatives plutôt que les attaquants directs, volatils et très difficiles à mesurer. Il semblait donc intéressant d'estimer la capacité antioxydante de l'organisme en mesurant l'activité des enzymes protectrices et en dosant les vitamines antioxydantes dans le sang (**Bonnefont-Rousselot et al. 2003**).

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et la capacité de défense antioxydante de l'organisme.

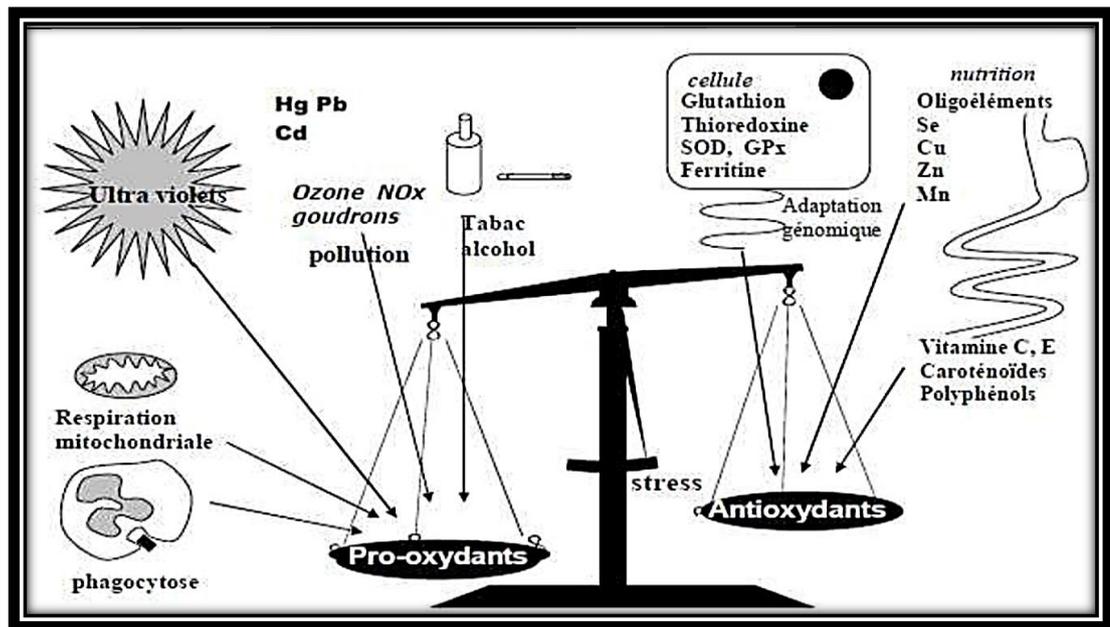


Figure 03 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants. (Favier, 2006).

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

II- Le bio indicateur de pollution :

Par définition, un indicateur biologique est une espèce vivante dont la présence produit son effet. L'absence ou la rareté permet d'apprécier la qualité de l'environnement. C'est le principe des « bioindicateurs quantitatifs » basés sur le fait que les organismes marins sont concentrés. Relation avec la concentration de contaminants, en particulier les métaux lourds Au milieu. (Bergasa, 2009).

1-Rappel sur la paramécie :

La paramécie a été l'un des premiers protozoaires observés au microscope. Depuis, sa facilité de culture, sa taille (longueur moyenne 120 μm , largeur 48 μm) et l'observation aisée de ses diverses fonctions cellulaires en ont fait un modèle de recherche privilégié des biologistes cellulaires.

Il est abondant dans les étangs d'eau douce et appartient au groupe des protozoaires. La plupart d'entre eux sont microscopiques et plus de 80 000 espèces différentes ont été identifiées (Samworth et Morgan, 2000).

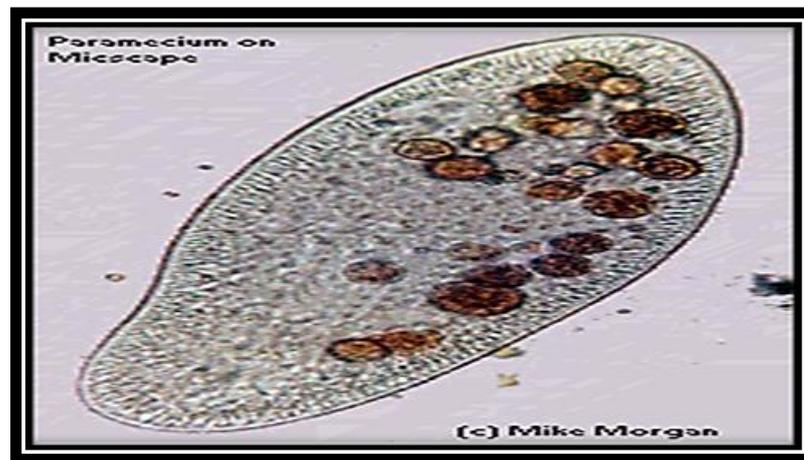


Figure 04 : Paramécie sous le microscope électrique. (Samworth et Morgan, 2000)

2-Structure de la paramécie et organisation :

C'est une cellule unique en forme de fuseau, quatre fois plus longue que large, avec une partie centrale renflée. Les deux extrémités de la paramécie sont morphologiquement distinctes, avec une extrémité antérieure émoussée et arrondie et une extrémité postérieure conique.

Tout le corps est uniformément recouvert de cils, la Paramécie est un Cilié holotriche, Le battement des cils assure le transport des particules alimentaires jusqu'au pharynx cellulaire

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

(bouche) au fond d'une sorte d'entonnoir. Ce sont des prédateurs qui mangent d'autres microbes, principalement des bactéries. (**Beaumont et Cassier, 1998**).

Les cellules vivent dans un milieu hypotonique par rapport à leur cytoplasme et absorbent constamment l'eau de leur environnement par osmose. L'excès d'eau dans le cytoplasme est évacué via des vacuoles pulsatiles, où le cytoplasme se contracte périodiquement pour forcer l'eau hors de la membrane plasmique.

Le matériel génétique est divisé en deux noyaux différents : un de grande taille, le macronucléus, et un de petite taille, le micronucleus. (**Génoscope, 2007**).

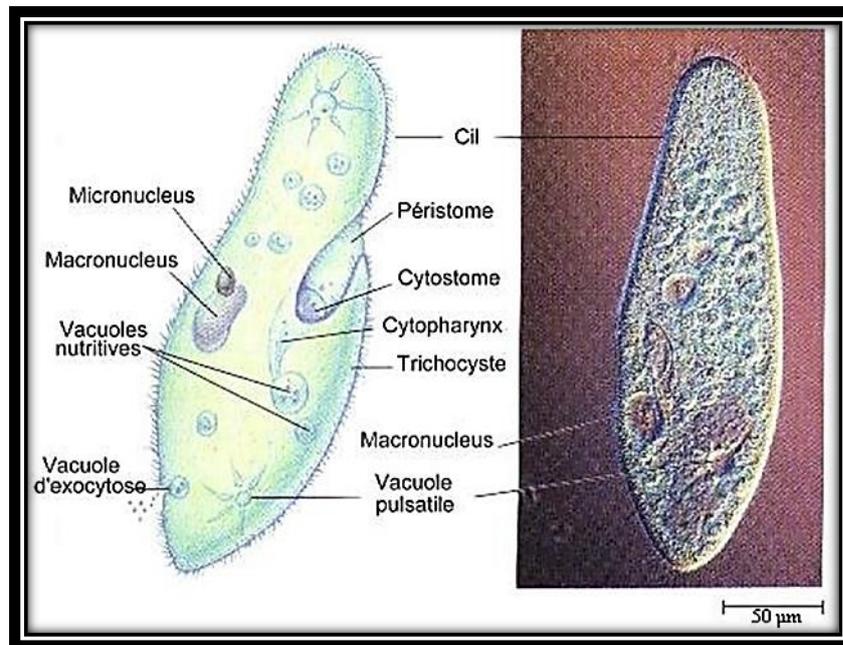


Figure 05 : Structure d'une paramecie sous microscope (**Génoscope, 2007**).

Cils vibratoires : cils minuscules entourant la paramecie et lui permettant de se déplacer.

Vacuole contractile : cavité de la paramecie capable de se contracter.

Vacuole digestive : cavité de la paramecie responsable de la digestion.

Petit noyau : un des organites centraux moins importants de la paramecie.

Gouttière orale : canal de la paramecie responsable d'aspirer les nutriments.

Pharynx : cavité du pharynx.

Ectoplasme : partie superficielle vitreuse de la paramecie.

Endoplasme : partie centrale de paramecie.

Gros noyau : organite central le plus important de la paramecie.

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

Canal de la vacuole contractile : ramification de la cavité contractile de la paramécie.

Trichocyste : racine du cil vibratile de la paramécie.

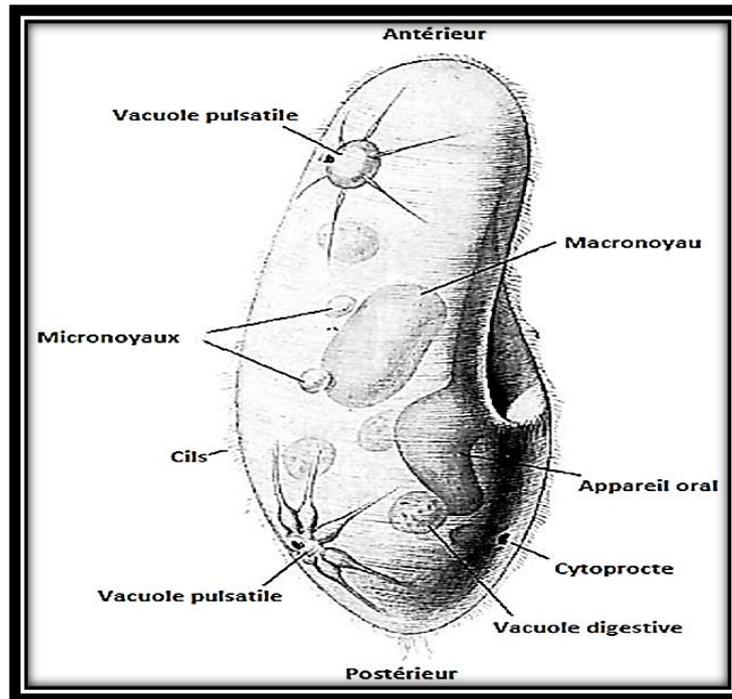


Figure 06 : Représentation schématique de l'organisation générale des principaux organites de la paramécie (Bengueddach, 2016).

3- Cycle de vie de la paramécie :

- Deux paramécie de types sexuels différents entrent en contact.
- Les paramécies s'échangent un de leur micro-noyau.
- Les deux paramécies entament la conjugaison le macro-noyau se fragment, chaque micro-noyau donne 4gamètes.
- Noyau zygotique issu de la fusion de micro-noyau provenant des paramécies différentes.
- La paramécie se divise donnant naissance à deux cellules filles, donc le génome est issu des deux parent (Bétermier, 2010).

4- Classification de la paramécie :

D'après Müller, 1773 (Cudmore et al, 1977), les paramécies appartiennent au :

Règne : Protista.

Embranchement : Ciliophora.

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

Classe : Oligohymenophora.

Ordre : Peniculida.

Famille : Parameciidae.

Genre : Paramecium.

Paramecium caudatum, est l'espèce la plus connue, de plus elle est largement utilisée comme matériel de recherche (**Beaumont et Cassier, 1998**).

5- Locomotion de la paramécie :

La surface externe de la cellule est recouverte de centaines de minuscules structures ressemblant à des cheveux appelées cils. Ceux-ci agissent comme des rames microscopiques qui se poussent dans l'eau et permettent à l'organisme de nager. La vitesse de déplacement est d'environ 4 fois sa propre longueur par seconde. Elle se déplace si rapidement que les microscopistes doivent ajouter un épaississant à l'eau pour la ralentir et l'examiner.

Au fur et à mesure qu'elle se déplace dans l'eau, elle tourne sur son propre axe, collectant de petites particules de saleté et de nourriture et les balayant dans l'œsophage. Nagez à reculons et changez d'angle pour suivre une trajectoire légèrement différente. (**Samworth et Morgan, 2000**).

6- Nutrition de la paramécie :

Paramécie a un régime holographique et est un nourrisseur sélectif. Ils mangent des bactéries, des petits protozoaires, des algues unicellulaires, des diatomées, etc. Une paramécie peut manger entre 2 et 5 millions de bactéries en 24 heures. [6]

Il ne peut absorber les nutriments qu'au niveau de la bouche cellulaire. Les cils dans les rides des joues créent des courants d'eau qui transportent les organismes alimentaires vers la bouche cellulaire, où ils sont absorbés par les vacuoles alimentaires. Ce phagosome suit une voie spécifique à travers le cytoplasme. Au cours de son mouvement, des enzymes sont sécrétées dans les vacuoles et les aliments sont digérés. Le matériel digéré est incorporé dans le cytoplasme et le matériel non digéré est expulsé par les pores anaux. [7]

7-Reproduction de la paramécie :

La paramécie a deux modes de reproduction : la division simple et la conjugaison.

Chapitre 01 : synthèse Bibliographique

- la division :

Dans des conditions favorables, les cellules se divisent en deux parties par un processus appelé fission binaire. Il en résulte la formation de deux nouvelles cellules, dont chacune forme rapidement toutes les nouvelles structures dont elle a besoin et grossit. Tout ce processus a lieu deux à trois fois par jour si les conditions sont réunies.

- la conjugaison :

C'est une méthode plus compliquée. Ce sont deux cellules qui se rejoignent pour échanger du matériau central. Les deux cellules se séparent alors et continuent à se multiplier par simple division. Il est quelque peu similaire à la reproduction sexuée chez des animaux plus complexes. (Samworth et Morgan, 2000).

8- Le choix de la paramécie comme modèle biologique dans les études toxicologiques :

La paramécie est un excellent bioindicateur et est donc utilisée dans les études écotoxicologiques et toxicologiques.

- En raison de la facilité de sa culture et de son faible coût.
- Les cils Paramécium ont la même structure que les cils trachéaux.
- Permet l'étude du mécanisme d'action des xénobiotiques au niveau cellulaire et subcellulaire (Rouabhi et Bazouzi, 2012).

9- Objectif du travail :

C'est à partir de ces éléments bibliographiques que c'est construite notre problématique, celle-ci consiste à développer et à analyser de nombreux aspects liés à la toxicité du Triclosan Le 5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol, sur des paramécies (protistes ciliés).

Chapitre 02

Matériel et Méthodes

Chapitre 02 : Matériel et Méthodes

1-Matériel biologique :

Nous avons utilisé une culture pure de *Paramecium*, un organisme unicellulaire microscopique et l'un des modèles les plus répandus en protozoologie expérimentale (Fokin, 1997). Selon Beale et Preer (2008), *Paramecium* a été l'un des premiers organismes unicellulaires observés au microscope. Son corps est allongé et uniformément couvert de cils. Ce protiste est un excellent modèle pour les études biologiques et toxicologiques.



Figure 07 : Image d'une paramécie sous microscope optique X40. (Boubidi et Zebila, 2019)

2- Matériel chimique :

Le triclosan est un antibactérien ou biocide, un composé chimique qui peut simultanément altérer les cellules bactériennes de plusieurs manières, dont certaines dépendent de la concentration du biocide. (Maillard, 2005).

Le TCS est utilisé depuis 40 ans comme conservateur, désinfectant ou agent de conservation dans de nombreux produits de consommation tels que les cosmétiques, les matières plastiques et les jouets, ect. (Andersen ,2008 ; Eriksson et al., 2008 ; Soni et al., 2005).



Figure 08 : La poudre de Triclosan.

3- Méthodes :

Préparation de la culture de paramécie :

- **Culture mixte :**

Coupez le foin en petits morceaux et faites-le tremper dans un récipient d'eau.

La préparation est conservée dans un endroit chaud, sombre et bien aéré. 4-5 jours plus tard

, on observe au microscope optique les paramécies et sans coloration, dont ces derniers se nourrissent au dépend du voile bactérien -Culture (pH = 6,5) et incuber dans une étuve à une température de 30°C (voir Tableau 02). La culture des paramécies a été effectuée selon la méthode de **Beaumont et Cassier (1998)**.

Tableau 02 : Composition et préparation du milieu de culture (**Azzouz et al., 2011**).

Composants	foin	laitue	Pomme de terre	Blé	amande	Peau de concombre	Levure
Quantité (g)	7.5	10	5	7.5	2	5	pincée

- **Préparation :**

La mixture est bouillie dans 1,5 litre d'eau distillée pendant 20 minutes.

La préparation est filtrée, stérilisée par ébullition dans un flacon thermorésistant semi ouvert puis conservée à l'abri de la lumière.

Chapitre 02 : Matériel et Méthodes

3.1- Effet du milieu sur la croissance des paramécies :

Diverses dilutions du milieu ont été réalisées pour obtenir une bonne croissance des cultures de paramécies (Azouz *et al.*, 2011).



<u>Tube 1</u>	<u>Tube 2</u>	<u>Tube 3</u>	<u>Tube 4</u>	<u>Tube 5</u>
6ml (1)	4ml (1)	5ml (1)	7ml (1)	3ml (1)
4ml (2)	6ml (2)	5ml (2)	3ml (2)	7ml (2)

(1) : Eau distillée.

(2) : milieu de culture

On ajoute 10 μ l de paramécie dans tous les tubes, Le nombre de répétition est de l'ordre de 3.

On suit la croissance dans les différentes dilutions pendant une semaine et on choisit pour notre étude la dilution qui donne la meilleure croissance.

3.2 Traitement des paramécies :

Le type de toxicité qui nous permet d'obtenir une réponse biologique en un temps assez court est la toxicité sublétales qui est nécessaire pour la compréhension des effets toxiques autres que létaux puisque ce sont ces effets qui s'expriment le plus souvent dans les situations réelles de pollution environnementale (Benosmane, 2015).

A partir de la poudre du Triclosan, nous avons préparé une solution mère de 18.6 mg de TCS dans un litre d'Acétone 2 %, puis nous avons choisie une batterie des concentrations (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7 et C8) correspondant respectivement à (1.80, 1.82, 1.84, 1.86, 18.0, 18.2, 18.4 et 18.6 mg/l) et un échantillon témoin (T) ainsi qu'un échantillon témoin Acétone.

Chapitre 02 : Matériel et Méthodes

Ces concentrations sont déterminées à partir d'une CE50= $184.7 \mu\text{g/L}$ d'un essai de test de toxicité aiguë chez *Ceriodaphnia sp.* (Orvos et al., 2002 et Consortium, 2002).

Nous avons fait deux tests, les tests sont réalisés dans des tubes à essais de 10 ml selon le protocole suivant :

Test 01 : Nous avons commencer par les 4 plus fortes concentrations (C5 = 18.0mg/L, C6=18.2mg/L, C7=18.4mg/l et C8=18.6mg/L).



Témoin témoin Acétone C5 C6 C7 C8

Les tests sont répétés 3 fois.

Test 02 : Dans le second test les concentrations choisies sont (C1=1,80mg/l, C2=1,82mg/L, C3=1.84mg/L et C4=1.86mg/L).



Témoin témoin Acétone C1 C2 C3 C4

Les tests sont répétés 3 fois.

3.3 Croissance cellulaire :

La cinétique de croissance des paramécies est réalisée par comptage cellulaire journalier après fixation au Lugol à 1%. L'opération est effectuée sous microscope optique au grossissement x 40 (**Azzouz, 2012**), pendant une semaine. On détermine le nombre des paramécies par le comptage des cellules présentes dans 1ml de la culture, selon les étapes suivantes :

On prélève des gouttes de 10 µl de chaque échantillon et on la dispose sur une lame. On réalise le comptage des cellules sous microscope optique.

Le nombre des cellules vivantes correspond à la moyenne obtenue des trois répétitions.

Nous avons appliqué ce processus dans les deux tests (test 1 et test 2).

3.4 Calcul du pourcentage de réponse :

C'est un calcul qui évalue la réponse du protiste vis-à-vis de la molécule testée. Les valeurs positives indiquent une inhibition de la croissance alors que celles négatives indiquent une stimulation de la croissance (**Wong et al., 1999**). Il est basé sur l'équation suivante :

$$\text{PR (\%)} = (\text{Nc} - \text{Ne}) / \text{Nc} \times 100$$

Où : PR : Pourcentage de réponse (%).

Nc : Nombre des cellules témoins ; Ne : Nombre final des cellules traitées.

Chapitre 03

Résultats

1- Incidence du milieu de culture sur la croissance des paramécies

La croissance des paramécies a été suivie dans les différentes dilutions pendant une semaine et on choisit pour notre étude la dilution qui donne la meilleure croissance. Les résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

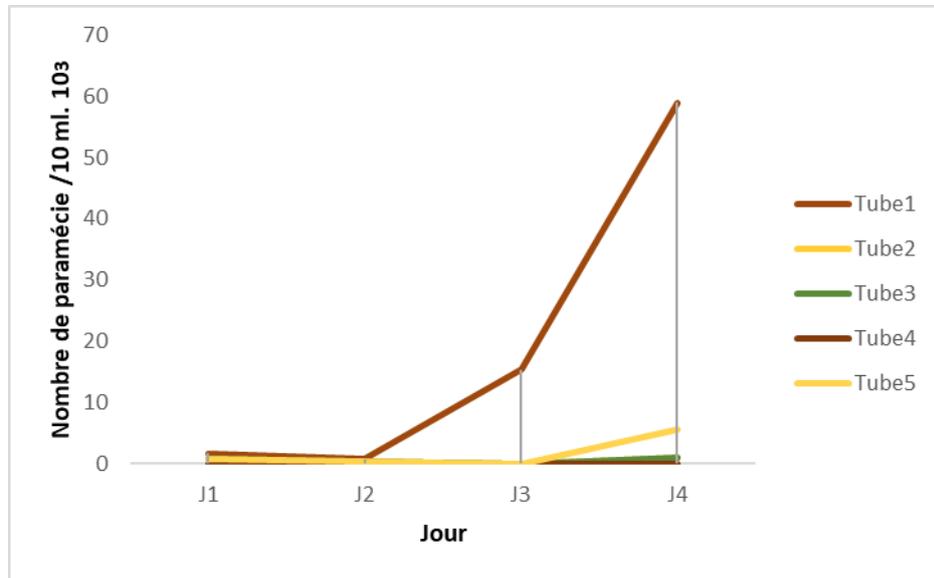


Figure 09 : Effet des différentes dilutions du milieu sur la croissance des paramécies

Selon les résultats obtenus la dilution qui donne la meilleure croissance est celle du tube 1 (contenant 6ml eau distillée et 4ml milieu de culture).

2- Effet du Triclosan sur la croissance de la paramécie :

2.1-Effet du Triclosan sur la cinétique de croissance cellulaire des paramécies :

Test 01 :

La figure ci-dessous représente l'effet de fortes concentrations croissantes du Triclosan sur la cinétique de croissance des paramécies, en fonction du temps (pendant une semaine).

Nos résultats montrent une cinétique de croissance normale chez les cellules témoins et témoins acétone, avec une stimulation de la croissance à partir des 24 premières heures pour atteindre une phase exponentielle le quatrième jour où nous enregistrons un nombre maximal des paramécies qui est de l'ordre de 70500 (paramécies/10 ml).

Parallèlement, nous constatons une diminution dose-dépendante du nombre de cellules traitées par rapport à celles des témoins et témoins acétone dans les 24 premières heures d'exposition

Chapitre 03 : résultats

au Triclosan. En effet aux 24 heures le nombre de cellules témoins et témoins acétone est d'environ 20000 paramécies/10 ml. Nous enregistrons un pic au même jour chez les traités par les concentrations 18,0 ; 18,2 ; 18,4 et 18,6 mg/L pour atteindre respectivement des valeurs atteignant respectivement 3600/ 1600/ 1300 et 300 (paramécies/10ml).

Une diminution du nombre de cellules est enregistré dans tous les traités dès le début du 2^{ème} jour de traitement, jusqu'à ce qu'elles meurent à partir de 48^{ème} heures d'exposition au TCS.

Nous nous sommes arrêtés au 4^{ème} jour de traitement pour la réalisation d'un second test.

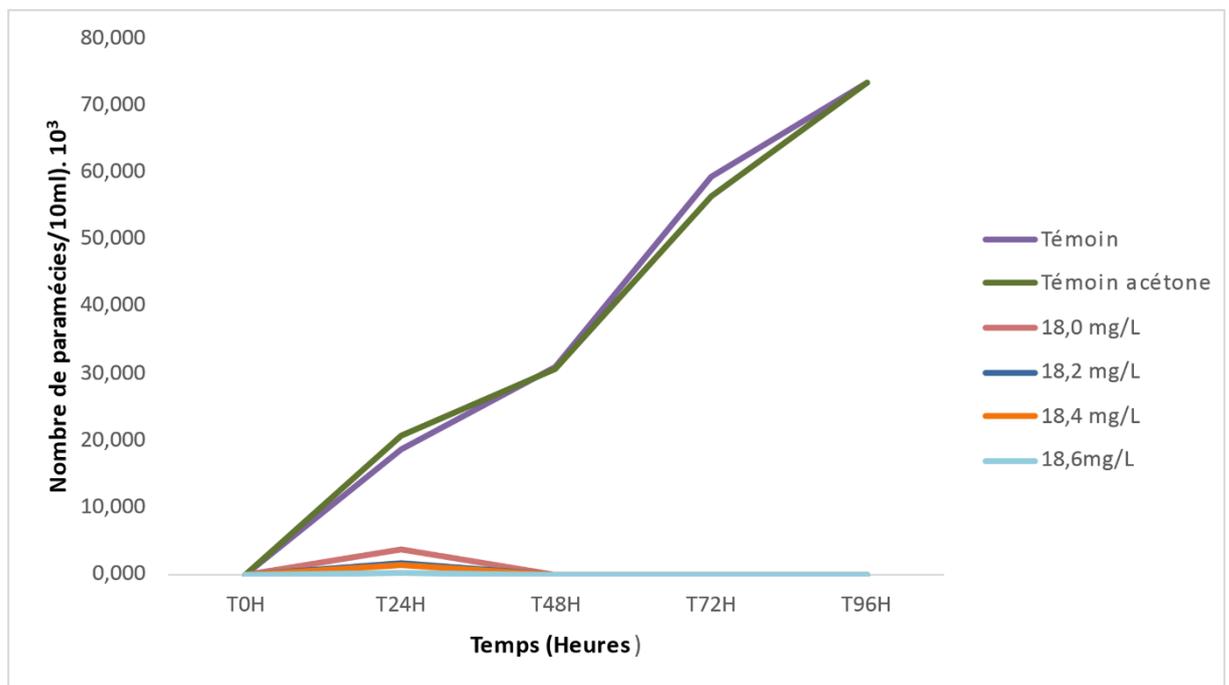


Figure 10 : Effet des concentrations 18,0 ; 18,2 ; 18,4 et 18,6 mg/L du Triclosan sur la cinétique de croissance des paramécies.

Test 02:

La figure représente l'effet de secondes concentrations croissantes du Triclosan sur la cinétique de croissance des paramécies, en fonction du temps.

Nos résultats montrent une cinétique de croissance normale chez les cellules témoins et témoins acétone, avec une phase exponentielle dès les premières heures jusqu'au quatrième

Chapitre 03 : résultats

jour où nous avons enregistré un nombre maximal de cellules 70000 paramécies /10ml. Parallèlement, aux 24 heures d'exposition au TCS nous constatons un faible nombre de paramécies qui est dose-dépendant du TCS par rapport à celles des témoins et témoins acétone. La valeur la plus haute est enregistré chez les traités par la plus faible concentration 1,82 mg/L (96000 paramécies/10ml) tandis que chez traités par les concentrations 1,84 et 1,86 mg/L, nous enregistrons un pic à ce jour pour atteindre respectivement, des valeurs d'environ 4300/ 3600 et 1300 paramécies/10ml.

Au 2^{ème} jour, le nombre de cellules traitées diminue de manière dose-dépendante jusqu'à ce qu'elles meurent après 48 heures chez les traités par les cocentrations 1,84 et 1,86 mg/L et après 96 heures chez la plus faible concentration qui est de 1,8 mg/L.

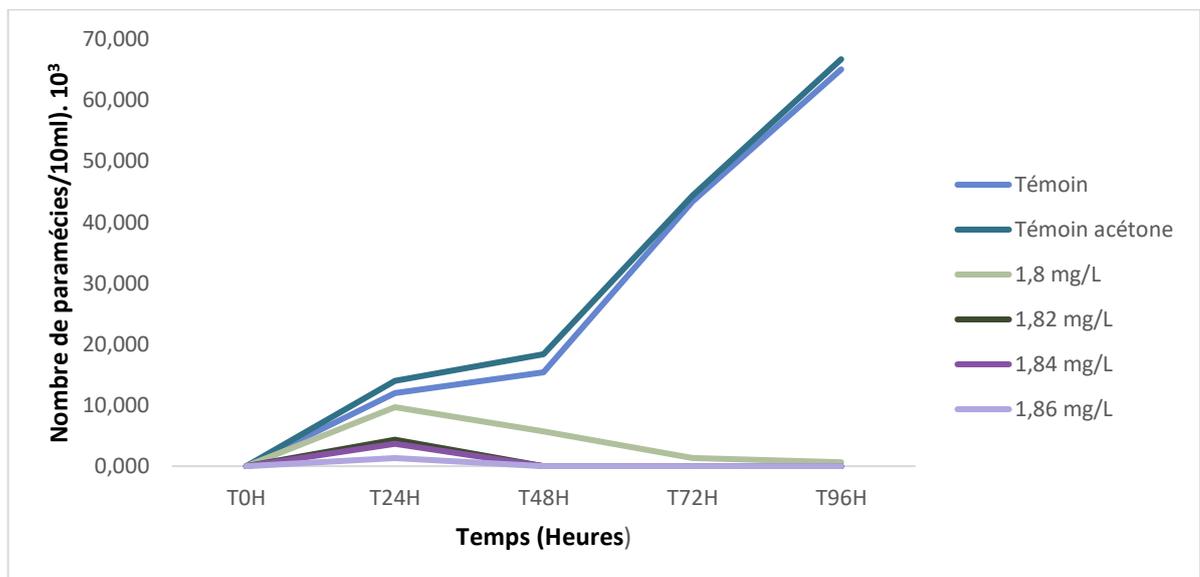


Figure 11 : effet des concentrations 1,8 ; 1,82 ; 1,84 et 1,86 mg/L du Triclosan sur la croissance des paramécies.

2.2-Calcul du pourcentage de réponse :

Test 01 :

Le pourcentage de réponse permet d'évaluer les effets du Triclosan sur la viabilité des paramécies et confirmer ainsi les résultats obtenus avec la cinétique de croissance du protiste.

La figure 12 montre le pourcentage de réponse des paramécies traitées par les plus fortes concentrations de Triclosan de notre étude (18,0 ; 18,2 ; 18,4 et 18,6 mg/L).

Nous constatons que le pourcentage de réponse est positif pour toutes les concentrations testées, indiquant une inhibition de la croissance chez les cellules traitées par le Triclosan.

Chapitre 03 : résultats

Au 24 premières heures cette inhibition est dose-dépendante et est de 80%, 91%, 93% et 98% pour les concentrations (18,0 ; 18,2 ; 18,4 et 18,6 mg/L).

Au 48, 72, 96 heures cette inhibition est totale (100%) indiquant la mort cellulaire dans tous les échantillons traités.

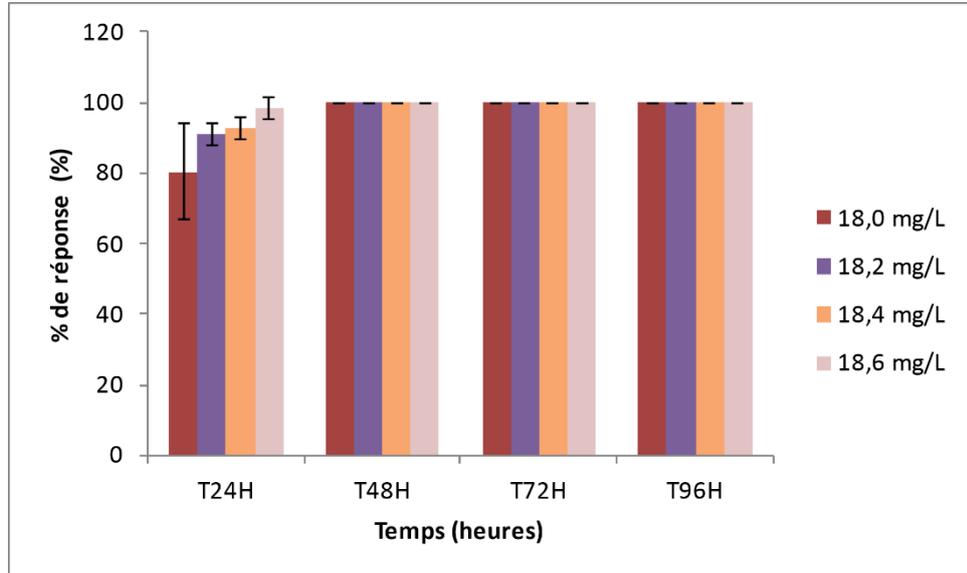


Figure 12 : Pourcentage de réponse des paramécies traitées aux concentrations 18,0 ; 18,2 ; 18,4 et 18,6 mg/L de Triclosan.

Test 02 :

La figure 13 montre le pourcentage de réponse des paramécies traitées par les concentrations 1,8 ; 1,82 ; 1,84 et 1,86 mg/L du Triclosan.

Nous constatons que le pourcentage de réponse est positif pour toutes les concentrations testées, indiquant une inhibition de la croissance chez les cellules traitées par le Triclosan.

Au 24 heures, l'inhibition est dose-dépendante (31%, 69 %, 74%et 90%) chez les traités par les différentes concentrations (1,8/ 1,82/ 1,84et 1,86 mg/L).

Pour la plus faible concentration 1,8 mg/L l'inhibition est de l'ordre de 69 % et 97% aux 48 et 72 heures respectivement pour atteindre un taux de 99% à la fin du traitement. Tandis qu'à partir du 2^{ème} jour l'inhibition est totale pour les concentrations (1,82/ 1,84 et 1,86 mg/L) indiquant la mort cellulaire totale.

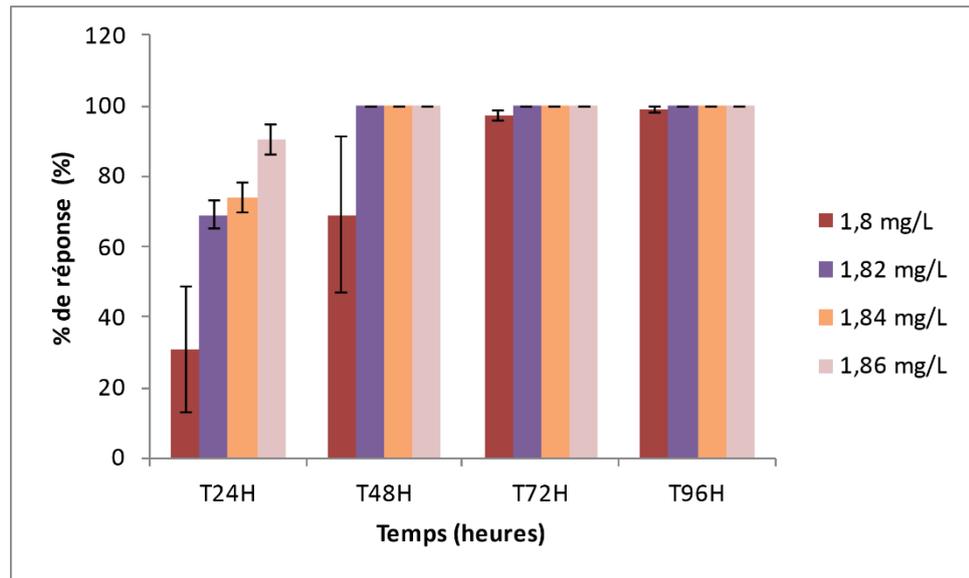


Figure 13 : Pourcentage de réponse des paramécies traitées aux concentrations 1,8 ; 1,82 ; 1,84 et 1,86 mg/L de Triclosan.

Chapitre 04

Discussion et Conclusion

Chapitre 04 : Discussion et Conclusion

Discussion :

Les biocides utilisés pour lutter contre les ravageurs dans les collections historiques sont nombreux et variés. Dans la plupart des cas, ce sont (en raison de leur fonction) des produits toxiques (Union européenne, 1998).

Le biocide triclosan, qui est utilisé comme agent antimicrobien dans une variété de produits de soins personnels, est présent en grandes quantités dans le milieu aquatique et peut avoir des effets néfastes sur les organismes aquatiques par des mécanismes d'action imprévus (Ramaswamy et al., 2011).

Dans cette étude nous avons choisi la paramécie comme un bioindicateur. Ces derniers sont particulièrement utilisés en écotoxicologie pour la surveillance de l'environnement. On distingue deux types : Certaines espèces sont des bioindicateurs de l'impact écologique de catégories de polluants. Un autre type est celui des bioindicateurs (bioaccumulateurs) qui bioaccumulent les contaminants, facilitant ainsi l'étude des contaminants dans l'environnement. (OECD, 2002).

L'objectif de notre travail visant à évaluer les effets toxiques du biocide Triclosan (produit chimique) sur la croissance cellulaire de la paramécie après exposition à différentes concentrations croissantes de ce xénobiotique pendant une période de 96 heures (équivalent à un cycle de croissance de paramécie) pour chaque test, dans des conditions contrôlées.

Le triclosan peut perturber la capacité des paramécies à se déplacer normalement. Elles peuvent présenter des mouvements désorganisés, des spasmes ou une incapacité à se déplacer efficacement. Cela peut affecter leur capacité à trouver de la nourriture et à échapper aux prédateurs, ce qui peut entraîner des conséquences néfastes sur leur survie et leur reproduction.

Dans notre étude, en premier temps dans l'évaluation de l'effet du Triclosan sur la croissance de la paramécie et l'exposition aux fortes concentrations (18.0, 18.2, 18.4 et 18.6 mg/L) les cultures ont présenté une mortalité totale par rapport aux témoins. D'une seconde part, des concentrations moins élevées que les précédentes ont été testées pour une évaluation d'un stress oxydatif. Ce test a mis en évidence une diminution de la croissance par rapport aux témoins à la faible concentration (1.80, 1.82, 1.84, 1.86 mg/L) tandis que les cultures exposées aux fortes concentrations du test 2 ont également présenté une mortalité totale de la croissance cellulaire en présence du Triclosan et ce en fonction du temps, avec des pourcentages de réponses positifs pour toutes les concentrations testées (dans les deux tests). Ses résultats sont

Chapitre 04 : Discussion et Conclusion

accord avec les travaux de **Cheriat (2015)** concernant l'effet de la Nifedipine sur *Saccharomyces cerevisiae* qui ont indiqué également une inhibition de la croissance cellulaire, la cytotoxicité de l'insecticide testé s'est traduite à l'échelle de la population par une diminution du nombre de régénération, un ralentissement de la vitesse de régénération et une augmentation du temps de régénération, ce qui suggère que la prolifération et le métabolisme cellulaire ont été significativement affectés (**Yoshiaki, 2003; Cheriat et al., 2013**).

Bazy (2018) a indiqué dans son étude que le Triclosan est mortel, ces effets sur certains organismes aquatiques sont multiparamétriques : l'âge, la mobilité et l'organisme. Ce produit est retrouvé dans l'eau du robinet dans une étude canadienne, même à des faibles doses ainsi que ses dérivés chimiques pouvant s'avérer toxiques dans les organismes exposés (**Bedoux et al., 2012**).

Nos résultats ainsi qu'à partir de la majorité des travaux réalisés sur la cytotoxicité du Triclosan et son effet bactéricide convergent tous dans les mêmes résultats et confirment que ce produit peut perturber les processus cellulaires essentiels chez les paramécies. Il peut altérer la perméabilité membranaire, perturber les processus de transport et interférer avec les voies métaboliques normales. Ces altérations peuvent entraîner des dysfonctionnements cellulaires et éventuellement, la mort cellulaire.

Chapitre 04 : Discussion et Conclusion

Conclusion :

La paramécie est l'un des éléments de base des réseaux trophiques et représente à la fois un excellent modèle alternatif pour les études toxicologiques et écotoxicologiques.

En effet, comme son étymologie le suggère, le triclosan est un biocide « mortel », souvent utilisé pour éliminer ou prévenir le développement de microbes dans certains produits.

L'effet toxique de ce produit ne s'arrête pas aux microorganismes. C'est d'ailleurs ce qu'on a pu mettre en évidence à partir de la recherche bibliographique de très nombreuses études avec ses effets néfastes (y compris les effets génotoxiques et cytotoxiques, la toxicité aiguë et chronique) sur les humains, les animaux et même les organismes aquatiques. (**Bedoux et al., 2012**).

D'une façon générale, ce travail a montré que l'exposition des paramécies aux différentes concentrations du Triclosan (1.80, 1.82, 1.84, 1.86, 18.0, 18.2, 18.4 et 18.6 mg/L du triclosan pendant 96 heures) provoquent une cytotoxicité, entraînant une mortalité accrue.

A travers tous ces données, nous pouvons conclure que le triclosan est toxique et provoque des perturbations au niveau physiologique chez les organismes unicellulaires. De ce fait, nous ne pouvons voir son impact et le stress oxydatif dû à ce xénobiotique sur le niveau métabolique.

Perspectives :

A partir de ce travail de recherche ; il serait intéressant de ressortir les perspectives suivantes :

-Étudier l'effet toxique du triclosan sur d'autres modèles cellulaires et d'autres modèles animaux.

- tester des concentrations encore plus faibles que celles utilisées dans notre étude.

Evaluation du stress oxydatif du Triclosan -sur le niveau biochimique et métabolique- sur des organismes uni et pluricellulaires.

-Etude de la neurotoxicité et de la génotoxicité de la molécule.

Refereces bibliographiques :

A

Anses, A. (2011). Effets sanitaires du bosphénol.

Andersen, H.R., Lundsbye, M., Wedel, H.V., Eriksson, E., Ledin, A. (2007). Estrogenic personal care products in a greywater reuse system. *Water Sci. Technol.* 56, 45–49.

Anger, C. T., Sueper, C., Blumentritt, D. J., McNeill, K., Engstrom, D. R., & Arnold, W. A. (2013). Quantification of triclosan, chlorinated triclosan derivatives, and their dioxin photoproducts.

Azzouz Z., Berrebbah H., Djebbar M.R. (2011). Optimization of *Paramecium tetraurelia* growth kinetics and its sensitivity to combined effects of azoxystrobin and cyproconazole. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5, 3243–3250.

Azzouz, Z. (2012). Etude des effets toxiques d'un fongicide (Amistar Xtra) et d'un herbicide (Glyphosate) sur la biologie et le comportement de *Paramecium tetraurelia*, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie, 159 p.

.

B

Bazy, S. (2018). Impact eco-toxicologique du triclosan sur le milieu aquatique : analyse des données de la littérature, p 60.

Bedoux, G., Roig, B., Thomas, O., Dupont, V. & Le Bot, B. (2012). Occurrence and toxicity of antimicrobial triclosan and by-products in the environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19, 1044–1065.

Bergasa, O., 2009- Study of metals concentrations levels in *Patella piperata* through the Canary Islands, Spain. *Fresenius Environmental Bulletin.* Issue 15: 1234- 1240.

Bergman, Åke, Heindel, Jerrold J. et al. (2013), Etat de l'art sur les perturbateurs endocriniens State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals.

Bester, K. (2005). Fate of triclosan and triclosan-methyl in sewage treatment plants and Surface waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 49(1), 9-17.

Bengueddach, H. (2016). Etude des protéines VFL3 et OFD1 dans le mécanisme d'ancrage des corps basaux chez la paramécie. Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay, Paris-Sud. pp :52.

Benosmane, S. (2011). Etude de l'effet d'un insecticide à base d'Emamectine Benzoate sur les protistes ciliés d'eau douce « *Paramecium sp* ». Mémoire de master, Université Badji Mokhtar, Annaba, pp:17.

Beale, G., et Preer Jr, J. R. (2008). *Paramecium: genetics and epigenetics*. 1st édition. Taylor & Francis Group, Boca Raton, p191.

Bétermier.M. (2010). Que peut nous apprendre la paramécie sur la biologie des génomes ? Centre de génétique moléculaire, Université Paris-Sud, Paris.

Beaumont et Cassier ; 1998. Travaux Pratiques de Biologie Animale, Zoologie, Embryologie, Histologie, 3^{ème} édition DUNOD, pp : 123-143.

Boubidi. F, Zebila.ch. (2019). Mémoire de Master Filière : Sciences Biologiques Option : Toxicologie Fondamentale et Appliquée Thème Test de cytotoxicité d'un principe actif le citrate de clomifène sur un modèle cellulaire ciliée d'eau douce : *Paramecium sp*.

Bonnefont-Rousselot.D., Beaudeau. Louis et Delattre Jacques. (2003). Biochimie pathologique. Aspects moléculaires et cellulaires. Chapitre 4 : Radicaux libres et antioxydants Médecine-Sciences, Flammarion.

Bonnefont-RousselotD., Beaudeau. Louis et Delattre Jacques. (2019). Exploration en biochimie médicale : interprétations et orientations diagnostiques Chapitre 10 : Exploration biochimique du déséquilibre redox.

Buth, J. M., Grandbois, M., Vikesland, P. J., McNeill, K., & Arnold, W. A. (2009). Aquatic Photochemistry of chlorinated triclosan derivatives: Potential source polychlorodibenzo P dioxins. *Environmental toxicology and chemistry*, 28(12), 2555-2563.

Butler, E., Whelan, M. J., Ritz, K., Sakrabani, R., & van Egmond, R. (2012). The effect of triclosan on microbial community structure in three soils. *Chemosphere*, 89(1), 1-9. [Dai: 10.1016/j.chemosphere.2012.04.002](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.002)

C

Cabana, H., Jiwan, J.-L. H., Rozenberg, R., Elisashvili, V., Penninckx, M., Agathos, S. N., & Jones, J. P. (2007). Elimination of endocrine disrupting chemicals nonylphenol and bisphenol A and Personal care product ingredient triclosan using enzyme preparation from the white rot fungus *Coriolopsis polyzona* < i> ; *Chemosphere*, 67(4), 770-778.

Canosa, P., Rodrguez, I., Rubf, E., Ramil, M., & Cela, R. (2008). Simplified sample preparation Method for triclosan and methyltriclosan determination in biota and foodstuff samples. *Journal of Chromatography A*, 1188(2), 132-139.

Calafat AM, Ye X, Wong L-Y, Reidy JA, Needham LL (2003-2004). Urinary concentrations of triclosan in the U.S. population: *Environ Health Perspect* 2008; 116:303–307.

Chen, X., Nielsen, J. L., Furgal, K., Liu, Y., Lolas, I. B., & Bester, K. (2011). Biodegradation of Triclosan and formation of methyl-triclosan in activated sludge under aerobic conditions. *Chemosphere*, 84(4), 452-456. [Dai: 10.1016/j.chemosphere.2011.03.042](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.03.042).

Cheriet, A., Djebbar M.R. (2013). Evaluation of dihydropyridine calcium antagonist effects on the stress bioindicator organism *Saccharomyces cerevisiae*. *Ann. Biol. Res*, 4 (10), 40–46.

Cherait, A. (2015). Evaluation à l'échelle cellulaire et subcellulaire de la toxicité d'un composé de la famille des dihydropyridines sur un modèle expérimental bioindicateur de stress. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 152 p.

Consortium, T. (2002). *Iuclid Data Set*. TCC Consortium, New York, New York, 44 pp.

Coogan, M. A., Edziyie, R. E., La Point, T. W., & Venables, B. J. (2007). Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plant Receiving stream. *Chemosphere*, 67(10), 1911-1918.

Cudmore, L., David & Charles and Newton. A., 1977. *The Center of Life, A Natural History of the Cell*.

D

Damaj, R. (2012). Squelette membranaire chez *Paramecium Tetraurelia* : analyse structurale et fonctionnelle de la famille multigenique des epiplasmines. HAL Id. Thèse de Doctorat, Université Blaise Pascal. pp : 28-29.

Delorenzo, M. E., Keller, J. M., Arthur, C. D., Finnegan, M. C., Harper, H. E., Winder, V. L & Zdankiewicz, D. L. (2008). Toxicity of the antimicrobial compound triclosan and formation of the metabolite methyl-triclosan in estuarine systems. *Environ Toxicol*, 23(2), 224-232. [Dai :10.1002/tox.20327](https://doi.org/10.1002/tox.20327).

E

Environmental defence. (2012). The trouble with triclosan. How a pervasive antibacterial
Chemical is polluting our world and our bodies.

<http://environmentaldefence.ca/reports/trouble-triclosan-how-pervasive-antibacterialchemical-polluting-our-world-and-our-bodies>. Consulté le 6 septembre 2014.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108.

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. In Annales pharmaceutiques françaises. Elsevier Masson, 64(6), p390.

Fang, J. L., Stingley, R. L., Beland, F. A., Harrouk, W., Lumpkins, D. L., & amp;

Fokin, S. (1997). Morphological diversity of the micronuclei in *Paramecium*. Archiv für Protistenkunde, 148(4), p375-387.

G

Génomscope ; 2007 : Centre National de Séquençage. France.

H

Heidler, J., & amp; Halden, R. U. (2007). Mass balance assessment of triclosan removal during Conventional Sewage Treatment. Chemosphere, 66(2), 362-369.

Doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.04.066.

Howard, P. (2010). Occurrence, efficacy, metabolism, and toxicity of triclosan. J Environ Sei Health C Environ Careinog Ecotoxicol/ Rev, 28(3), 147-171. Doi : 10.1080/10590501.2010.504978.

Huang, C. L., Ma, H. W., & amp ; Yu, C. P. (2014). Substance flow analysis and assessment of Environmental exposure potential for triclosan in mainland China. Sei Total Environ_ 499, 265-275. Doi : 10.1016/j.scitotenv.2014.08.032

Hua, W. Bennett, E. R., & amp ; Letcher, R. J. (2005). Triclosan in waste and surface waters from the Upper Detroit River by liquid chromatography-electrospray-tandem quadrupole mass Spectrometry. Environ /nt, 31(5), 621-630. Doi: 10.1016/j.envint.2004.10.019.

K

Kim, Y. M., Murugesan, K., Schmidt, S., Bokare, V., Jean, J. R., Kim, E. J., & Chang, Y. S. (2011). Triclosan susceptibility and co-metabolism—a comparison for three aerobic pollutant-degrading Bacteria. *Bioresour Technol*, 102(3), 2206-2212.

Kookana, R. S., Ying, G. G., & Waller, N. J. (2011). Triclosan: its occurrence, fate and effects in the Australian environment. *Water Sci Technol*, 63(4), 598-604.
Dai :10.2166/wst.2011.205.

L

Lee do, G., Zhao, F., Rezenom, Y. H., Russell, D. H., & Chu, K. H. (2012). Biodegradation of Triclosan by a wastewater microorganism. *Water Res*, 46(13), 4226-4234.
Dai: 10.1016/j.watres.2012.05.025.

Leiker, T. J., Abney, S. R., Goodbred, S. L., & Rosen, M. R. (2009). Identification of methyl Triclosan and halogenated analogues in male common carp (*Cyprinus carpio*) from Las Vegas Bay and semipermeable membrane devices from Las Vegas Wash, Nevada. *Sci Total Environ*, 407(6), 2102-2114.
Dai : 10.1016/j.scitotenv.2008.11.009.

Lin, D., Zhou, Q., Xie, X., & Liu, Y. (2010). Potential biochemical and genetic toxicity of triclosan as an emerging pollutant on earthworms (*Eisenia fetida*). *Chemosphere*, 81(10), 1328-1333.
Dai: 10.1016/j.chemosphere.2010.08.027.

Lozano, N., Rice, C. P., Ramirez, M., & Torrents, A. (2013). Fate of Triclocarban, Triclosan and Methyltriclosan during wastewater and biosolids treatment processes. *Water Res*, 47(13), 4519-4527.
Dai : 10.1016/j.watres.2013.05.015.

M

Marie, DURET. Le 24.05.2017 Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire 2017 - n°47).

Murati, M. (2012). Etude d'élimination de trois herbicides : Atrazine, Sulcotrione et Mésotrione, en milieux aqueux par les procédés électrochimiques d'oxydation avancée. Thèse de doctorat, Université Paris-Est, France. 140p.

Moss T, Howes D, Williams FM (2000). Percutaneous penetration and dermal metabolism of triclosan (2,4, 4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether). Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc 2000; 38:361–370

Maillard, J.-Y. (2005). Antimicrobial biocides in the healthcare environment: efficacy, usage, policies, and perceived problems. Ther. Clin. Risk Manag. 1, 307–20.

Miller, T. R., Heidler, J., Chillrud, S. N., Delaquil, A., Ritchie, J. C., Mihalic, J. N & Halden, R.U. (2008). Fate of triclosan and evidence for reductive dechlorination of triclocarban in Estuarine sediments. Environ Sei Technol, 42(12), 4570-4576.

Q

OECD. (2002). The Measurement of Scientific and Technological Activities Frascati Manual 2002: Proposed Standard Practice for Surveys on Research and Experimental Development. Cambridge University Press.

Orvos D.R., D.J. Versteeg, J. Inauen, M. Capdevielle, A. Rothenstein, & V. Cunningham, (2002). Aquatic Toxicity of Triclosan. Environmental Toxicology and Chemistry 21(7):1338-1349.

P

Parent, L. (2009). Sabotage hormonal. Comment des produits d'usage courant menacent notre santé.

Perencevich EN, Wong MT, Harris AD(2001). National and regional assessment of the antibacterial soap market: a step toward determining the impact of prevalent antibacterial soaps. Am J Infect Control 2001 ; 29 :281–283.

Pérès, J.M., Gauthier. villars ,Paris (1976) : la pollution des eaux marine, paridé. P :01-67-70p.

R

Ramaswamy, B. R., Kim, J. W., Isobe, T., Chang, K. H., Amano, A., Miller, T. W., & Tanabe, S. (2011). Determination of preservative and antimicrobial compounds in fish from Manila Bay, Philippines using ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, and assessment of human dietary exposure. *J Hazard Mater*, 192(3), 1739-1745. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.07.006.

Rouabhi, R & Bazouzi, K. (2012). Combination between vitamin E and calcium into the neutralization of Novaluron in a cellular model of fresh water *Paramecium Sp.* *BioSciences*.318. pp: 317-327.

Roh, H., Subramanya, N., Zhao, F., Yu, C.-P., Sandt, J., & amp; Chu, K.-H. (2009). Biodegradation Potential of wastewater micropollutants by ammonia-oxidizing bacteria. *Chemosphere*, 77(8),1084-1089.

S

Samworth, M and Morgan, M. (2000). Article on pond life: *Paramecium*. MISCape Article: *Paramecium*. Dec.95 Updated by the MISCape Editor April 2000.

Shekhar S, Sood S, Showkat S, Lite C, Chandrasekhar A, Vairamani M, Barathi S, Santosh W. (2017). Detection of phenolic endocrine disrupting chemicals (EDCs) from maternal blood plasma and amniotic fluid in Indian population. *Gen Comp Endocrinol* 2017; 241:100–107.

U

Union Européenne (1998). Directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 février concernant la mise sur le marché des produits biocides. <http://ewr-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31998L0008:fr.NOT>.

Veetil, P. G. P., Nadaraja, A. V., Bhasi, A., Khan, S., & amp; Bhaskaran, K. (2012). Degradation of Triclosan under aerobic, anoxic, and anaerobic conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(6), 1603-1612.

W

Wang, X., Liu, Z., Wang, W., Yan, Z., Zhang, C., Wang, W., & amp; Chen, L. (2014). Assessment of Toxic effects of triclosan on the terrestrial snail (*Achatina fulica*). *Chemosphere*, 108, 225-230. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.01.044.

Wong C.K., Cheung., Ming-Ho Yo, (1999). Toxicological assesement of coastal sediments in Hong Kong using a flagellate *Dunalliella tertiolecta*. Environ. pollut, 105, 175–183.

Wu, Q., Shi, H., Adams, C. D., Ttmmons, T., & amp; Ma, Y. (2012). Oxidative removal of selectedEndocrine-disruptors and pha: rmaceuticals in drinking water treatment systems, and Identification of degradation pt »oducts of triclosan. Sei Total Environ, 439, 18-25. Dai : 10 .1016/j. scitotenv. 2012.08.090.

Y

Ying, G. G., Yu, X. Y., & amp; Kookana, R. S. (2007). Biological degradation of triclocarban and Triclosan in a soil under aerobic and anaerobie conditions and comparison with environmental Fate modelling. Environ Pol/ut, 150(3), 300-305.

Dai: 10.1016/j.envpol.2007.02.013.

Yoshiaki I Wadate, (2003). Photolysis of caged calcium in cilia induces ciliary reversal in *Paramecium caudatum*. Journal of Experimental Biology. 2003 ; (206) : 1163-1170.

[1] - Le Monde. Les perturbateurs endocriniensprésents dans deux produits de beauté sur cinq. 2013 ; Available from:http://www.lemonde.fr/planete/article/2013/09/13/les-perturbateurs-endocriniens-presents-dans-deux-produits-de-beaute-sur-cinq_3477286_3244.html.

[2] Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs (SCCS, Comité de la Commission Européenne). Opinion sur le Triclosan - Résistance Antimicrobienne. Bruxelles ; 2010.

[3] Comité Scientifique des Produits de Consommation (SCCP, Comité de la Commission Européenne). Opinion sur le Triclosan. Bruxelles ; 2009.

[4]. Commission Européenne. Règlement (UE) N°358/2014 modifiant les annexes II et V du règlement (CE) N°1223/2009 du Parlement Européen et du Conseil relatif aux produits cosmétiques. Bruxelles; 2014.

[5] Triclosan, U.F.a.D. Administration, Editor. 2008

Les sites web:

[6] -(www.biology-resources.com › paramecium-01.)

[7] -([https://www.studyandscore.com/studymaterial-detail/paramecium-general-
characterslocomotion-and-nutrition.](https://www.studyandscore.com/studymaterial-detail/paramecium-general-characterslocomotion-and-nutrition.))-[http://www.ec.gc.ca/eseees/6EF68BEC-5620-4435-
8729-9B91C57_A9FD2/Triclosan EN.pdf](http://www.ec.gc.ca/eseees/6EF68BEC-5620-4435-8729-9B91C57_A9FD2/Triclosan_EN.pdf).